

**Aus dem Institut für Neuroendokrinologie  
der Universität zu Lübeck  
Kommissarischer Leiter: Prof. Dr. Hendrik Lehnert**

---

**Auswirkungen einer intranasalen Insulingabe  
auf die schlafabhängige Konsolidierung  
psychologischer Gedächtnisinhalte**

Inauguraldissertation  
zur  
Erlangung der Doktorwürde  
der Universität zu Lübeck  
- aus der Sektion Medizin -

vorgelegt von  
Corinna Klameth, geb. Born  
aus Bielefeld

Lübeck 2013

1. Berichterstatter: Priv.-Doz. Dr. rer. hum. biol. Manfred Hallschmid

2. Berichterstatter: Prof. Dr. med. Fritz Keck

Tag der mündlichen Prüfung: 28.10.2013

zum Druck genehmigt. Lübeck, den 28.10.2013

-Promotionskommission der Sektion Medizin-

# Inhaltsverzeichnis

ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS .....	- 5 -
<b>1. EINLEITUNG.....</b>	<b>- 6 -</b>
1.1 DAS GEDÄCHTNIS.....	- 6 -
1.1.1 Gedächtnissysteme .....	- 7 -
1.1.2 Phasen der Gedächtnisbildung.....	- 10 -
1.2 SCHLAF.....	- 11 -
1.2.1 Schlafstadien.....	- 11 -
1.2.2 Schlaf im Verlauf der Nacht .....	- 12 -
1.2.3 Schlafabhängige Gedächtniskonsolidierung .....	- 13 -
1.3 ZENTRALNERVÖSE INSULINEFFEKTE.....	- 16 -
1.3.1 Intranasale Insulingabe.....	- 16 -
1.3.2 Insulin und Gedächtnis.....	- 17 -
1.3.3 Insulin und stimmungsverändernde Effekte.....	- 19 -
1.3.4 Insulin und metabolische Effekte .....	- 20 -
1.4 ZIELSETZUNG.....	- 21 -
<b>2. MATERIAL UND METHODEN.....</b>	<b>- 22 -</b>
2.1 VERSUCHSPERSONEN .....	- 22 -
2.2 STUDIENDESIGN UND VERSUCHSABLAUF.....	- 23 -
2.2.1 Ablauf einer Experimentalnacht.....	- 23 -
2.2.2 Ablauf des Abrufes am Abend des folgenden Tages.....	- 26 -
2.3 MATERIAL .....	- 27 -
2.3.1 Wortpaarlernen und Fingertapping .....	- 27 -
2.3.2 Befindlichkeits- und Aufmerksamkeitstests.....	- 29 -

2.4 POLYSOMNOGRAPHISCHE AUFZEICHNUNGEN UND SCHLAFSTADIEN .....	- 30 -
2.5 INSULIN UND PLACEBO .....	- 31 -
2.6 STATISTISCHE AUSWERTUNG.....	- 31 -
<b>3. ERGEBNISSE.....</b>	<b>- 32 -</b>
3.1 SCHLAFDATEN .....	- 32 -
3.2 GEDÄCHTNISTESTS .....	- 33 -
3.2.1 Wortpaarlernen .....	- 33 -
3.2.2 Fingertapping .....	- 35 -
3.3 BEFINDLICHKEITSTESTS.....	- 37 -
3.4 KONTROLLVARIABLEN .....	- 41 -
3.4.1 Blutzuckermessung .....	- 41 -
3.4.2 Vigilanz.....	- 42 -
3.4.3 Puls und Blutdruck .....	- 43 -
3.4.4 Nebenwirkungen .....	- 44 -
<b>4. DISKUSSION .....</b>	<b>- 45 -</b>
4.1 GEDÄCHTNISLEISTUNG .....	- 45 -
4.2 BEFINDLICHKEIT .....	- 51 -
4.3 SCHLAF UND KONTROLLVARIABLEN .....	- 53 -
4.4 LIMITATIONEN UND AUSBLICK .....	- 54 -
<b>5. ZUSAMMENFASSUNG.....</b>	<b>- 56 -</b>
<b>6. LITERATURVERZEICHNIS .....</b>	<b>- 57 -</b>
<b>7. DANKSAGUNG .....</b>	<b>- 66 -</b>

## **Abkürzungsverzeichnis**

Abb.	Abbildung
BIA	Körper-Impedanz-Analyse (Body impedance analysis)
BMI	Body-Mass-Index
BZ	Blutzucker
GABA	Gamma-Aminobuttersäure
GS	Gute/schlechte Stimmung (Dimension des MDBF)
HAWIE-R	Hamburg-Wechsler-Intelligenztest für Erwachsene (revidiert)
IE / IU	Internationale Einheiten / international units
EEG	Elektroenzephalogramm
EKG	Elektrokardiogramm
EMG	Elektromyogramm
EOG	Elektrookulogramm
EWL-K	Eigenschaftswörterliste – Kurzform
MDBF	mehrdimensionaler Befindlichkeitsfragebogen
n.s.	nicht signifikant
NaCl	Natriumchlorid
REM	Rapid-eye-movement
RU	Ruhe/Unruhe (Dimension des MDBF)
SEM	Standardfehler (standard error of the mean)
sog.	so genannte(r)
SSS	Stanford sleepiness scale
SWS	slow wave sleep
Tab.	Tabelle
vs.	versus
WM	Wachheit/Müdigkeit (Dimension des MDBF)
ZNS	Zentralnervensystem

# 1. Einleitung

Seit einigen Jahren ist bekannt, dass Insulin neben seiner wichtigen Rolle im Glukosehaushalt auch Einfluss auf das zentrale Nervensystem ausübt. Zunächst wurde ein wichtiger metabolischer Effekt von Insulin auf das Gehirn beschrieben: Bereits 1979 beobachteten Woods und Kollegen einen Insulineinfluss auf die gewichtsregulatorische Komponente des hypothalamischen Systems. Diese Beobachtungen wurden in weiteren Arbeiten bestätigt (für Übersichtsartikel siehe Baskin et al. 1999; Hillebrand & Geary 2009). Woods und Mitarbeiter (2003) zeigten, dass systemisches Insulin rezeptorvermittelt in den Liquor transportiert wird. Besonders hohe Anzahlen von Insulinrezeptoren finden sich im zerebralen Cortex, im Bulbus, im Hippocampus, im Kleinhirn und im Hypothalamus (Unger et al. 1991). Insbesondere kortikale und hippocampale Areale sind für Gedächtnisprozesse sehr relevant (Squire & Zola 1996; Diekelmann & Born 2010). Dementsprechend zeigte sich bald eine weitere bedeutsame Wirkung von zentralnervösem Insulin, d.h. ein förderlicher Einfluss auf Gedächtnisprozesse (Marfaing et al. 1990; Park et al. 2000; Kern et al. 2001; Benedict et al. 2011). Besonders in neueren Studien (Benedict et al. 2004, Benedict et al. 2008, Craft et al. 2012) beobachtete man eine positive Wirkung von Insulins auf die Gedächtnisleistung beim Menschen. Hierfür war die Entdeckung entscheidend, dass man Insulin mit Hilfe der intranasalen Gabe ohne relevante systemische Wirkung im Liquor anreichern kann, um so die zerebrale Wirkung gezielt zu testen: Born et al. (2002) demonstrierten, dass durch diese Applikationsform innerhalb sehr kurzer Zeit eine Konzentrationserhöhung von Insulin im Liquor erreicht werden kann.

Über welche Mechanismen das Insulin seine gedächtnismodulatorischen Effekte ausübt, ist noch nicht ausreichend geklärt und weiterhin Gegenstand intensiver Forschungsbemühungen. Diese Arbeit soll hierzu einen Beitrag leisten, indem sie die potenziell gedächtnismodulatorische Wirkung intranasal, also zentralnervös applizierten Insulins während der Konsolidierungsphase des Schlafes untersucht.

## 1.1 Das Gedächtnis

Die Fähigkeit eines Individuums, aufgenommene Informationen zu speichern, zu sortieren und wiederzugeben nennt man Gedächtnis.

### 1.1.1 Gedächtnissysteme

Eine Einteilung der Gedächtnissysteme kann einerseits nach dem zeitlichen Aspekt (**Kurz- und Langzeitgedächtnis**) und andererseits nach dem inhaltlichen Aspekt (**deklaratives und non-deklaratives Gedächtnis**) erfolgen.

Bei der Einteilung in **Kurz- und Langzeitgedächtnis** ist die Dauer der Informationsspeicherung entscheidend. Man unterscheidet drei Systeme:

1. *Sensorisches Gedächtnis*: Millisekunden bis Sekunden
2. *Arbeitsgedächtnis (enthält den Kurzzeitspeicher)*: Minuten
3. *Langzeitgedächtnis*: Jahre

Über die Sinnesorgane strömen ständig neue Informationen zum Gehirn, die zunächst im sensorischen Gedächtnis zwischengespeichert und bewertet werden. Die wichtigsten Merkmale werden herausgefiltert und für den Kurzzeitspeicher kodiert. Das sensorische Gedächtnis ist sehr groß. Im Vergleich hierzu kann das Kurzzeitgedächtnis nur  $7 \pm 2$  Informationseinheiten gleichzeitig speichern.

Der Kurzzeitspeicher ist ein Teil des Arbeitsgedächtnisses. Dieses ist neben der kurzzeitigen Speicherung von Informationen auch zuständig für deren Verarbeitung, die Fokussierung der Aufmerksamkeit und für die Verbindung zum Langzeitgedächtnis (Baddeley 2001).

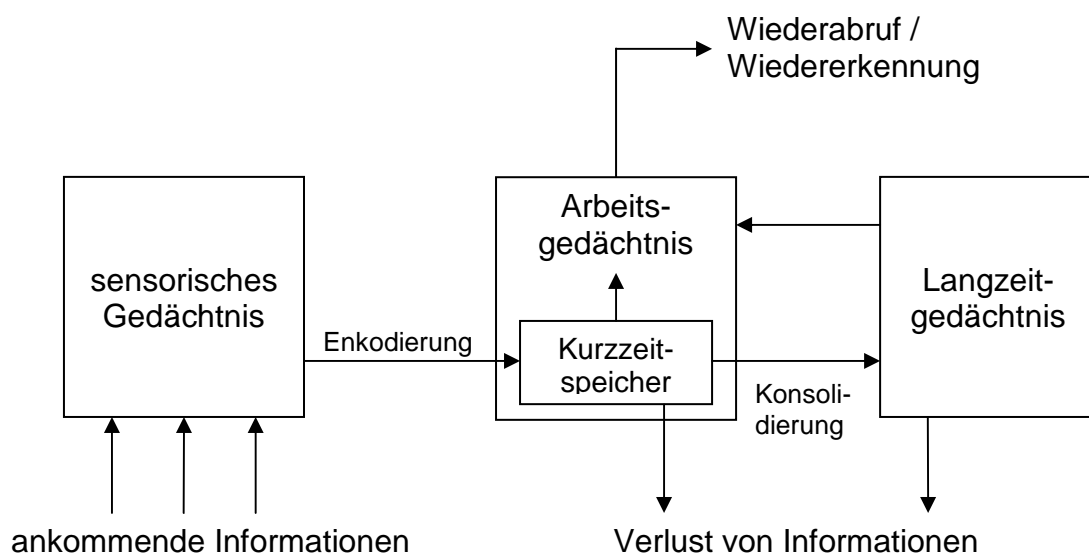


Abb. 1.1: Mehrspeichermodell des menschlichen Gedächtnisses. Modifiziert nach Schmidt et al., 2005

Unter den zum Langzeitgedächtnis gehörenden Systemen unterscheidet man das **deklarative** Gedächtnis und das **non-deklarative** Gedächtnis. Das deklarative Gedächtnis wird auch als das explizite, das non-deklarative Gedächtnis als implizites Gedächtnis bezeichnet. Das

deklarative Gedächtnis speichert bewusste Inhalte, wie zum Beispiel Namen, Fakten und Ereignisse (Smith, 2001). Das non-deklarative Gedächtnis umfasst alle Vorgänge des unbewussten Erlernens und Anwendens. Nichtsdestotrotz ist es nicht immer möglich, gelernte Inhalte streng nur einem System zuzuordnen.

Beide Gedächtnisformen greifen auf unterschiedliche Hirnregionen zurück (Diekelmann & Born 2010) und sollen im Nachfolgenden näher beleuchtet werden.

### **Deklaratives Gedächtnis**

Das deklarative Gedächtnis fasst alle Erinnerungen zusammen, die mit Episoden und Fakten (Smith 2001), also mit bewussten Inhalten verbunden sind. Es unterteilt sich in das episodische Gedächtnis, das alle Erinnerungen und Ereignisse aus der Vergangenheit speichert und deshalb auch als autobiographisches Gedächtnis bezeichnet werden kann, und das semantische Gedächtnis, das von Ort und Zeit unabhängige, allgemeine Tatsachen und Zusammenhänge umfasst.

Insbesondere mit Hilfe der Untersuchung amnestischer Patienten konnte gezeigt werden, dass das deklarative Gedächtnis von bestimmten Hirnregionen abhängt (für eine Übersichtsarbeit siehe Squire & Zola 1996). So fand man in Tests heraus, dass Patienten, die eine Schädigung des medialen Temporallappens und der angrenzenden Hirnstrukturen, u.a. des Hippocampus, aufwiesen, Schwierigkeiten beim Erlernen und anschließenden Erinnern von Fakten und Tatsachen, also typischen deklarativen Inhalten, hatten (Scoville & Millner 1957, Zola-Morgan et al. 1986, Rempel-Clower et al. 1996, Reber et al. 1996). Im Gegensatz dazu waren Tests, die das non-deklarative Gedächtnis ansprachen, wie zum Beispiel das Erlernen motorischer Fähigkeiten, bei diesen Patienten unbeeinflusst (Reber & Squire 1994). Das non-deklarative Gedächtnis war also bei diesen Patienten nicht geschädigt, was den Schluss nahe legte, Strukturen, die für das deklarative Gedächtnis notwendig sind, vor allem der Hippocampusregion zuzuordnen.

Des Weiteren untersuchte man Patienten, die eine anterograde Amnesie bei Schädigung des Temporallappens zeigten. Sie konnten sich an deklarative Gedächtnisinhalte vor der Schädigung sehr gut erinnern, nicht aber neue deklarative Inhalte aufnehmen und erinnern. Man stellte außerdem fest, dass die Fähigkeit, sich an deklarative Inhalte vor der Schädigung zu erinnern, mit dem Ausmaß der Gewebszerstörung korrelierte. Sobald der gesamte Hippocampus und der mediale Temporallappen betroffen waren, zeigten die Patienten eine retrograde Amnesie mit Auslöschung des Langzeitgedächtnisses, wohingegen eine partielle Schädigung des Temporallappens nur geringe Ausfälle in der Langzeiterinnerung hervorrief. Deshalb vermutet man, dass die langfristige Speicherung der im Hippo-



campus verarbeiteten Informationen in neokortikalen Regionen stattfindet (Zola & Squire 1996, Diekelmann & Born 2010).

### **Non-deklaratives Gedächtnis**

Das non-deklarative Gedächtnis umfasst eine sehr heterogene Gruppe von Gedächtnisinhalten (siehe Abb. 1.2). Allen gemeinsam ist, dass sie nicht durch bewusst steuerbare Abrufprozesse wiedergegeben werden, weshalb dieses Gedächtnis auch implizites Gedächtnis genannt wird. So finden sich hier mehrere Formen unterschiedlichen Lernens. Auf der einen Seite umfasst es das assoziative Lernen, bei dem der Lernvorgang durch enge zeitliche Kopplung (Assoziation) von Reiz und Reaktion entsteht, wie es bei der klassischen Konditionierung zu finden ist. Auf der anderen Seite zählt hierzu auch das nicht-assoziative Lernen, bei dem die Wiederholung von Reizsituation und Reaktion im Vordergrund steht, wie bei der Habituation (Gewöhnung). Weitere Formen sind das Priming (Beeinflussung eines nachfolgenden Reizes durch vorausgegangene) und das prozedurale Gedächtnis. Das zuletzt genannte fasst die motorischen und kognitiven Fähigkeiten, die Objektidentifikation und die visuelle und akustische Erkennung zusammen (Squire & Zola 1996, Stickgold 2005).

Da das non-deklarative Gedächtnis, wie oben beschrieben, viele unterschiedliche Formen zusammenfasst, greift es auch auf viele Hirnstrukturen zurück. So sind bei der Gedächtnisbildung sowohl die Basalganglien, das Striatum, die Amygdala als auch der motorische Cortex und das Kleinhirn beteiligt (Poldrack et al. 2001). Der Abruf der auf diese Weise gespeicherten Informationen läuft in der Hauptsache reflexiv und passiv ab. Inwieweit der Hippocampus hierbei beteiligt ist, ist noch nicht deutlich erkennbar. Er scheint, wenn überhaupt, nur eine untergeordnete Rolle zu spielen (Diekelmann & Born 2010).

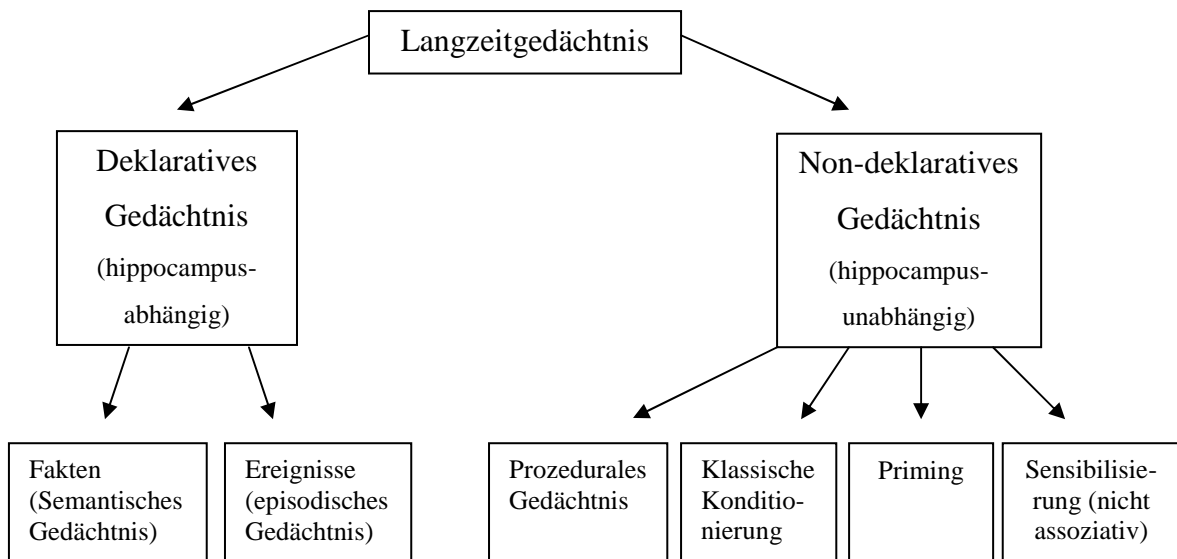


Abb.1.2: Deklaratives und non-deklaratives Gedächtnis. Modifiziert nach Stickgold (2005)

### 1.1.2 Phasen der Gedächtnisbildung

Das Gehirn erreichen täglich über die verschiedenen Sinnesorgane viele Informationen. Diese werden kurzfristig gespeichert und stehen ständig in der Gefahr, von neuen Informationen überschrieben zu werden. Mit bestimmten Mechanismen werden diese fragilen Informationen bearbeitet, um sie dann in das Langzeitgedächtnis zu überführen. Zur Gedächtnisbildung werden allgemein drei Schritte gezählt:

Am Anfang steht die *Enkodierung*, bei der im wachen Zustand Informationen aufgenommen und im Kurzzeitgedächtnis als frische Information gespeichert werden. Um die labile Gedächtnisinformation zu festigen, benötigt es den zweiten Schritt der Gedächtnisbildung, die *Konsolidierung*. Dieser Schritt führt zur langfristigen Speicherung und Eingliederung der Informationen in das Langzeitgedächtnis.

Die Konsolidierung findet als erstes auf der synaptischen Ebene statt. Hier werden neue Verbindungen in den einzelnen Hirnbereichen geschaffen, die durch beständige Reaktivierung gefestigt werden, die sog. Langzeitpotenzierung (Dudel & Heckmann 2005). Dieser Vorgang, der unter Umständen mehrere Tage bis Wochen dauert, kann dazu führen, dass dabei ganze Hirnregionen umstrukturiert werden (synaptic consolidation). Die endgültige Speicherung (system consolidation) ins Langzeitgedächtnis schafft systemübergreifende Verbindungen. Dieser Vorgang wird durch Schlaf positiv beeinflusst oder ist gar schlafabhängig (Diekelmann & Born 2010, Walker 2006, Born et al. 2006). Auf die so gespeicherten Informationen kann dann im *Abruf* zurückgegriffen werden.

## **1.2 Schlaf**

Schlaf ist ein lebensnotwendiger Prozess. Wird er dauerhaft verhindert, kann dieser extreme Schlafmangel sogar zum Tod des Lebewesens führen (Rechtschaffen et al. 1995). Der Schlaf ist typischerweise durch eine Entspannung der Muskulatur und den Verlust des Bewusstseins charakterisiert. Er dient – neben vielen lebenswichtigen Funktionen, wie beispielsweise der Regeneration des gesamten Organismus (Siegel 2009) – auch dazu, Gedächtnis zu bilden und umzustrukturieren („brain plasticity“; Born et al. 2006, Diekelmann et al., 2010). Diese Beobachtungen deuten darauf hin, dass Schlaf nicht nur ein passiver Zustand, sondern notwendig ist, um gesammelte Informationen zu verarbeiten (Born et al. 2006).

### **1.2.1 Schlafstadien**

Wird der Nachtschlaf mit Hilfe eines Elektroenzephalogramms aufgezeichnet, so wird deutlich, dass der Schlaf aus unterschiedlichen, wiederkehrenden Abschnitten besteht. Nach Rechtschaffen und Kales (1968) unterscheidet man fünf verschiedene Schlafphasen: Die Schlafstadien S1-S4 (auch zusammengefasst als Non-REM-Schlaf) und den REM-Schlaf.

Im Schlafstadium S1 geht die im wachen Zustand vorherrschende Alpha-Aktivität auf weniger als 50 % zurück, das gesamte EEG wird langsamer (2-7 Hz). Im gleichzeitig aufgenommenen EOG zeigen sich langsam rollende Augenbewegungen. Im Schlafstadium S2 verlangsamt sich das EEG nochmals und es treten erstmals Spindeln (12-14 Hz) und K-Komplexe (Wellen mit steiler negativer Auslenkung, direkt gefolgt von einer positiven Komponente) auf. Die Schlafstadien S3 und S4 werden auch zusammengefasst und als SWS (slow wave sleep) oder Tief- bzw. Deltaschlaf bezeichnet. Hier sind langsame, sog. Delta-Wellen (0,5-2 Hz) mit hoher Amplitude vorherrschend. Auch hier sind Spindelformationen und K-Komplexe zu finden. *Spindeln* haben ihren Ursprung in einer Interaktion aus GABAergen Neuronen und Neuronen mit dem Transmitter Glutamat in der thalamo-corticalen Projektion (Steriade 2006). *K-Komplexe* treten sowohl im wachen Zustand als auch im SWS auf. Es gibt Hinweise darauf, dass sie die Reaktivierung von Neuronen begleiten und somit die Verarbeitung von Informationen anzeigen (Wilson et al. 1994).

Als paradoxer Schlaf wird die fünfte Schlafphase, der REM-Schlaf, bezeichnet. Das hier aufgezeichnete EEG unterscheidet sich kaum von dem eines Wachzustandes. Das EMG zeigt aber, dass der Muskeltonus im Gegensatz zum Wachzustand ein Minimum erreicht. Charakteristisch sind auftretende schnelle Augenbewegungen, die diesem Schlaf den Namen geben (rapid-eye-movement). Im EEG zeigen sich neben den Wellen mit nied-

riger Amplitude (Alpha-Wellen) und vereinzelt Gamma-Wellen auch solche mit gut erkennbarem Sägezahnmuster. Zur Übersicht dient die nachfolgende Tabelle.

**Tab. 1.1: Kriterien der Schlafarchitektur** nach Rechtschaffen und Kales (1968).

	Wach	REM	S1	S2	S3	S4
<b>EEG</b>	$\alpha^*$	$\theta$	$\theta$ , $\alpha < 50\%$	$\theta$	$\delta$	$\delta$
Amplitude [ $\mu\text{V}$ ]	20-50				> 75	> 75
Frequenz [Hz]	8-12	4-7	4-7, 8-12 bei $\alpha$	4-7	0,5-2	0,5-2
Besonderheiten		Sägezahnwellen		K-Komplex, Schlafspindeln		
<b>EOG</b>	Blickbewegungen	schnelle Bewegungen	Augenrollen	kaum messbar		
<b>EMG</b>	aktiv	kaum messbar	mit zunehmender Schlaftiefe abnehmend			

$\alpha$  = alpha-,  $\theta$  = theta-,  $\delta$  = delta-Aktivität. \* = bei geschlossenen Augen. Sägezahnwellen = sägezahnförmige Wellen im  $\theta$ -Bereich. K-Komplex = biphasische, initial negative Welle mit einer Frequenz von 0,5-2 Hz und einer Amplitude von 50-75  $\mu\text{V}$ . Schlafspindel = 12-14 Hz-Spindel mit erst zunehmender und dann abnehmender Amplitude.

### 1.2.2 Schlaf im Verlauf der Nacht

Ein Schlafzyklus besteht immer aus derselben Abfolge von Schlafstadien. Der Zyklus beginnt mit einem leichten Schlafstadium (S1 oder S2), wird dann zum SWS, bis sich dann der REM-Schlaf anschließt. Während der Nacht werden ca. 4-5 Schlafzyklen durchlaufen, die jeweils eine Dauer von etwa 1,5 Stunden haben. Während der Nacht verschiebt sich das Verhältnis der einzelnen Schlafstadien zueinander. Während in der ersten Nachthälfte, dem so genannten frühen Schlaf, der Anteil des SWS sehr groß ist, nimmt dieser in den frühen Morgenstunden deutlich ab. Hier gewinnt der REM-Schlaf immer mehr an Bedeutung. Auch die Augenbewegungsdichte während des REM-Schlafes nimmt im Verlauf der Nacht zu (Diekelmann et al. 2010).

## Schlafstadium

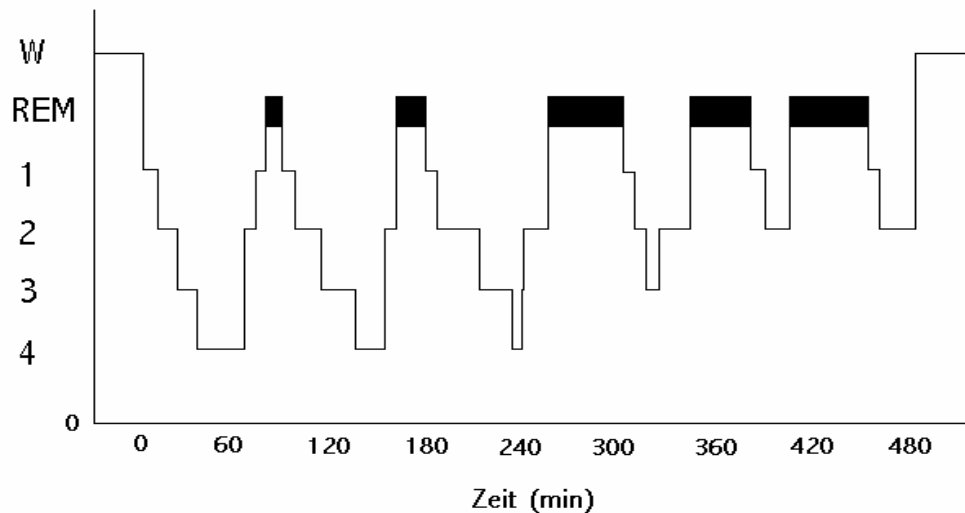


Abb.1.3: Polysomnogramm, idealisiert.

### 1.2.3 Schlafabhängige Gedächtniskonsolidierung

Aufnahme und Verarbeitung von Informationen stellen sehr komplexe Vorgänge dar, die sich derselben neuronalen Netzwerke bedienen, sodass sie, sollten sie gleichzeitig ablaufen, einander gegenseitig behindern würden (Born et al. 2006). Die Forschungsergebnisse und Übersichtsarbeiten der letzten Jahre machen deutlich, dass Schlaf eine wesentliche Rolle bei der Gedächtniskonsolidierung von deklarativen und non-deklarativen Informationen spielt (Born et al. 2006, Tononi & Cirelli 2006, Diekelmann et al. 2009). Im Fokus der Forschung steht nun die Frage nach den beteiligten Faktoren und Mechanismen der Gedächtniskonsolidierung.

#### Reaktivierung und Transfer

Im Wachzustand nimmt das Gehirn beim Lernen die Informationen über die Hirnbereiche auf, die zum Beispiel den Sinnesorganen zugeordnet sind. Dabei werden deklarative und prozedurale Informationen in unterschiedlichen Gehirnstrukturen verarbeitet. So ist – wie oben bereits geschildert – bei der Verarbeitung der deklarativen Inhalte vor allem der Hippocampus beteiligt (Squire & Zola 1996), wohingegen die Verarbeitung prozeduraler Inhalte hauptsächlich mit Aktivierung von Kleinhirn- und Striatum-Strukturen einhergeht (Poldrack et al. 2001).

Im Schlaf werden die Informationen, die als „labile Gedächtnisspuren“ (Diekelmann & Born 2010) vorhanden sind, reaktiviert. Dabei sind dieselben Hirnregionen aktiv wie schon beim Lernen. Durch diesen „Replay“, so vermutet man, werden die Verknüp-

fungen zwischen den beim Lernen gemeinsam aktiven Neuronen gestärkt (Nadasdy et al. 1999, Frankland & Bontempi 2005, Ji & Wilson 2007, Diekelmann & Born 2010). Nach ausreichender Stärkung dieser neuronalen Verbindungen erfolgt dann der Transfer der Informationen in den Neokortex, sodass sie in das Langzeitgedächtnis eingegliedert werden (Frankland & Bontempi 2005, Born et al. 2006, Rasch et al. 2007; Diekelmann & Born 2010).

### **Rolle des Hippocampus**

Beim Lernvorgang und auch bei der Gedächtniskonsolidierung kommt vor allem dem Hippocampus und dem medialen Temporallappen eine besondere Bedeutung zu. Wie oben beschrieben spielt der Hippocampus bei der Aufnahme und Verarbeitung von deklarativen Gedächtnisinhalten eine wichtige Rolle.

Einer der vermutlich wichtigsten Aspekte bei der Konsolidierung ist die Reaktivierung von Inhalten, die dann den Transfer in das Langzeitgedächtnis ermöglicht und die neu gebildeten, kortikalen Verbindungen verstärkt. Ohne die Reaktivierung wäre vermutlich die langfristige Erinnerung des Gelernten nicht möglich (Frankland & Bontempi 2005). Sobald die Erinnerung im Langzeitgedächtnis gespeichert ist, ist der Abruf vom Hippocampus unabhängig. Dieser Prozess kann unter Umständen lange Zeit in Anspruch nehmen. Bei Patienten, bei denen der mediale Temporallappen geschädigt war, beobachtete man, dass sie kürzlich erworbene Informationen nicht speichern konnten, der Abruf von sehr alten Informationen jedoch gelang (Frankland & Bontempi 2005).

Ursprünglich nahm man an, dass non-deklarative Gedächtnisinhalte hippocampus-unabhängig verarbeitet werden. Inzwischen gibt es jedoch Hinweise, dass die unterschiedlichen Gedächtnissysteme voneinander nicht vollkommen unabhängig sind. So beobachteten Schendan und Mitarbeiter (2003), dass Teile des medialen Temporallappens auch beim Lernen von prozeduralen Inhalten aktiv sind. Nunmehr wird weiter postuliert, dass die unterschiedlichen Erinnerungssysteme nicht nur miteinander agieren, sondern sich eventuell auch gegenseitig hemmen können (Poldrack et al. 2001, Fischer et al. 2006). Nichtsdestotrotz wirft die Interaktion zwischen den beiden Gedächtnissystemen noch viele Fragen auf und ist Gegenstand intensiver Forschung.

Es existieren zwei Haupthypothesen, die die Rolle des Schlafes bei der Gedächtniskonsolidierung genauer betrachten: auf der einen Seite steht das **Zwei-Stadien-Modell**, auf der anderen die **Sequenzhypothese**.

Bei dem **Zwei-Stadien-Modell** wird den Nachthälften, in denen jeweils der SWS bzw. der REM-Schlaf dominiert, die Konsolidierung unterschiedlicher Gedächtnisinhalte zugeordnet. So gaben verschiedene Studien deutliche Hinweise darauf, dass der SWS – und damit vor allem die erste Nachthälfte – für die Konsolidierung der deklarativen Gedächtnisinhalte verantwortlich ist (Plihal & Born 1999, Gais & Born 2004, Marshall & Born 2007).

Man beobachtet während des SWS eine auffällig geringe cholinerge Aktivität, was eine spontane Reaktivierung von hippocampalen Gedächtnisinhalten und den Transfer in neokortikale Strukturen fördert. So wurde in Schlafstudien, in denen man mit Physiostigmin in den SWS-reichen Schlafphasen die cholinerge Aktivität deutlich erhöht hat, die hippocampusabhängige Informationsverarbeitung blockiert, was sich in einem schlechteren Abrufergebnis, verglichen mit der Kontrollgruppe, zeigte (Gais & Born 2004). Das legt nahe, dass im SWS hauptsächlich die Gedächtnisinformationen gefestigt werden, die, wie deklarative Informationen, über den Hippocampus verarbeitet werden. Dies beinhaltet eine komplexe Kommunikation zwischen vielen Gedächtnisstrukturen. Die während dieser Schlafphase auftretenden langsamen Oszillationen rühren von einer Synchronisation neuronaler Aktivität her (Lestienne et al. 1997) und fördern, ebenso wie die niedrige cholinerge Aktivität, die Reaktivierung der Gedächtnisspuren und die Kommunikation zwischen Hippocampus und Neokortex. Hiermit vereinbar sind Beobachtungen von Peigneux und Kollegen (2006), welche zeigen, dass nach dem Lernen eine Reaktivierung neuronaler Netzwerke im Hippocampus stattfindet.

Bezüglich der Konsolidierung im REM-Schlaf gibt es unterschiedliche Ansichten: Einige Autoren vertreten die Meinung, dass hier hauptsächlich prozedurale Gedächtnisinhalte konsolidiert werden (Plihal & Born 1999, Rauch et al 2006), andere ziehen die Grenze nicht so scharf und gehen von einer Konsolidierung sowohl von deklarativen als auch prozeduralen Inhalten während REM- und SWS-Phasen aus (Stickgold & Walker 2007, Fogel et al. 2007). Diese Betrachtung der Forschungsergebnisse stimmt mit der zweiten Hypothese, der **Sequenzhypothese** (Giuditta et al. 1995), überein. Hierin wird vor allem dem Aufeinanderfolgen der verschiedenen Schlafphasen eine wichtige Bedeutung beigemessen. Man geht davon aus, dass der größte Erfolg bei der Konsolidierung sowohl der deklarativen als auch der non-deklarativen Gedächtnisinhalte erreicht wird, wenn SWS und REM- Schlaf einander folgen (Giuditta et al. 1995). So stellt man sich vor, dass im REM-Schlaf eine „synaptische Konsolidierung“ der zuvor im SWS transformierten neuen Inhalte stattfindet. Dies scheint mit der beobachteten Desynchronisation der Neurone und einhergehenden hohen cholinergen Aktivität zu korrelieren (Diekelmann & Born 2010).

Eine weitere in der aktuellen Forschung diskutierte alternative Hypothese zur Konsolidierung im Schlaf wird als sog. *synaptic downscaling- Theorie* bezeichnet. Nach dieser Theorie ist der Schlaf nötig, um das nach der Wachphase allgemein erhöhte synaptische Aktivierungsniveau zu senken, damit in der folgenden Wachphase neue Informationen abgespeichert werden können (Tononi & Cirelli 2006). Besonders ausgeprägt potenzierte synaptische Verbindungen bleiben hierbei erhalten, sodass der Schlaf auf diesem Weg die Gedächtnisbildung fördert.

### **1.3 Zentralnervöse Insulineffekte**

In mehreren Studien wurden Insulinrezeptoren in hoher Dichte im Bulbus olfactorius, im zerebralen Kortex, Hippocampus, im limbischen System, Kleinhirn und Hypothalamus entdeckt (Havrankova et al. 1978, Unger et al. 1991). Außerdem fand man heraus, dass exogen appliziertes Insulin die Frequenz der neuronalen Aktivität im Hypothalamus (Oomura & Kita 1981), im Nucleus suprachiasmaticus (Shibata et al. 1986) und im Hippocampus (Palovcik et al. 1984) erhöht.

#### **1.3.1 Intranasale Insulingabe**

Substanzen, unter anderem auch Medikamente, die intranasal verabreicht werden, können über drei verschiedene Wege vom Organismus aufgenommen werden. Häufig werden die Substanzen von der Mukosa aufgenommen und dort relativ schnell eliminiert (Illum et al. 1994). Außerdem können einige Substanzen, je nach Beschaffenheit (molekulares Gewicht, lipophile Eigenschaften), in den Blutkreislauf aufgenommen werden.

Eine dritte Möglichkeit beobachtete Faber bereits im Jahre 1938. Hierbei handelt es sich um einen Transport der nasal verabreichten Substanz in den Bulbus olfactorius und andere zerebrale Strukturen unter Umgehung des Blutkreislaufes. Mehrere Versuche, sowohl an Tieren wie an Menschen, bestätigten diese Beobachtungen (Balin et al. 1986, Sakane et al. 1991). Da es zu einer relativ schnellen Anflutung (10-20 Minuten nach Substanzgabe) im ZNS kommt (Born et al. 2002), schloss man, dass der axonale Transport, der bis zu 24 Stunden dauern kann (Illum 2000), hierfür nicht ursächlich sein kann. Man fand heraus, dass es einen extrazellulären Transport gibt, der über tight junctions verläuft, und vermutete, dass eine Verbindung zwischen der den Nerven umgebenden Submucosa und den Ausstülpungen des Subarachnoidalraums, der hier den perineuralen Raum bildet, existiert (Illum 2000).



Die systemische Gabe von Insulin zur Untersuchung von insulinspezifischer Wirkung auf das ZNS birgt immer die Risiken der Hypoglykämie, welche man vermeiden möchte. Um dennoch die zentrale Insulinwirkung genauer untersuchen zu können, bediente man sich in verschiedenen Studien (Benedict et al. 2004, Reger et al. 2006, Benedict et al. 2008) der intranasalen Insulingabe, da hier keine oder nur eine vernachlässigbare Veränderung des Blutglukosespiegels beobachtet wurde (Born et al. 2002).

### **1.3.2 Insulin und Gedächtnis**

Die oben beschriebene Lokalisation von Insulinrezeptoren im Gehirn deutet darauf hin, dass Insulin Einfluss auf die Gedächtnisbildung haben könnte. Bereits in tierexperimentellen Studien konnte gezeigt werden, dass intracerebroventriculär appliziertes Insulin bei Ratten eine Verbesserung der Gedächtnisleistung hervorruft (Park et al. 2000). Ebenfalls bei Ratten entdeckte man in Normoglykämie und Hyperinsulinämie einen spezifisch gesteigerten Glukoseverbrauch in den Kernen des Hypothalamus (Lucignani et al. 1987). Auch in mehreren Studien an gesunden und an Alzheimer und Demenz erkrankten Probanden konnte bestätigt werden, dass exogen zugeführtes Insulin zu einer Steigerung der deklarativen Gedächtnisleistungen führt (z.B. Craft et al. 1999, Park et al. 2000, Kern et al. 2001, Benedict et al. 2004, Benedict et al. 2008).

In mehreren Humanstudien mit gesunden Probanden konnte man als Effekt auf eine intranasale Insulingabe eine verbesserte deklarative Gedächtnisleistung beobachten: Benedict und Kollegen führten 2004 eine Langzeitstudie durch, in der den gesunden Probanden (24 Männer, 14 Frauen) über acht Wochen intranasales Insulin mit einer täglichen Dosis von vier mal 40 IU Insulin verabreicht wurde. Es gab drei Lerneinheiten, die zu Anfang des Experiments, in der Mitte und am Ende stattfanden und sowohl deklarative als auch prozedurale Aufgaben enthielten. Dann fanden jeweils ein unmittelbarer und ein mit einer Woche verspäteter Abruf statt. Die Ergebnisse zeigten eine signifikante Verbesserung des verspäteten Abrufes der deklarativen, nicht jedoch der prozeduralen Lerninhalte. In einer späteren Studie von Benedict und Kollegen (2008) bestätigte man einen positiven Einfluss des Insulins auf die Lernleistung deklarativer Inhalte. Ebenfalls gesunde Probanden bekamen einmalig eine Dosis von 160 IU intranasalem Insulin. Hieran schloss sich eine Lerneinheit an. Kurze Zeit später erfolgte der Abruf der zuvor gelernten Inhalte. In der Lerneinheit absolvierten die Probanden zunächst eine computergesteuerte Aufgabe, die ähnlich einem „Memory“-Spiel aufgebaut war (two-dimensional[2D] object location task), in der sich die Probanden Bilder und deren Lokalisationen merken sollten. Die anschließende Aufgabe, der Zahlennachsprechttest des Hamburg-Wechsler-Intelligenztests für Erwachse-

ne in seiner revidierten Fassung (HAWIE-R), testet vor allem das verbale Arbeitsgedächtnis. In beiden Aufgaben, die jeweils Teile des deklarativen Gedächtnisses ansprechen, konnte eine signifikante Verbesserung im Abruf der gelernten Inhalte bei den teilnehmenden Frauen, nicht jedoch bei den Männern, verzeichnet werden. Hier konnte zum einen im Humanexperiment ein geschlechtsspezifischer Effekt durch Insulin gezeigt werden, zum anderen eine Verbesserung des verbalen Arbeitsgedächtnisses, das wiederum über die hippocampal-präfrontale Neuronenschleife die Aktivierung des frontalen Kortex initiiert (Petrides et al. 1993). In einer Studie von Kern und Kollegen 2001 wurde beobachtet, dass die deklarative Gedächtnisleistung in Folge einer Insulininfusion verbessert werden konnte. In dieser Studie wurden zwei Gruppen miteinander verglichen, die aus jeweils gesunden Probanden bestanden. Die eine Gruppe erhielt eine gering dosierte Insulininfusion, die zweite eine höher dosierte Infusion. Alle Probanden befanden sich in Normoglykämie. Unter dem Einfluss des Insulins wurde den Probanden eine Geschichte vorgelegt, die sie anschließend wiedergeben mussten. Dabei zeigten die unter dem Einfluss der erhöhten Insulininfusion stehenden Probanden eine bessere Wiedergabe der Geschichte, was auch hier den Schluss nahe legt, dass Insulin einen positiven Einfluss auf das deklarative Gedächtnis ausübte.

Auch in einer Studie mit an der Alzheimerschen Krankheit leidenden Patienten beobachtete man eine verbesserte Wiedergabe einer Geschichte, welche, wie in der oben beschriebenen Studie von Kern und Kollegen (2001), eine deklarative Gedächtnisleistung darstellt, wenn diese zuvor eine Insulininfusion erhalten hatten und nicht gleichzeitig eine Hyperglykämie zeigten (Craft et al. 1999).

Auch wenn der genaue Mechanismus, über den Insulin auf die Gedächtnisbildung wirkt, bislang nicht bekannt ist, so gibt es dennoch mehrere Hinweise hierauf: Zum einen entdeckte man, dass, obwohl Insulin keine Wirkung auf den zerebralen Glukosemetabolismus im Ganzen hat, durch exogen zugeführtes Insulin eine Veränderung des Glukoseverbrauchs in spezifischen Hirnregionen zu verzeichnen war (Lucignani et al. 1987, Marfaing et al. 1990, Marfaing- Jallat et al. 1995). Zum anderen scheint Insulin auch glukoseunabhängig Einfluss auf die Gedächtnisbildung nehmen zu können. Skeberdis et al. (2001) untersuchten die Insulinwirkung auf NMDA-Rezeptoren, die ihrerseits bei der Langzeitpotenzierung von Informationen eine wichtige Rolle spielen. Dabei stellte sich heraus, dass Insulin die Aktivität von NMDA-Rezeptoren erhöht, indem es in den von aktivierten Rezeptoren ausgehenden Signalweg eingreift. So scheint Insulin unter anderem die Speicherung der Informationen in das Langzeitgedächtnis positiv zu beeinflussen. Des Weiteren erhielten Kopf & Baratti (1999) in ihrer Studie Hinweise darauf, dass Insulin die Konzent-

ration oder sogar die Bildung von Neurotransmittern (beispielsweise Acetylcholin) verändert und so Einfluss auf die Gedächtnisbildung haben könnte.

In der intensiven Erforschung von neurodegenerativen Erkrankungen stellt sich aktuell heraus, dass metabolische und kognitive Erkrankungen mit einer verminderten Wirkung von Insulin auf zentralnervöse Strukturen einherzugehen scheinen (Hallschmid & Schulte 2009, Benedict et al. 2011). Frühere Studien geben außerdem Hinweise darauf, dass bei chronischer Hyperinsulinämie, herabgesetzter Insulinwirkung und Insulinresistenz ein negativer Einfluss auf die Gedächtnisbildung besteht (Greenwood & Winocur 2001, Marfaing-Jallat et al. 1995). Es scheint einen Zusammenhang zu geben zwischen verminderter Insulinansprechbarkeit, Fettleibigkeit und Diabetes mellitus Typ II mit dementiellen Erkrankungen wie der Alzheimerschen Krankheit, so unter anderem in der Studie von Whitmer und Kollegen (2008) beschrieben. In dieser Arbeit wurde die Abhängigkeit zwischen Fettleibigkeit in mittleren Jahren und der Entwicklung einer Demenz 30 Jahre später untersucht und es fand sich eine signifikante Korrelation. Ein weiterer Hinweis auf die Abhängigkeit von der Entwicklung einer neurodegenerativen Erkrankung und einer gestörten Insulinansprechbarkeit findet sich bei Patienten, die an der Alzheimer-Krankheit leiden. Bei dieser Patientengruppe beobachteten Mosconi und Kollegen (2009) eine gestörte zerebrale Glukoseregulation. Gleichzeitig deuten Ergebnisse von Craft und Mitarbeitern (1998) darauf hin, dass bei diesen Patienten häufig eine geringe Konzentration von Insulin im Liquor bei gleichzeitiger Hyperinsulinämie in der Peripherie zu finden ist.

Abschließend ist noch zu erwähnen, dass auch die chemische Struktur des Insulins für die Wirkung nach nasalen Applikation, die in einigen oben genannten Studien eingesetzt wurde, eine Rolle zu spielen scheint, sodass beispielsweise schnell wirksame Insulinanaloge die Wirkung des Humaninsulins noch übertreffen. So konnte durch Benedict und Kollegen (2007) eine signifikant stärkere Verbesserung der deklarativen Gedächtnisleistung durch ein auf Aminosäureebene geringfügig verändertes Insulinpräparat (Insulin aspart) gegenüber physiologischem Humaninsulin beobachtet werden. Dieses Insulin aspart wurde, genau wie das unveränderte Insulin, über die Nase appliziert.

### **1.3.3 Insulin und stimmungsverändernde Effekte**

Die Entstehung von Emotion ist an das limbische System gebunden, in dem sich eine hohe Präsenz von Insulinrezeptoren findet (Unger et al. 1991). Dies lässt die Überlegung zu, dass eine Konzentrationserhöhung von Insulin im Liquor auch Veränderungen im Befinden der Probanden auslösen kann.

Kern und Kollegen beobachteten dies in ihrer Studie von 2001. Eine Gruppe mit einer höher konzentrierten Insulininfusion bei Normoglykämie beschrieb eine verminderte Unruhe, eine verminderte Konzentrationsbeeinträchtigung und eine bessere Denkfähigkeit im Vergleich zu einer Gruppe mit einer niedriger dosierten Insulininfusion unter Normoglykämie. Auch Benedict und Mitarbeiter konnten 2004 einen ähnlichen Effekt bei ihrer Studie mit intranasaler Langzeitinsulingabe beobachten. Hier zeigten sich die Patienten mit Insulinbehandlung im Gegensatz zur Placebogruppe selbstbewusster, fühlten sich wohler und ein Gefühl von Ärger wurde in geringerem Maß beschrieben. Über die Dauer der Insulinbehandlung nahmen diese Gefühlsveränderungen weiter zu, gleichzeitig nahm zum Ende der Testzeit das Gefühl, depressiv zu sein, ab.

### **1.3.4 Insulin und metabolische Effekte**

Neben den gedächtnismodulatorischen Effekten konnten auch metabolische Veränderungen durch Insulin beobachtet werden. Insulin spielt als Fettgewebssignal gemeinsam mit Leptin eine entscheidende Rolle im Hypothalamus. Hier sind diese Hormone maßgeblich daran beteiligt, ein ausgeglichenes Verhältnis zwischen anabolen und katabolen Prozessen zu erreichen (Morton et al. 2006). Außerdem wird die Bildung von Leberglukose durch das Insulin supprimiert (Obici et al. 2002).

Darüber hinaus beobachtete man ebenfalls einen Einfluss von intranasal gegebenem Insulin auf das Körpergewicht. So notierten Hallschmid und Kollegen (2004) eine Reduktion des Körpergewichts bei gesunden jungen Männern unter einer Langzeitgabe von Insulin über acht Wochen. Gleichzeitig sank der Leptinspiegel signifikant stärker als unter Placebo. Bei den in gleicher Weise behandelten Frauen des Experiments konnte man diese katabolen Effekte nicht verzeichnen. Im Jahr 2008 beobachteten Benedict und Kollegen dann, dass nur die Männer bei dem im Experiment angebotenen Buffet weniger Essen zu sich nahmen, wenn sie mit Insulin behandelt worden waren, was einen weiteren Hinweis auf einen geschlechtsspezifischen Unterschied in der zentralen Wirkweise des Insulins geben konnte. Weitere Forschungsbemühungen, die Aufschluss über die zentrale Wirkungsweise von Leptin und Insulin im Zusammenhang mit dem Körpergewicht geben sollten, bestätigen gleichzeitig die Annahme, dass es einen geschlechtsspezifischen Unterschied der Insulinwirkung gibt: Im Rahmen ihrer Studie beobachteten Clegg und Kollegen (2006) männliche und weibliche Ratten. Bei einem Teil der männlichen und weiblichen Ratten wurden die testosteron- bzw. östrogenbildenden Organe entfernt. Gleichzeitig bekamen diese Ratten eine bestimmte Menge Östradiol, wie sie natürlicherweise bei weiblichen Tieren endo-

gen produziert wird, verabreicht. Die Ergebnisse zeigten, dass zugeführtes Insulin nur bei den männlichen Ratten ohne Kastration die Nahrungsaufnahme sowie das Körpergewicht reduzierte. Umgekehrt zeigte sich, dass zugeführtes Leptin die Nahrungsaufnahme und das Körpergewicht bei den weiblichen Ratten, den kastrierten weiblichen und männlichen Ratten mit Östradiolersatz reduzierte, aber kaum diesen Effekt bei den männlichen unkastrierten Ratten auslöste.

## **1.4 Zielsetzung**

Anhand der oben beschriebenen Ergebnisse wird deutlich, dass Insulin eine förderliche Wirkung auf die Gedächtnisbildung hat. Unklar ist jedoch, in welchen der gedächtnisbildenden Schritte (Enkodierung, Konsolidierung, Abruf) Insulin beeinflussend eingreift.

Studien, in denen bei einer Langzeitgabe von intranasalem Insulin gedächtnisverändernde Effekte beobachtet wurden (Benedict et al. 2008, Craft et al. 2012), lassen vermuten, dass dies auf einen Einfluss auf die schlafabhängige Gedächtniskonsolidierung zurückzuführen sein könnte. Deshalb soll in dieser Arbeit die Konsolidierung psychologischer Gedächtnisinhalte im Schlaf unter Einfluss intranasal applizierten Insulins untersucht werden. Hierzu sollen deklarative und non-deklarative Gedächtnisinhalte vor dem Nachtschlaf, ohne einen erhöhten Liquorinsulinspiegel, erlernt werden. Im Anschluss daran erfolgt die intranasale Insulingabe, die eine erhöhte Konzentration von Insulin in der im Anschluss folgenden ersten Nachthälfte, und damit in der SWS-reichen Phase der Konsolidierung hauptsächlich deklarativer Inhalte (Plihal & Born 1999, Gais & Born 2004, Marshall & Born 2007), gewährleistet.

Falls die zuvor beschriebenen positiven Effekte des Insulins auf die direkte Wirkung bei der Konsolidierung zurückzuführen sind, dann erwarten wir in diesen Versuchen eine signifikante Verbesserung beim Abruf der deklarativen Gedächtnisinhalte. Der Abruf der non-deklarativen Gedächtnisinhalte sollte unbeeinflusst bleiben. Vor dem Hintergrund der 2008 von Benedict und Kollegen publizierten Studie ist eventuell ein geschlechtsspezifischer Effekt zu erwarten, sodass die Ergebnisse bei den weiblichen Probanden deutlicher ausfallen müssten.

Des Weiteren wird aufgrund der vorbeschriebenen Ergebnisse (s. Kap. 1.3.3) ein Einfluss auf die emotionale Verfassung der Probanden vermutet. Unter Insulineinfluss sollte sich demnach die Stimmung gemessen zur Placebogruppe verbessern.

## **2. Material und Methoden**

### **2.1 Versuchspersonen**

An der vorliegenden Studie nahmen 16 gesunde weibliche und 16 gesunde männliche Probanden aus Lübeck und der näheren Umgebung teil. Der Übersichtlichkeit wegen wird im Folgenden das generische Maskulinum („Probanden“) verwendet, gemeint sind jedoch stets sowohl die weiblichen als auch die männlichen Versuchspersonen. In Fällen, in denen das Geschlecht berücksichtigt werden muss, wird dies explizit formuliert.

Voraussetzung für eine Teilnahme an der Studie waren: Alter 18-35 Jahre, gesund, keine Einnahme von Medikamenten, Body-Mass-Index im Normbereich ( $18,5-25 \text{ kg/m}^2$ ), Nichtraucher, keine Schichtarbeit in den letzten 6 Wochen, keine vegetarische Ernährungsweise, Deutsch als Muttersprache. Bei den Probandinnen kam als Einschlusskriterium eine hormonelle Kontrazeption mit einem östrogenhaltigen Präparat hinzu, um die unterschiedlichen Einflüsse der zyklusbedingten Schwankungen an den beiden Experimentaltagen so ähnlich wie möglich zu halten. So sollte die Experimentalnacht der weiblichen Probanden jeweils in der ersten oder zweiten Woche nach dem monatlichen Einnahmebeginn des Kontrazeptivums liegen.

Alle Probanden wurden ausführlich über die Studie, das Medikament Insulin und die intranasale Gabe aufgeklärt, erteilten schriftlich ihr Einverständnis und erhielten eine Aufwandsentschädigung. Die Studie wurde von der Ethikkommission der Universität zu Lübeck genehmigt. Als Ausschlusskriterien galten aktuelle Drogen- oder Medikamenteneinnahme und das Vorliegen einer akuten oder chronischen Erkrankung, sowie eines Diabetes mellitus Typ I oder II bei den Probanden selbst oder Verwandten ersten Grades. Außerdem durfte kein Hinweis auf eine bestehende Schlafstörung oder eine Nahrungsmittelunverträglichkeit vorliegen. Vor der Teilnahme an der Studie wurden die Probanden nach ihrem Gesundheitszustand und Hinweisen auf das Vorliegen einer kardialen, vaskulären, endokrinen, neurologischen, psychiatrischen oder sonstigen Erkrankung befragt, sowie eine körperliche und laborchemische Untersuchung durchgeführt.

Für die Dauer der Studie wurden die Probanden angewiesen, einen geregelten Schlafrhythmus einzuhalten, am Versuchstag spätestens um 8 Uhr aufzustehen sowie keinen Alkohol und keine koffeinhaltigen Getränke zu sich zu nehmen. Ebenso sollten die Probanden am Versuchstag keinen Extremsport ausüben und keine belastenden Situationen (Prüfungen) erleben. Die Mahlzeiten sollten normal eingehalten werden und am Abend der

Experimentalnacht sollte zuletzt um 18 Uhr eine leichte Mahlzeit eingenommen werden. Zudem durfte weder am Tag vor noch am Tag nach der Experimentalnacht tagsüber geschlafen werden.

## **2.2 Studiendesign und Versuchsablauf**

Die Studie wurde als randomisierte, doppelblinde, placebokontrollierte Studie konzipiert. Jeder Versuchsteilnehmer nahm an zwei Experimentalnächten mit anschließendem Gedächtnisabruf am Abend des folgenden Tages teil und erhielt an einem der beiden Durchläufe Placebo-, am anderen Insulinnasenspray, sodass bei jedem Probanden die Ergebnisse unter Insulineinfluss mit denen ohne Substanzeinfluss verglichen werden konnten (within-subject design). Die Balancierung der Insulin- und Placebogabe über die Durchläufe wurde von einer dritten, an der unmittelbaren Studiendurchführung nicht beteiligten Person aus dem Institut für Neuroendokrinologie der Universität zu Lübeck vorgenommen.

Zwischen der ersten und der zweiten Experimentalnacht lag eine Pause von 28 Tagen, um eine Beeinflussung der zweiten Experimentalphase durch die vorausgegangene zu vermeiden und um, bei den weiblichen Probanden, entsprechend den zyklusbedingten Schwankungen vergleichbare Bedingungen zu schaffen. Da der Schlaf in der ersten Nacht unter Laborbedingungen durch die ungewohnte Umgebung und die Elektroden zur Ableitung des Polysomnogramms oft beeinträchtigt ist, mussten sich die Probanden in einer vor der eigentlichen Studie durchgeführten Eingewöhnungsnacht an die Bedingungen im Schlaflabor gewöhnen. Die vorgesehene Schlafenszeit betrug in allen drei Nächten 8 Stunden.

### **2.2.1 Ablauf einer Experimentalnacht**

Eine Experimentalnacht dauerte von 20 Uhr abends bis ungefähr 10 Uhr am nächsten Morgen. Die Probanden fanden sich um 20:00 Uhr im Institut für Neuroendokrinologie ein und wurden zunächst in den Schlafraum gebracht, in dem sie bereits die Eingewöhnungsnacht verbracht hatten. Nachdem sie sich für die Nacht umgezogen hatten, wurden die Elektroden für die polysomnographischen Aufzeichnungen aufgeklebt und eine Venenverweilkanüle (BD AdsytePro™, 18G, Becton Dickinson S. A., Madrid, Spanien) gelegt. An die Venenverweilkanüle wurde mittels eines kliniküblichen Infusionssystems (Alaris® Infusionsleitung 15 µm Filter, Cardinal Health, Rolle, Schweiz) eine 0,9 %ige NaCl-Infusion (Natriumchlorid-Infusionslösung 154, Berlin-Chemie, Berlin) angeschlossen und langsam, d. h. ca. 50- 70 ml pro Stunde, infundiert, um die Thrombosierung der Kanüle zu verhindern.

Um 21:15 Uhr fand die erste Blutabnahme mit BZ-Messung statt (HemoCue Glucose 201 Analyzer, HemoCue AB, Ångelholm, Schweden) Auch bei allen weiteren Blutabnahmen wurde direkt vor Ort der Blutzucker bestimmt. Gleichzeitig wurden Puls und Blutdruck gemessen.

Von 21:20 Uhr bis ca. 22:20 Uhr fand die Testphase statt, abhängig von der Geschwindigkeit, mit der die Probanden die Aufgaben bearbeiteten. Dazu wurden die Probanden in einen Experimentalraum geführt, in dem sie für die Dauer der Testphase alleine waren. Der Raum war schallisoliert, sodass eine Störung durch Lärm, Stimmen oder ähnliches möglichst gering gehalten wurde.

Die ersten zehn Minuten bestanden aus einem Kontrollblock aus drei psychologischen Tests (näheres s. Kap. 2.3.2), die die momentane Befindlichkeit der Probanden untersuchten. Nach diesem Kontrollblock folgten die eigentlichen Lernaufgaben. Als erstes bekamen die Probanden die Aufgabe, sich die folgenden 20 Wortpaare, die auf dem Bildschirm erscheinen würden, so gut wie möglich zu merken. Das Programm endete, wenn sie 90 % richtig erinnert hatten. Im Anschluss daran lernten die Probanden mit Hilfe eines weiteren Lernprogrammes das so genannte Fingertapping. Hierbei wurde das Tippen mehrere Zahlenfolgen mit der nichtdominanten Hand eingeübt. Anschließend wurde ein weiterer Kontrollblock durchgeführt, der Aufmerksamkeit und Wohlbefinden abprüfte. Näheres zu den Tests und Lernaufgaben ist in Kap. 2.3 aufgeführt.

Nach diesen Tests wurden die Probanden wieder aus dem Experimentalraum herausgeführt und die zweite Blutentnahme folgte. Von 22:20 Uhr bis 22:36 Uhr erfolgte die Insulin- bzw. Placebogabe in Form eines Nasensprays. Die Probanden wurden aufgefordert, über die Dauer von 16 Minuten jeweils ein Mal pro Minute abwechselnd in ein Nasenloch zu sprühen (pro Sprühstoß 0,1 ml, d.h. 10 IU/ Sprühstoß mit einer Gesamtmenge von 160 IU Insulin, entsprechend 1,6 ml Lösung). Im Anschluss daran wurde die dritte Blutabnahme durchgeführt.

Um 22:40 Uhr wurden die Probanden ein letztes Mal in den schallisolierten Experimentalraum geführt, um einen weiteren Kontrollblock zu durchlaufen, in dem ihr momentanes Befinden und ihre Konzentration abgefragt wurde. Anschließend folgten Puls- und Blutdruckkontrolle. Die Probanden konnten sich nun ins Bett legen und wurden zur polysomnographischen Aufzeichnung an den EEG-Verstärker angeschlossen. Nach der vierten Blutabnahme um 22:59 Uhr wurde um 23:00 Uhr das Licht gelöscht.



Während der Nacht erfolgten bis 2:00 Uhr in 20-minütigem, dann in 40-minütigem Abstand weitere Blutabnahmen, die ohne den Probanden zu wecken durchgeführt wurden. Hierzu wurde den Probanden an die Venenverweilkanüle ein klinikübliches Verlängerungssystem angeschlossen, das durch die Wand des Schlafrumes in den Vorraum geleitet wurde. Dadurch konnte die Blutabnahme ohne Beeinflussung des Schlafes erfolgen.

Um 7:00 Uhr morgens wurden die Probanden geweckt, sofern sie sich nicht im Stadium S3 oder S4 („Deltaschlaf“) oder der REM-Phase befanden. In diesem Fall wurde maximal 15 Minuten bis zum Ende dieser Phase abgewartet und die Probanden anschließend geweckt. Nach Puls- und Blutdruckkontrolle blieben die Probanden ruhig im Bett liegen. In Ausnahmefällen wurde ein Toilettengang vorgezogen. Die anschließenden Tests (Kalorimetrie und BIA-Messung) bis zur 22. Blutabnahme wurden zur Erhebung eines weiteren Datensatzes durchgeführt, der im Detail in der Dissertation von Benjamin Rüdell beschrieben wird. Ebenso verhält es sich mit den Ergebnissen der im Ablauf enthaltenen Blutentnahmen. Nach der 22. Blutabnahme folgte wieder ein Kontrollblock im bekannten Experimentalraum zur Abfrage der aktuellen Befindlichkeit und Konzentration, sowie ein Fragebogen zur Selbsteinschätzung der Schlafqualität (SF-A/R, Schlafragebogen A, revidierte Fassung, Görtelmeyer 2005). Um ca. 8:15 Uhr konnten die Probanden in ihrem Schlafrum frühstücken, was ebenfalls der Datenerhebung in der Arbeit von Benjamin Rüdell diente und dort näher beschrieben ist. Um 8:45 Uhr endete die Experimentalnacht mit einer letzten Blutabnahme.

Alle im Ablauf enthaltenen Blutabnahmen ergaben eine Gesamtmenge von 200 ml pro Versuchsnacht und folgendem Abend. Darin enthalten sind 20 Abnahmen à 156 ml, 4 Abnahmen à 19,2 ml, ein kleines Blutbild, Blutzuckertestung und verworfenes Blut.

Eine Übersicht über den zeitlichen Ablauf der Experimentalnacht ist in der nachfolgenden Tab. 2.1 angegeben.

**Tab. 2.1: Übersicht über den Ablauf einer Experimentalnacht**

<b>Uhrzeit</b>	<b>Versuchsabschnitt</b>
20:00 Uhr	Ankunft des Probanden
Anschließend	Befestigen der Elektroden, Legen eines Venenkatheters
21:15 Uhr	1. Blutabnahme
21:20 Uhr	Kontrollblock ( EWL-K, MDBF)
anschließend	Wortpaarlernen, Fingertapping
	1. Kontrollblock ( Vigilanztest, VAS)
22:15 Uhr	2. Blutabnahme
22:20- 22:36 Uhr	Insulin- / Placebogabe als Nasenspray
22:37 Uhr	3. Blutabnahme
22:40 Uhr	2. Kontrollblock (MDBF, Vigilanztest, VAS)
22:59 Uhr	4. Blutabnahme
23:00 Uhr	„Licht aus“
Während der Nacht	Blutabnahme in 20-minütigen (bis 2:00 Uhr) bzw. 40-minütigen (ab 2:00 Uhr) Abständen + BZ-Messung
7:00 Uhr	Wecken
7:10- 7:40 Uhr	Kalorimetrie, danach Toilettengang mit Wiegen
7:50 Uhr	BIA-Messung
7:55 Uhr	22. Blutabnahme
8:05 Uhr	3.Kontrollblock (EWL-K, MDBF, Vigilanz)
8:15 Uhr	Frühstück, Dauer vom Probanden abhängig
ca. 8:45 Uhr	23. Blutabnahme

### **2.2.2 Ablauf des Abrufes am Abend des folgenden Tages**

Um 18 Uhr am Tag nach der Experimentalnacht fanden sich die Probanden wieder im Institut ein. Nach einer erneuten Blutabnahme wurden sie, wie zuvor, in den gleichen schallisolierten Experimentalraum geführt. Dort folgten ein Befindlichkeitstestblock, eine weitere Lerneinheit (im Folgenden „Interferenzlernen“ genannt, s.a. Kap. 2.3.1), bestehend aus Wortpaarlernen und Fingertapping, eine Abrufeinheit, bei der zuerst die gelernten Wortpaare (die vom Vorabend und die gerade eben gelernten) und dann die Tippabläufe (ebenfalls in der Reihenfolge, in der gelernt wurde) abgeprüft wurden, und ein letzter Kontrollblock.

Im Anschluss gaben die Probanden ihre Einschätzung über das erhaltene Medikament zu Papier (Placebo/Verum) und beantworteten die Frage, ob sie zwischen Lernen und Abruf an die Lerninhalte gedacht hatten.

**Tab. 2.2 : Übersicht über den Ablauf eines Abrufs der Gedächtnisaufgaben**

<b>Uhrzeit</b>	<b>Versuchsabschnitt</b>
18:00 Uhr	Ankunft des Probanden, Blutentnahme
Anschließend	Kontrollblock (EWL-K, MDBF, Ratings)
	Lernen (2.Wortpaarlernen, 2.Fingertapping)
	1.Abruf (Wortpaare vom Vorabend und Interferenzlernen)
	2.Abruf (Fingertapping vom Vorabend und Interferenzlernen)
	Wortflüssigkeitstest
	Ratings (Hunger, Durst, Müdigkeit)
ca. 19 Uhr	Selbsteinschätzung der Probanden

## **2.3 Material**

### **2.3.1 Wortpaarlernen und Fingertapping**

In der Studie wurden zwei Arten von Gedächtnistests angewendet. Zum einen sollten die Probanden Wortpaare lernen, zum anderen mussten sie Bewegungsabläufe mit den Fingern der nicht dominanten Hand einüben.

#### **Wortpaarlernen**

Zur Untersuchung der deklarativen Gedächtnisleistung wurden jeweils Listen von 30 Wortpaaren verwendet. Jedem Probanden wurde zunächst eine Beschreibung der folgenden Aufgabe vorgelesen, um auf eventuelle Nachfragen Rücksicht nehmen zu können und um zu garantieren, dass die Aufgabe immer gleich ausgeführt wurde. In der Aufgabe bekamen die Probanden 20 verschiedene, unassoziierte Wortpaare, wie z.B. Fisch - Canasta, auf dem Bildschirm für jeweils vier Sekunden gezeigt, die sie sich merken mussten. In einem nächsten Schritt wurde ihnen nur noch der erste Teil des Wortpaares (A) gezeigt und den zweiten (B) mussten sie eintippen. Anschließend wurde ihnen das richtige zweite Wort präsentiert und sie selbst mussten nun ihr Wort mit dem richtigen vergleichen. Wenn mindestens 90 %, also 18 Wortpaare, richtig erinnert wurden, war die Lerneinheit beendet, andernfalls wurde die gesamte Einheit wiederholt.

Am Folgetag nachmittags wurden nochmals Wortpaare gelernt, wobei das erste Wort (A) der Wortpaare dasselbe war wie beim Lernvorgang des Vorabends. Das zweite Wort (C) war ein neues, ebenfalls unassoziertes Wort. Die Art des Lernens war komplett vergleichbar mit der des ersten Lernens. Die hier angewandte Methode des Interferenzlernens wurde eingesetzt, um eventuelle Effekte des Insulins auf die Gedächtniskonsolidierung sensitiver zu erfassen und die individuellen Unterschiede beim Lernen und Wiedergeben zu minimieren (Ellenbogen et al. 2006).

Beim Abruf wurde den Probanden nun eine Liste gereicht, auf der drei Spalten (A/B/C) zu sehen waren. Auf dem Bildschirm erschienen nacheinander die ersten Worte (A) der Wortpaare vom ersten und zweiten Lernen. Die Aufgabe der Probanden bestand darin, das gezeigte Wort in die erste Spalte einzutragen. In die zweite (B) und dritte Spalte (C) sollten sie die Wörter eintragen, die sie dazu gelernt hatten, soweit sie diese erinnerten. Wenn sie nicht mehr sicher sagen konnten, zu welchem Zeitpunkt sie die erinnerten Wörter gelernt hatten, sollten sie diese mit einem Sternchen markieren. Den Wechsel der Anzeige der Wörter auf dem Bildschirm konnten die Probanden selbst bestimmen.

Bei der Auswertung wurden nur diejenigen Wörter als korrekt gezählt, die richtig erinnert und in die richtige Spalte (B oder C) eingetragen wurden. Alle richtig erinnerten, aber der falschen Spalte zugeordneten Wörter wurden nicht als korrekt gezählt.

## **Fingertapping**

Das prozedurale Gedächtnis bzw. dessen motorischer Anteil wurde mit dem sog. Fingertapping untersucht (entnommen aus Walker et al. 2003). Hierbei lernten die Probanden Bewegungsabläufe mit den Fingern der nicht dominanten Hand. So bekam zum Beispiel ein Rechtshänder die Aufgabe, die Zahlen eins bis vier der vor ihm liegenden Tastatur so zu tippen, dass der linke kleine Finger auf der Eins und der Zeigefinger auf der Vier platziert wurde.

Zunächst wurden einige Testabfolgen zur Gewöhnung durchgeführt. Im Lernprozess wurde dann eine Zahlenkombination aus fünf Ziffern zum Nachtippen angezeigt. Dabei wurden die Probanden angehalten, die Aufgabe so korrekt und schnell wie möglich durchzuführen. Die Zahlenkombination wurde in zwölf Testblöcken à 30 s eingeübt, wobei die Zahlenfolge die ganze Zeit über sichtbar war, damit die Probanden sich die Folge nicht deklarativ merken mussten und eine Beteiligung des Arbeitsgedächtnisses somit soweit wie möglich verringert war. Ein Tastendruck wurde lediglich mit einem weißen Punkt auf dem Bildschirm bestätigt, die gedrückte Ziffer selbst wurde nicht angezeigt, um kein visu-

elles Feedback über die Genauigkeit zu geben. Zwischen den Sequenzen wurde jeweils eine kurze Pause zur Entspannung eingebaut. Kurz vor einem Testblock ertönte über einen Lautsprecher ein kurzer Signalton um die Aufmerksamkeit zu erhöhen.

Auch bei diesem Test mussten die Probanden neben der eigentlichen „Zielsequenz“ am Abend der Experimentalnacht eine weitere „Interferenzsequenz“ kurz vor dem Abruf am Abend nach der Experimentalnacht lernen. Der Abruf erfolgte für jede Zahlenfolge getrennt und bestand aus jeweils drei Abrufdurchläufen. Auch hier wurde in der gleichen Reihenfolge, in der gelernt wurde, abgefragt, zuerst also die Zielsequenz gefolgt von der Interferenzsequenz. Gewertet wurde die Anzahl korrekter Sequenzen pro 30 Sekunden, wobei aus den drei Abrufdurchläufen der Mittelwert gebildet und verglichen wurde.

### **2.3.2 Befindlichkeits- und Aufmerksamkeitstests**

Vor und nach der Lerneinheit, nach dem Schlafen und vor und nach dem Abruf wurden jeweils Kontrollblöcke eingeschoben, um die Befindlichkeit und die Aufmerksamkeit der Probanden zu erfassen.

#### *EWL-K: Kurzversion der Eigenschaftswörterliste*

Zunächst wurde den Probanden eine Kurzversion der Eigenschaftswörterliste (EWL-K, Janke & Debus 1978) vorgelegt. Der Test besteht aus einer Liste von 123 Adjektiven zur Erfassung der aktuellen emotionalen Stimmung und Befindlichkeit, als Antwort ist ein dichotomes Format „trifft zu“ vs. „trifft nicht zu“ vorgegeben. Die Probanden mussten bei allen Adjektiven angeben, ob ihre momentane Stimmungs- und Gefühlslage durch das jeweilige Adjektiv korrekt beschrieben wurde („trifft zu“) oder eben nicht („trifft nicht zu“). Diese 123 Adjektive können in 14 Dimensionen zusammengefasst werden: Aktiviertheit, Desaktiviertheit, Müdigkeit, Benommenheit, Introvertiertheit, Extrovertiertheit, Selbstsicherheit, gehobene Stimmung, Erregtheit, Empfindsamkeit, Ärger, Ängstlichkeit, Depriermiertheit, Verträumtheit. Zur Auswertung des EWL-K wurden für jede Dimension die von den Probanden als zutreffend markierten Adjektive gezählt, gemittelt und verglichen.

#### *MDBF: Der mehrdimensionale Befindlichkeitsbogen*

Als weitere Selbsteinschätzung der Stimmung wurde vor dem Lernen, nach der Insulingabe, nach dem Schlafen und vor dem Abruf der mehrdimensionale Befindlichkeitsbogen (Steyer et al. 1997) vorgelegt. Die Selbsteinschätzung wird hier mit einer 5 Punkte-Skala abgefragt, die die Kategorien gute/schlechte Stimmung, Wachheit/Müdigkeit, Ru-

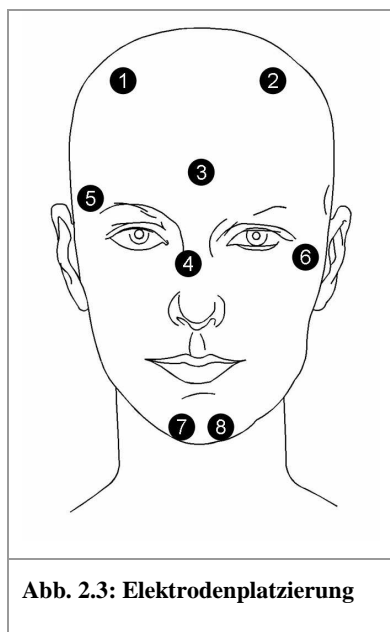
he/Unruhe abprüft. Die Probanden mussten ihre augenblickliche Stimmung beschreiben, indem sie die angebotenen 12 Adjektive (zufrieden, ausgeruht, ruhelos, schlecht, schlapp, gelassen, müde, gut, unruhig, munter, unwohl, entspannt) jeweils von 1 (trifft überhaupt nicht zu) bis 5 (trifft absolut zu) bewerteten.

### *Vigilanztest*

Am Ende jedes Kontrollblocks wurde mit einem einfachen Vigilanztest am Computer die momentane Aufmerksamkeit überprüft. Hierbei erschien ein Punkt (Durchmesser ca. 10 mm) alle 2, 4, 6, 8 oder 10 Sekunden auf der rechten oder auf der linken Bildschirmseite. Die Probanden mussten daraufhin so schnell wie möglich jeweils die korrespondierende Schlüsseltaste drücken. Eine prompte Rückmeldung in Form der angezeigten Reaktionszeit (in ms) bei richtigem Tastendruck und einem „Falsch“ bei nicht korrektem Tastendruck diente als Feedback. Die Aufgabe umfasste 40 Versuche (jeweils 20 für jede Bildschirmhälfte) und dauerte maximal 5 min. Die Reaktionszeit, die Rate der falschen Versuche und die Anzahl nicht erfüllter Versuche (Reaktionszeit > 500 ms) wurden dabei registriert.

## **2.4 Polysomnographische Aufzeichnungen und Schlafstadien**

Die polysomnographische Aufzeichnung wurde mit den Geräten BrainAmp (BrainProducts GmbH, Gilching) oder Neurofax (Nihon Kohden, Tokio, Japan) vorgenommen. Es wurden ein EEG, EOG (vertikale und horizontale Augenbewegungen) und EMG abgeleitet. Als



**Abb. 2.3: Elektrodenplatzierung**

Elektroden wurden Silber-/Silberchlorid (Ag/AgCl)-Elektroden eingesetzt, die wie folgt platziert wurden: Zur Ableitung des EEGs wurden zwei Elektroden über zentralen Regionen des Kortex platziert (C3 und C4 des internationalen 10:20-Systems, in Abb. 2.3 mit 1 und 2 bezeichnet) und jeweils gegen die als Referenzelektrode am seitlichen Nasenflügel (Position 4 in Abb. 2.3) befestigte Elektrode abgeleitet. Zusätzlich wurden noch jeweils zwei Elektroden über der Temporalregion und der Okzipitalregion platziert, die in der Abbildung nicht eingezeichnet wurden. Auch diese Elektroden wurden über die oben bezeichnete Referenzelektrode abgeleitet. Das EOG wurde mittels

zweier auf einer diagonalen Linie zwischen rechtem oberen und linkem unteren Orbitarand platzierten Elektroden (Positionen 5 und 6 in Abb. 2.3) aufgezeichnet, das EMG entspre-

chend mit zwei am Kinn platzierten Elektroden (Positionen 7 und 8 in Abb. 2.3). Zur Erdung wurde eine mittig auf der Stirn (Position 3 in Abb. 2.3) befestigte Elektrode verwendet.

Die Aufzeichnungen wurden entsprechend den Kriterien von Rechtschaffen und Kales (1968) ausgewertet, wobei neben dem EEG auch der Muskeltonus und die Augenbewegungen betrachtet und in jeweils 30-Sekunden-Epochen den Schlafstadien zugeordnet wurden. Bei der Auswertung wurden die in Kapitel 1.2.1 beschriebenen Schlafstadien S1, S2, S3, S4 und REM unterschieden. Zusätzlich wurden noch gesonderte Bereiche markiert, die als „Movement-Time“ bezeichnet werden. Sie kündigen häufig einen Wechsel in eine andere Schlafphase an und sind gekennzeichnet durch eine kurze, erhöhte Muskelaktivität und ein EEG-Muster, das keiner der anderen Schlafstadien zuzuordnen ist.

## **2.5 Insulin und Placebo**

In dieser Studie wurde als Insulinpräparat Humaninsulin (Actrapid; Novo Nordisk, Mainz, Germany) verwendet. Als Placebosubstanz wurde eine bis auf das Insulin inhaltsgleiche, d.h. kresolhaltige Lösung mit den gleichen olfaktorischen Eigenschaften, eingesetzt, um den Probanden die Unterscheidung unmöglich zu machen.

## **2.6 Statistische Auswertung**

Zur statistischen Untersuchung von Unterschieden zwischen den beiden Versuchsbedingungen (Insulin vs. Placebo) wurden Varianzanalysen mit Messwiederholungen (analysis of variance, ANOVA) eingesetzt. Messwiederholungsfaktoren waren dabei die Versuchsbedingung (Insulin/Placebo) und die Zeit, der Zwischensubjektfaktor das Geschlecht der Probanden. Die Freiheitsgrade wurden, wo notwendig, nach Greenhouse-Geisser korrigiert. Signifikante Bedingungs- oder Interaktionseffekte (Bedingung x Geschlecht, Bedingung x Zeit oder Bedingung x Geschlecht x Zeit) wurden mit weiteren Varianzanalysen und gepaarten t-Tests aufgeschlüsselt. Eine Irrtumswahrscheinlichkeit von  $p < 0,05$  wurde als signifikant,  $p < 0,01$  als hochsignifikant und  $p < 0,1$  als Trend angesehen. Alle Daten werden als Mittelwerte  $\pm$  Standardfehler (SEM) präsentiert.

### 3. Ergebnisse

#### 3.1 Schlafdaten

Die aufgezeichneten Daten wurden nach den Kriterien von Rechtschaffen und Kales in Episoden von jeweils 30 Sekunden einem Schlafstadium zugeordnet. Aufgrund einer fehlerhaften Datenaufzeichnung konnte der Datensatz von einem Probanden nicht ausgewertet werden, sodass sich hier eine Fallzahl von n=31 ergibt.

Es ließen sich keine signifikanten Unterschiede in der Schlafarchitektur zwischen der Insulin- und der Placebobedingung feststellen (alle  $p > 0,05$ ). Die detaillierte Auflistung findet sich in der folgenden Tabelle:

**Tab. 3.1: Überblick über die Schlafarchitektur der Probanden.**

	Insulin		Placebo		t-Test
	Mittelwert	SEM	Mittelwert	SEM	p
Gesamtschlafdauer (min)	460	3,3	459	4,9	0,71
Wach (min)	8,8	2,7	7,6	2,2	0,72
S1 (min)	35,6	4,1	34,0	4,1	0,62
S2 (min)	249,0	6,5	250,0	7,2	0,87
S3 (min)	36,8	3,3	36,8	3,4	0,97
S4 (min)	35,2	4,8	35,2	5,1	1,00
REM (min)	90,6	4,1	90,3	4,7	0,94
Wach (%)	2,0	0,6	1,7	0,5	0,76
S1 (%)	7,8	0,9	7,5	0,9	0,76
S2 (%)	54,1	1,4	54,5	1,5	0,74
S3 (%)	8,0	0,7	8,1	0,8	0,87
S4 (%)	7,6	1,0	7,5	1,1	0,93
REM (%)	19,7	0,9	19,6	0,9	0,93

Auch bei der Befragung nach der subjektiven Schlafqualität mittels SF-A/R-Fragebogen gaben die Probanden keine signifikanten Unterschiede zwischen der Insulin- und der Placebonacht an. Lediglich bei der Frage nach dem Empfinden vor dem Einschlafen („Wie fühlten Sie sich gestern vor dem Schlafengehen?“) kreuzten die Probanden nach der Insulinnacht signifikant **weniger** häufig die Antwortmöglichkeit „entspannt“ an ( $2,84 \pm 0,18$  mal vs.  $3,16 \pm 0,12$  mal unter Placebo; t-Test:  $p=0,048$ ) und trendweise **weniger** häufig die Antwortmöglichkeit „erschöpft“ (Insulin:  $2,09 \pm 0,18$  mal, Placebo:  $2,41 \pm 0,14$  mal; t-Test:  $p=0,096$ ).



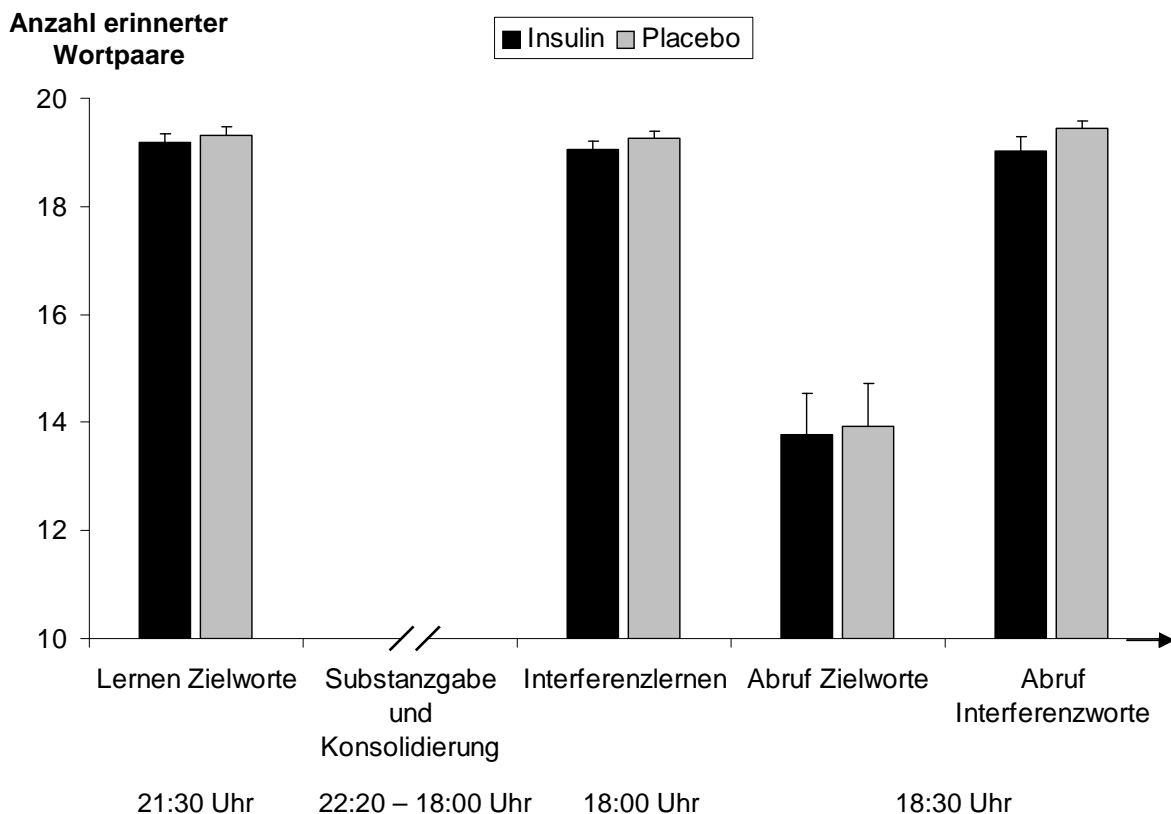
## 3.2 Gedächtnistests

### 3.2.1 Wortpaarlernen

Um bei der Lerneinheit die geforderten 90%, also mindestens 18 Wortpaare, zu erreichen, benötigten die Probanden in der Insulinbedingung durchschnittlich 1,94 ( $\pm 0,12$ ) Durchgänge und erinnerten dann durchschnittlich 19,19 ( $\pm 0,16$ ) Wortpaare, in der Placebobe- dingung benötigten sie im Mittel 1,88 ( $\pm 0,12$ ) Durchgänge, um 19,31 ( $\pm 0,15$ ) Wortpaare zu erinnern (in Klammern angegeben ist jeweils der Standardfehler [SEM]). Beim Interfe- renzlernen am Abend des darauf folgenden Tages vor dem Abruf erreichten die Probanden ähnliche Ergebnisse: Insulin: 2,22 ( $\pm 0,12$ ) Durchgänge; 19,06 ( $\pm 0,16$ ) Wortpaare, Place- bo: 2,19 ( $\pm 0,12$ ) Durchgänge; 19,25 ( $\pm 0,15$ ) Wortpaare (sämtliche Werte ohne signifikante Unterschiede,  $p > 0,05$  für jeden Vergleich). Maximal wurden vier, beim Interferenzler- nen maximal fünf Durchgänge benötigt.

Beim Abruf der am Abend zuvor gelernten Wortpaare („Zielworte“) zeigten sich **keine** signifikanten Unterschiede zwischen der Insulin- und der Placebobe- dingung sowohl über die Gesamtheit der Probanden betrachtet (durchschnittlich erinnerte Wortpaare  $\pm$  SEM: Insulin:  $13,78 \pm 0,76$ ; Placebo:  $13,94 \pm 0,79$ ; t-Test:  $p=0,83$ ; in Relation zur Anzahl der im Lerndurchlauf erinnerten Wortpaare: Insulin:  $71,86\% \pm 3,92\%$ ; Placebo:  $71,90\% \pm 3,98\%$ ; t-Test:  $p=0,99$ ), als auch bei der Differenzierung zwischen Frauen und Männern (Interakti- onseffekt Substanz x Geschlecht in der ANOVA:  $p=0,59$ ).

Die erst kurz vor dem Abruf gelernten „Interferenzworte“ wurden zeitgleich mit den Zielworten abgefragt. Ohne Differenzierung zwischen männlichen und weiblichen Probanden findet sich auch hier kein signifikanter, durch die Substanzgabe hervorgerufe- ner Unterschied: Insulin:  $19,03 \pm 0,27$  ( $99,97\% \pm 1,53\%$ ) Wortpaare vs. Placebo:  $19,44 \pm 0,14$  ( $101,11\% \pm 0,92\%$ ) Wortpaare, t-Test:  $p=0,11$  bzw.  $p=0,47$  für die relative Betrach- tungsweise. In der nachfolgenden Abbildung werden die hier aufgeführten Werte in zeitli- cher Reihenfolge der Erhebung nochmals visuell dargestellt.

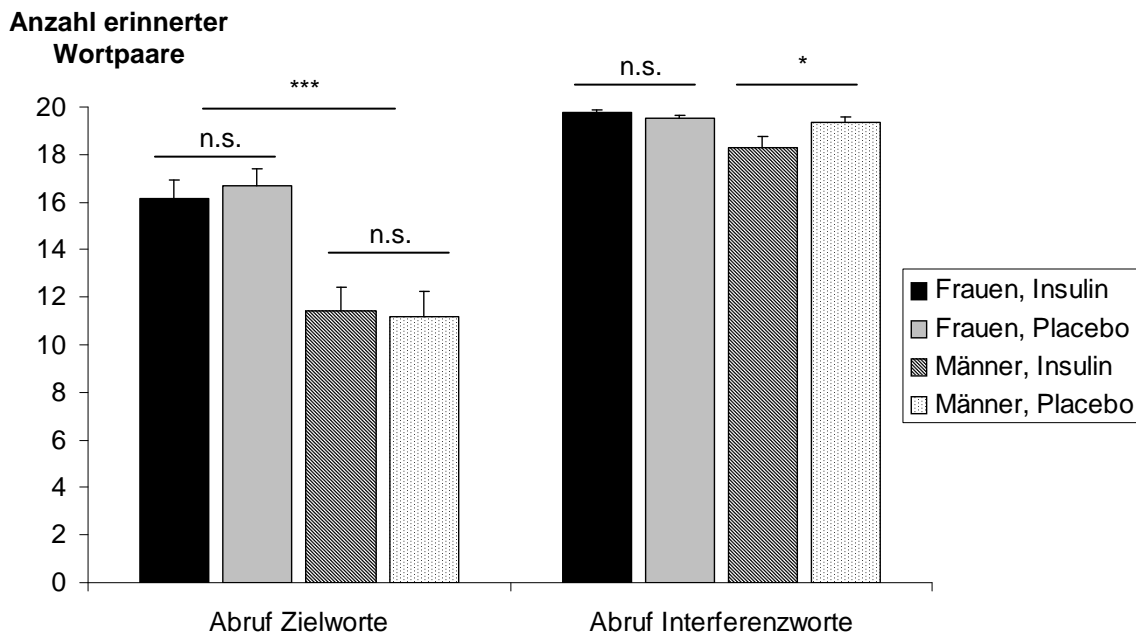


**Abb. 3.1: Deklaratives Gedächtnis: Ergebnisse des Wortpaarlernens.** Angegeben ist die von allen Probanden durchschnittlich erreichte Anzahl korrekter Wortpaare zu den jeweiligen Zeitpunkten. Es finden sich keine signifikanten Unterschiede zwischen der Insulin- und der Placebobedingung. Die Fehlerbalken kennzeichnen den Standardfehler. Um den oberen Bereich des Leistungsspektrums deutlicher zu präsentieren, beginnt die Ordinate beim Wert 10.

Betrachtet man nun die Ergebnisse geschlechtsspezifisch differenziert, so findet sich beim Abruf der **Zielwörter** zwar kein signifikanter Unterschied zwischen der Insulin- und der Placebobedingung, wohl aber ein hochsignifikanter Unterschied zwischen den Geschlechtern: Durchschnittlich erinnerten sich die Frauen unter Insulingabe an  $16,13 \pm 0,82$  ( $83,90\% \pm 4,34\%$ ) Wortpaare vs.  $16,69 \pm 0,71$  ( $85,90\% \pm 3,59\%$ ) Wortpaare unter Placebo (t-Test:  $p=0,55$  bzw.  $p=0,68$  für die relative Betrachtungsweise), die Männer an  $11,44 \pm 0,99$  ( $59,83\% \pm 5,05\%$ ) Wortpaare unter Insulin vs.  $11,19 \pm 1,05$  ( $57,91\% \pm 5,16\%$ ) Wortpaare unter Placebo (t-Test:  $p=0,83$  bzw.  $p=0,74$  für die relative Betrachtungsweise). Die weiblichen Probanden schnitten also unabhängig von der Versuchsbedingung hochsignifikant **besser** ab als die männlichen (Geschlechtseffekt in der ANOVA:  $p<0,001$ ).

Beim Abruf der **Interferenzwörter** findet sich mit  $p=0,005$  in der ANOVA ein signifikanter Interaktionseffekt Substanz x Geschlecht: Hier erinnerten sich die *Männer* in der Insulinbedingung signifikant **schlechter** an die kurz zuvor gelernten Interferenzworte (durchschnittlich erinnerte Wortpaare  $\pm$  SEM:  $18,31 \pm 0,45$  vs.  $19,38 \pm 0,24$  unter Placebo, t-Test:  $p=0,016$ ). Auch prozentual im Hinblick auf die Anzahl der im Lerndurchlauf erinnerten Wortpaare gesehen findet sich dieser Unterschied (Insulin:  $95,87\% \pm 2,52\%$ ; Place-

bo:  $100,80\% \pm 1,53\%$ ; t-Test:  $p=0,066$ ), der mit dieser Auswertung damit aber knapp unterhalb des Signifikanzniveaus liegt. Bei den *Frauen* konnte dieser Effekt nicht beobachtet werden (Absolutwerte: Insulin:  $19,75 \pm 0,14$ ; Placebo:  $19,50 \pm 0,16$ ; t-Test:  $p=0,216$ ; Relativwerte: Insulin:  $104,08\% \pm 1,07\%$ ; Placebo:  $101,42\% \pm 1,06\%$ ; t-Test:  $p=0,08$ ). Die geschlechterdifferenzierte Auswertung des Abrufs wird durch die folgende Abbildung visualisiert.



**Abb. 3.2: Differenzierung der deklarativen Gedächtnisleistung nach Geschlecht.** Beim Abruf der am Vorabend gelernten Zielworte erzielten die Frauen hochsignifikant bessere Ergebnisse als die Männer, ein signifikanter Substanzeffekt findet sich nicht. Beim Abruf der kurz zuvor gelernten Interferenzworte schneiden die Männer nach der Insulingabe signifikant schlechter ab. Sternchen (\*) weisen auf signifikante ( $p<0,05$ ), drei Sternchen (\*\*\*) auf hochsignifikante ( $p<0,001$ ) Unterschiede hin, die Fehlerbalken kennzeichnen den Standardfehler.

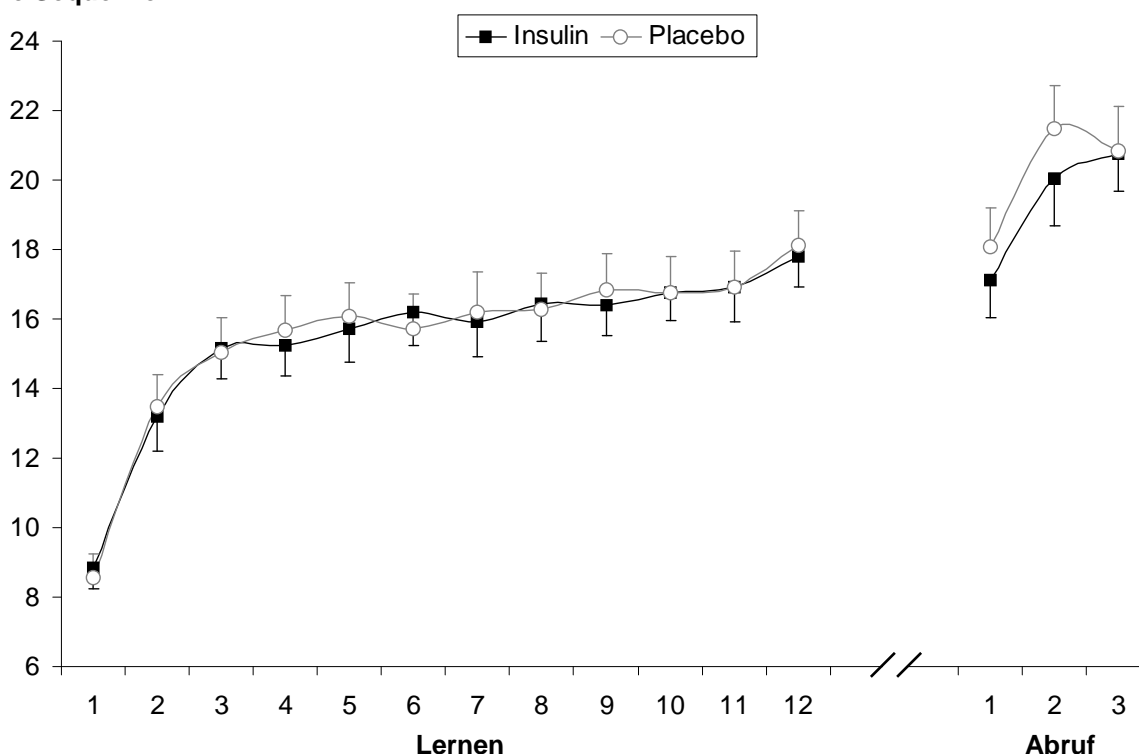
### 3.2.2 Fingertapping

Ausgewertet wurde die Anzahl von korrekten Sequenzen, die die Probanden während der jeweils 30 Sekunden dauernden Durchläufe erzielten. Während des Lernvorgangs konnten die Probanden einen hochsignifikanten Leistungszuwachs erzielen (ANOVA für Zeit:  $p=0,0001$ ): Die mittlere Anzahl korrekter Sequenzen der ersten drei Durchläufe betrug ( $\pm$  SEM), Insulin vs. Placebo:  $12,40 \pm 0,76$  vs.  $12,35 \pm 0,83$ . Demgegenüber markant höher lag die Leistung in den letzten drei Durchläufen:  $17,16 \pm 0,83$  vs.  $17,26 \pm 0,96$ . Zwischen den Bedingungen fand sich kein signifikanter Unterschied (ANOVA Zeit x Bedingung:  $p>0,84$ ; Zeit x Bedingung x Geschlecht:  $p>0,73$ ). Auch beim Interferenzlernen konnte ein signifikanter Leistungszuwachs beobachtet werden, wobei dieser in der Insulinbedingung

trendweise, an der Grenze zur Signifikanz, schlechter ausfiel als unter Placebo (ANOVA Zeit x Bedingung:  $p=0,054$ ). Betrachtet man die ersten und die letzten drei Durchläufe jeweils gemittelt gegeneinander, so findet sich ein signifikanter Unterschied zwischen den Bedingungen: erste drei Durchläufe, Insulin vs. Placebo:  $14,77 \pm 0,89$  vs.  $14,80 \pm 0,93$ , t-Test:  $p=0,96$ ; letzte drei Durchläufe:  $17,77 \pm 0,87$  vs.  $19,47 \pm 0,94$ ; t-Test:  $p=0,009$ . In der Varianzanalyse konnte hier kein signifikanter Einfluss des Geschlechtes festgestellt werden ( $p>0,30$  für alle Vergleiche).

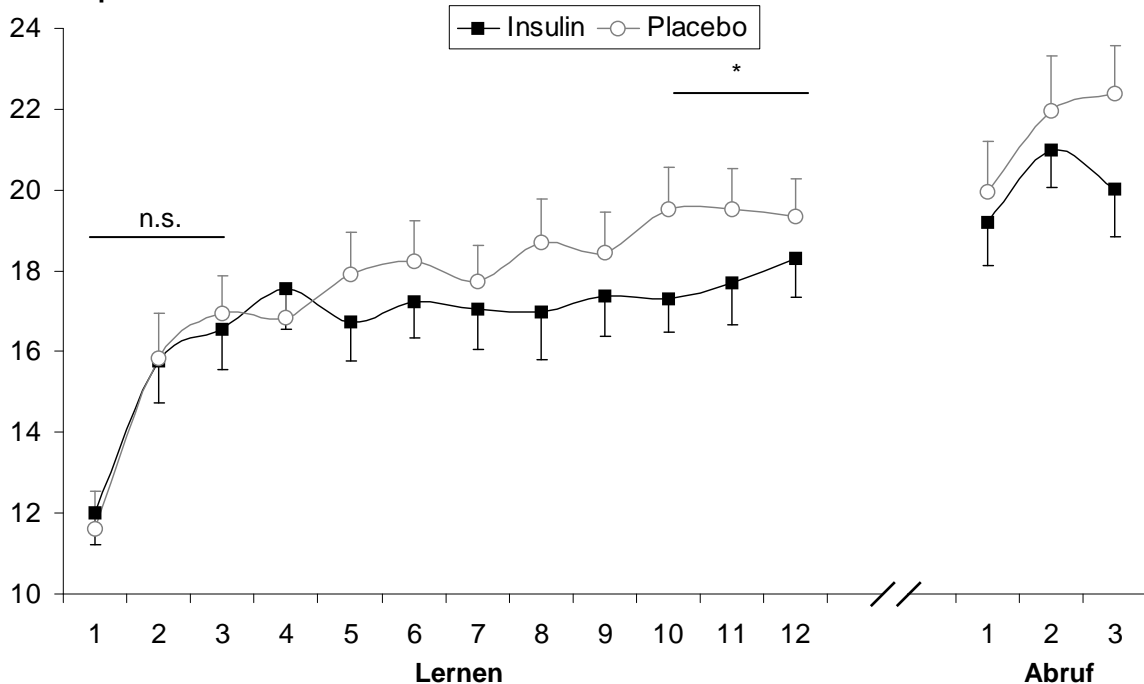
Beim Abruf der Sequenzen wurde aus den drei Durchläufen der Mittelwert gebildet und verglichen. Im Falle der am Vorabend gelernten Zielsequenz ergaben sich keine signifikanten Unterschiede zwischen Insulin und Placebo:  $19,30 \pm 1,13$  vs.  $20,14 \pm 1,17$ , t-Test:  $p=0,36$ . Im Falle der Interferenzsequenz konnte zwar kein signifikanter Unterschied, konsistent mit den Beobachtungen der letzten drei Durchläufe des Lernens jedoch ein Trend zu weniger korrekten Sequenzen in der Insulinbedingung beobachtet werden:  $20,08 \pm 0,97$  vs.  $21,45 \pm 1,21$  unter Placebo, t-Test:  $p=0,092$ . Auch beim Abruf lag kein signifikanter Einfluss des Geschlechtes auf die Ergebnisse vor ( $p>0,48$  für alle Vergleiche).

#### Korrekt eingegebene Sequenzen



**Abb. 3.3: Fingertapping-Aufgabe, Zielsequenz.** Dargestellt sind die korrekt eingegebenen Sequenzen pro 30-sekündigem Durchlauf zuerst während des Lernens und dann im etwa 9 Stunden späteren Abruf. Während des Lernens konnte in beiden Bedingungen eine signifikante Steigerung der korrekten Sequenzen beobachtet werden, die Ergebnisse im Abruf sind von der Substanzgabe unbeeinflusst. Die Fehlerbalken kennzeichnen den Standardfehler.

### Korrekt eingegebene Sequenzen



**Abb. 3.4: Fingertapping-Aufgabe, Interferenzsequenz.** Die bereits bei der Zielsequenz beobachtete Leistungsverbesserung während des Lernens fällt in der Insulinbedingung trendweise ( $p=0,054$ ) schlechter aus, auch im kurz darauf durchgeführten Abruf lässt sich gemittelt ein Trend erkennen. Sternchen (\*) kennzeichnen signifikante Unterschiede, das kleine t kennzeichnet einen Trend ( $0,05 < p < 0,1$ ), die Fehlerbalken visualisieren den Standardfehler. Die Linien, die drei Durchläufe umfassen, kennzeichnen signifikante, trendweise oder nicht-signifikante Unterschiede der Mittelwerte dieser Durchläufe.

### 3.3 Befindlichkeitstests

Wie in Kap. 2.3.2 beschrieben, erhielten die Probanden die Kurzform der *Eigenschaftswörterliste* (EWL-K) zur Erfassung ihrer momentanen Stimmung und Befindlichkeit. Sie erhielten diese Liste ganz zu Beginn des Experiments (ca. 21:15 Uhr), am Morgen nach der Experimentalnacht (ca. 8:05 Uhr) und am Abend des gleichen Tages vor dem Abruf (ca. 18:00 Uhr). Der Test besteht aus 123 Adjektiven, die in 14 Dimensionen zusammengefasst werden, versehen mit den Antwortmöglichkeiten „trifft zu“ und „trifft nicht zu“. Zur Auswertung wurde gezählt, wie häufig die jeweiligen Adjektive pro Dimension mit „trifft zu“ angekreuzt worden waren. Ein hoher Wert bedeutet also ein starkes Empfinden der jeweiligen Emotion, ein niedriger Wert dementsprechend ein geringes.

In den mit der EWL-K erfassten Stimmungen ergaben sich folgende signifikante Unterschiede: Vor dem Abruf um 18:00 Uhr fühlten sich die Probanden in der Insulinbedingung signifikant **weniger** benommen (Mittelwerte  $\pm$  SEM: Insulin:  $0,10 \pm 0,07$ ; Placebo:  $0,28 \pm 0,10$ ; t-Test:  $p=0,043$ ) ohne signifikante Unterschiede bezüglich des Geschlechts (Interaktion Substanz x Geschlecht:  $F(1,31)=0,84$ ;  $p=0,37$ ). Gleichzeitig fühlten sich die

Männer in der Insulinbedingung signifikant **weniger** müde (Substanz x Geschlecht:  $F(1,31)=4,46$ ;  $p=0,044$ ; Männer, Insulin:  $0,07 \pm 0,07$ ; Männer, Placebo:  $1,19 \pm 0,45$ ; t-Test:  $p=0,033$ ). Bei den Frauen konnte diesbezüglich kein signifikanter Unterschied festgestellt werden.

Am Morgen nach der Experimentalnacht fand sich lediglich bei der Verträumtheit ein signifikanter, geschlechtsabhängiger Unterschied zwischen der Insulin- und der Placebogabe. Die Frauen gaben unter Insulin signifikant **mehr** Adjektive der Kategorie Verträumtheit als zutreffend an ( $2,50 \pm 0,47$  vs.  $1,69 \pm 0,34$  unter Placebo; t-Test:  $p=0,022$ ), wohingegen die Männer trendweise **weniger** dieser Adjektive ankreuzten ( $0,69 \pm 0,40$  vs.  $1,56 \pm 0,47$ ; t-Test:  $p=0,071$ ; Interaktion Substanz x Geschlecht:  $F(1,31)=10,00$ ;  $p=0,004$ ). Sämtliche mit der EWL-K erhobenen Werte sind nachfolgend in Tab. 3.2 angegeben.

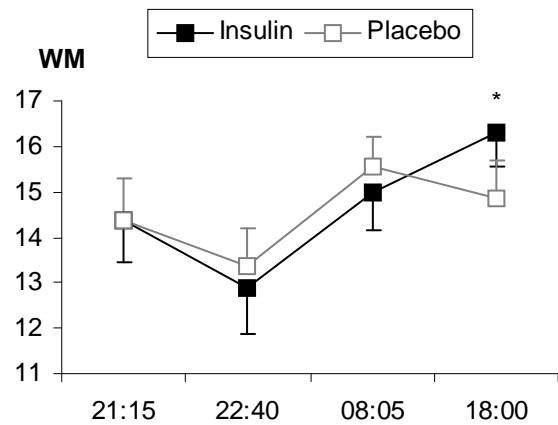
Im Anschluss an die EWL-K wurde den Probanden bei den Kontrollblöcken der *mehrdimensionale Befindlichkeitsfragebogen (MDBF)* ausgehändigt. Die Probanden mussten hier bei zwölf Adjektiven auf einer Skala von 1 (trifft überhaupt nicht zu) bis 5 (trifft voll zu) bewerten, inwieweit das Adjektiv ihren momentanen Gefühlszustand beschreibt. Die Adjektive wurden zu drei bipolaren Dimensionen zusammengefasst: Gute/schlechte Stimmung (GS), Wachheit/Müdigkeit (WM) und Ruhe/Unruhe (RU). Ein hoher Wert in der jeweiligen Kategorie bedeutet ein starkes Empfinden der zuerst genannten Stimmung, also eine gute Stimmungslage, ein Gefühl von Wachheit und Ausgeruhtheit bzw. ein Gefühl von innerer Ruhe und Gelassenheit. Zusätzlich zu den drei Zeitpunkten, an denen die Probanden auch die EWL-K bearbeiten mussten, wurde ihnen unmittelbar nach der intranasalen Gabe von Insulin bzw. Placebo ein weiterer MDBF ausgehändigt, d.h. der MDBF wurde insgesamt an vier Zeitpunkten ausgefüllt.

**Tab. 3.2: Überblick über die von den Probanden angegebenen Stimmungs- und Befindlichkeitslagen**

	alle (n=32)			Frauen (n=16)			Männer (n=16)		
	Insulin	Placebo	p	Insulin	Placebo	p	Insulin	Placebo	p
<b>21:15 Uhr</b>									
Aktiviertheit	3,65±0,61	3,72±0,60	n.s.	3,19±0,83	2,25±0,63	n.s.	4,13±0,91	5,19±0,89	<b>0,009</b>
Desaktiviertheit	2,13±0,57	2,31±0,59	n.s.	2,38±0,76	2,56±0,63	n.s.	1,87±0,89	2,06±1,01	n.s.
Müdigkeit	1,65±0,32	1,59±0,29	n.s.	1,88±0,41	1,81±0,32	n.s.	1,40±0,51	1,38±0,50	n.s.
Benommenheit	0,48±0,14	0,50±0,12	n.s.	0,63±0,18	0,63±0,13	n.s.	0,33±0,21	0,38±0,20	n.s.
Extrovertiertheit	4,81±0,29	4,84±0,24	n.s.	4,81±0,34	5,06±0,28	n.s.	4,80±0,48	4,63±0,39	n.s.
Introvertiertheit	0,61±0,29	0,72±0,28	n.s.	0,69±0,46	0,44±0,20	n.s.	0,53±0,35	1,00±0,52	n.s.
Selbstsicherheit	4,87±0,50	5,97±0,35	n.s.	3,63±0,68	5,44±0,54	0,052	6,20±0,59	6,50±0,43	n.s.
Gute Stimmung	6,68±0,59	7,69±0,37	n.s.	6,50±0,92	7,31±0,54	n.s.	6,87±0,77	8,06±0,50	n.s.
Erregtheit	1,06±0,36	0,59±0,19	n.s.	0,81±0,39	0,56±0,22	n.s.	1,33±0,61	0,63±0,33	n.s.
Empfindsamkeit	0,55±0,20	0,38±0,13	n.s.	0,69±0,34	0,44±0,16	n.s.	0,40±0,19	0,31±0,20	n.s.
Ärger	0,10±0,07	0,06±0,06	n.s.	0,19±0,14	0,00±0,00	n.s.	0,00±0,00	0,13±0,13	n.s.
Ängstlichkeit	0,26±0,09	0,28±0,14	n.s.	0,44±0,16	0,25±0,11	n.s.	0,07±0,07	0,31±0,25	n.s.
Deprimiertheit	0,81±0,39	0,56±0,41	n.s.	1,13±0,68	0,19±0,14	n.s.	0,47±0,34	0,94±0,81	n.s.
Verträumtheit	1,97±0,36	1,81±0,29	n.s.	2,31±0,46	1,94±0,32	n.s.	1,60±0,57	1,69±0,48	n.s.
<b>08:05 Uhr</b>									
Aktiviertheit	3,93±0,76	3,50±0,63	n.s.	2,75±0,89	2,06±0,72	n.s.	5,38±1,21	4,94±0,92	n.s.
Desaktiviertheit	2,76±0,59	2,91±0,60	n.s.	3,88±0,86	3,88±0,81	n.s.	1,38±0,65	1,94±0,84	n.s.
Müdigkeit	1,14±0,27	1,53±0,29	n.s.	1,75±0,39	2,06±0,44	n.s.	0,38±0,21	1,00±0,34	n.s.
Benommenheit	1,10±0,23	1,09±0,16	n.s.	1,00±0,26	1,38±0,24	0,054	1,23±0,41	0,81±0,21	n.s.
Extrovertiertheit	3,79±0,38	3,59±0,34	n.s.	4,00±0,39	3,75±0,46	n.s.	3,54±0,71	3,44±0,52	n.s.
Introvertiertheit	0,79±0,25	0,91±0,31	n.s.	1,19±0,40	0,81±0,26	n.s.	0,31±0,17	1,00±0,57	n.s.
Selbstsicherheit	5,00±0,51	5,34±0,46	n.s.	3,88±0,71	4,88±0,69	n.s.	6,38±0,54	5,81±0,59	n.s.
Gute Stimmung	6,17±0,64	6,53±0,60	n.s.	5,31±0,83	5,81±0,83	n.s.	7,23±0,97	7,25±0,85	n.s.
Erregtheit	0,52±0,23	0,44±0,19	n.s.	0,50±0,27	0,31±0,18	n.s.	0,54±0,39	0,56±0,34	n.s.
Empfindsamkeit	0,45±0,17	0,31±0,15	n.s.	0,75±0,28	0,38±0,15	n.s.	0,08±0,08	0,25±0,25	n.s.
Ärger	0,00±0,00	0,00±0,00	n.s.	0,00±0,00	0,00±0,00	n.s.	0,00±0,00	0,00±0,00	n.s.
Ängstlichkeit	0,31±0,12	0,28±0,16	n.s.	0,50±0,20	0,31±0,20	n.s.	0,08±0,08	0,25±0,25	n.s.
Deprimiertheit	0,24±0,15	0,34±0,24	n.s.	0,38±0,26	0,06±0,06	n.s.	0,08±0,08	0,63±0,46	n.s.
Verträumtheit	1,69±0,35	1,63±0,29	n.s.	2,50±0,47	1,69±0,34	<b>0,022</b>	0,69±0,40	1,56±0,47	0,071
<b>18:00 Uhr</b>									
Aktiviertheit	5,80±0,70	5,16±0,68	n.s.	5,25±0,92	4,31±0,85	n.s.	6,43±1,07	6,00±1,05	n.s.
Desaktiviertheit	0,80±0,37	1,34±0,47	n.s.	1,31±0,67	1,56±0,59	n.s.	0,21±0,15	1,13±0,75	n.s.
Müdigkeit	0,53±0,21	1,03±0,27	n.s.	0,94±0,37	0,88±0,31	n.s.	0,07±0,07	1,19±0,45	<b>0,033</b>
Benommenheit	0,10±0,07	0,28±0,10	<b>0,043</b>	0,06±0,06	0,25±0,11	0,083	0,14±0,14	0,31±0,18	n.s.
Extrovertiertheit	4,90±0,28	4,72±0,31	n.s.	5,25±0,27	5,19±0,26	n.s.	4,50±0,51	4,25±0,55	n.s.
Introvertiertheit	0,20±0,20	0,25±0,20	n.s.	0,38±0,38	0,13±0,13	n.s.	0,00±0,00	0,38±0,38	n.s.
Selbstsicherheit	5,17±0,49	5,63±0,41	n.s.	4,16±0,63	5,19±0,58	n.s.	6,29±0,65	6,06±0,57	n.s.
Gute Stimmung	7,67±0,54	7,25±0,51	n.s.	7,13±0,71	6,88±0,60	n.s.	8,29±0,82	7,63±0,85	n.s.
Erregtheit	0,70±0,30	0,69±0,23	n.s.	0,88±0,38	0,50±0,22	n.s.	0,50±0,50	0,88±0,41	n.s.
Empfindsamkeit	0,23±0,10	0,22±0,11	n.s.	0,19±0,14	0,13±0,09	n.s.	0,29±0,16	0,31±0,20	n.s.
Ärger	0,03±0,03	0,00±0,00	n.s.	0,06±0,06	0,00±0,00	n.s.	0,00±0,00	0,00±0,00	n.s.
Ängstlichkeit	0,23±0,11	0,22±0,13	n.s.	0,31±0,20	0,19±0,10	n.s.	0,14±0,10	0,25±0,25	n.s.
Deprimiertheit	0,53±0,38	0,25±0,19	n.s.	1,00±0,71	0,06±0,06	n.s.	0,00±0,00	0,44±0,38	n.s.
Verträumtheit	0,90±0,26	1,13±0,26	n.s.	1,13±0,41	1,38±0,33	n.s.	0,64±0,29	0,88±0,42	n.s.

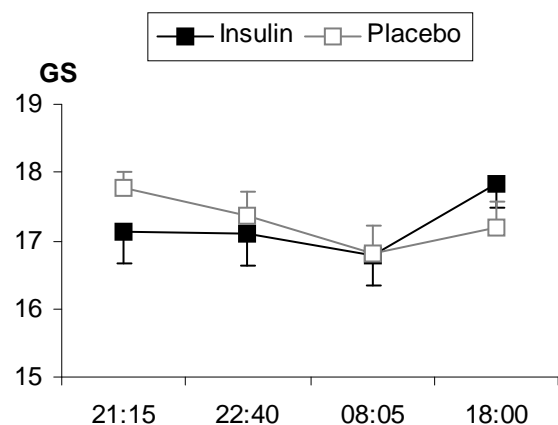
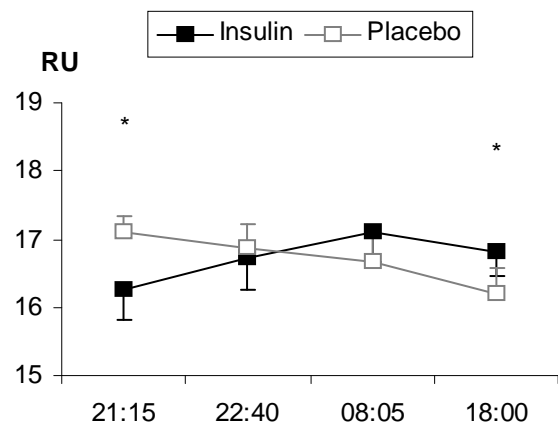
Stimmungs- und Befindlichkeitslagen in den jeweiligen Dimensionen der EWL-K. Angegeben sind die Mittelwerte der Anzahl als zutreffend angekreuzter Adjektive ± SEM, hohe Werte bedeuten also eine starke Empfindung der jeweiligen Emotion. Signifikante Unterschiede zwischen der Insulin- und der Placebobedingung sind zur besseren Hervorhebung grau hinterlegt.

Analog zu den Ergebnissen der EWL-K findet sich auch bei den Ergebnissen des MDBF um 18.00 Uhr des Folgetags eine signifikant **größere** Wachheit der *männlichen* Probanden in der Insulinbedingung (Mittelwerte WM der Männer  $\pm$  SEM: Insulin:  $16,31 \pm 0,75$  vs. Placebo:  $14,88 \pm 0,81$ , t-Test:  $p=0,038$ ). An allen anderen Zeitpunkten ist kein signifikanter Unterschied bezüglich Wachheit/Müdigkeit feststellbar, sowohl über die Gesamtheit der Probanden ( $n=32$ ) als auch geschlechtsspezifisch betrachtet (alle  $p>0,05$ ).



**Abb. 3.5:** MDBF, Wachheit/Müdigkeit (WM) der männlichen Probanden. Um 18:00 Uhr findet sich eine signifikant größere Wachheit (Sternchen). Die Fehlerbalken kennzeichnen den Standardfehler.

Bereits bei der ersten Durchführung des MDBF, also noch vor Substanzgabe, trat ein signifikanter Unterschied in der Kategorie Ruhe/Unruhe (RU) auf (Insulin:  $16,25 \pm 0,36$ ; Placebo:  $17,09 \pm 0,33$ ; t-Test:  $p=0,039$ ), der sich allerdings unmittelbar nach der Substanzgabe bereits nicht mehr wieder findet (Insulin:  $16,72 \pm 0,35$ ; Placebo:  $16,88 \pm 0,34$ ; t-Test:  $p=0,64$ ), ebenso am Morgen nach der Experimentalnacht (Insulin:  $17,09 \pm 0,35$ ; Placebo:  $16,66 \pm 0,37$ ; t-Test:  $p=0,17$ ). Um 18:00 Uhr gaben die Probanden eine signifikant größere Ruhe in der Insulinbedingung an ( $16,81 \pm 0,40$  vs.  $16,19 \pm 0,43$  unter Placebo; t-Test:  $p=0,048$ ).



**Abb. 3.6:** MDBF, Ruhe/Unruhe (oben) und Gute/Schlechte Stimmung (GS, unten) aller Probanden. Signifikante Unterschiede sind durch Sternchen (\*) gekennzeichnet, die Fehlerbalken visualisieren den Standardfehler.

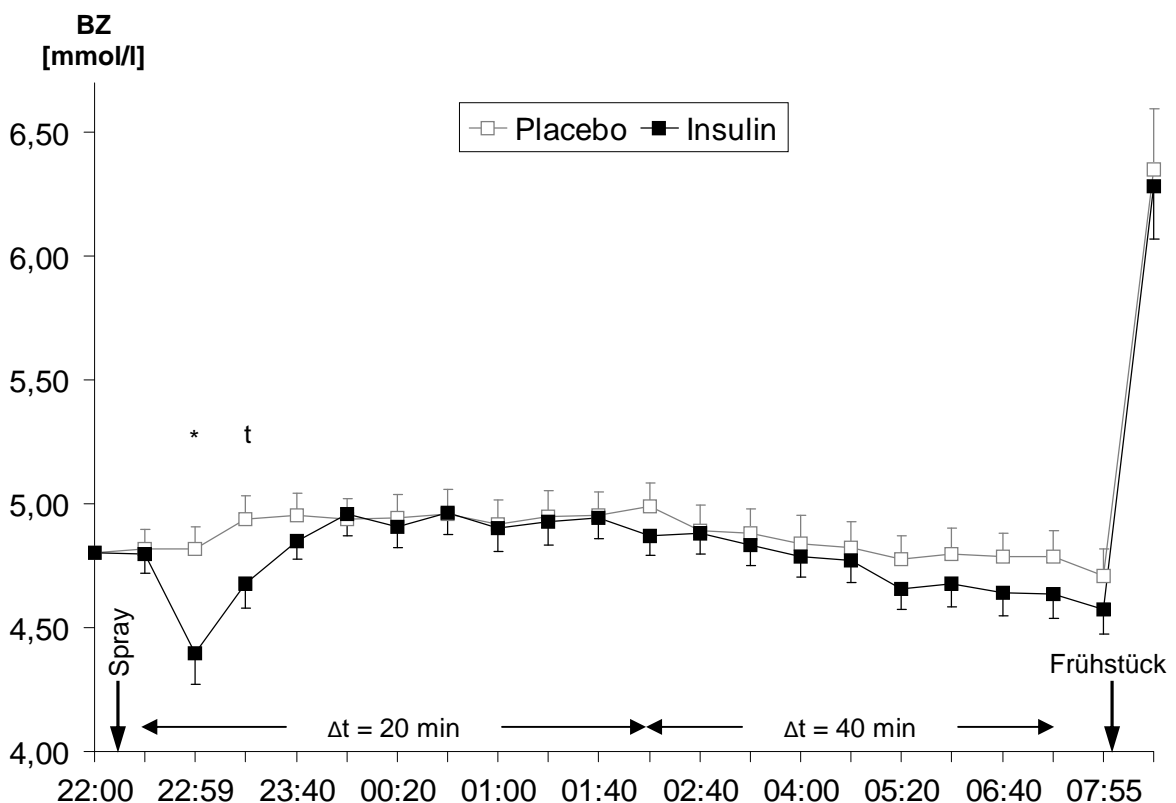
In der Dimension Gute/Schlechte Stimmung finden sich zu keinem Zeitpunkt signifikante Unterschiede zwischen Insulin und Placebo (alle  $p>0,05$ ). Ebenso finden sich in allen Dimensionen keine weiteren geschlechtsspezifischen Unterschiede ( $p>0,05$  in den Varianzanalysen).



### 3.4 Kontrollvariablen

#### 3.4.1 Blutzuckermessung

An insgesamt 23 Zeitpunkten während der Experimentalnacht wurde die Blutglukosekonzentration gemessen. Aus den ersten beiden Messungen um ca. 21:00 Uhr und um 22:00 Uhr wurde der Mittelwert als Ausgangswert vor Substanzgabe bestimmt. Nach der Gabe von Insulin- oder Placebonasenspray, die von etwa 22:20 Uhr bis 22:36 Uhr stattfand, erfolgten die Blutzuckermessungen bis einschließlich 02:00 Uhr in 20-minütigem Abstand, anschließend bis zum Wecken um 07:00 Uhr in 40-minütigem Abstand. Kurz vor dem Frühstück, das um etwa 08:15 Uhr gereicht wurde, sowie im Anschluss an das Frühstück um ca. 08:45 Uhr wurden die letzten beiden BZ-Messungen durchgeführt. Die Ergebnisse aller Messungen sind in der nachfolgenden Grafik dargestellt:

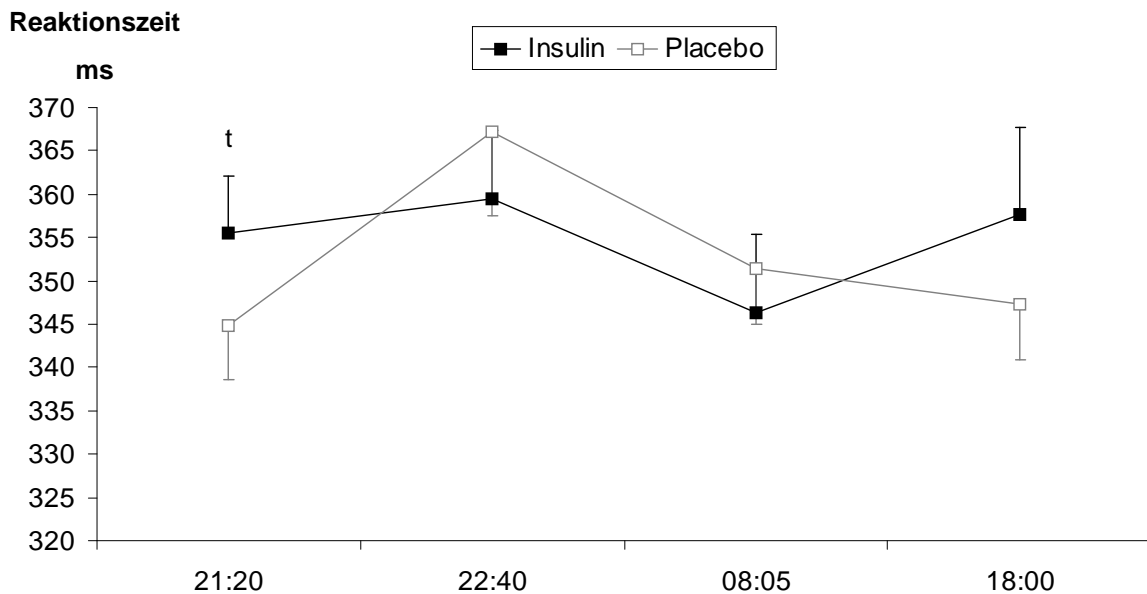


**Abb. 3.7: Ergebnisse der Blutglukosemessung im Verlauf der Experimentalnacht.** Nach der Insulingabe kommt es zu einem signifikanten Abfall der Blutglukosekonzentration, nach ca. 40 Minuten ist kein signifikanter Unterschied mehr nachweisbar. Das Sternchen (\*) kennzeichnet einen signifikanten Unterschied, das kleine t einen Trend, die Fehlerbalken visualisieren den Standardfehler.

Die Varianzanalyse über alle 23 Messungen betrachtet zeigt einen signifikanten Interaktionseffekt Substanzgabe x Zeit (korrigiert nach Greenhouse-Geisser:  $p=0,017$ ). Die direkten Vergleiche zwischen der Insulin- und der Placebobedingung an jedem einzelnen Zeitpunkt mittels t-Tests zeigen lediglich an einem Zeitpunkt eine signifikant niedrigere Blutglukosekonzentration unter Insulin, nämlich um 22:59 Uhr, also etwa 20 Minuten nach Substanzgabe (Insulin:  $4,40 \pm 0,13$  mmol/l vs. Placebo:  $4,82 \pm 0,09$  mmol/l;  $p=0,012$ ). Bei der Messung 20 Minuten später, um 23:20 Uhr, ist die Glukosekonzentration nur noch trendweise niedriger (Insulin:  $4,68 \pm 0,10$  mmol/l vs. Placebo:  $4,94 \pm 0,09$  mmol/l;  $p=0,061$ ). An allen weiteren Zeitpunkten finden sich keine signifikanten Unterschiede mittels t-Test mehr, ebenso weist die ANOVA der Messungen während des Schlafes, also von 23:20 Uhr bis 06:40 Uhr, den oben beschriebenen signifikanten Interaktionseffekt nicht mehr auf. Auch zeigen sich keine geschlechtsspezifische Unterschiede zwischen männlichen und weiblichen Probanden (Interaktionseffekt Substanzgabe x Geschlecht x Zeit:  $p>0,05$ ).

### **3.4.2 Vigilanz**

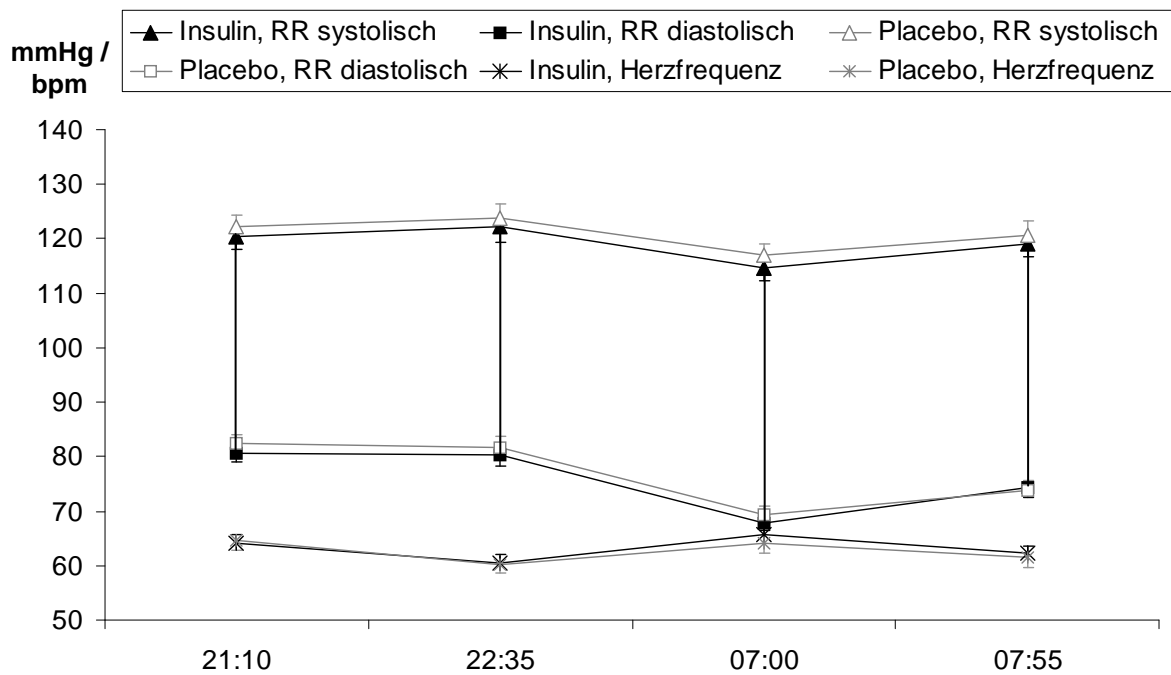
Die Probanden mussten insgesamt an vier Zeitpunkten den Vigilanztest absolvieren: Vor der Substanzgabe gegen 21:20 Uhr, unmittelbar nach der Substanzgabe gegen 22:40 Uhr, am nächsten Morgen um etwa 08:05 Uhr und am Abend um etwa 18:00 Uhr. Gemessen und verglichen wurde die mittlere Reaktionszeit der Probanden, die sie benötigten, um nach Aufleuchten des Punktes auf dem Computerbildschirm die korrekte Schlüsseltaste zu drücken. Bereits vor Substanzgabe um 21:20 Uhr fand sich ein Trend zu kürzerer Reaktionszeit in der Placebogruppe (Mittelwerte  $\pm$  SEM Insulin:  $355,58$  ms  $\pm$   $6,50$  ms; Placebo:  $344,84$  ms  $\pm$   $6,19$  ms; t-Test:  $p=0,051$ ), alle weiteren Messungen, insbesondere diejenige direkt nach der Substanzgabe, blieben aber ohne signifikante Unterschiede (alle  $p>0,05$ ). Zur Visualisierung dient die nachfolgende Abbildung:



**Abb. 3.8: Ergebnisse der Vigilanzmessung.** Dargestellt sind die durchschnittlichen Reaktionszeiten der Probanden bis zum Tastendruck. Lediglich bei der ersten Messung, die noch vor der Substanzgabe stattfand, findet sich ein nicht signifikanter, trendweiser Unterschied. Alle weiteren Messungen blieben ohne signifikante Unterschiede. Das kleine t kennzeichnet einen Trend, die Fehlerbalken den Standardfehler.

### 3.4.3 Puls und Blutdruck

Insgesamt wurden zu vier Zeitpunkten Blutdruck und Puls gemessen. Die erste Messung fand gegen 21:10 Uhr nach den Vorbereitungen und vor jeglichen Tests statt. Die zweite Messung gegen 22:35 Uhr erfolgte unmittelbar nach der Gabe des Insulin- bzw. Placebo-nasensprays. Die dritte Messung um 07:00 Uhr wurde noch vor dem Aufstehen unmittelbar nach dem Wecken der Probanden durchgeführt und die vierte Messung schließlich etwa um 07:55 Uhr kurz vor dem abschließenden Kontrollblock aus Befindlichkeitstests. Bei sämtlichen erhobenen Vitalparametern fanden sich keine signifikanten Unterschiede zwischen Insulin und Placebo ( $p > 0,05$  für alle Vergleiche).



**Abb. 3.9: Übersicht über die Mittelwerte der erhobenen Vitalparameter (Puls und Blutdruck) der Probanden im Verlauf der Experimentalnacht.** Die systolischen und diastolischen Blutdruckwerte sind zur besseren Visualisierung ihrer Zusammengehörigkeit mittels schwarzer Linien verbunden. Es finden sich keine signifikanten Unterschiede zwischen den Bedingungen, die Fehlerbalken kennzeichnen den Standardfehler.

### 3.4.4 Nebenwirkungen

Es traten keine Nebenwirkungen durch die Gabe von Insulin auf. Alle Probanden nahmen vollständig an beiden Experimentalnächten und deren abendlichen Abrufen teil, keiner schied vorzeitig aus oder brach die Studie ab. Die am Ende des Abrufes am Folgeabend jeweils durchgeführte Befragung der Probanden, ob sie Insulin oder Placebo erhalten hätten, erbrachte kein signifikantes Ergebnis ( $p > 0,12$ ; Chi-Quadrat-Test nach Pearson), d.h. die Probanden konnten die Behandlung nicht korrekt erraten oder aus aufgetretenen Symptomen ableiten.

## 4. Diskussion

Die vorliegende Arbeit hatte auf der einen Seite zum Ziel, den Einfluss von Insulin speziell auf die schlafassoziierte Konsolidierungsphase zuvor gelernter Gedächtnisinhalte zu untersuchen. Bei den Lernaufgaben handelte es sich um prozedurale und deklarative Aufgaben, wobei besonders die Leistungen bei letzteren in vorangegangenen Studien unter Insulineinfluss signifikant verbessert worden waren (Park et al. 1999, Kern et al. 2001, Benedict et al. 2004, Benedict et al. 2008), so dass wir in erster Linie einen Effekt auf die Bildung des deklarativen Gedächtnisses erwarteten. Zudem vermuteten wir, in Anlehnung an die Studie von Benedict und Kollegen, die 2008 einen geschlechtsspezifischen Unterschied beobachteten, auch hier Unterschiede zwischen männlichen und weiblichen Probanden im Abruf der deklarativen Inhalte finden zu können. Gleichzeitig erwarteten wir *keine* Veränderung im Abruf der prozeduralen Lerninhalte durch Insulin, wie es in vorherigen Studien bereits beschrieben wurde (Park et al. 1999, Kern et al. 2001, Benedict et al. 2004, Benedict et al. 2008). Drittens erwarteten wir, ausgehend von den Ergebnissen von Kern und Kollegen 2001 und Benedict und Mitarbeitern 2008, eine Verbesserung der Stimmungslage nach Insulingabe.

### 4.1 Gedächtnisleistung

In dieser Studie zeigte sich beim Abruf der Zielwortpaare (A-B), also jener, die am Abend vor der Substanzgabe erlernt worden waren, über die Gesamtheit der Probanden *kein* signifikanter Unterschied. Ebenso wenig konnte ein Effekt beim Abruf der Zielworte in der Betrachtung der einzelnen Geschlechter (Frauen vs. Männer) beobachtet werden. Hier zeigte sich in der Varianzanalyse (Interaktionseffekt Substanz x Geschlecht) keine Signifikanz. Bei der Geschlechterbetrachtung war erkennbar, dass *unabhängig* von der Substanzgabe die weiblichen Probanden signifikant besser die Zielworte erinnerten als die männlichen. Da der Fokus der vorliegenden Studie jedoch auf der Betrachtung der Wirkung von Insulin auf die Gedächtnisleistung liegt, wird diese Beobachtung hier nicht weiter diskutiert.

In den Ergebnissen dieser Arbeit zeigte sich interessanterweise am Folgenachmittag beim Abruf, dass sich die Männer in der Insulinbedingung signifikant *schlechter* an die kurz zuvor gelernten *Interferenzworte* erinnerten. Bei den Frauen konnte dieser Unterschied zwischen den Bedingungen nicht beobachtet werden. Ähnliches fand sich in der Betrachtung der prozeduralen Aufgabe, dem Fingertapping: Hier gab es beim Lernen der *Interfe-*

*renzsequenzen* einen *trendweise weniger* starken Anstieg als unter Placebobedingungen. Ein Geschlechtereffekt konnte hier allerdings nicht gezeigt werden.

Aufgrund dieser Ergebnisse muss die eingangs aufgestellte Hypothese, der positive Insulineffekt auf die deklarative Gedächtnisleistung komme auch durch eine Verbesserung der schlafabhängigen, nächtlichen Konsolidierung zustande, verworfen werden. Offensichtlich müssen andere Vorgänge diesen Beobachtungen zugrunde liegen. Auch eine geschlechtsspezifische Differenzierung der Insulinwirkung, wie sie durch Benedict et al. (2008) gefunden wurde, konnte nicht beobachtet werden. Anders als erwartet zeigten die Frauen keinen signifikant besseren bzw. veränderten Abruf der Zielwortpaare unter Insulin gegenüber Placebo verglichen mit den männlichen Probanden.

Die Gründe für diese unerwarteten Negativresultate im Vergleich zu der aktuellen Studienlage können durch mehrere Faktoren bedingt sein, die im Folgenden diskutiert werden. Wie in Kapitel 1.3.2 erwähnt, wurde bereits mehrfach beschrieben, dass Insulin im Zentralnervensystem einen positiven Einfluss auf das Gedächtnis hat. Gegenstand intensiver Forschung sind der genaue Mechanismus und die Phase der Gedächtnisbildung, auf die Insulin wirkt.

### **Unterschiede im Studiendesign**

Im hier angewandten Studiendesign wurde isoliert die *Gedächtniskonsolidierung* unter erhöhter Insulinkonzentration untersucht. Dazu war wichtig, dass in der ersten Nachthälfte, der die Konsolidierung der deklarativen Gedächtnisinhalte mit ihren vermehrten SWS-Phasen zugeschrieben wird (Plihal & Born 1999, Gais & Born 2004, Marshall & Born 2007), eine erhöhte Insulinkonzentration im Liquor induziert wurde. Wie aus den Beobachtungen von Kern und Kollegen (1999) und Born und Mitarbeitern (2002) hervorgeht, flutet das intranasal gegebene Insulin bereits nach zehn Minuten im Liquor an und fällt, bei einer intranasal gegebenen Konzentration von wenigstens 40 IU, nicht vor 80 Minuten wieder ab. Die in unserer Studie beobachteten Probanden bekamen die Substanz jeweils 30 min vor dem Schlafengehen in einer Dosis von 160 IU. Mit der zu erwartenden Dauer einer erhöhten Insulin-Liquorkonzentration konnte man demnach davon ausgehen, dass die Probanden noch einige Zeit, also während der entscheidenden ersten SWS-Phasen, unter dem Einfluss des Insulins standen und somit eine fehlende Konzentrationserhöhung von Insulin im Liquor als Ursache für das nicht signifikante Ergebnis in unserer Studie aller Wahrscheinlichkeit nach entfällt.

Um gezielt nur den Einfluss von Insulin auf die Konsolidierungsphase untersuchen zu können, erhielten die Probanden in unserer Studie die Insulingabe erst im Anschluss an die Lerneinheit der Zielaufgaben. Das bedeutet, dass das Lernen von der Substanzgabe unbeeinflusst war. Mit gleichem Ziel fand der Abruf erst am Abend im Anschluss an die Versuchsnacht statt, was einerseits den Zweck erfüllte, zwischen Lernen und Abruf die nächtliche Konsolidierungsphase zu schalten und andererseits mögliche direkte Wirkungen des Insulins oder direkte Einflüsse eines möglicherweise veränderten Nachtschlafes auf Konzentration, Wachheit, Befindlichkeit, o.ä. während des Abrufs auszuschließen.

Im Unterschied zu unserer Studie konnten die beiden im Folgenden aufgeführten Studien mit einem anderen Design Einflüsse von Insulin auf das Gedächtnis beobachten. So beschrieben Kern und Mitarbeiter (2001) eine Verbesserung des deklarativen Gedächtnisses unter einer erhöhten Insulininfusion im Vergleich zu der Kontrollgruppe mit einer niedrigeren Insulinkonzentration, beides jeweils in Normoglykämie. Hier bekamen die Probanden unter der Insulinzufuhr Wortlisten, die sie sich merken mussten. Direkt nach jeder Wortliste und einer kurzen Pause von je einer Minute wurden die Probanden aufgefordert, so viele Wörter wie möglich von der eben gehörten Liste verbal wiederzugeben.

Benedict und Mitarbeiter beobachteten 2008 ebenfalls einen Insulineffekt auf das deklarative und das verbale Arbeitsgedächtnis. Die Probanden bekamen nach einer Nüchternphase von 22-8 Uhr am Versuchstag um 9 Uhr eine intranasale Insulindosis von 160 IU bzw. Placebo. Anschließend absolvierten die Probanden eine computergesteuerte Aufgabe, die ähnlich wie ein „Memory“-Spiel konzipiert war (Two-dimensional [2D] object location task). Im anschließenden Abruf konnte beobachtet werden, dass sich die weiblichen Probanden unter Insulin signifikant besser an die gelernten Bilder und Lokalisationen erinnern konnten. Die männlichen Probanden zeigten diesen Effekt nicht. Gleiches ergab die kurze Zeit später stattfindende Aufgabe, die das verbale Arbeitsgedächtnis testete (HAWIE-R, Hamburg Wechsler Intelligenztest für Erwachsene-Revidiert).

Die unseren Ergebnissen entgegengesetzten Beobachtungen der oben skizzierten Studien erklären sich möglicherweise aus einem unterschiedlichen Studiendesign. Beispielsweise lernten die Probanden jeweils unter Insulineinfluss, im Gegensatz zu unserer Studie, in der die Lernphase vor der Insulingabe lag. Des Weiteren fand der Abruf der Zielaufgabe jeweils nach einer kurzen Zeitspanne, und somit ebenfalls unter einem erhöhten Liquor-Insulinspiegel, statt. In unserem Versuchsaufbau lagen zwischen Insulingabe und Abruf jeweils 18-19 Stunden. Ein weiterer Unterschied ergibt sich aus dem fehlenden Nachtschlaf und somit aus der ausbleibenden schlafabhängigen Konsolidierungsphase.

Ebenso wurden den Probanden geringfügig andere Aufgaben gestellt, die vermehrt das Kurzzeit- und Arbeitsgedächtnis ansprechen, welches seinerseits eng mit der Aktivierung des frontalen Kortex (Petrides et al. 1993) verbunden ist.

### **Beeinflusst Insulin die Enkodierung?**

Man könnte, mit Blick auf die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit, die eine Verbesserung der nächtlichen Konsolidierung durch eine einmalige Insulingabe nicht zeigen konnte, nun postulieren, dass der positive Einfluss des Insulins möglicherweise die Enkodierung bzw. die kurzfristige Abspeicherung betrifft, zum Beispiel in Form einer erhöhten Aufnahmefähigkeit oder mittels einer direkten Wirkung auf das Arbeits- bzw. Kurzzeitgedächtnis. So konnte in mehreren Studien ein positiver Insulineffekt auf die Gedächtnisleistung beobachtet werden, wenn zwischen Lernen (Enkodierung) und Abruf eine kurze Zeitspanne lag (Kern et al. 2001, Benedict et al. 2008, Craft et al. 2012). In dieser Zeit werden die aufgenommenen Informationen kurzfristig gespeichert. Der anschließende Schritt, die Konsolidierung, welche die Informationen in das Langzeitgedächtnis überführt, bedarf jedoch deutlich mehr Zeit und ist vom Schlaf abhängig (Diekelmann & Born 2010). In den genannten Studien dürften also eher die der Konsolidierung vorausgehenden Mechanismen der Gedächtnisbildung zum Ergebnis beigetragen haben als die Konsolidierung selbst. Dies geht mit der Beobachtung einher, dass bei der Studie von Benedict et al. (2008) die hippocampal-präfrontale Schleife, der vor allem das Enkodieren und Wiedergeben von deklarativen Inhalten zugeschrieben wird (Tulving et al. 1994), eine Verbesserung unter Insulin zeigte.

Außerdem stand, im Gegensatz zur vorliegenden Arbeit, bereits die Lernaufgabe unter Insulineinfluss (Kern et al. 2001, Benedict et al. 2008) oder wurde während einer intranasalen Insulin-Langzeittherapie durchgeführt (Craft et al. 2012), sodass auch eine insulinvermittelte Beeinflussung der Aufnahme der Informationen zu den Ergebnissen beigetragen haben könnte.

Allerdings zeigte eine weitere Studie (Benedict et al. 2004), die ebenfalls eine Langzeitinsulingabe beinhaltete, eine entgegengesetzte Beobachtung. Hier wurde über einen Zeitraum von 8 Wochen gesunden Probanden Insulin intranasal verabreicht. Dabei zeigte sich eine signifikante Verbesserung des deklarativen Gedächtnisses am Ende der Langzeitgabe, jedoch keinerlei Hinweise auf einen sofortigen Insulineffekt im Zusammenhang mit erlernten deklarativen Gedächtnisinhalten. Dieser gänzlich fehlende „Akuteffekt“ steht im Widerspruch zu der oben geäußerten Vermutung, Insulin verbessere die Enkodierung. Die Diskrepanz bei der Betrachtung dieser Ergebnisse könnte in Unterschieden im



Studiendesign liegen. Craft und Kollegen (2012) untersuchten Alzheimer- und Demenzpatienten und ließen nach 20 Minuten eine zuvor gelernte Geschichte wiedergeben, wohingegen Benedict und Mitarbeiter (2008) ausschließlich gesunde Probanden einschlossen und den Insulineffekt mittels HAWIE-R und Two-dimensional object location task untersuchten. Insgesamt muss in die Frage nach der Enkodierung der Gedächtnisinhalte aber auch die Überlegung mit einfließen, dass man die Aufnahme von Informationen nur indirekt messen kann und somit stets andere, unbeabsichtigte Faktoren Einfluss auf das Messergebnis nehmen können.

Nichtsdestotrotz scheint aber deutlich zu werden, dass Insulin das Speichern im Langzeitgedächtnis fördert. Hinweise darauf, dass Insulin in den Prozess der Langzeitpotenzierung über die Signalwege der NMDA-Rezeptoren beschleunigend eingreift, sind schon seit einiger Zeit bekannt (Skeberdis et al. 2001). Wie die vorliegende Arbeit gezeigt hat, ist hierfür möglicherweise eine einmalige Insulingabe nicht ausreichend, sondern vielmehr eine dauerhafte oder intermittierende Konzentrationserhöhung im Liquor notwendig.

### **Mögliche Dosis-Wirkungsbeziehung des Insulins**

Eine weitere interessante Beobachtung ist eine möglicherweise nicht linear verlaufende Dosis-Wirkungsbeziehung des Insulins auf die Gedächtnisleistung, obwohl dieses Phänomen bislang nur bei Demenzerkrankten gezeigt wurde (Reger et al. 2008, Craft et al. 2012). Craft und Kollegen verabreichten den Patienten, aufgeteilt in drei Gruppen, eine tägliche Dosis Nasenspray mit 20 IU oder 40 IU Insulin oder Placebo. Zu drei Zeitpunkten (zwei und vier Monate nach Behandlungsbeginn sowie zwei Monate nach Behandlungsende) wurden deklarative Gedächtnistests durchgeführt. Hierbei zeigte sich über die Dauer der Behandlung eine signifikante Verbesserung des Gedächtnisabrufs nach 20 Minuten in der Gruppe, die 20 IU Insulin erhalten, nicht jedoch in der Gruppe, die 40 IU bekommen hatte. Reger und Mitarbeiter untersuchten insgesamt fünf Gruppen mit jeweils 10, 20, 40, 60 IU Insulin oder Placebo und fanden ebenfalls die Gedächtnisleistung in der Gruppe, die 20 IU Insulin erhalten hatte, am stärksten verbessert. Es könnte somit eine Dosis-Wirkungsbeziehung von Insulin auf die Gedächtnisleistung im Sinne einer umgedreht-U-förmigen Kurve geben. Da es sich hier um Patienten mit neurodegenerativen Erkrankungen handelt, ist diese Beobachtung allerdings nicht ohne weiteres auf Studien mit gesunden Probanden, wie in der vorliegenden Arbeit, zu übertragen.

Bei den in dieser Arbeit untersuchten Probanden wurde eine einmalige Dosis von 160 IU Humaninsulin intranasal verabreicht. In der Studie von Benedict et al. (2008) wurde eben-

falls eine solche Einmaldosis des gleichen Humaninsulins gegeben und, wie beschrieben, ein positiver Effekt ausgelöst. In einer weiteren Studie mit Insulinakuteffekt (Kern et al., 2001) wurde bei der Gruppe mit erhöhter intravenöser Insulinzufuhr ein gedächtnisfördernder Effekt beobachtet. Ebenfalls in einer Studie von Benedict et al. (2004) wurde täglich eine Gesamtdosis von 160 IU gegeben, mit positivem Langzeitergebnis.

Diese Vorstudien lassen vermuten, dass die bei uns angewandte Dosis von 160 IU Humaninsulin ausreichend hoch gewesen ist, um einen Gedächtniseffekt auszulösen, wenn eine Einmalgabe von Insulin wirklich die Konsolidierung positiv beeinflusst hätte. Dennoch könnte es möglich sein, dass es auch eine umgekehrt U-förmige Dosis-Wirkungskurve für Insulin bei gesunden Probanden gibt, die bisher jedoch noch nicht beschrieben wurde, und somit eine andere Dosis eventuell signifikante Unterschiede hervorgerufen hätte. Hier sind weitere Forschungsanstrengungen notwendig, um diese Fragen zu beantworten.

### **Schlafabhängige Gedächtniskonsolidierung und Insulin**

Zusammenfassend lässt sich also sagen, dass die Wirkungsweise des Insulins auf die Gedächtnisbildung noch völlig ungeklärt ist. Die Ergebnisse dieser Arbeit legen nahe, dass die schlafabhängige Konsolidierung des Gedächtnisses von einer Einmalgabe Insulin (160 IU) unbeeinflusst bleibt. Die zum Teil in der Literatur berichteten positiven „Akuteffekte“ müssen demnach anders zu erklären sein. Eine generelle Verbesserung der Enkodierung deklarativer Gedächtnisinhalte in das Arbeitsgedächtnis infolge des Lernens unter Insulinfluss, wie es beispielsweise nach Studien von Kern et al. (2001) und Benedict et al. (2008) zu vermuten wäre, scheint als möglicher Erklärungsansatz zwar plausibel, aber noch nicht eindeutig belegt, da auch dieser Überlegung widersprechende Ergebnisse publiziert sind (Benedict et al. 2004).

Die unerwarteten Ergebnisse beim Lernen und Abruf der Interferenzaufgaben, wie anfangs beschrieben, werfen die Frage auf, ob es einen negativen, indirekten, verspäteten Effekt bei einer einmaligen Konzentrationserhöhung des Insulins im Liquor gibt, ähnlich eines negativen Reboundeffektes. Interessanterweise sind dabei sowohl das deklarative, in Form eines verschlechterten Abrufs der Interferenzworte bei den Männern, als auch das prozedurale Gedächtnis, in Form einer trendweise geringeren Verbesserung beim Sequenzlernen bei allen Probanden, betroffen. Diese Beobachtung lässt vermuten, dass es sich hierbei um einen generellen, unspezifischen Späteeffekt handeln könnte. Des Weiteren ist bemerkenswert, dass sich diese negative Beeinflussung am Folgenachmittag nicht in der Selbsteinschätzung der Probanden wiederfindet, also von ihnen unbemerkt blieb. So fühl-

ten sie sich, gegensätzlich zu den Messergebnissen, am Folgenachmittag, wie in Kapitel 4.2 diskutiert werden wird, sogar signifikant weniger benommen als unter Placebo. Dieser mögliche Späteeffekt des Insulins ist jedoch noch unerforscht, nicht mit bisherigen Studienergebnissen vergleichbar und bedarf zukünftig gezielter Erforschung.

## **4.2 Befindlichkeit**

Im Gegensatz zu den Ergebnissen der deklarativen Gedächtnisleistung konnten wir Unterschiede in der Befindlichkeit unter Insulineinfluss feststellen. Alle Probanden, ohne Einfluss des Geschlechts, gaben eine signifikant geringere Benommenheit in der Insulinbedingung unmittelbar vor dem Abruf der Gedächtnisinhalte am Folgenachmittag an. Gleichzeitig beschrieben die männlichen Probanden sich als signifikant weniger müde. Passend zu diesen Ergebnissen des EWL-K zeigte die Analyse des MDBF eine signifikant größere Wachheit der männlichen Probanden vor dem Abruf am Folgenachmittag. Am Morgen gaben die weiblichen Probanden außerdem noch eine signifikant größere Verträumtheit an, als sie es nach der Placebonacht taten. In der Kategorie Ruhe/Unruhe des MDBF trat bereits beim ersten Testdurchlauf, also noch vor der Substanzgabe und somit nicht durch die Insulinapplikation bedingt, ein signifikanter Unterschied auf, sodass dieser Parameter nur zurückhaltend interpretiert werden kann. Die Probanden gaben vor dem Erhalt des Nasensprays eine signifikant größere Unruhe in der Insulinbedingung an und beschrieben unter Insulin am Folgenachmittag vor dem Abruf eine größere Ruhe. In der Kategorie gute/schlechte Stimmung finden sich in keiner Testphase signifikante Unterschiede.

Diese Ergebnisse stimmen zum Teil mit in der Literatur publizierten Ergebnissen überein (Kern et al. 2001, Benedict et al. 2004). Benedict et al. (2004) konnten unter der akuten Insulingabe bei allen Probanden ein größeres Wohlbefinden beobachten, genauso wie eine Zunahme des Selbstvertrauens. Die verlängerte Insulingabe über die Dauer des Experimentes konnte diesen Effekt noch verstärken. Zusätzlich gaben die Probanden am Ende der Langzeitstudie an, sich weniger depressiv zu fühlen. In einer früheren Studie mit Insulininfusion (Kern et al. 2001) konnte man Vergleichbares beobachten. Die Probanden in der Gruppe mit der erhöhten Insulininfusion zeigten auf die akute Konzentrationserhöhung eine Verminderung innerer Unruhe, fühlten sich in der Konzentrationsfähigkeit weniger beeinträchtigt und gaben an, besser denken zu können im Vergleich zu der Gruppe mit der geringeren Insulindosis.

Im Unterschied zu den genannten Studienergebnissen konnten wir unter der Insulinbedingung nur eine längerfristige Veränderung in der Stimmung der Probanden beobachten (größere Verträumtheit der Probanden am Morgen nach Insulingabe, geringere Benommenheit und größere Wachheit am Abend des Folgetages). Die Angabe von größerer Ruhe unter Insulin am Abend des Folgetages muss, wie bereits erwähnt, mit Vorsicht interpretiert werden, korrespondiert jedoch mit den Ergebnissen von Kern und Kollegen (2001). Diese Beobachtung lässt darauf schließen, dass Insulin auch einen über 19 Stunden anhaltenden Einfluss auf das Befinden nehmen kann.

Diese Effekte scheinen einen anderen Einfluss des Insulins zu repräsentieren, der die Psyche betrifft, im Gegensatz zu den bisher aufgeführten kognitiven Insulineffekten. Das limbische System, als zentralnervöses Substrat emotionaler Prozesse, ist in seinen zugehörigen Zentren häufig nur unscharf definiert. In jedem Fall werden hierzu benachbarte Strukturen wie Hippocampus und Amygdala gezählt (Trepel 2004). In diesen Strukturen findet sich eine hohe Dichte von Insulinrezeptoren (Havrankova et al. 1987, Unger et al. 1991), was die Überlegung unterstützt, dass bei einer Insulinkonzentrationserhöhung im Liquor auch die Befindlichkeit beeinflusst werden kann. Hinweise auf mögliche Mechanismen, mit denen Insulin Einfluss auf die Befindlichkeit nimmt, findet man zum Beispiel in einer Studie an Ratten, bei denen man entdeckte, dass bei einer künstlich herbeigeführten Verringerung der Anzahl der Insulinrezeptoren im Hypothalamus, der über die Corpora mamillaria mit dem limbischen System verbunden ist (Trepel 2004), die Ratten depressives und ängstliches Verhalten zeigten (Grillo et al. 2011). Ein anderer Mechanismus könnte in der indirekten Wirkungsweise des Insulins liegen. So beobachtete man, dass Insulin, wird es peripher zugeführt, die AcetylcholinKonzentration in der Amygdala erhöht (Hajnal et al. 1998).

In unserer Studie gaben die weiblichen Probanden am Morgen nach der Insulingabe an, verträumter zu sein als unter Placebobedingungen. Möglicherweise beeinflusste die Insulingabe das Traumverhalten der Probandinnen, was allerdings in der polysomnographischen Aufzeichnung kein Korrelat, beispielsweise in Form von vermehrtem REM-Schlaf, fand.

Die Beobachtung, dass die Männer unserer Studie in zwei Punkten von Frauen abweichende Muster zeigten (geringere Müdigkeit vor dem Abruf und keine Steigerung der Verträumtheit am Morgen), könnte ein Hinweis auf eine geschlechtsspezifische Wirkung sein. Dieses Ergebnis korreliert mit der Beobachtung von Benedict et al. (2004). Hier beschrieben sich nur die männlichen Probanden als signifikant extrovertierter und selbstbe-

wusster. Dies könnte auf eine generell geschlechtsspezifische Wirkungsweise von intrazerebralem Insulin hindeuten, wie es sich auch in gedächtnis- und gewichtsmodulatorischen Effekten zeigte (Clegg et al. 2003, Clegg et al. 2006, Benedict et al. 2004, Benedict et al. 2008).

Zusammenfassend ist zu sagen, dass Insulin einen positiven Effekt auf die Befindlichkeit der Probanden hat, hier sogar geschlechtsspezifische Unterschiede bestehen könnten und einige unterschiedliche Erklärungsmodelle in der Literatur existieren, die genauen Vorgänge, über die Insulin die Befindlichkeit beeinflusst, aber weitgehend unklar sind und weiterer intensiver Forschung bedürfen.

### **4.3 Schlaf und Kontrollvariablen**

Um eventuelle Störfaktoren zu erkennen, wurden während der Experimentalnächte und der abendlichen Abrufsitzungen Kontrollparameter erhoben. Die Puls- und Blutdruckwerte zeigten keinen signifikanten Unterschied zwischen der Placebo- und der Insulinbedingung. Ebenso verhält es sich mit den erhaltenen Daten aus den polysomnographischen Aufzeichnungen: Durch die Substanzgabe wurde keine signifikante Veränderung des Schlafes ausgelöst. Eine Beeinflussung der Ergebnisse dieser Arbeit durch veränderte Vitalparameter oder eine veränderte Schlafarchitektur ist also nicht gegeben.

Die kapillär gemessenen Blutzuckerwerte zeigen neben einem anfänglichen signifikanten Unterschied keine Veränderungen zwischen Insulin- und Placebogruppe. Der anfänglich kurze Abfall der Blutglukose nach Gabe des intranasalen Insulins wurde in anderen Studien nicht beobachtet (Born et al. 2002, Reger et al. 2008). Allerdings handelte es sich darin um eine Insulindosis von lediglich 40 IU bzw. maximal 60 IU bei Reger und Kollegen. So könnte möglicherweise in unserer Studie die deutlich höhere intranasale Dosis von 160 IU dazu geführt haben, dass geringe Mengen über die Nasenschleimhaut in die Blutbahn aufgenommen wurden und so zu einem kurzfristigen Abfall der Blutglukose geführt haben. Ähnliche Beobachtungen finden sich in den Studien von Benedict und Kollegen 2008 und 2011, die ebenfalls jeweils eine Menge von 160 IU applizierten und einen kurzen Abfall der Blutglukose mit schnellem Anstieg beobachteten, sodass die Normoglykämie sofort wiederhergestellt war. Entscheidend ist jedoch, dass zu Beginn der Nacht, der eigentlichen Konsolidierungsphase, die Blutzuckerwerte stabil waren und blieben und damit ein Einfluss auf die Konsolidierung der deklarativen Inhalte ausgeschlossen werden kann.

Der Vigilanztest, den die Probanden an vier Zeitpunkten durchführten (vor Substanzgabe, nach Substanzgabe, am Morgen und Abend des Folgetages) zeigte ebenfalls keine signifikanten Unterschiede zwischen Insulin- und Placebogabe. Demnach war die Aufmerksamkeit der Probanden unter beiden Bedingungen vergleichbar.

#### **4.4 Limitationen und Ausblick**

Bei der Betrachtung der Ergebnisse muss beachtet werden, dass in dem der vorliegenden Arbeit zugrunde liegenden Studiendesign das prozedurale und deklarative Gedächtnis jeweils nur mittels einer spezifischen Testaufgabe untersucht wurde. Es ist nicht auszuschließen, dass bei einer noch differenzierteren Untersuchung mit mehreren Testverfahren Einflüsse einer Einmalgabe intranasalen Insulins festgestellt werden könnten. Allerdings sind diese möglicherweise vorhandenen und nicht erfassten Einflüsse in ihrer Bedeutung wahrscheinlich eher gering einzuschätzen, da die hier verwendeten Testverfahren als valide und reliabel für die Untersuchung des prozeduralen und deklarativen Gedächtnisses gelten. Auch könnte die hier gewählte Vorgehensweise, den Gedächtnisabruf am Abend nach der Experimentalnacht, also etwa 21 Stunden nach der Substanzgabe, durchzuführen, eine möglicherweise doch vorhandene Beeinflussung der Konsolidierung verschleiern haben. Der Ansatz, den Abruf zeitlich zu verzögern und nicht direkt im Anschluss an die Experimentalnacht durchzuführen, wurde gewählt, um auszuschließen, dass der Gedächtnisabruf noch unter Insulinwirkung steht – allerdings könnten im Laufe des Tages durch Neuaufnahme oder Verlust von Informationen Effekte oder Unterschiede nivelliert worden sein, die am Morgen der Experimentalnacht noch in signifikantem Ausmaß hätten beobachtet werden können. Allerdings ist anzunehmen, dass diese Einflüsse in beiden Bedingungen gleich stark ausgeprägt waren, sodass eine systematische Verschleierung eines Insulineffekts unwahrscheinlich ist. Für das grundsätzliche Verständnis der zentralnervösen Insulinwirkung sind dies aber möglicherweise relevante Faktoren, die daher für zukünftige Forschungsanstrengungen durchaus beachtenswert sind.

Eine weitere Limitation mit möglicher Einschränkung der Aussagekraft ergibt sich aus der Auswahl und Rekrutierung der Probanden. An der hier vorliegenden Studie durften lediglich gesunde Menschen im Alter zwischen 18 und 35 Jahren teilnehmen. Außerdem nehmen erfahrungsgemäß an Studien des Instituts für Neuroendokrinologie überdurchschnittlich viele Studenten und Menschen aus dem unmittelbaren Umfeld der Universität zu Lü-

beck teil, deren kognitive Fähigkeiten damit zumindest tendenziell etwas über dem Bevölkerungsdurchschnitt liegen dürften. Da es sich um eine Grundlagenarbeit handelt, wurde in der Rekrutierung der Probanden für die vorliegende Studie nicht auf eine möglichst dem Bevölkerungsdurchschnitt entsprechende Stichprobe geachtet, wodurch sich zumindest theoretisch ein systematischer Fehler ergibt. Ob dies auch konkrete Auswirkungen auf die Ergebnisse hat, kann letztlich nicht sicher ausgeschlossen werden, wobei bei einem grundsätzlichen Mechanismus der Beeinflussung der Gedächtniskonsolidierung durch zentralnervöses Insulin die kognitive Leistungsfähigkeit zumindest aus theoretischen Überlegungen keine entscheidende Rolle spielen dürfte.

Darüber hinaus wurde aufgrund der Ein- und Ausschlusskriterien für die Probandenstichprobe die Personengruppe der älteren Menschen mit durchschnittlich schlechterer Gedächtnisleistung nicht berücksichtigt. Allerdings wurden, wie in Kap. 1.3.2 beschrieben, gerade bei neurodegenerativen Erkrankungen wie dem Morbus Alzheimer positive Effekte einer intranasalen Insulingabe auf die Gedächtnisleistung beobachtet (Craft et al. 1999, Reger et al. 2006, Reger et al. 2008). Möglicherweise tragen weitere Erkenntnisse über die Modulation der Gedächtnisleistung durch Insulin in der Zukunft dazu bei, Patienten, die an neurodegenerativen Erkrankungen leiden, eine verbesserte supportive Therapie anbieten zu können oder gar eine gewisse Form von Prävention zu ermöglichen. Darüber hinaus könnte die weitere Erforschung der Mechanismen von Insulineinflüssen auf das ZNS auch Erkenntnisse zur Pathophysiologie neurodegenerativer Erkrankungen liefern.

## 5. Zusammenfassung

In aktuellen Studien konnte gezeigt werden, dass zentralnervöses Insulin, neben seiner wichtigen Rolle in der Regulation der Energiehomöostase, einen positiven Effekt auf die deklarative Gedächtnisleistung hat. Allerdings ist noch weitgehend unklar, auf welchen Gedächtnisprozess (Enkodierung, Konsolidierung oder Abruf) Insulin diesen Effekt ausübt. Mittels intranasaler Insulingabe, die zur Untersuchung zentralnervöser Insulineffekte ohne systemische Nebenwirkung eingesetzt werden kann, wurde deshalb in der vorliegenden Arbeit der Einfluss von Insulin auf die nächtliche Konsolidierungsphase des Gedächtnisses untersucht.

An der randomisierten, doppelblinden, placebokontrollierten Studie nahmen 32 normalgewichtige, gesunde, 18-30 jährige Probanden teil, wobei das Geschlechterverhältnis ausgewogen war (16 Frauen, 16 Männer). Ihre unter Insulineinfluss erzielten Gedächtnisleistungen wurden mit denen unter Placebogabe verglichen (within-subject design).

Es ergab sich erwartungsgemäß keine Veränderung in der prozeduralen, aber unerwarteterweise auch keine Beeinflussung der deklarativen Gedächtnisleistung unter Insulingabe bei polysomnographisch unverändertem Nachtschlaf im Vergleich zur Placebogruppe. Am Folgeabend zeigte sich jedoch beim Lernen der Interferenzaufgabe für das prozedurale Gedächtnis eine trendweise geringere Lernleistung beider Geschlechter in der Insulinbedingung. Gleichzeitig erinnerten sich die Männer in der Insulinbedingung signifikant schlechter an die kurz zuvor gelernten Interferenzwörter. Im Gegensatz dazu gaben die männlichen Probanden zu diesem Zeitpunkt ein geringeres Gefühl der Benommenheit an.

Diese Ergebnisse lassen den Schluss zu, dass der positive Effekt erhöhter zentralnervöser Insulinkonzentration auf die Gedächtnisleistung nicht durch einen Einfluss auf die Konsolidierungsphase während des Schlafes vermittelt wird. Weitere Forschungsanstrengungen sind nötig, um den genauen Wirkmechanismus aufzudecken – möglicherweise beeinflusst Insulin andere Phasen der Gedächtnisbildung oder übt seinen Einfluss über nicht schlafassoziierte Prozesse aus. Gleichzeitig werfen diese Ergebnisse die Frage nach einem späten indirekten, die Gedächtnisleistung negativ beeinflussenden Insulineffekt auf. Erkenntnisse aus diesen Forschungsbemühungen könnten hilfreich zum Verständnis oder in der Therapie von neurodegenerativen Erkrankungen, wie der Alzheimer- und der Parkinsonkrankheit, sein.



## 6. Literaturverzeichnis

- Baddeley, A (2001): *Is working memory still working?* Am Psychol. 56, 851-864
- Balin BJ, Broadwell RD, Salcman M, el-Kalliny M (1986): *Avenues for entry of peripherally administered protein to the central nervous system in mouse, rat, and squirrel monkey.* J Comp Neurol. 251, 260-280
- Baskin DG, Figlewicz Lattemann D, Seeley RJ, Woods SC, Porte D Jr, Schwartz MW (1999): *Insulin and leptin: dual adiposity signals to the brain for the regulation of food intake and body weight.* Brain Res. 848, 114-123
- Benedict C, Hallschmid M, Hatke A, Schultes B, Fehm H, Born J, Kern W (2004): *Intranasal insulin improves memory in humans.* Psychoneuroendocrinology 29, 1326-1334
- Benedict C, Hallschmid M, Schmitz K, Schultes B, Ratter F, Fehm HL, Born J, Kern W (2007): *Intranasal insulin improves memory in humans: superiority of insulin aspart.* Neuropsychopharmacology 32, 239-243
- Benedict C, Kern W, Schultes B, Born J and Hallschmid M (2008): *Differential Sensitivity of Men and Women to Anorexigenic and Memory-Improving Effects of Intranasal Insulin.* J Clin Endocrinol Metab. 93, 1339-1344
- Benedict C, Frey WH 2nd, Schiöth HB, Schultes B, Born J, Hallschmid M (2011): *Intranasal insulin as a therapeutic option in the treatment of cognitive impairments.* Exp Gerontol. 46, 112-115
- Born J, Lange T, Kern W, McGregor GP, Bickel U, Fehm HL (2002): *Sniffing neuropeptides: a transnasal approach to the human brain.* Nat Neurosci. 5, 514-516
- Born J, Rasch B, Gais S (2006): *Sleep to remember.* Neuroscientist 12, 410-424

- Brüning JC, Gautam D, Burks DJ, Gillette J, Schubert M, Orban PC, Klein R, Krone W, Müller-Wieland D, Kahn CR (2000): *Role of brain insulin receptor in control of body weight and reproduction*. Science 289, 2122-2125
- Clegg DJ, Riedy CA, Smith KA, Benoit SC, Woods SC (2003): *Differential sensitivity to central leptin and insulin in male and female rats*. Diabetes 52, 682-687
- Clegg DJ, Brown LM, Woods SC, Benoit SC (2006): *Gonadal hormones determine sensitivity to central leptin and insulin*. Diabetes 55, 978-987
- Craft S, Peskind E, Schwartz MW, Schellenberg GD, Raskind M, Porte D Jr (1998): *Cerebrospinal fluid and plasma insulin levels in Alzheimer's disease: relationship to severity of dementia and apolipoprotein E genotype*. Neurology 50, 164-168
- Craft S, Asthana S, Newcomer JW, Wilkinson CW, Matos IT, Baker LD, Cherrier M, Lofgreen C, Latendresse S, Petrova A, Plymate S, Raskind M, Grimwood K, Veith RC (1999): *Enhancement of memory in Alzheimer disease with insulin and somatostatin, but not glucose*. Arch Gen Psychiatry. 56, 1135-1140
- Craft S, Baker LD, Montine TJ, Minoshima S, Watson GS, Claxton A, Arbuckle M, Callaghan M, Tsai E, Plymate SR, Green PS, Leverenz J, Cross D, Gerton B (2012): *Intranasal insulin therapy for Alzheimer disease and amnesic mild cognitive impairment: a pilot clinical trial*. Arch Neurol. 69, 29-38
- Diekelmann S, Wilhelm I, Born J (2009): *The whats and whens of sleep-dependent memory consolidation*. Sleep Med Rev. 13, 309-321
- Diekelmann S, Born J (2010): *The memory function of sleep*. Nat Rev Neurosci. 11, 114-26
- Dudel J, Heckmann M (2005): *Erregungsleitung und synaptische Übertragung*, in: Schmidt RF, Lang F, Thews G: *Physiologie des Menschen mit Pathophysiologie*. 29. Auflage, Kapitel 5, 86-115, Springer Verlag, Heidelberg

- Ellenbogen JM, Hulbert JC, Stickgold R, Dinges DF, Thompson-Schill SL (2006): *Interfering with theories of sleep and memory: sleep, declarative memory, and associative interference*. *Current Biology* 16, 1290-1294
- Faber HK (1938): *The early lesions of poliomyelitis after intranasal inoculation*. *J Pediatr.* 13, 10-37
- Fischer S, Drosopoulos S, Tsen J, Born J (2006): *Implicit learning – explicit knowing: a role for sleep in memory system interaction*. *J Cogn Neurosci.* 18, 311-319
- Fogel SM, Smith CT, Cote KA (2007): *Dissociable learning-dependent changes in REM and non-REM sleep in declarative and procedural memory systems*. *Behav Brain Res.* 180, 48-61
- Gais S, Born J (2004): *Low acetylcholine during slow-wave sleep is critical for declarative memory consolidation*. *Proc Natl Acad Sci. USA* 101, 2140-2144
- Giuditta A, Ambrosini MV, Montagnese P, Mandile P, Cotugno M, Grassi Zucconi G, Vescia S (1995): *The sequential hypothesis of the function of sleep*. *Behav Brain Res.* 69, 157-166
- Görtelmeyer R (2005): *SF-A und SF-B. Schlafragebogen A und B*, In: *Collegium International Psychiatricae Sclorum (Hrsg.) Internationale Skalen für die Psychiatrie*. Beltz, Weinheim
- Greenwood CE, Winocur G (2001): *Glucose treatment reduces memory deficits in young adult rats fed high-fat diets*. *Neurobiol Learn Mem.* 75, 179-189
- Grillo CA, Piroli GG, Kaigler KF, Wilson SP, Wilson MA, Reagan LP (2011): *Downregulation of hypothalamic insulin receptor expression elicits depressive-like behaviors in rats*. *Behav Brain Res.* 222, 230-235
- Hajnal A, Pothos EN, Lénárd L, Hoebel BG (1998): *Effects of feeding and insulin on extracellular acetylcholine in the amygdala of freely moving rats*. *Brain Res.* 785, 41-48

- Hallschmid M, Benedict C, Schultes B, Fehm HL, Born J, Kern W (2004): *Intranasal insulin reduces body fat in men but not in women*. Diabetes 53, 3024-3029
- Hallschmid M, Schultes B (2009): *Central nervous insulin resistance: a promising target in the treatment of metabolic and cognitive disorders?* Diabetologia 52, 2264-2269
- Havrankova J, Roth J, Brownstein M (1978): *Insulin receptors are widely distributed in the central nervous system of rat*. Nature 272, 827-829
- Hillebrand JJ, Geary N (2009): *Do leptin and insulin signal adiposity?* Forum Nutr. 63, 111-122
- Illum L, Farraj NF, Davis SS (1994): *Chitosan as a novel nasal delivery system for peptide drug*. Pharm Res. 11, 1186-1189
- Illum L (2000): *Transport of drugs from the nasal cavity to the central nervous system*. Eur J Pharm Sci.11, 1-18
- Janke W, Debus G (1978): *Die Eigenschaftswörterliste (EWL)*. Hogrefe, Göttingen
- Ji D, Wilson MA (2007): *Coordinated memory replay in the visual cortex and hippocampus during sleep*. Nat Neurosci.10, 100-107
- Kern W, Peters A, Fruehwald-Schultes B, Deininger E, Born J, Fehm HL (2001): *Improving influence of insulin on cognitive functions in humans*. Neuroendocrinology 74, 270-280
- Kopf SR, Baratti CM (1999): *Effects of posttraining administration of insulin on retention of a habituation response in mice: participation of a central cholinergic mechanism*. Neurobiol Learn Mem. 71, 50-61
- Lestienne R, Hervé-Minvielle A, Robinson D, Briois L, Sara SJ (1997): *Slow oscillations as a probe of the dynamics of the locus coeruleus-frontal cortex interaction in anesthetized rats*. J Physiol Paris. 91, 273-284

- Lucignani G, Namba H, Nehlig A, Porrino LJ, Kennedy C, Sokoloff L (1987): *Effects of insulin on local cerebral glucose utilization in the rat*. J Cereb Blood Flow Metab. 7, 309-314
- Marfaing-Jallat P, Portha B, Pénicaud L (1995): *Altered conditioned taste aversion and glucose utilization in related brain nuclei of diabetic GK rats*. Brain Res Bull. 37, 639-643
- Marfaing P, Penicaud L, Broer Y, Mraovitch S, Calando Y, Picon L (1990): *Effects of hyperinsulinemia on local cerebral insulin binding and glucose utilization in normoglycemic awake rats*. Neurosci Lett. 115, 279-285
- Marshall L, Born J (2007): *The contribution of sleep to hippocampus-dependent memory consolidation*. Trends Cogn Sci. 11, 442-450
- Morton GJ, Cummings DE, Baskin DG, Barsh GS, Schwartz MW (2006): *Central nervous system control of food intake and body weight*. Nature 443, 289-295
- Mosconi L, Mistur R, Switalski R, Tsui WH, Glodzik L, Li Y, Pirraglia E, De SS, Reisberg B, Wisniewski T, de Leon MJ (2009): *FDG-PET changes in brain glucose metabolism from normal cognition to pathologically verified Alzheimer's disease*. Eur J Nucl Med Mol Imaging. 36, 811-822
- Nádasdy Z, Hirase H, Czurkó A, Csicsvari J, Buzsáki G (1999): *Replay and time compression of recurring spike sequences in the hippocampus*. J Neurosci. 19, 9497-9507
- Obici S, Zhang BB, Karkanias G, Rossetti L (2002): *Hypothalamic insulin signaling is required for inhibition of glucose production*. Nat Med. 8, 1376- 1382
- Oomura Y, Kita H (1981): *Insulin acting as a modulator of feeding through the hypothalamus*. Diabetologia 20, 290-298
- Palovcik RA, Phillips MI, Kappy MS, Raizada MK (1984): *Insulin inhibits pyramidal neurons in hippocampal slices*. Brain Res. 309, 187-191

- Park CR (2001): *Cognitive effects of insulin in the central nervous system*. *Neurosci Biobehav Rev.* 25, 311-323
- Park CR, Seeley RJ, Craft S, Woods SC (2000): *Intracerebroventricular insulin enhances memory in a passive-avoidance task*. *Physiol Behav.* 68, 509-514
- Petrides M, Alivisatos B, Meyer E, Evans AC (1993): *Functional activation of the human frontal cortex during the performance of verbal working memory tasks*. *Proc Natl Acad Sci USA* 90, 878-882
- Peigneux P, Orban P, Baeteu E, Degueldre C, Luxen A, Laureys S, Maquet P (2006): *Offline persistence of memory-related cerebral activity during active wakefulness*. *PLoS Biol.* 4:e100. Epub 2006 Mar 28.
- Plihal W, Born J (1999): *Effects of early and late nocturnal sleep on priming and spatial memory*. *Psychophysiology* 36, 571-582
- Poldrack RA, Clark J, Paré-Blagoev EJ, Shohamy D, Creso Moyano J, Myers C, Gluck MA (2001): *Interactive memory systems in the human brain*. *Nature* 414, 546-550
- Porte D Jr, Baskin DG, Schwartz MW (2005): *Insulin signaling in the central nervous system: a critical role in metabolic homeostasis and disease from c. elegans to humans*. *Diabetes* 54, 1264-1276
- Porte D Jr, Woods SC (1981): *Regulation of food intake and body weight in insulin*. *Diabetologia* 20 Suppl, 274-280
- Rasch B, Büchel C, Gais S, Born J (2007): *Odor cues during slow-wave sleep prompt declarative memory consolidation*. *Science* 315, 1426-1429
- Rechtschaffen A, Bergmann BM (1995): *Sleep deprivation in the rat by the disk-over-water method*. *Behavioural Brain Research* 69, 55-63

- Rechtschaffen A, Kales A (1968): *A manual of standardized terminology, techniques and scoring systems of sleep stages of human subjects*. Bethesda: US Department of Health, Education and Welfare.
- Reger MA, Watson GS, Green PS, Baker LD, Cholerton B, Fishel MA, Plymate SR, Cherrier MM, Schellenberg GD, Frey WH 2nd, Craft S (2008): *Intranasal insulin administration dose-dependently modulates verbal memory and plasma amyloid-beta in memory-impaired older adults*. *J Alzheimers Dis.* 13, 323-331
- Reger MA, Watson GS, Frey WH 2nd, Baker LD, Cholerton B, Keeling ML, Belongia DA, Fishel MA, Plymate SR, Schellenberg GD, Cherrier MM, Craft S (2006): *Effects of intranasal insulin on cognition in memory-impaired older adults: modulation by APOE genotype*. *Neurobiol Aging.* 27, 451-458
- Sakane T, Akizuki M, Yamashita S, Nadai T, Hashida M, Sezaki H (1991): *The transport of a drug to the cerebrospinal fluid directly from the nasal cavity: the relation to the lipophilicity of the drug*. *Chem Pharm Bull* 39, 2456-2458
- Schendan HE, Searl MM, Melrose RJ, Stern CE (2003): *An FMRI study of the role of the medial temporal lobe in implicit and explicit sequence learning*. *Neuron* 37, 1013-1025
- Shibata S, Liou SY, Ueki S, Oomura Y (1986): *Inhibitory action of insulin on suprachiasmatic nucleus neurons in rat hypothalamic slice preparations*. *Physiol Behav.* 36, 79-81
- Siegel JM (2009): *Sleep viewed as a state of adaptive inactivity*. *Nat Rev Neurosci.* 10, 747-753
- Skeberdis VA, Lan J, Zheng X, Zukin RS, Bennett MV (2001): *Insulin promotes rapid delivery of N-methyl-D-aspartate receptors to the cell surface by exocytosis*. *Proc Natl Acad Sci USA.* 98, 3561-3566
- Smith C (2001): *Sleep states and memory processes in humans: procedural versus declarative memory systems*. *Sleep Med Rev.* 5, 491-506

- Squire LR, Zola SM (1996): *Structure and function of declarative and nondeclarative memory systems*. Proc Natl Acad Sci USA 93, 13515-13522
- Steriade M (2006): *Grouping of brain rhythms in corticothalamic systems*. Neuroscience 137, 1087-1106
- Steyer R, Schwenkmezger P, Notz P, Eid M (1997): *Der mehrdimensionale Befindlichkeitsfragebogen (MDBF)*. Handanweisung. Hogrefe, Göttingen
- Stickgold R (2005): *Sleep-dependent memory consolidation*. Nature 437, 1272-1278
- Stickgold R, Walker MP (2007): *Sleep-dependent memory consolidation and reconsolidation*. Sleep Med 8, 331- 343
- Stranahan AM, Arumugam TV, Cutler RG, Lee K, Egan JM, Mattson MP (2008): *Diabetes impairs hippocampal function through glucocorticoid-mediated effects on new and mature neurons*. Nat Neurosci.11, 309-317
- Tononi G, Cirelli C (2006): *Sleep function and synaptic homeostasis*. Sleep Med Rev. 10, 49-62
- Trepel M (2004): *Neuroanatomie, Struktur und Funktion*. 3. Auflage, Elsevier GmbH, München
- Tulving E, Kapur S, Craik FI, Moscovitch M, Houle S (1994): *Hemispheric encoding/retrieval asymmetry in episodic memory: positron emission tomography findings*. Proc Natl Acad Sci USA 91, 2016-2020
- Unger JW, Livingston JN, Moss AM (1991): *Insulin receptors in the central nervous system: localization, signalling mechanisms and functional aspects*. Prog Neurobiol 36, 343-362
- Walker MP, Brakefield T, Hobson JA, Stickgold R (2003): *Dissociable stages of human memory consolidation and reconsolidation*. Nature 425, 616-620



- Walker MP, Stickgold R (2006): *Sleep, memory, and plasticity*. *Annu Rev Psychol* 57, 139-166
- Whitmer RA, Gustafson DR, Barrett-Connor E, Haan MN, Gunderson EP, Yaffe K (2008): *Central obesity and increased risk of dementia more than three decades later*. *Neurology* 71, 1057–1064
- Wilson MA, McNaughton BL (1994): *Reactivation of hippocampal ensemble memories during sleep*. *Science* 265, 676-679
- Woods SC, Lotter EC, McKay LD, Porte D Jr. (1979): *Chronic intracerebroventricular infusion of insulin reduces food intake and body weight of baboons*. *Nature* 282, 503-505
- Woods SC, Seeley RJ, Baskin DG, Schwartz MW (2003): *Insulin and the blood-brain barrier*. *Curr Pharm Des* 9, 795-800

## 7. Danksagung

Mein Dank gilt Herrn Prof. Dr. Jan Born für die Überlassung des Dissertationsthemas und die Nutzung sämtlicher Materialien und Räumlichkeiten.

Besonders bedanken möchte ich mich bei meinem Betreuer und Doktorvater Herrn Priv.-Doz. Dr. Manfred Hallschmid für die hervorragende Betreuung der gesamten Arbeit.

Bei Benjamin Rüdél, mit dem ich gemeinsam die Experimente zu dieser Dissertation durchgeführt habe, bedanke ich mich herzlich für die stets sehr gute Zusammenarbeit.

Für die Einweisung in die vielen technischen Abläufe während der Versuchsdurchführung und -auswertung bedanke ich mich bei Frau Dr. Susanne Diekelmann, Frau Dr. Ines Wilhelm, Frau Dipl.-Psych. Sabine Groch und allen anderen wissenschaftlichen Mitarbeitern des Institutes für Neuroendokrinologie, die mir stets freundlich zur Seite gestanden haben.

Frau Anja Otterbein und Frau Anja Niepelt danke ich für die Unterstützung in jeglichen organisatorischen Angelegenheiten und für die Besorgung aller benötigten Materialien.

Nicht zuletzt bedanke ich mich bei meinen Eltern, die mir während der Versuche und der Erstellung der Dissertationsschrift stets hilfreich zur Seite gestanden haben. Meiner Schwiegermutter möchte ich für das Korrekturlesen und die große Hilfe bei der Fertigstellung der Dissertation danken.

Ganz besonders bedanke ich mich bei meinem Mann Jonas, der mir während der gesamten Zeit als großartige Stütze zur Seite stand. Seine konstruktive Kritik und unermüdliche Geduld haben mich stets ermutigt und nicht zuletzt zum Ziel gebracht.