

Aus dem Institut für Neuroendokrinologie
der Universität zu Lübeck
Direktor: Prof. Dr. Jan Born

**Die Wirkung von intranasal verabreichtem Orexin A
auf Aktivität, Nahrungsaufnahme und Spontan-EEG
beim Menschen**

Eine Untersuchung an gesunden Probanden

Inauguraldissertation

Zur Erlangung der Doktorwürde
der Universität zu Lübeck
- Aus der Medizinischen Fakultät -

vorgelegt von
Kilian Haase
aus Bamberg

Lübeck, 2006

1. Berichterstatter/Berichterstatterin: Prof. Dr. rer. soc. Jan Born

2. Berichterstatter/Berichterstatterin:

Tag der mündlichen Prüfung: 22.09.2006.....

Zum Druck genehmigt. Lübeck, den 22.09.2006.....

Gliederung

1. <u>Einleitung und Stand der Forschung</u>	1
1.1. Regulation des Körpergewichts.....	1
1.2. Das Orexin-System.....	3
1.2.1. Geschichtlicher Hintergrund.....	3
1.2.2. Anatomische, biochemische und pharmakologische Grundlagen.....	4
1.2.2.1 Struktur des Orexins.....	4
1.2.2.2. Verteilungsmuster der Orexin-Neurone.....	4
1.2.2.3. Struktur der Orexin-Rezeptoren.....	5
1.2.2.4. Zentralnervöses Verteilungsmuster der Orexin-Rezeptoren.....	5
1.2.2.5. Neuronales Orexin-System/Netzwerk.....	5
1.2.3. Physiologische Wirkung des Orexins.....	6
1.2.4. Regulation der Orexin-Neurone/Netzwerke.....	7
1.3. Methodischer Hintergrund.....	8
1.3.1 Die intranasale Gabe von Neuropeptiden.....	8
1.3.2. Elektrophysiologische Grundlagen.....	9
1.3.2.1. Spontan-EEG.....	10
1.3.2.2. EEG-Veränderungen bei Durst- und Hungerstillung.....	11
1.4. Fragestellung.....	12
2. <u>Methoden</u>	14
2.1. Versuchspersonen.....	14
2.2. Versuchsablauf.....	14
2.3. Datenerhebung.....	17
2.4. Blutentnahmen.....	18
2.5. Brötchen.....	18
3. <u>Ergebnisse</u>	19
3.1. Spontan-EEG.....	19
3.1.1. Theta (4-8 Hz).....	20
3.1.2. Unteres Alpha (8-10 Hz).....	22
3.1.3. Oberes Alpha (10-12 Hz).....	25
3.1.4. Delta (0,5-4 Hz).....	27

3.1.5. Beta (12-30 Hz).....	27
3.1.6. Gamma (30-45 Hz).....	28
3.2. Behaviorale Maße.....	30
3.2.1. 10-Punkte Rating.....	30
3.2.2. EWL-K.....	34
3.2.3. Bipolar-Skala.....	36
3.3. Endokrine Parameter.....	38
3.4. Brötchenverzehr.....	38
3.5. Revisionstest.....	39
<u>4. Diskussion</u>	40
4.1. Spontan-EEG.....	40
4.2. Behaviorale Maße.....	41
4.2.1. Einfluss von Orexin A auf Hunger und Essverhalten.....	41
4.2.2. Einfluss von Orexin A auf das Aktivitätsniveau.....	43
<u>5. Zusammenfassung</u>	46
<u>6. Literaturverzeichnis</u>	47
<u>7. Anhang</u>	53
A: Information für Probanden.....	53
B: Einverständniserklärung.....	54
C: Ethikvotum.....	54
D: Bipolar-Skala.....	55
<u>8. Danksagung</u>	56
<u>9. Lebenslauf</u>	57

1. Einleitung und Stand der Forschung

Adipositas und ihre Folgekrankheiten gehören heute zu den zahlenmäßig führenden Krankheiten in unserer Gesellschaft und werden offensichtlich in der Zukunft noch an Bedeutung gewinnen. In einigen westlichen Industrienationen sind mehr als 30 Prozent der Menschen übergewichtig. Schätzungen zufolge ist die Adipositas aufgrund ihrer unmittelbaren Folgeerkrankungen in den Industrieländern bereits für 10% aller Gesundheitskosten verantwortlich (<http://www.adipositas-online.de>).

Es ist bekannt, dass Übergewicht/Adipositas bei der Entstehung von Folgekrankheiten wie Diabetes mellitus, arteriellem Hypertonus und Fettstoffwechselstörungen eine zentrale Rolle innehat. Die grundlegenden Mechanismen, die Hunger, Nahrungsaufnahme, Sättigung und Körpergewicht regulieren, sind allerdings erst unvollständig verstanden.

1.1. Regulierung des Körpergewichts

Das Körpergewicht scheint individuell in engen Grenzen reguliert zu werden. In bemerkenswerter Art und Weise kehrt das Körpergewicht nach Gewichtszunahme oder -abnahme in den meisten Fällen zu einem konstanten Ausgangspunkt („Set-point“) zurück (Seeley und Woods, 2003). Der laterale Hypothalamus als „Esszentrum“ und der ventromediale Hypothalamus als „Sättigungszentrum“ spielen hierbei eine herausragende Rolle. In ihnen werden übergeordnete und komplexe Vorgänge in Gang gesetzt, um den Organismus im Bezug auf Essverhalten und daraus resultierendes Körpergewicht im Gleichgewicht zu halten.

So triggern periphere Signale, die die Fett- bzw. Glucosereserve des Körpers anzeigen, zentrale Regulationsmechanismen im Nucleus arcuatus des Hypothalamus. Hierzu gehören das in den Beta-Zellen des Pankreas produzierte Insulin und das aus den weißen Fettzellen stammende Leptin („Adipositas-Signale“, Seeley und Woods, 2003). Ist bei Normalgewichtigen der Insulin-Gehalt oder die Leptin-Konzentration im Blut erhöht, resultiert ein anorexigener/kataboler Signalweg (vermindertes Hunger/Durstgefühl). Sinkt die Sekretion der beiden Hormone im Blut, tritt ein orexigener/anaboler Regelkreis ein (gesteigertes Hunger/Durstgefühl).

Durch komplexe Interaktion von Peripherie-Signal und ZNS-Antwort werden die Nahrungsaufnahme und der Energiegrundverbrauch der aktuellen Angebot/Nachfrage-Situation des Körpers individuell angepasst und grundlegend reguliert. Sicherlich dürfen auch äußere Einflüsse wie familiäre, kulturelle und psychosoziale Faktoren dabei nicht außer Acht

gelassen werden. Eine detaillierte Ausführung der daran beteiligten Neurotransmitter würde den Rahmen dieser Arbeit sprengen, daher wird auf die Erläuterungen der Abb. 1 sowie Seeley und Woods (2003) verwiesen.

Periphere Signalhormone

Äußere Faktoren

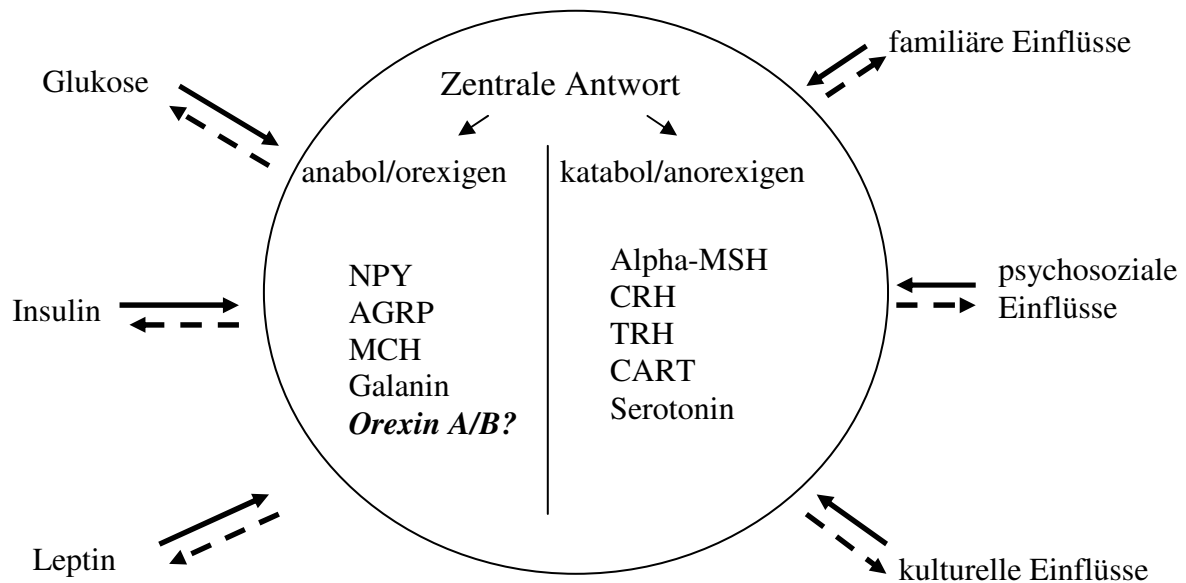


Abb. 1: Vereinfachtes Gesamtbild der Regulation des Körpergewichts.

Periphere Signalhormone und äußere Faktoren führen zu zentralen ZNS-Antworten, welche letztlich die Nahrungsaufnahme und damit das Körpergewicht regulieren. Bei anabol/orexigenem Regelkreis geschieht dies mittels der Neurotransmitter Neuropeptid Y (NPY), Agouti-Related Proteine (AgRP), Melanin-concentrating hormone (MCH) und Galanin. Katabol/anorexige Regelkreise erfolgen mittels alpha-Melanozyten stimulierendes Hormon (Alpha-MSH), Thyreotropin releasing hormon (TRH), Corticotropin-Releasing-Hormon (CRH); Cocain- und Amphetamin-regulierendes Transkript (CART) und Serotonin.

Orexin A und Orexin B gehören zu einer neuen Gruppe von Peptiden, die erstmalig im Hypothalamus der Ratte isoliert wurden. Ihnen werden zentrale appetitstimulierende Wirkungen zugeschrieben. Bei Nahrungskarenz wird die Orexinproduktion angetrieben (Sakurai , 2002b). Ist für längere Zeit wenig oder keine Nahrung verfügbar, äußert sich dies z. B. in Form von fallender Blutglucose bzw. sinkender Plasma-Insulin und/oder Leptin-Konzentration. Die erhöhte Orexinexpression versetzt den Organismus daraufhin in Alarmbereitschaft, die Katecholaminproduktion wird gesteigert (Shirasaki et al., 1999) und eine zielgerichtete Nahrungssuche wird eingeleitet.

Mit Hilfe dieser Studie, an der 14 Probanden teilnahmen, wurde untersucht, wie sich die intranasale Verabreichung von Orexin A beim Menschen auf Wohlbefinden, Wachheit, sowie Hunger und Durstgefühl auswirkt. Zusätzlich wurden die Hirnströme/das Elektroenzephalogramm (EEG) aufgezeichnet. Besonderes Augenmerk wurde dabei auf die Frequenzbänder des Spontan-EEGs gelegt.

1.2. Das Orexin-System

1.2.1. Geschichtlicher Hintergrund

Im Januar 1998 identifizierten de Lecea und seine Mitarbeiter ein Prohormon, welches eine ähnliche Struktur aufwies wie das gastrointestinale Hormon Secretin (de Lecea et al., 1998). Es ist Muttersubstanz für zwei Peptidhormone, die Hypocretin-1 und Hypocretin-2 genannt wurden. Nur einen Monat später publizierten Yanagisawa und Mitarbeiter (Sakurai et al., 1998) unabhängig von der vorhergehenden Veröffentlichung durch de Lecea et al. die Entdeckung zweier Peptide, welche als Liganden an sogenannten Orphan-Rezeptoren (einem Subtyp der Opiat-Rezeptoren) agieren. Aufgrund des nahezu ausschließlichen Vorkommens dieser Peptide im lateralen Hypothalamus vermutete man eine Beteiligung an der Regulation des Nahrungsverhaltens und des Energiehaushaltes (Samson et al., 2000). So wurde der Bezeichnung Hypocretin (Hcrt), der aus dem griechischen entnommene Name Orexin („orexis“ = Streben, Verlangen, Appetit) zur Seite gestellt. In vielen Veröffentlichungen wird daher von Hypocretin-1/2 bzw. Orexin A/B gesprochen.

Bei intravenöser Gabe von Orexin kann es zu Wirkungen im peripheren Kreislauf kommen, die die zentrale Wirkung von Orexin beeinflussen bzw. überlagern. So treten z.B. Verminderung der Magenentleerungszeit oder Veränderung von Atemfrequenz, Blutdruck und Herzaktivität auf (Zhang et al., 2005; Young et al., 2005; Ehrström et al., 2005). Um eine zentrale Wirkung von Orexin isoliert betrachten zu können, muss Orexin direkt ins ZNS befördert werden, ohne periphere Störfaktoren zu verursachen. Born und Mitarbeiter verwenden seit längerem eine Methode, um Neuropeptide wie auch Orexin auf nichtinvasivem Wege mittels eines Nasensprays direkt ins ZNS zu schleusen (Born et al., 2002). Durch Umgehung des peripheren Kreislaufs lässt sich das Risiko unerwünschter Wirkungen reduzieren (s.u.).

1.2.2. Anatomische, biochemische und pharmakologische Grundlagen

1.2.2.1. Struktur des Orexins

Bei Säugern wurden zwei Formen von Orexin isoliert: Orexin A ist ein Peptid aus 33 Aminosäuren (AS) und enthält einen N-terminalen Pyroglutamyl-Rest sowie eine C-terminale Amidation. Zwei Disulfid-Brücken-Bindungen stärken die Stabilität des Moleküls. Das Molekulargewicht beträgt 3561 Dalton. Orexin B ist mit einer Länge von 28 AS kürzer als Orexin A und bioaktiv schwächer wirksam. Es ist frei von Disulfid-Brücken und besitzt eine C-terminale Amidation. Das Molekulargewicht beträgt 3899 Dalton.

Die molekulare Übereinstimmung von Orexin A und Orexin B beträgt 46% (Hara et al. 2001), dennoch unterscheiden sich ihre physikochemischen Eigenschaften deutlich. Während Orexin A ein lipophiles Molekül ist, besitzt Orexin B vorwiegend lipophile Eigenschaften. Dies hat zu Folge, das Orexin A bei intravenöser Injektion rasch per diffusionem aus dem Blut ins ZNS gelangt (Kastin und Akerstrom, 1999), während Orexin B die Blut-Hirn-Schranke nicht überwindet und im Organismus schnell verstoffwechselt wird.

Präpro-Orexin ist mit 131 AS Länge das Mutterpeptid. Es zeigt bei Maus, Ratte, Kuh, Hund, Schwein und Mensch identischen Aufbau (Sakurai, 2002a). Beim Menschen wird Präpro-Orexin auf einem diskontinuierlichen Gen auf Chromosom 17q21 codiert (Sartin et al., 2001). Durch Splicing werden zwei Exons aneinandergesetzt und ein dazwischen liegendes, nichtcodierendes Intron herausgeschnitten. So können aus Präpro-Orexin Orexin A bzw. Orexin B gebildet werden.

1.2.2.2 Verteilungsmuster der Orexin-Neurone

Diejenigen Neurone, welche Orexin produzieren und synthetisieren, werden vorrangig im Bereich des lateralen Hypothalamus und in angrenzenden Arealen wie dem posterioren Hypothalamus und der Area perifornica angetroffen. In weitgefächerten Bahnen projizieren diese Neurone in das gesamte ZNS, vor allem in das Großhirn, das Mittelhirn, den Hirnstamm sowie das Rückenmark. Besonders ausgeprägte Ausläufer finden sich im zerebralen Kortex, dem Bulbus olfactorius, dem Hippocampus, der Amygdala (Mandelkern), dem Septum, dem diagonalen Band von Broca (motorisches Sprachzentrum), im Thalamus sowie in den nahegelegenen Bereichen des vorderen und hinteren Hypothalamus (Date et al. 1999; Nambu et al., 1999; Peyron et al., 1998; van den Pol et al., 1998). Annähernd identische Verteilungsmuster wurden bei Hamstern, Mäusen und Schafen gefunden. Diese hohe Sequenz-Konservierung über die Phylogenese hinweg lässt auf eine bedeutende Grundfunktion von Orexin bei Säugern schließen.

1.2.2.3. Struktur der Orexin-Rezeptoren

Zwei Orexin-Rezeptor-Subtypen mit einer AS-Übereinstimmung von 64% wurden in Säugern identifiziert (Sakurai et al., 1998): Orexin-1-Rezeptor und Orexin-2-Rezeptor. Beide gehören der Gruppe der Orphan-Rezeptoren aus der Familie der G-Protein-gekoppelten Opiat-Rezeptoren an. Bindungs-Assays mit radioaktiv markierten Liganden zeigten, dass die Rezeptoren unterschiedliche Bindungsaffinitäten zu Orexin A und B besitzen (Sakurai et al. 1998): Orexin-1-Rezeptoren weisen eine größere Affinität zu Orexin A auf als zu Orexin B, während sich die Affinität der Orexine zum Orexin-2-Rezeptor nicht unterscheidet.

1.2.2.4. Zentralnervöses Verteilungsmuster der Orexin-Rezeptoren

Mit Hilfe von In-situ-Hybridisationsstudien konnte ein Muster der Verteilung von Orexin-Rezeptoren erarbeitet werden. Als wichtigstes Beispiel sei hier zu Beginn die Verteilung im Hypothalamus dargestellt, dem bedeutendsten Areal des Gehirnes im Hinblick auf Ernährungsverhalten, Energieregulation sowie Orexin-Produktion. Eine Vielzahl an Orexin-1-Rezeptoren findet sich in anterioren sowie ventromedialen Hypothalamuskerngebieten (Trivedi et al., 1999; Marcus et al., 2001). Ein geringes Vorkommen an Orexin-1-Rezeptoren (m-RNA) hingegen wird im dorsomedialen Hypothalamuskern und im lateralen Hypothalamus aufgezeigt. Dort existiert dafür ein häufiges Vorkommen an Orexin-2-Rezeptoren (Marcus et al., 2001). Dieses unterschiedliche aber ausgewogene Auftreten von Orexin-1- und Orexin-2-Rezeptoren lässt auf eine sich ergänzende und in sich schlüssige Organisation in der Verteilung der Rezeptoren im zentralen Nervensystemgewebe schließen. Dieses Verteilungsmuster trifft auch für weitere Areale des Hypothalamus zu, wie zum Beispiel den Nucleus arcuatus (Nucleus infundibularis), den Nucleus paraventricularis, und vor allem den Nucleus tuberomammillaris (Trivedi et al., 1998; Marcus et al., 2001). Auch Bereiche außerhalb des Hypothalamus weisen eine ähnlich komplementäre Verteilung der Rezeptoren auf. Ein hoher Gehalt an Orexin-1-Rezeptoren zeigt sich in der Formation des Hippocampus, im limbischen System, im dorsalen Raphekern und vor allem im Locus coeruleus. Die mRNA von Orexin-2-Rezeptoren wird besonders im zerebralen Kortex, im Nucleus accumbens, im Nucleus subthalamicus, im Nucleus paraventricularis thalami und im vorderen prefrontalen Kern gebildet und exprimiert (Trivedi et al., 1998; Marcus et al., 2001).

1.2.2.5. Neuronales Orexin-System/Netzwerk

Eine dichte Projektion der Orexin-Neurone führt zum Nucleus arcuatus, einem Gebiet, in dem Leptin wichtige Wirkungen auslöst (Date et al., 1999; Peyron et al., 1998; Yamanaka et al.,

2000). Dort innervieren Orexin-Neurone auch Neurone, welche Neuropeptid Y (NPY), ein weiteres hungerstimulierendes Neuropeptid, exprimieren (Horvath et al., 1999; Yamanaka et al., 2000). Experimente diesbezüglich weisen auf eine rege Interaktion der Orexin-Neurone mit NPY-Neuronen hin. Sartin et al. zeigten 2001, dass eine kombinierte Gabe von NPY und Orexin B im Schaf einen wesentlich größeren hungerantreibenden Effekt hat als die Gabe der einzelnen Substanzen (Sartin et al., 2001). Orexin besitzt somit eine große Bedeutung im Hinblick auf die Hunger- und Durst-Regulation und die Nahrungsaufnahme. Wichtige histologische Erkenntnisse, die auf eine Beteiligung von Orexin an der Wachheits- und Aufmerksamkeits-Regulation hinweisen, wurden dadurch gewonnen, dass Orexinbahnen auf ihrem Weg zu bedeutenden katecholaminproduzierenden Kernen verfolgt werden konnten. Dazu gehören zum Beispiel der Nucleus tuberomammilaris (Histamin) (Yamanaka et al., 2002), der Locus coeruleus (Noradrenalin) (Bourgin et al., 2000), der dorsale Raphekern (Serotonin) (Brown et al., 2001), die Area tegmentalis ventralis (Dopamin) und die cholinergen Nuclei tegmentales laterodorsales und pedunculopontinei (Date et al., 1999; Nambu et al., 1999; Peyron et al., 1998; Nakamura et al., 2000; Hagan et al., 1999). Orexin-Neurone projizieren auch in die Columna intermediolateralis und in Kerngebiete des Vagusnervs, hierbei vor allem in den Tractus solitarius und den dorsalen motorischen Vagusnerv (Date et al., 1999; van den Pol, 1999; Shirasaka et al., 1999). Damit besitzt Orexin nicht nur eine Wirkung auf die Wachheits- und Aufmerksamkeits-Regulation, sondern auch einen modulierenden Einfluss auf autonome Funktionen des Körpers. Alle obengenannten Projektionsbahnen beziehen sich auf Erkenntnisse aus Ratten oder anderen Säugetieren. Nach Moore et al. (2001) sind die Bahnen bei Menschen jedoch identisch und somit übertragbar. Ob dadurch auch auf eine identische Funktionsweise des Orexins zwischen Nager und Primat bzw. Mensch geschlossen werden kann scheint nach neueren Studien jedoch fraglich (s.u.).

1.2.3. Physiologie des Orexins

Verabreicht man Orexin direkt in den lateralen Ventrikel von Ratten, zeigt sich bei diesen neben einem erhöhten generellen Bewegungsantrieb (Nakamura et al., 2000) und vermehrter Aufmerksamkeit (Hagan et al., 1999) auch ein gesteigertes Bestreben, Nahrung und Flüssigkeit zu sich zu nehmen (Sakurai et al., 1998; Kunii et al., 1999). Diese Beobachtungen wurden durch die zentrale Injektion eines Orexin-neutralisierenden Anti-Orexin Antikörpers bestätigt. Hierbei wurde die Nahrungsaufnahme signifikant unterdrückt (Yamada et al., 2000). Schaltet man bei Ratten gezielt das Orexin kodierende Gen aus bzw. hemmt die Orexin-Produktion, führt dies zu einem Verhalten, das von Hypophagie (Fressunlust), herabgesetzter

Wachheit (Somnolenz) und gestörtem Schlaf-Wach-Rhythmus geprägt wird, ein Bild, welches dem Krankheitsbild der Narkolepsie beim Menschen sehr ähnlich ist (Chemelli et al., 1999). Diese Krankheit wurde 1880 erstmals von dem französischen Neurologen und Psychiater Gélinau beschrieben. Die vier häufigsten Symptome der Narkolepsie sind übermäßige Tagesschläfrigkeit, Kataplexie (plötzlicher Tonusverlust der Muskeln), Schlafparalyse (Schlafähmung) und hypnagoge Halluzinationen (kurz vor dem Einschlafen oder im Halbschlaf auftretende visuelle oder akustische Halluzinationen). Die am häufigsten mit einer Orexin-Imbalance assoziierte Narkolepsie-Form (Narkolepsie mit Kataplexie) besitzt in der weißen Bevölkerung eine Prävalenz von 0,05% (Khatami et al., 2004). Bei genauerer Untersuchung zeigt sich, dass der REM-Schlaf bei Narkolepsie-Leidenden fast unmittelbar nach dem Einschlafen auftritt (Sleep-Onset-REM). Beim Gesunden hingegen beginnt der Schlaf nicht mit einer REM-, sondern mit einer NREM-Phase. Die Symptome der Narkolepsie können sich über mehrere Jahre langsam entwickeln oder ganz plötzlich und ohne Vorankündigung in Erscheinung treten. Bei 5-10% der Betroffenen findet sich ein familiäres Vorkommen.

In den meisten Fällen besitzt die Narkolepsie zwar keinen direkten Zusammenhang zu Mutationen von Orexinliganden oder Rezeptoren, trotzdem ist sie verbunden mit erniedrigten Liquor-Orexin A-Spiegeln, die bei 90% der Narkoleptikern unter der Nachweisgrenze liegen. Nishino und Mignot stellen in ihrer Studie dabei Plasma-Orexin A-Spiegel von 20-33 pg/ml, 26.67 +/- 3.23 pg/ml bei Gesunden Plasma-Orexin A-Spiegeln von 11-25 pg/ml, 20.83 +/- 4.34 pg/ml bei Narkoleptikern gegenüber, wobei die Bestimmbarkeit von Orexin A im Blut unter Normalbedingungen bislang umstritten ist (Nishino und Mignot, 2002). Im Blut lässt sich außerdem in nahezu allen Fällen als genetischer Marker das Antigen HLA-DR2 nachweisen. Dies lässt einen Zusammenhang mit autoimmunen, neurodegenerativen Vorgängen gegen hypothalamische, Orexin-enthaltende Zellen vermuten (Mignot, 2004).

1.2.4. Regulation der Orexin-Neurone/Netzwerkes

Welche Einflüsse modulieren die Aktivität der Orexin-Neurone? Bernardis und Bellinger vermuten in ihren Studien einen vielseitigen Einfluss von hormonellen Faktoren aus der Peripherie (Bernadis et al., 1999). Dazu gehören zum Beispiel Insulin, Blut-Glukosekonzentration und Schwankungen im Elektrolyt- und Aminosäure-Haushalt (Russell et al., 2001). Mehrere Studien belegen, dass eine Hypoglykämie die Produktion von Orexin antreibt (Moriguchi et al., 1999; Cai et al., 2001; Muroya et al., 2001). Dabei detektieren periphere Glucose-Sensoren die aktuelle Stoffwechsellage und geben Signale direkt an

Gebiete im lateralen Hypothalamus, der für die zentrale Auslösung eines Hungergefühls verantwortlich ist (vgl. glukostatische Theorie von Mayer, 1955).

Ein weiterer noch nicht vollständig verstandener Faktor ist das Hormon Leptin, das in den Fettzellen des Organismus gebildet wird. Es spiegelt den aktuellen Füllungszustand des peripheren Fettspeichers gut wider (vgl. lipostatische Theorie von Kennedy, 1953). Auf der Oberfläche von Orexin-Neuronen entdeckten Hakansson et al. (1999) Leptin-Rezeptoren und einen Transkriptionsfaktor (STAT-3), der von Leptin aktiviert wird. Es liegt also nahe, dass Leptin Orexin-Neurone direkt beeinflussen kann. Hierzu passt die Erkenntnis, dass eine zentrale Verabreichung von Leptin in Ratten eine signifikante Unterdrückung der Orexin-mRNA-Expression (Lopez et al., 2000; Beck und Richey, 1999) ergab. Offensichtlich ist Leptin in der Lage, die Orexinbildung direkt zu unterdrücken. Orexin ist also ein zentraler Neurotransmitter, der in Abhängigkeit von der Konzentration peripherer Signalstoffe ausgeschüttet wird.

Die anatomischen, biochemischen und physiologischen Erkenntnisse über das Orexin-System sind heute bereits fortgeschritten, doch bleibt die Einordnung dieses Systems in den Gesamtzusammenhang mit anderen Hormon-Systemen vor allem in Bezug auf den menschlichen Organismus noch undurchsichtig. Orexine sind nach heutigem Kenntnisstand an der Regulierung der Wachsamkeit und Aktivität beteiligt, beeinflussen das Nahrungsverhalten und greifen durch circadiane Ausschüttung in den Schlaf/Wachrhythmus des Organismus ein. Eine Verbindung zum Krankheitsbild der Narkolepsie liegt nahe, konnte bisher jedoch nicht mit Sicherheit bestätigt werden (Sutcliffe und de Lecea, 2002).

1.3. Methodischer Hintergrund

1.3.1. Die intranasale Gabe von Neuropeptiden

Mit der intranasalen Gabe von Neuropeptiden ist ein eleganter Weg gefunden worden, diese unter Umgehung des peripheren Blutkreislaufes in das Gehirn zu schleusen. Das Riechepithel der Nase bietet dazu zwei denkbare Wege:

Eine Substanz kann entweder extrazellulär durch Zwischenzellräume (per diffusionem), oder intraaxonal mittels Endozytose transportiert werden. Beide Wege führen dabei durch die Lamina cribrosa, entlang des Bulbus und des Tractus olfactorius bis in tiefer gelegene Strukturen (Thalamus, Hypothalamus). Einen intraaxonalen Transport vermuteten 1995 Thorne et al. (1995). 48 Stunden nach Gabe eines Nasensprays konnte bei Ratten im Bulbus olfactorius eine hohe Konzentration des vorher verabreichten Stoffes (Weat germ

agglutinin horseradish peroxidase; WGA-HRP) nachgewiesen werden. Der intraneuronale Transport setzt substanzspezifische Rezeptoren an der Oberfläche der olfaktorischen Nervenzellen voraus. Rezeptoren für Orexin wurden dort bisher jedoch nicht gefunden. Bedeutend schneller vollzieht sich der extrazelluläre Weg. Hierbei geht der Transport über interzelluläre Öffnungen („clefs“) (Illum, 2000). Jackson und Mitarbeiter entwickelten 1979 ein Modell, wonach eine Substanz den locker um das Neuron herum gelegenen Perineuralraum penetriert („open-cuff“). Ist das perineurale Gewebe jedoch fest mit dem Axon verbunden geht der Weg durch tight junctions der anliegenden Epithelzellen („closed-cuff“) (Jackson, 1979).

Die Effektivität der Substanzaufnahme hängt von drei wichtigen physikochemischen Faktoren ab: Sakane et al. belegten erstens eine direkt proportionale Beziehung zwischen dem Dissoziationsgrad und nasaler Absorptionsrate (Sakane et al., 1991, 1994, 1995). Je undissoziierter eine Substanz vorliegt, desto höher ist die Absorptionsrate. Zweitens ist das Molekulargewicht entscheidend. Studien zeigen, dass Moleküle bis zu 20000 Dalton über die Riechschleimhaut aufgenommen werden können (Sakane, 1995). Drittens überwinden lipophile Substanzen membranöse Strukturen leichter als hydrophile. Lipophilen Stoffen wird eher der passive Diffusionsweg durch das Epithel zugesprochen. Hydrophile Stoffe hingegen penetrieren durch tight junctions der Zellen (Illum, 2000; Sakane et al., 1991). Das in dieser Studie verabreichte Orexin A besitzt ein Molekulargewicht von 3561 Dalton und ist lipophil. Damit sind zwei der drei Grundvoraussetzungen für eine rasche nasale Absorption und einen extrazellulären Transport ins Hirngewebe erfüllt. Über den Dissoziationsgrad des verabreichten Orexin A sind keine verlässlichen Aussagen zu erheben. Das intranasal verabreichte Orexin A bei Ratten innerhalb von Minuten das ZNS (und in hohem Maße dabei den lateralen Hypothalamus) erreicht und zentrale Wirkung entfalten kann, beweist eine Studie von Hanson und Mitarbeitern (Hanson et al., 2004).

1.3.2. Elektrophysiologische Grundlagen

Um die Aktivität der kortikalen Neurone elektrophysiologisch messen zu können, bedient man sich der Elektroenzephalographie (EEG). Diese Methode ermöglicht es, elektrische Membranpotentialschwankungen insbesondere kortikaler Hirnzellen mittels Elektroden abzuleiten, zu verstärken und kontinuierlich aufzuzeichnen. Hierbei sind vor allem synchrone Entladungen (Depolarisationen) der apikalen Dendriten von Pyramidenzellen beteiligt, die extrazellulären Stromfluss und damit messbare Feldpotentiale auslösen. Die Ableitung erfolgt in unipolarer (gegen eine indifferente Elektrode) oder in bipolarer Schaltung (Messung der

Potentialdifferenz zwischen zwei Elektroden). Die Potentiale können invasiv durch auf der Gehirnoberfläche platzierte Elektroden abgeleitet werden oder auf nicht-invasivem Wege, indem man die Elektroden auf der Kopfhaut anbringt. In der vorliegenden Studie wurde die nicht-invasive, unipolare Ableitung verwendet. Besonderes Augenmerk wird dabei auf die ständig messbaren hirnelektrischen Spannungsschwankungen an der Schädeldecke (Spontan-EEG) gelenkt werden.

1.3.2.1. Spontan-EEG

Hierbei werden Frequenzschwankungen von 0,5 bis 45 Hz, bei Amplituden von 1 bis 200 Mikrovolt gemessen und aufgezeichnet.

Die 5 Haupt-Frequenzbänder lassen sich folgendermaßen unterscheiden:

	Frequenz	Amplitudenbereich
Delta	0,5-4 Hz	20-200 μV
Theta	4-8 Hz	5-100 μV
Alpha	8-12 Hz	5-100 μV
Beta	12-30 Hz	2-20 μV
Gamma	30-45 Hz	-10 μV

Dabei stellt das *Alpha*-Band den dominierenden Frequenzbereich dar. Der *Alpha*-Rhythmus ist bei 80% der gesunden Erwachsenen fast immer vorhanden und im entspannten Wachzustand am häufigsten (besonders bei geschlossenen Augen). Da vorangegangene Studien einen funktionalen Unterschied innerhalb des *Alpha*-Bandes beschrieben haben, wird in der vorliegenden Studie eine Unterteilung in unteres *Alpha* (8-10 Hz) und oberes *Alpha* (10-12 Hz) vorgenommen: Während das obere *Alpha* bestimmten kognitiven Funktionen wie der Gedächtnis-Enkodierung zugeschrieben wird, repräsentiert das untere *Alpha* ein eher generelleres kortikales Aktivitätsniveau. (Klimesch, 1996). Das *Beta*-Band ist besonders dominant, wenn eine Person mental oder körperlich aktiv ist oder unter psychischer Belastung steht. *Beta*-Wellen spiegeln einen Zustand wacher Aufmerksamkeit wider.

Woertz et al. definieren die Abnahme des *Alpha*-Anteils während eines analysierten Zeitintervalls im Bezug auf ein Referenzintervall als ERD (*event related desynchronization*) (2004). Die Abnahme in der *Alpha*-Leistung geht mit einer Verschiebung in den *Beta*-Bereich einher. Dieses Phänomen der Frequenzerhöhung im EEG wird als "*Alpha-Block*" bezeichnet. Es handelt sich um die *Desynchronization* des EEG beim Wechsel vom ruhigen Zustand zu

einem Zustand erhöhter geistiger Aktivität (z.B. Kopfrechnen). Die Verschiebung der Beta-Power in den Alpha-Bereich wird als ERS (*event related synchronization*) oder *Synchronisation* des EEG bezeichnet. Sie tritt beim Übergang aus einem aktiven in einen ruhigen Gemütszustand auf. Bei sehr starker emotionaler Erregung sowie Kontrollverlust dominieren *Gamma*-Wellen. In dösendem Wachzustand oder tiefer Entspannung, z. B. beim Einschlafen oder autogenem Training, treten häufig *Theta*-Wellen auf, z.T. auch in Phasen von Traurigkeit und Niedergeschlagenheit, sowie großer Konzentration. *Delta*-Bänder treten bei gesunden Erwachsenen im Wachzustand nicht auf. Ihr Vorkommen und die Häufigkeit ist typisch für tiefere Schlafphasen.

Eine herausragende Rolle spielt das Spontan-EEG bei der Analyse des Schlaf/Wachrhythmus, da die einzelnen Schlaf- bzw. Wachstadien sehr deutlich durch die unterschiedlich dominanten Frequenzanteile unterscheidbar sind. Die Tatsache, dass diese Frequenzbänder bei allen Wirbeltieren in charakteristischen Ereignissituationen auftauchen, spricht für eine grundlegende Bedeutung des Spontan-EEGs und gibt somit einen entscheidenden Hinweis auf das Verständnis psychophysiologischer Zusammenhänge (Woertz et al., 2004). Inwieweit sich die Verabreichung von Orexin A auf motivationale Zustände wie Hunger, Durst und Müdigkeit auswirkt und welche Effekte dies auf das Spontan-EEG ausübt, sollte in der vorliegenden Studie näher beleuchtet werden.

1.3.2.2 EEG-Veränderungen bei Durst- und Hungerstillung

Schon in den sechziger Jahren wurde festgestellt, dass Belohnung (im Sinne einer Bedürfnisbefriedigung, z.B. Durst- oder Hungerstillung) mit einer phasischen Synchronisierung (ERS) des von Tieren abgeleiteten EEGs verbunden ist (Buchwald et al., 1964). Eine solche Synchronisierung geht mit einem Anstieg der Alpha-Power einher. Ein Phänomen, das bei durstigen Katzen häufig während und nach dem Trinken von Wasser oder Milch auftritt, ist die sogenannte „Synchronisierung nach Verstärkung“ (post-reinforcement-synchronisation, PRS). Die PRS besteht aus unteren Alpha-Wellen (Marczynski et al., 1981; Clemente et al., 1964). Stärker generalisierte Muster niedrig-frequenter Hochspannungs-Aktivität des EEGs in Verbindung mit der Herbeiführung von Sättigung wurden auch bei Nagetieren gefunden (Sadowski und Longo, 1962), und ähnliche Beobachtungen einer Alpha-Synchronisierung wurden beim Menschen gemacht (Hallschmid et al., 2002). Bei Katzen wird die PRS von einer gleichzeitig auftretenden positiven Verschiebung des Gleichspannungspotentials (reward contingent positive variation, RCPV) begleitet (Marczynski et al., 1971), die auch im EEG von Menschen auftritt (Schmitt et al., 2000).

1.4. Fragestellung

Ziel dieser Arbeit ist es zum einen zu untersuchen, welche Einflüsse auf das Spontan-EEG beim Menschen Orexin A-Gabe im Vergleich zu Placebo hat. Des Weiteren werden mit Hilfe psychologischer Verfahren die Parameter Hunger, Durst, Sättigung sowie Wachheit, Müdigkeit und Aktivitätsniveau untersucht. Außerdem dient eine Testmahlzeit zur Erfassung der Auswirkung von Orexin A auf das Nahrungsaufnahmeverhalten. Dabei sollen drei zugrunde liegende Fragen überprüft werden:

- Welchen Einfluss hat die intranasale Gabe von Orexin A auf die elektroenzephalographische Aktivität?
- Welchen Einfluss hat die intranasale Gabe von Orexin A auf Hunger, Durst und Essverhalten?
- Welchen Einfluss hat die intranasale Gabe von Orexin A auf das Aktivierungsniveau?

Für die Formulierung der **ersten** Frage sprechen tierexperimentelle Studien, die belegen, dass Orexin im Organismus zentralnervös stimulierende Wirkung in Bezug auf Nahrungsaufnahme und Aktivierung zeigt (Sakurai 2002a, 2002b). Besitzt Orexin also neuroexzitatorische Effekte, müsste sich dies im Spontan-EEG nach Orexin A-Gabe in Form einer Desynchronisation (Alpha-Block) hin zu höheren Frequenzen (Beta, Gamma) widerspiegeln. In der Post-Konsum-Phase müssten die Frequenzen aufgrund des abgeschwächten Sättigungsgefühls im Vergleich zu Placebo in höheren Bereichen dominieren (s.1.3.2.2.).

Zahlreiche Studien belegen, dass es im Organismus nach Orexingabe zu einer Zunahme der Nahrungsaufnahme kommt (Ida et al., 1999; Lubkin und Stricker-Krongrad, 1998; Sakurai et al., 1998). Die **zweite** Frage lautet also, ob Orexin ähnliche Effekte auch beim Menschen hervorruft. Dieser Schluss liegt nahe, da eine hohe Sequenz-Konservierung sowohl bei der Neuronenlokalisierung und -projektion sowie beider Rezeptorenverteilung und der Struktur des Orexins im Laufe der Phylogenese vorliegt (s. 1.1.2.). Die vom Probanden geäußerten Selbsteinschätzungen (Ratings, Bipolar-skala, Eigenschaftswörterliste) müssten sich im Verlauf des Versuches dementsprechend ändern. Unter Orexin müsste sich eine Zunahme des Hunger- und Durstgefühls vor der Konsum-Phase bzw. eine Abschwächung der Sättigung nach der Konsum-Phase zeigen. Der Brötchenverzehr am Schluss des Versuches müsste unter Orexin dementsprechend größer sein als unter Placebo. Neuere Studien stellen die einheitlich hungerstimulierende Wirkung des Orexins jedoch in Frage und verweisen auf eine

Wirkungsumkehr der Orexinfunktion als Neurotransmitter im Laufe der Weiterentwicklung der Organismen (Ramsey et al., 2005). Somit ist die Frage um so spannender, ob sich die oben genannten Effekte auf das Essverhalten beim Menschen replizieren lassen.

Zur **dritten** Frage regen Arbeiten von Hagan und Mieda an (Hagan et al., 1999; Mieda et al., 2004), die Hinweise auf gesteigerte Aktivität und Lokomotion unter Orexin bei Ratten und Mäusen geben. Eine aktivitätsfördernde Wirkung des Orexins müsste sich also auch hier dementsprechend in den behavioralen Parametern zeigen. Eine Reduktion der Müdigkeit bzw. eine Steigerung der Aktivität unter Orexin im Vergleich zu Placebo wäre zu erwarten. Auch hier gibt es jedoch Hinweise neuerer Studien (Zeitzer et al., 2004), die eine grundsätzlich aktivierende Wirkung des Orexins fragwürdig erscheinen lassen.

2. Methoden

2.1. Versuchspersonen

Vierzehn gesunde Probanden (acht weibliche und sieben männliche) im Alter von 18 bis 30 Jahren nahmen an den Experimenten teil. Das Durchschnittsalter betrug 24,4 +/- 1,89 Jahre. Der durchschnittliche Body Mass Index (BMI) der Probanden betrug 21,28 +/- 1,98 kg/m². Ausschlusskriterien waren Zigarettenkonsum, regelmäßige Medikamenteneinnahme (außer Kontrazeptiva) und ein BMI über 25 kg/m². Alle Probanden wurden ausführlich über die Versuchsbedingungen informiert, vor allem über eventuelle Nebenwirkungen des verabreichten Orexin A (Anhang A). Vor dem Versuch erklärten sie sich mit den Bedingungen des Experiments einverstanden und willigten schriftlich in die Teilnahme ein (Anhang B). Für die Versuchsteilnehmer wurde eine allgemeine Probandenhaftpflichtversicherung abgeschlossen. Die Teilnahme am Versuch wurde mit 50 Euro vergütet. Die im Rahmen dieser Studie durchgeführte Überprüfung durch eine Ethikkommission wurde bewilligt (Anhang C).

2.2. Versuchsablauf

Die Probanden wurden zweimal im Crossover-Design im Abstand von mindestens einer Woche untersucht. Dabei wurde ihnen entweder humanes Orexin A oder Placebo verabreicht. Die Abfolge der Versuchsbedingungen war randomisiert und der Versuch selbst wurde doppelblind durchgeführt. Den Probanden wurde aufgetragen, fünfzehn Stunden vor Versuchsbeginn weder Nahrung noch kalorienhaltige Getränke zu sich zu nehmen. Die Versuchspersonen fanden sich jeweils zwischen 8 und 9 Uhr im Versuchsraum ein, der akustisch und elektromagnetisch abgeschirmt war und mittels einer Belüftungsanlage konstant auf 20°C gehalten wurde. Sie nahmen auf einem bequemen Lehnstuhl mit hochgelagerten Beinen Platz. Nach Angaben zu Alter, Gewicht und Größe wurde den Probanden Blut abgenommen (s.u.). Anschließend füllten die Probanden die Kurzversion der Eigenschaftswörterliste (Kurzform; EWL-K) von Janke und Debus (1978) aus. Dabei handelt es sich um ein mehrdimensionales, 161 Adjektive umfassendes quantitatives Verfahren zur Erfassung des momentanen Befindens. Darüber hinaus wurde eine Bipolar-Skala mit 20 Dimensionen, die von Adjektiv-Gegensatzpaaren aufgespannt werden (z.B. aktiviert-träge) (Anhang D), sowie ein 10-Punkte-Rating verwendet, welches zu Beginn der Aufzeichnung, unmittelbar vor der Konsumphase (s.u.) und am Ende der Aufzeichnungen durchgeführt wurde. Hierbei schätzten die Probanden die Stärke seines Hungers, seines Durstgefühls und

seiner Müdigkeit ein. Der Wert 0 stellte dabei gar kein, der Wert 10 ein sehr starkes Verlangen nach Flüssigkeit, Nahrung bzw. Schlaf dar. Anschließend bereitete der Versuchsleiter die Probanden auf die Ableitung des Spontan-EEGs vor (s. 2.3.). Der Kopf wurde auf einem Nacken-Kissen ruhig gelagert und der Proband gebeten, sich während der Ableitung möglichst wenig zu bewegen, die Augen offen zu halten und eine im Abstand von 150 cm befestigte DIN A3-Photographie eines Nudelgratins zu fixieren. Unmittelbar vor Beginn der Aufzeichnung bekam der Proband den Auftrag, in Abständen von 30 Sekunden, die er selbst einschätzen sollte, auf einem in seiner Hand befindlichen Paneel eine Taste zu drücken. Damit sollten die Versuchspersonen wach und mental aktiv gehalten werden. Tastendrucke dienten den Probanden ebenfalls dazu, alle relevanten Verhaltenseinheiten, besonders den Verzehrvorgang und dessen Abschnitte, durch einen Doppeldruck zu markieren. Auch der Versuchsleiter kennzeichnete sein Betreten der Versuchskammer in der EEG-Aufnahme.

Die Ableitung begann in der Regel zwischen 10 und 11 Uhr. Die Aufnahme wurde in zwei große Abschnitte unterteilt: Der erste Abschnitt umfasste die Orexin Gabe (Orexin Abschnitt). Er wird in eine 10minütige Prä-Orexin-Phase (=Grundlinienphase), den Zeitpunkt der Orexin-Verabreichung (nach 10 Minuten) und eine 15 minütige Post-Orexin-Phase gegliedert. Dieser Abschnitt betrug somit 25 Minuten. Der zweite Abschnitt betraf den Verzehr und schloss sich dem Orexin Abschnitt an (Konsum-Abschnitt). Er begann mit der Präsentation des vorbereiteten Brötchentellers in der Versuchskammer nach insgesamt 25 Minuten Aufzeichnungszeit. Er gliederte sich in eine 5minütige Prä-Konsum-Phase, eine 5minütige Konsum-Phase und eine Post-Konsum-Phase von 20 Minuten Länge. Die Gesamtaufnahmezeit betug also 55 Minuten (Abb.2).

Nach der ersten Phase (10 Minuten) wurde den Probanden 100 nmol menschliches Orexin A (Bachem Biochemica GmbH, Heidelberg), verdünnt in 0,4 ml sterilem Wasser bzw. Placebo (destilliertes Wasser) intranasal mittels Nasenspray verabreicht. Nach weiteren 15 Minuten (insgesamt 25 Minuten) wurde den Probanden zur Steigerung des Hungergefühls ein Teller mit 16 Stück (1/8) belegter Brötchen (s.u.) vor die Abbildung gestellt und erneut ein 10-Punkte-Rating durchgeführt. Während der Konsum-Phase nahmen die Probanden 400 ml Flüssignahrung (Fortimel; Pfrimmer Nutricia GmbH & Co KG, Erlangen) mit 100 kcal pro 100 ml) in vier Intervallen à 30 Sekunden zu sich. Dazwischen lag jeweils eine 30 Sekunden lange Pause. Die einzelnen Konsum-Etappen wurden durch Doppelklicks über die Tastatur in

den Aufnahmen markiert und dokumentiert. Nach der Verzehrsphase wurde die Aufzeichnung weitere 20 Minuten fortgesetzt (Abb.2).

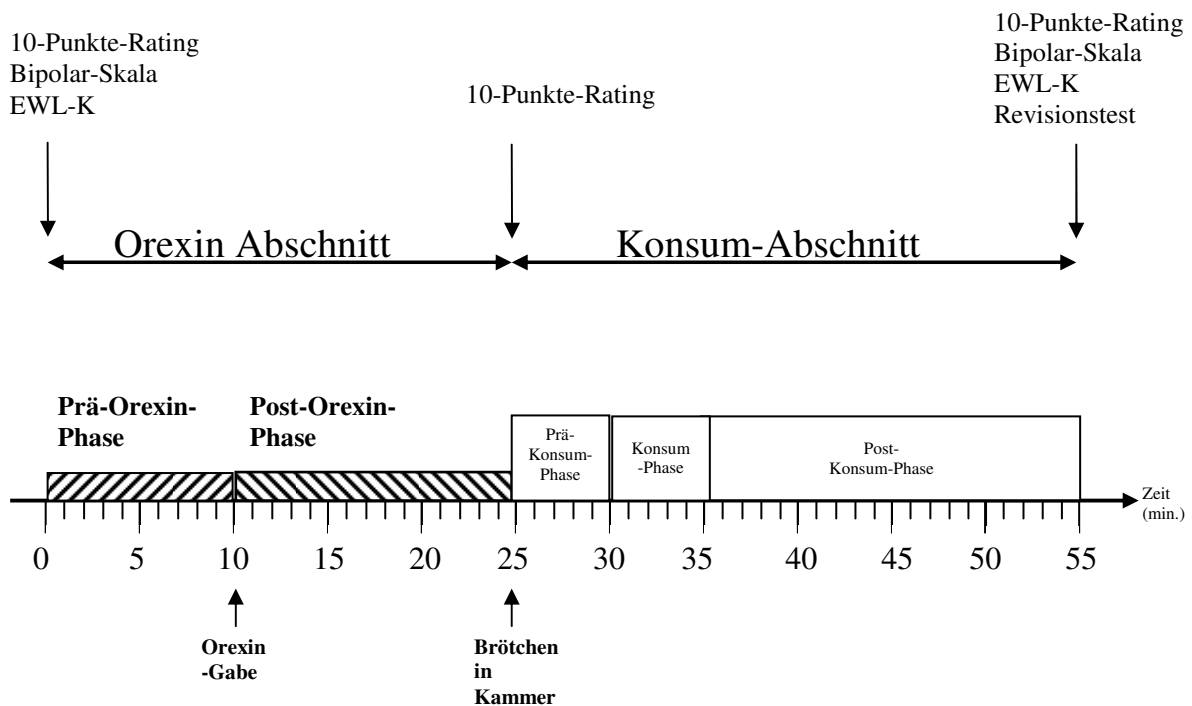


Abb.2: Versuchsablauf

Auf die Beendigung der Aufzeichnung folgte eine weitere Selbsteinschätzung mittels des 10-Punkte-Ratings und eine Blutentnahme (s.u.). Die Probanden füllten erneut die EWL-K sowie die Bipolar-Skala aus. Zusätzlich wurde ein Revisions-Test (Addition bzw. Subtraktion; Stender & Marschner, 1972) durchgeführt. Die Elektroden und Sockel wurden mit Aceton entfernt und abschließend durften die Probanden von den Brötchen essen. Der Verzehr wurde dokumentiert.

2.3. Datenerhebung

Die EEG-Potentiale wurden über der rechten, mittleren und linken Frontal- (F4, Fz, F3) Zentral- (C4, Cz, C3) und Parietalebene (P4, Pz, P3) abgeleitet (Internationales 10-20-System, Jasper, 1958). Zwei Referenzelektroden waren an den Mastoiden lokalisiert (M1, M2). Es wurden nicht depolarisierbare Ag/AgCl Elektroden (8mm diameter, IVM Instruments, Austria) verwendet. Die Aufnahme der EEG-Potentiale erfolgte über einen SynAmps DC-Verstärker (NeuroScan Inc., Herndon, Virginia, USA), dessen Abtastfrequenz 250 Hz betrug; der Tiefpassfilter lag bei 30 Hz. Um Unregelmäßigkeiten zu vermeiden, wurde der Verstärker stets mindestens zwei Stunden vor Aufnahmebeginn eingeschaltet. Nach Vermessung des Kopfes und Desinfektion der entsprechenden Kopfhautareale wurden die Elektroden-Sockel mit Kollodium angeklebt. Die Kopfhaut wurde zur Verringerung des Hautwiderstandes mit einer sterilen Nadel angeritzt, bis etwas Blut sichtbar wurde. In die Sockel und Elektroden wurde luftblasenfrei Elektroden-Gel (Electode Electrolyte, TECA Corp., NY) gefüllt, und die Elektroden wurden auf die Sockel geschoben. Eine Impedanzmessung wurde vor und nach der Ableitung durchgeführt und überschritt niemals den Wert von 5 k Ω .

Reduktion und Analyse der Daten

Die Powerspektren-Werte für aufeinander folgende Zeitfenster von 20.48 Sekunden wurden offline bestimmt und ergaben einen Wert pro 5 s. Durch eine Fast-Fourier-Transformation (FFT) wurden die 20.48-s-Abschnitte der EEG-Aktivität in logarithmische Amplituden eines Powerspektrums umgewandelt und Durchschnittswerte für das Theta- (4-8 Hz), das untere Alpha- (Alpha 1, 8-10 Hz), das obere Alpha- (Alpha 2, 10-12 Hz) und das Beta-Band (12-30 Hz) erzielt. Das Powerspektrum wurde errechnet, indem die FFT von sieben jeweils 512 Punkte umfassenden Segmenten gemittelt wurde. Um Fehler durch Randeffekte zu vermindern, wurde das Signal an den Enden jedes Datensegments mit einem angeschnittenen Cosinus-Fenster zu 0 hin verjüngt. Die Daten der Konsum-Phase, die auf den subjektiven Schätzungen von 30-Sekunden-Abschnitten durch die Probanden basierten, wurden vor der Analyse zu einer gemeinsamen Zeitskala von 5 min umgewandelt. Veränderungen der Power innerhalb der Frequenzbänder während der Konsum-Phase und der Post-Konsum-Phase wurden als Differenzwerte zur 10minütigen Prä-Orexin-Phase zu Beginn des Experiments, ausgedrückt. Sie wurden statistisch zunächst mit einem Punkt-für-Punkt-Vergleich mittels gepaarter t-Tests ausgewertet. Anschließend wurden über die Konsum-Phase und ein entsprechendes kritisches Intervall der Phase nach dem Konsum Durchschnittswerte gebildet. Kritische Intervalle waren Zeitabschnitte, in denen sich Effekte (im Sinne einer Häufung

statistischer Signifikanzen im Punkt-für-Punkt-Vergleich) als konsistent erwiesen. Für diese Zeitabschnitte wurden mittlere Power-Werte errechnet, die anschließend Varianzanalysen mit Messwiederholungsfaktoren für die Elektroden und die entsprechenden experimentellen Bedingungen (Orexin A vs. Placebo) unterworfen wurden. Der Elektroden-Widerstand jeder Elektrode wurde zu Beginn und am Ende der Aufnahme gemessen und überschritt in keinem Fall 5 k Ω . Ein p-Wert < 0.05 galt als signifikant.

2.4. Blutentnahmen

Bei jeder Blutentnahme wurde ein Blutröhrchen für EDTA-Plasma (10 ml), sowie ein Blutröhrchen zur Serum-Gewinnung (10 ml) entnommen. Alle Blutproben wurden so lange kühl gelagert, bis sie nach Versuchsabschluss in einer Zentrifuge bei 4°C mit 4000 Umdrehungen pro Minute für acht Minuten zentrifugiert wurden. Je 1000 μ l des EDTA-Plasma und Serum wurde dann in ein beschriftetes Eppendorf-Reaktionsgefäß pipettiert und zur späteren Bestimmung von Leptin, Cortisol, Adrenocorticotropem Hormon (ACTH), Luteotropem Hormon (LH), Human Growth Hormon (HGH) sowie Insulin bei -70°C eingefroren. Der gesamte Blutverlust eines Probanden betrug somit für zwei Versuchstage 80 ml.

2.5. Brötchen

Es handelte sich um vier Brötchenhälften, wobei zwei mit Käse und zwei mit Wurst belegt wurden. Jede der vier Hälften wurde in vier kleine Stückchen zerschnitten, so dass 16 Stückchen (1/8) auf einem Teller dargeboten wurden. Eine fleischlose Ernährungsweise wurde im Aufklärungsgespräch erfragt und berücksichtigt. Bei Vegetariern wurden nur Käsebrötchen (12 Stückchen) angeboten.

3. Ergebnisse

3.1. Spontan-EEG

Die Potentiale des Spontan-EEGs wurden in den beiden großen Abschnitten (s. Abb.2; Orexin- und Konsum-Abschnitt) nach Unterschieden zwischen den Bedingungen bzw. zwischen einer Bedingung und dem Grundlinienniveau analysiert und verglichen. Als Grundlinie diente jeweils die Nulllinie, da die jeweiligen Grundlinien der Kurvenverläufe nach 7 Minuten Aufnahmezeit auf 0 gesetzt worden waren (Base). Am auffälligsten ist die Zunahme der Theta-Power zum Zeitpunkt *9-9,5 Minuten* und die Zunahme der unteren Alpha-Power zu den Zeitpunkten *6,5-9,5 Minuten* sowie *12-14 Minuten* nach Orexin-Gabe im Vergleich zur Placebo-Bedingung. Weitere Ergebnisse waren entweder nicht signifikant oder wiesen lediglich Unterschiede zur Grundlinie auf.

3.1.1. Theta (4-8 Hz)

Orexin-Abschnitt:

Im Zeitraum von 9-9,5 Minuten nach Verabreichung des Nasensprays nahm die Theta-Power unter der Orexin Bedingung über allen Ableitungen zu. Unter Placebo nahm sie ab, außer über den Ableitungen Fz und Cz, wo sie ebenfalls zunahm. Der Vergleich unter der Orexin-Bedingung gegenüber der Grundlinie war signifikant mit $F(1,14)=6.263$, $p=0.03$. Placebo im Vergleich gegenüber der Grundlinie ergab keine Signifikanz ($F(1,13)=0.269$, $p=0.6$). Der Unterschied zwischen der Orexin Bedingung und der Placebo-Bedingung war signifikant ($F(1,13)=7.4$, $p=0.02$), (Tab.1).

Theta-Band (4-8 Hz) ; Orexin-Abschnitt ; 9-9.5 min.			
Position	Orexin A	Placebo	
	Mittel \pm SEM	Mittel \pm SEM	p
Fz	1.12 \pm 0.36*	0.02 \pm 0.3	0.01
Cz	0.77 \pm 0.26*	0.02 \pm 0.32	0.05
Pz	0.67 \pm 0.31(*)	-0.07 \pm 0.29	0.09
F3	1.29 \pm 0.61(*)	-0.21 \pm 0.29	0.04
C3	1.08 \pm 0.37*	-0.16 \pm 0.29	0.01
P3	0.71 \pm 0.36	-0.17 \pm 0.31	0.11
F4	1.17 \pm 0.47(*)	-0.1 \pm 0.31	0.03
C4	1.02 \pm 0.27**	-0.24 \pm 0.3	0.002
P4	0.59 \pm 0.28	-0.36 \pm 0.31	0.03

Tab.1: (\pm SEM) Theta- (4-8 Hz) log-Power über frontalen (Fz, F3, F4), zentralen (Cz, C3, C4) und parietalen (Pz, P3, P4) kortikalen Arealen während des Orexin-Abschnittes. Die Werte geben die Unterschiede zwischen den Bedingungen zur Grundlinie an, die nach intranasaler Verabreichung aufgezeichnet worden waren. $n = 14$.

(*) $p \leq 0.1$, * $p \leq 0.05$, ** $p \leq 0.01$, für Unterschiede im Vergleich zur vorangehenden Grundlinie. p-Werte für den Unterschied zwischen den Bedingungen finden sich in der entsprechenden rechten Spalte.

Konsum-Abschnitt:

In der *Konsum-Phase* erhöhte sich die Theta-Power unter der Orexin Bedingung über den frontalen (Fz, F3, F4) und parietalen (Pz, P3, P4) Arealen sowie über C3 und C4. Unter Placebo kam es nur über den frontalen (Fz, F3, F4) Arealen zu einer Zunahme der Theta-Power. Über den zentralen (Cz, C3, C4) sowie parietalen (Pz, P3, P4) Arealen verminderte sie sich unter dieser Bedingung. (Tab.2) Der Vergleich beider Bedingungen gegenüber der Grundlinie war nicht signifikant (Orexin gegen Grundlinie: $F(1,14)=1.51$, $p=0.24$; Placebo gegen Grundlinie: $F(1,13)=0.17$, $p=0.69$). Beide Bedingungen untereinander unterschieden sich signifikant mit $F(1,13)=5.36$, $p=0.04$.

Theta-Band (4-8 Hz) ; Konsum-Abschnitt; Konsum-Phase			
Position	Orexin A	Placebo	
	Mittel \pm SEM	Mittel \pm SEM	p
Fz	0.45 \pm 0.26	0.01 \pm 0.25	0.07
Cz	-0.01 \pm 0.24	-0.43 \pm 0.33	0.06
Pz	0.4 \pm 0.33	-0.32 \pm 0.43	0.02
F3	0.73 \pm 0.28*	0.19 \pm 0.34	0.1
C3	0.34 \pm 0.28	-0.18 \pm 0.34	0.07
P3	0.62 \pm 0.29	-0.11 \pm 0.37	0.03
F4	0.6 \pm 0.34	0.14 \pm 0.34	0.17
C4	0.24 \pm 0.26	-0.21 \pm 0.35	0.07
P4	0.25 \pm 0.28	-0.3 \pm 0.43	0.07

Tab.2: Mittlere (\pm SEM) Theta- (4-8 Hz) log-Power über frontalen (Fz, F3, F4), zentralen (Cz, C3, C4) und parietalen (Pz, P3, P4) kortikalen Arealen während des Konsum-Abschnittes. Die Werte geben die Unterschiede zwischen den Bedingungen zur Grundlinie an, die nach intranasaler Verabreichung aufgezeichnet worden waren. $n = 14$. * $p \leq 0.05$, für Unterschiede im Vergleich zur vorangehenden Grundlinie. p-Werte für den Unterschied zwischen den Bedingungen finden sich in der entsprechenden rechten Spalte.

In den Abschnitten 7,5-9 *Minuten* nach Beginn des Konsums (2,5-4 Min. in der Post-konsum-phase) kam es zu einer Zunahme der Theta-Power über allen Ableitungen unter beiden Bedingungen. Der Vergleich gegenüber der Grundlinie ergab unter der Orexin Bedingung $F(1,14)=0.28$, $p=0.6$ und bei Placebo $F(1,13)=3.93$, $p=0.07$. Beide Bedingungen untereinander verglichen waren nicht signifikant. ($F(1,13)=1.01$, $p=0.33$).

3.1.2. Unteres Alpha (8-10 Hz)

Orexin-Abschnitt:

Zu den Zeitpunkten 6,5-9,5 Minuten nach Applikation des Nasenspray ergab sich unter der Orexin-Bedingung über allen Ableitungen eine signifikant erhöhte untere Alpha-Power gegenüber der Grundlinie ($F(1,14)=8.694$, $p<0.011$). Unter Placebo übertraf die untere Alpha-Power zwar auch das Grundlinienniveau, es errechnete sich jedoch keine Signifikanz. ($F(1,13)=0.55$, $p=0.47$). Der Vergleich der Varianzanalysen zwischen der Orexin Bedingung und der Placebo-Bedingung war signifikant ($F(1,13)=6.764$, $p<0.02$). In den Einzelvergleichen über den Ableitepositionen fiel der Unterschied über den frontalen Positionen (Fz, F3, F4) signifikant, über Cz und C3 sogar hochsignifikant aus (Tab.3, Abb.3).

Unteres Alpha-Band (8-10 Hz) ; Orexin-Abschnitt ; 6.5-9.5 min.			
Position	Orexin A	Placebo	
	Mittel \pm SEM	Mittel \pm SEM	p
Fz	0.7 \pm 0.22**	0.29 \pm 0.17	0.05
Cz	0.72 \pm 0.21**	0.14 \pm 0.19	0.005
Pz	0.73 \pm 0.29*	0.17 \pm 0.22	0.08
F3	0.91 \pm 0.25**	0.12 \pm 0.23	0.02
C3	0.89 \pm 0.21***	0.07 \pm 0.23	0.01
P3	0.52 \pm 0.29	0.05 \pm 0.25	0.18
F4	0.71 \pm 0.28*	0.17 \pm 0.17	0.03
C4	0.61 \pm 0.28(*)	0.1 \pm 0.19	0.07
P4	0.45 \pm 0.29	0.14 \pm 0.26	0.32

Tab.3: Mittlere (\pm SEM) untere Alpha- (8-10 Hz) log-Power über frontalen (Fz, F3, F4), zentralen (Cz, C3, C4) und parietalen (Pz, P3, P4) kortikalen Arealen während des Orexin-Abschnittes. Die Werte geben die Unterschiede und Signifikanzen zwischen den Bedingungen zur Grundlinie an, die nach intranasaler Verabreichung aufgezeichnet wurden. $n = 14$. (*) $p \leq 0.1$, * $p \leq 0.05$, ** $p \leq 0.01$, *** $p \leq 0.001$, für Unterschiede im Vergleich zur vorangehenden Grundlinie. p-Werte für den Unterschied zwischen den Bedingungen finden sich in der entsprechenden rechten Spalte.

In den Abschnitten 12-14 Minuten nach Applikation des Nasensprays erhöhte sich die untere Alpha-Power unter der Orexin-Bedingung gegenüber der Grundlinie über den Positionen Pz und P4 signifikant, über den restlichen Ableitungen sogar hochsignifikant. Der Grundlinienvergleich unter Orexin war hochsignifikant mit $F(1,14)=14.538$, $p<0.002$. Die Varianzanalyse von Placebo gegenüber der Grundlinie ergab $F(1,13)=0.02$, $p=0.89$. Der Vergleich der Varianzanalysen zwischen der Orexin-, und der Placebo-Bedingung war

signifikant mit $F(1,13)=5.73$, $p=0.03$. Hierbei ergab sich eine Signifikanz über den Ableitungen Cz, C3, C4, P3 und P4 (Tab.4, Abb.3).

Unteres Alpha-Band (8-10 Hz) ; Orexin-Abschnitt ; 12-14 min.			
Position	Orexin A	Placebo	
	Mittel \pm SEM	Mittel \pm SEM	p
Fz	0.8 \pm 0.26**	0.43 \pm 0.26	0.26
Cz	0.96 \pm 0.23***	0.14 \pm 0.34	0.04
Pz	0.9 \pm 0.32*	0.01 \pm 0.47	0.1
F3	0.84 \pm 0.23***	0.23 \pm 0.33	0.11
C3	0.94 \pm 0.23***	- 0.05 \pm 0.38	0.04
P3	0.92 \pm 0.28**	- 0.29 \pm 0.42	0.02
F4	0.84 \pm 0.23***	0.4 \pm 0.33	0.25
C4	0.97 \pm 0.27**	- 0.15 \pm 0.47	0.03
P4	0.92 \pm 0.31*	- 0.26 \pm 0.52	0.03

Tab.4: Mittlere (\pm SEM) untere Alpha- (8-10 Hz) log-Power über frontalen (Fz, F3, F4), zentralen (Cz, C3, C4) und parietalen (Pz, P3, P4) kortikalen Arealen während des Orexin-Abschnittes. Die Werte geben die Unterschiede und Signifikanzen zwischen den Bedingungen zur Grundlinie an, die nach intranasaler Verabreichung aufgezeichnet wurden. $n = 14$. * $p \leq 0.05$, ** $p \leq 0.01$, *** $p \leq 0.001$, für Unterschiede im Vergleich zur vorangehenden Grundlinie. p-Werte für den Unterschied zwischen den Bedingungen finden sich in der entsprechenden rechten Spalte.

unteres Alpha im Orexin-Abschnitt

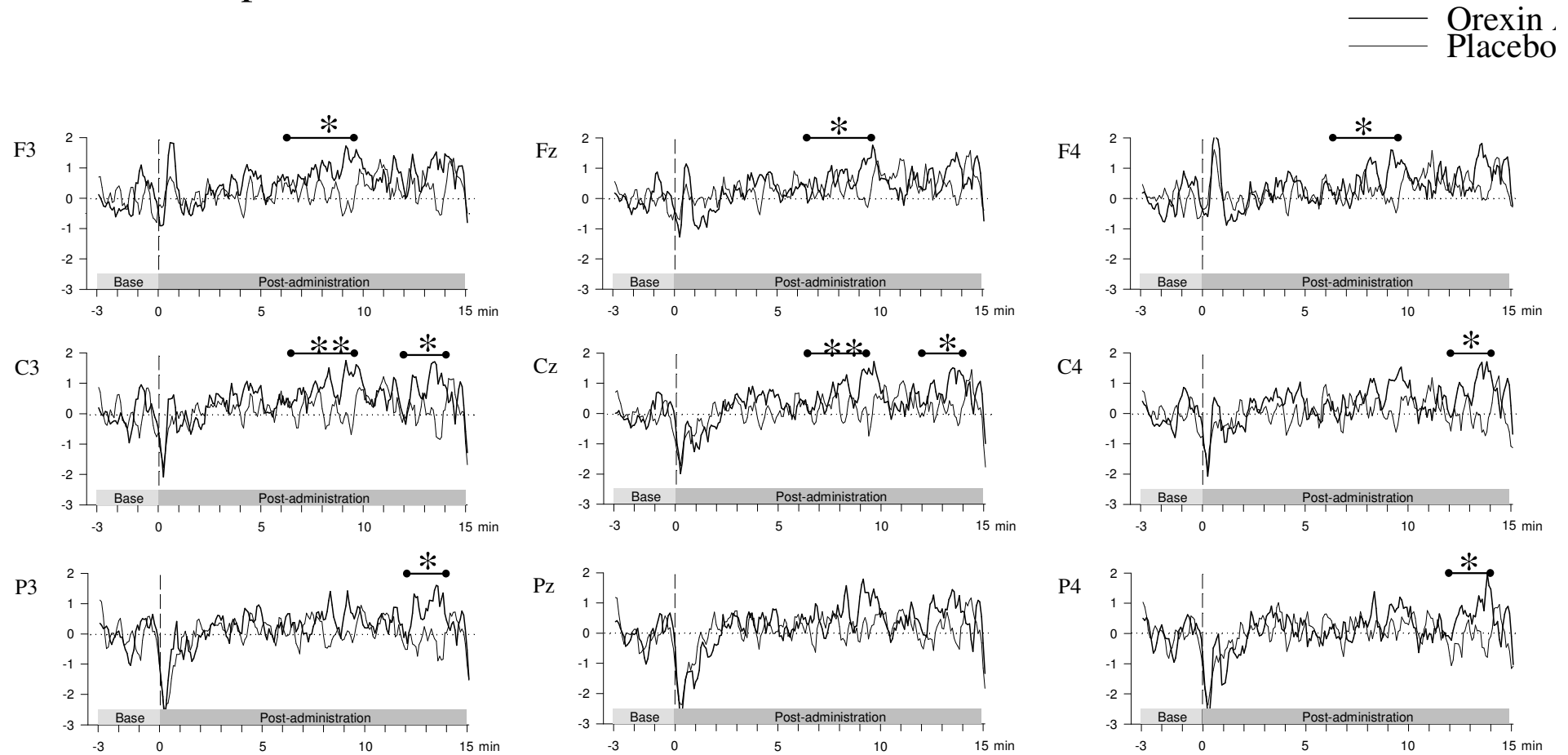


Abb.3: Mittlere untere Alpha (8-10 Hz) log-Power über den frontalen (Fz, F3, F4), den zentralen (Cz, C3, C4) und den parietalen (Pz, P3, P4) Mittellinien-Positionen während einer dreiminütigen Grundlinie (Base) und einer 15minütigen Post-Orexin-Phase (Post-administration) nach Spraygabe (Orexin-Abschnitt). Die durchschnittliche Power während der Grundlinie ist auf 0 gesetzt. $n = 14$.

Für die Bereiche 6.5-9.5 min und 12-14 min nach Spraygabe ist die Signifikanz des Unterschieds zwischen den Bedingungen angegeben. * $p \leq 0.05$, ** $p \leq 0.01$.

Konsum-Abschnitt:

In diesem Abschnitt ergaben sich für die untere Alphafrequenz keine systematischen Unterschiede zwischen Orexin und Placebo.

Konsum-Phase: $F(1,13)=1.082, p=0.32$

10-12 min.: $F(1,13)=0.004, p=0.95$

Die *Konsum-Phase* zeigte unter beiden Bedingungen gegenüber der Grundlinie eine Senkung der unteren Alpha-Power (Orexin: $F(1,14)=3.238, p=0.09$; Placebo: $F(1,13)=5.695, p=0.03$).

In den Abschnitten *10-12 Minuten* nach Beginn des Konsums (5-7 Minuten in der Post-Konsum-Phase) nahm die untere Alpha-Power unter beiden Bedingungen gegenüber der Grundlinie über den parietalen Ableitungen (Pz, P3, P4) zu. Unter der Bedingung Orexin war dies signifikant mit $F(1,14)=6.86, p=0.02$. Unter der Placebo-Bedingung ergab sich $F(1,13)=3.766, p=0.07$.

3.1.3. Oberes Alpha (10-12 Hz)

Orexin-Abschnitt:

In den Abschnitten *9-9,5 Minuten* nach Applikation des Nasensprays kam es unter der Orexin-Bedingung gegenüber der Grundlinie über allen Ableitungen zu einer tendenziellen Erhöhung der oberen Alpha-Power, wobei der Varianzanalysenvergleich zwischen beiden Bedingungen nicht signifikant war ($F(1,13)=3.14, p=0.1$).

In den Abschnitten *10-11,5 Minuten* nach Applikation des Nasensprays ergab sich unter der Orexin-Bedingung gegenüber der Grundlinie eine Abnahme der oberen Alpha-Power über den parietalen Ableitungen (Pz, P3, P4) sowie Cz und C4 (vgl. Tab.5). Über den restlichen Ableitungen nahm die obere Alpha-Power zu. Der Grundlinien-Vergleich ergab bei der Orexin-Bedingung keinen Effekt; $F(1,14)=0.213, p=0.65$. Placebo im Vergleich gegenüber der Grundlinie war signifikant mit $F(1,13)=6.79, p=0.02$. Der Vergleich der Varianzanalysen zwischen beiden Bedingungen ergab eine Signifikanz von $F(1,13)=5.294, p=0.04$, was jedoch angesichts des signifikanten Unterschieds zur Grundlinie in der Placebo-Bedingung eher als Placeboeffekt zu werten ist.

Oberes Alpha-Band (10-12 Hz) ; Orexin-Abschnitt ; 10-11.5 min.			
Position	Orexin A	Placebo	
	Mittel \pm SEM	Mittel \pm SEM	p
Fz	0.03 \pm 0.21	0.82 \pm 0.29*	0.051
Cz	-0.1 \pm 0.14	0.84 \pm 0.29*	0.008
Pz	-0.36 \pm 0.22(*)	0.99 \pm 0.3**	0.004
F3	0.33 \pm 0.31	0.64 \pm 0.31(*)	0.5
C3	0.18 \pm 0.33	0.68 \pm 0.33(*)	0.32
P3	-0.24 \pm 0.28	0.74 \pm 0.33*	0.06
F4	0.07 \pm 0.23	0.76 \pm 0.27*	0.045
C4	-0.025 \pm 0.15	0.15 \pm 0.44(*)	0.064
P4	-0.9 \pm 0.43	-1.27 \pm 0.29(*)	0.03

Tab.5: Mittlere (\pm SEM) obere Alpha- (10-12 Hz) log-Power über frontalen (Fz, F3, F4), zentralen (Cz, C3, C4) und parietalen (Pz, P3, P4) kortikalen Arealen während des Orexin-Abschnittes. Die Werte geben die Unterschiede zwischen den Bedingungen zur Grundlinie an, die nach intranasaler Verabreichung aufgezeichnet worden waren. $n = 14$. (*) $p \leq 0.1$, * $p \leq 0.05$, ** $p \leq 0.01$, für Unterschiede im Vergleich zur vorangehenden Grundlinie. p-Werte für den Unterschied zwischen den Bedingungen finden sich in der entsprechenden rechten Spalte.

In den Abschnitten *13,5-15 Minuten* nach Applikation des Nasensprays ergab sich unter der Orexin-Bedingung gegenüber der Grundlinie eine Zunahme der oberen Alpha-Power über allen Ableitungen. Der Vergleich von Orexin gegenüber der Grundlinie war hochsignifikant mit $F(1,14)=13.449$, $p=0.003$. Die Placebo-Bedingung gegenüber der Grundlinie ergab $F(1,13)=1.168$, $p=0.3$. Der Varianzanalysenvergleich zwischen beiden Bedingungen war nicht signifikant ($F(1,13)=1.219$, $p=0.29$).

Konsum-Abschnitt:

In diesem Abschnitt ergaben sich für die oberen Alpha-frequenzen keine systematischen Unterschiede zwischen Orexin und Placebo.

Konsum-Phase: $F(1,13)=1.615$, $p=0.23$

7.5-8 min.: $F(1,13)=1.473$, $p=0.25$

Die *Konsum-Phase* ergab unter der Bedingung Orexin gegenüber der Grundlinie eine Zunahme der oberen Alpha-Power über den frontalen Ableitungen (Fz, F3, F4) und P3. Über den zentralen Ableitungen (Cz, C3, C4) und Pz, P4 nahm die obere Alpha-Power ab. Der Vergleich der Orexin-Bedingung gegenüber der Grundlinie war nicht signifikant. ($F(1,14)=0.015$, $p=0.9$). Die Placebo-Bedingung ergab gegenüber der Grundlinie eine Abnahme der oberen Alpha-Power über allen abgeleiteten Elektrodenpositionen und verfehlte die Signifikanz knapp. ($F(1,13)=4.684$, $p=0.06$).

In den Abschnitten 7,5-8 *Minuten* nach Beginn des Konsums (2,5-3 Min. in der Post-Konsum-Phase) nahm die obere Alpha-Power unter der Orexin-Bedingung über allen Ableitungen ab. Der Vergleich gegenüber der Grundlinie war jedoch nicht ganz signifikant mit $F(1,14)=4.22$, $p=0.06$. Der Vergleich von Placebo gegenüber der Grundlinie war mit $F(1,13)=0.02$, $p=0.89$ nicht signifikant.

3.1.4. Delta (0,5-4 Hz)

In diesem Frequenzbereich ergaben sich in beiden Abschnitten keine systematischen Unterschiede zwischen beiden Bedingungen.

Orexin-Abschnitt: 12-12.5 min.: $F(1,13)=3.023$, $p=0.11$

Konsum-Abschnitt: Konsum-Phase: $F(1,13)=1.538$, $p=0.24$

Orexin-Abschnitt:

Im Zeitraum von 12-12,5 *Minuten* nach Verabreichung des Nasensprays kam es unter der Orexin Bedingung zu einer Abnahme, unter Placebo zu einer Zunahme der Delta-Power über allen Ableitungen. Der Vergleich für die Orexin Bedingung gegenüber der Grundlinie war mit $F(1,14)=4.836$, $p=0.05$ (knapp) signifikant. Placebo gegenüber der Grundlinie ergab keine Signifikanz. ($F(1,13)=1.279$, $p=0.28$).

Konsum-Abschnitt:

In der *Konsum-Phase* ergab sich unter beiden Bedingungen eine Zunahme der Delta-Power über allen Ableitungen. Der Vergleich gegenüber der Grundlinie war unter beiden Bedingungen hochsignifikant (Orexin gegen Grundlinie: $F(1,14)=70.413$, $p=0.001$; Placebo gegen Grundlinie: $F(1,13)=84.095$, $p=0.001$).

3.1.5. Beta (12-30 Hz)

Bei diesem Frequenzband ergaben sich in beiden Abschnitten keine systematischen Unterschiede zwischen Orexin und Placebo.

Orexin-Abschnitt: 13-15 min.: $F(1,13)=0.205$, $p=0.66$

Konsum-Abschnitt: Konsum-Phase: $F(1,13)=2.16$, $p=0.17$

10-11 min.: $F(1,13)=0.138$, $p=0.7$

Orexin-Abschnitt:

Im Zeitraum von *13-15 Minuten* nach Verabreichung des Nasensprays kam es unter der Orexin-Bedingung zu einer Zunahme der Beta-Power. Dies unter den Ableitungen Pz in signifikantem ($p=0.013$), unter F3 ($p=0.005$), Fz ($p=0.005$), Cz ($p=0.009$), und P4 ($p=0.005$) in hochsignifikantem Ausmaß statt. Der Vergleich zwischen der Orexin-Bedingung und der Grundlinie war signifikant mit $F(1,14)=9.282$, $p=0.04$. Placebo gegenüber der Grundlinie erbrachte keine Signifikanz. ($F(1,13)=1.152$, $p=0.3$).

Konsum-Abschnitt:

In der *Konsum-Phase* nahm die Beta-Power unter der Orexin Bedingung über allen Ableitungen zu. Unter Placebo nahm sie nur unter F4 ab. Der Vergleich unter der Orexin Bedingung gegenüber der Grundlinie war signifikant mit $F(1,14)=7.472$, $p=0.02$. Placebo gegenüber der Grundlinie war nicht signifikant mit $F(1,13)=2.32$, $p=0.15$.

In den Abschnitten *10-11 Minuten* nach Beginn des Konsums (5-6 Min. in der Post-konsum-phase) nahm die Beta-Power unter beiden Bedingungen über allen Ableitungen zu. Der Vergleich unter der Orexin-Bedingung gegenüber der Grundlinie war mit $F(1,14)=6.219$, $p=0.03$ signifikant. Unter Placebo war der Vergleich gegenüber der Grundlinie nicht signifikant. ($F(1,13)=1.887$, $p=0.19$).

3.1.6. Gamma (30-45 Hz)

Auch in diesem Frequenzband ergaben sich in beiden Abschnitten keine systematischen Unterschiede zwischen Orexin und Placebo.

Orexin Abschnitt:	11-12 min.:	$F(1,13)=0.042$, $p=0.84$
	13-15 min.:	$F(1,13)=0.605$, $p=0.45$
Konsum-Abschnitt:	5-6 min.:	$F(1,13)=2.51$, $p=0.14$
	6.5-7.5 min.:	$F(1,13)=0.55$, $p=0.47$
	10-11min.:	$F(1,13)=0.178$, $p=0.7$

Orexin-Abschnitt:

Im Zeitraum von *11-12 Minuten* nach Verabreichung des Nasensprays kam es unter beiden Bedingungen über allen Ableitungen zu einer Zunahme der Gamma-Power. Der Vergleich unter der Orexin-Bedingung gegenüber der Grundlinie war signifikant mit $F(1,14)=7.176$, $p=0.02$. Placebo gegenüber der Grundlinie blieb mit $F(1,13)=2.08$, $p=0.17$ ohne Signifikanz.

Im Zeitraum von *13-15 Minuten* nach Verabreichung des Nasensprays kam es zu einer Senkung der Gamma-Power über den Ableitungen C4 und P4 unter der Placebo-Bedingung. Bei den übrigen Ableitungen nahm die Gamma-Power unter beiden Bedingungen zu. Der Vergleich zwischen der Orexin-Bedingung gegenüber der Grundlinie war signifikant mit $F(1,14)=7.054$, $p=0.02$. Die Placebo-Bedingung im Vergleich gegenüber der Grundlinie ergab mit $F(1,13)=0.344$, $p=0.57$ keine Signifikanz.

Konsum-Abschnitt:

In den Abschnitten *5-6 Minuten* nach Beginn des Konsums (die erste Minute in der Post-konsum-phase) nahm die Gamma-Power über allen Ableitungen unter beiden Bedingungen zu. Der Vergleich der Orexin-Bedingung mit der Grundlinie war mit $F(1,14)=11.15$, $p=0.005$ hochsignifikant, während der Vergleich von Placebo gegenüber der Grundlinie ohne Signifikanz blieb. ($F(1,13)=0.722$, $p=0.4$).

In den Abschnitten *6,5-7,5 Minuten* nach Beginn des Konsums (1,5-2,5 Min. in der Post-Konsum-Phase) erhöhte sich die Gamma-Power unter beiden Bedingungen über allen Ableitungen. Der Vergleich der Orexin-Bedingung gegenüber der Grundlinie war mit $F(1,14)=4.86$, $p=0.05$ (knapp) signifikant. Placebo gegenüber der Grundlinie blieb mit $F(1,13)=0.62$, $p=0.4$ ohne Signifikanz.

In den Abschnitten *10-11 Minuten* nach Beginn des Konsums (5-6 Min. in der Post-konsum-phase) erhöhte sich die Gamma-Power unter beiden Bedingungen über allen Ableitungen. Der Vergleich unter der Orexin Bedingung gegenüber der Grundlinie war mit $F(1,14)=8.434$, $p=0.01$ signifikant, während Placebo diesbezüglich ohne Signifikanz blieb. ($F(1,13)=3.01$, $p=0.1$).

3.2. Behaviorale Maße

3.2.1. 10-Punkte-Rating

Die durchschnittlichen Wertungspunkte auf einer Skala von 1 bis 10, welche die Probanden für Hunger, Durst und Müdigkeit jeweils *vor*, *während* und *nach der Aufnahme* abgaben, sind in Tabelle 6 dargestellt, ebenso die p-Werte für den Vergleich der Werte innerhalb der jeweiligen Bedingung (Bed.).

Bed.	<i>vorher:</i> Mittel+/- SEM	<i>während:</i> Mittel+/- SEM	V vs. W: p ≤	<i>nachher:</i> Mittel+/- SEM	W vs. N: p ≤	V vs. N: p ≤
Hunger						
Orexin	7.2 +/- 0.34	8.27 +/- 0.36	0.001***	7.38 +/- 0.43	0.04*	0.58
Placebo	7.1 +/- 0.36	8.07 +/- 0.34	0.002**	7.14 +/- 0.54	0.09(*)	0.65
Durst						
Orexin	5.27 +/- 0.55	6.0 +/- 0.45	0.03*	4.54 +/- 0.67	0.007**	0.19
Placebo	5.87 +/- 0.5	6.4 +/- 0.51	0.14	4.86 +/- 0.63	0.03*	0.16
Müdigkeit						
Orexin	3.57 +/- 0.5	5 +/- 0.64	0.005**	5.5 +/- 0.7	0.37	0.011*
Placebo	3.64 +/- 0.54	5.43 +/- 0.52	0.004**	4 +/- 0.49	0.009**	0.48

Tab.6: Durchschnittliche Ratings von Hunger, Durst und Müdigkeit. Die Ratings wurden jeweils vor der Ableitung (*vorher*, V), vor der Verzehrphase, also während der Ableitung (*während*, W), und nach der Ableitung (*nachher*, N) erfragt. Mittel = Mittelwert; SEM = Standardfehler. n = 14; (*) p ≤ 0.1, * p ≤ 0.05, ** p ≤ 0.01, *** p ≤ 0.001

Unter der Orexin Bedingung stieg der Hunger von *vorher* bis *während* an ($p=0.001$), um anschließend von *während* bis *nachher* abzunehmen ($p=0.04$). Unter Placebo stieg der Hunger von *vorher* bis *während* an ($p=0.002$) und sank von *während* bis *nachher* wieder ab ($p=0.09$). Zwischen den Bedingungen ergaben sich keine signifikanten Unterschiede (Abb.4).

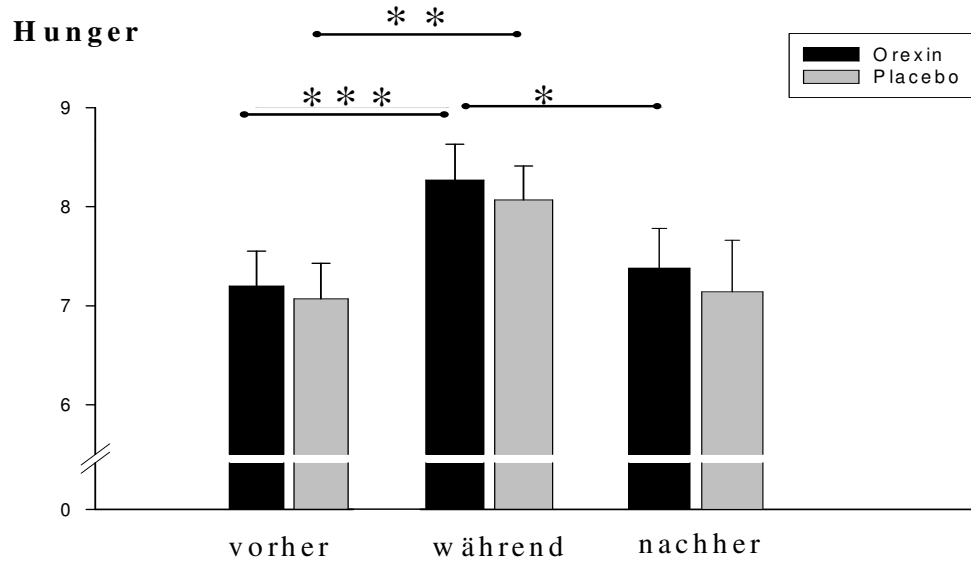


Abb.4: graphische Darstellung des 10-Punkte-Ratings (Hunger). Die Ratings wurden jeweils vor der Ableitung (*vorher*), vor der Verzehraphase, also während der Ableitung (*während*), und nach der Ableitung (*nachher*) erfragt.
 $n = 14$; * $p \leq 0.05$, ** $p \leq 0.01$, *** $p \leq 0.001$

Der Durst stieg unter Orexin von *vorher* bis *während* ($p=0.03$) und sank dann bis *nachher* wieder ab ($p=0.007$). Unter Placebo sank der Durst von *während* bis *nachher* ($p=0.03$). Auch hierbei ergaben sich zwischen den Bedingungen keine signifikanten Unterschiede (Abb.5).

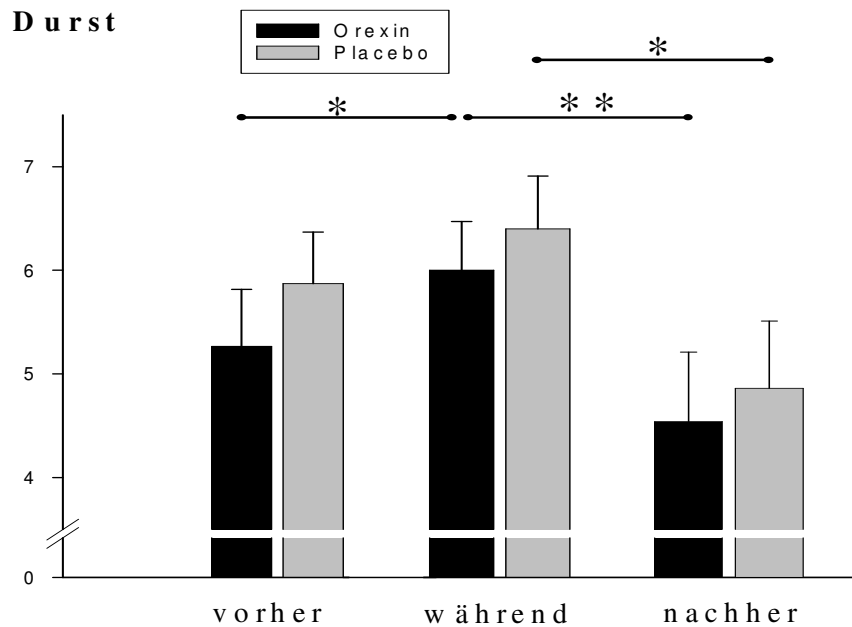


Abb.5: graphische Darstellung des 10-Punkte-Ratings (Durst). Die Ratings wurden jeweils vor der Ableitung (vorher), vor der Verzehraphase, also während der Ableitung (während), und nach der Ableitung (nachher) erfragt. $n = 14$;

* $p \leq 0.05$, ** $p \leq 0.01$

Die Müdigkeit stieg unter der Orexin Bedingung von *vorher* bis *während* ($p=0.005$) und von *vorher* bis *nachher* an ($p=0.011$). Unter Placebo stieg die Müdigkeit von *vorher* bis *während* ($p=0.004$) an, sank jedoch von *während* bis *nachher* hochsignifikant ab ($p=0.009$). Der Vergleich zwischen beiden Bedingungen ergab für den Zeitpunkt *nachher* $p=0.28$. Der Vergleich zwischen den Bedingungen bezüglich der Differenzen zwischen den Zeitpunkten (Delta) *während* und *nachher* war signifikant ($p=0.007$). Eben dieser Vergleich zwischen den Zeitpunkten *vorher* und *nachher* ergab $p=0.07$ (Abb. 6). Die letztgenannten Ergebnisse sprechen für eine Zunahme der Müdigkeit unter Orexin.

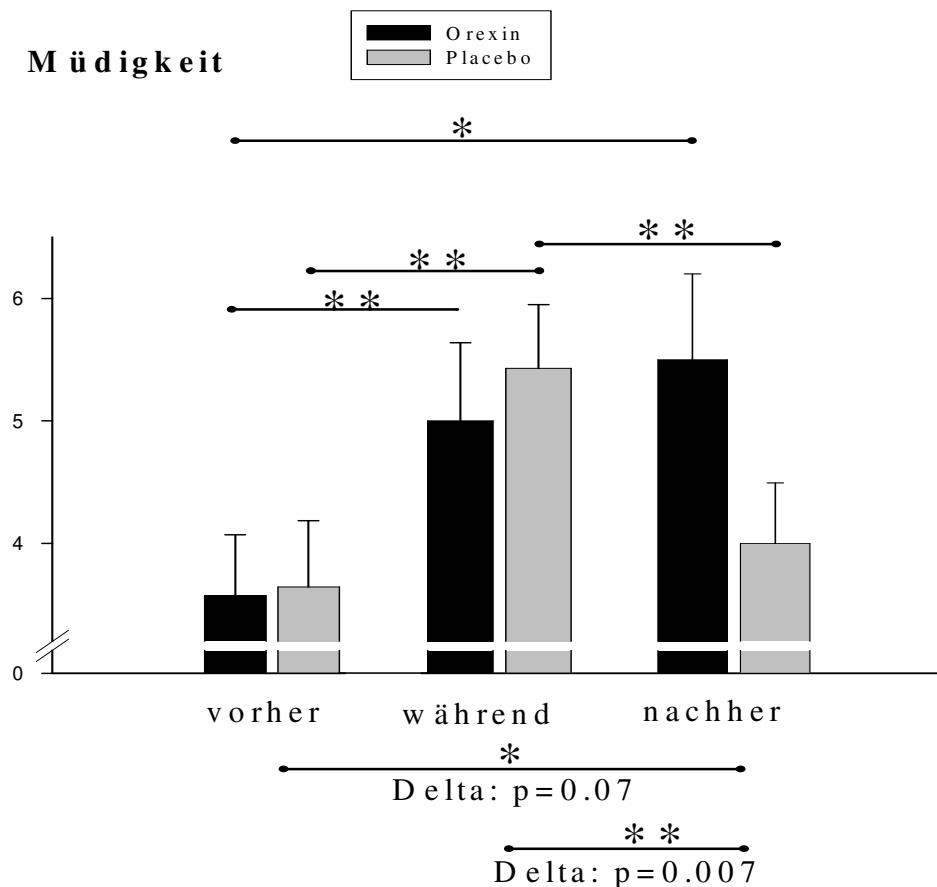


Abb. 6: graphische Darstellung des 10-Punkte-Ratings (Müdigkeit). Die Ratings wurden jeweils vor der Ableitung (vorher), vor der Verzehraphase, also während der Ableitung (während), und nach der Ableitung (nachher) erfragt. $n = 14$; * $p \leq 0.05$, ** $p \leq 0.01$; Delta für den Unterschied zwischen den Bedingungen.

3.2.2. EWL-K

Tab.7 fasst die relevanten Resultate der EWL-K zusammen. Die nicht aufgeführten anderen Kategorien der EWL-K erbrachten keine signifikanten Ergebnisse.

Bedingung	<i>vorher:</i> Mittel +/- SEM	<i>nachher:</i> Mittel +/- SEM	<i>vorher vs.</i> <i>nachher:</i> p ≤	Delta:
Desaktivität (Dimension 2)				
Orexin	1.54 +/- 0.83	3.62 +/- 1.0	0.04*	0.03*
Placebo	2.38 +/- 1.09	1.54 +/- 0.71	0.07(*)	
Müdigkeit (Dimension 3)				
Orexin	1.15 +/- 0.55	1.77 +/- 0.51	0.25	0.15
Placebo	1.23 +/- 0.52	0.85 +/- 0.39	0.22	
Benommenheit (Dimension 4)				
Orexin	0.54 +/- 0.27	0.85 +/- 0.41	0.16	0.32
Placebo	0.38 +/- 0.31	0.46 +/- 0.31	0.56	

Tab.7: Durchschnittliche Resultate der EWL, die jeweils vor (*vorher*) und nach der Ableitung (*nachher*) ausgefüllt wurde. Mittel = Mittelwert; SEM = Standardfehler. n = 14. (*) p ≤ 0.1, * p ≤ 0.05

Unter der Orexin Bedingung nahm die Desaktivität im Laufe des Versuches signifikant zu (p=0.04). Unter Placebo nahm sie ab (p=0.07). Der Vergleich der Differenzen zwischen beiden Bedingungen zum Zeitpunkt *vorher* ergab p=0.35 und war zum Zeitpunkt *nachher* hochsignifikant (p=0.01). Die Differenzen zwischen beiden Bedingungen zwischen den Zeitpunkten *vorher/nachher* waren mit p=0.03 signifikant (Abb.7).

Desaktivität

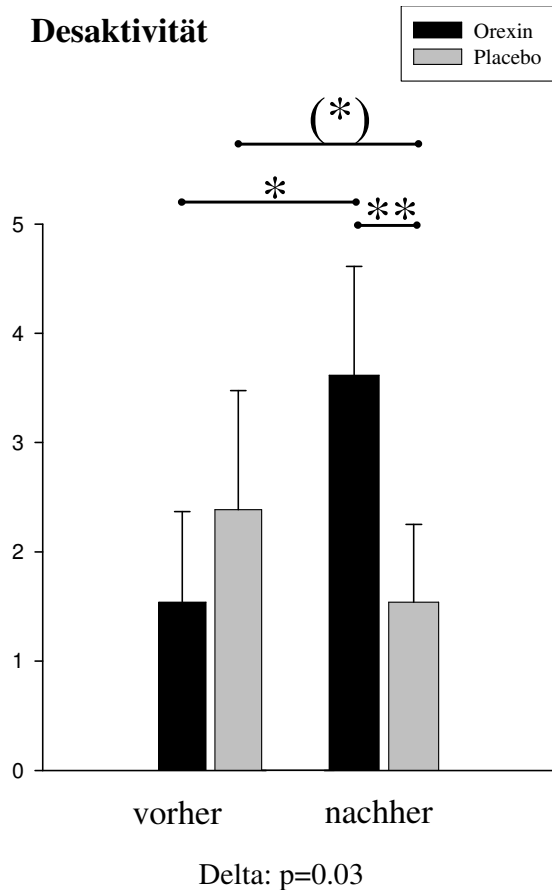


Abb.7: graphische Darstellung des EWL-K (Desaktivität). Die EWL-K wurde jeweils vor der Ableitung (vorher) und nach der Ableitung (nachher) ausgefüllt. n = 14. (*) $p \leq 0.1$, * $p \leq 0.05$, ** $p \leq 0.01$; Delta für den Unterschied zwischen den Bedingungen.

Unter der Orexin Bedingung nahm die Müdigkeit im Laufe des Versuches zu ($p=0.25$). Unter der Placebo-Bedingung nahm sie ab ($p=0.22$). Der Vergleich zwischen beiden Bedingungen ergab für *vorher* $p=0,75$ und *nachher* $p=0.09$. Der Vergleich der Differenzen zwischen beiden Bedingungen war nicht signifikant ($p=0.15$).

Unter Orexin nahm die Benommenheit im Laufe des Versuches zu ($p=0.16$). Unter Placebo nahm sie ebenfalls mit $p=0.56$ zu. Der Vergleich zwischen beiden Bedingungen ergab für den Zeitpunkt *vorher* $p=0.41$ und für den Zeitpunkt *nachher* $p=0.1$. Der Vergleich der Differenzen zwischen den Bedingungen ergab somit ein Delta von $p=0.32$.

3.2.3. Bipolar-Skala

Die wichtigsten Ergebnisse sollen hier dargestellt werden: Betrachtet man die Ergebnisse der Gegensatzpaare (Bipolar-Skala), so fällt auf, dass sich die Probanden nach dem Versuch unter Orexin signifikant ($p=0.02$) vollgeessener fühlten als vorher (unter Placebo nicht signifikant; ($p=0.16$)) Beide Bedingungen unterschieden sich im Vergleich signifikant um $p= 0.02$ (Abb.8).

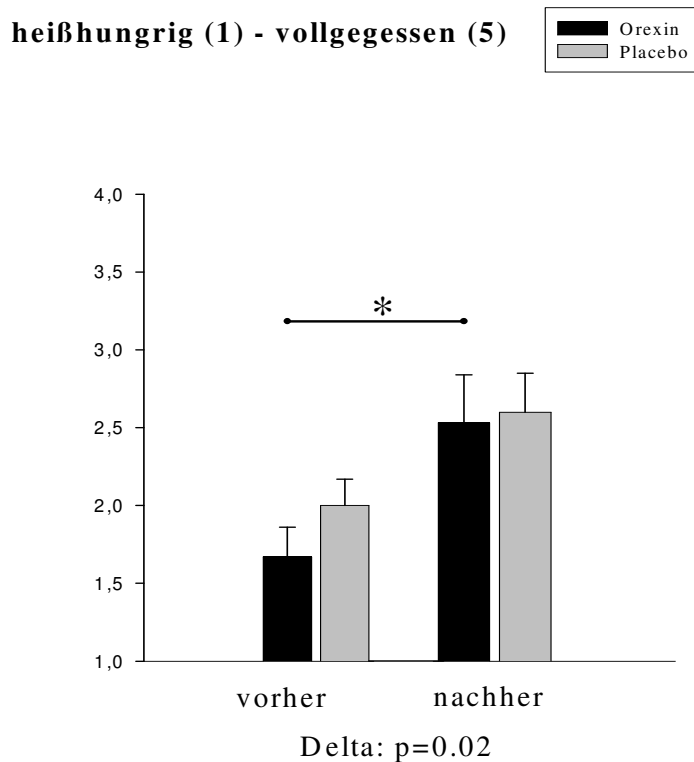


Abb.8: graphische Darstellung der Bipolar-Skala (heißhungrig – vollgeessen). Die Bipolar-Skala wurde jeweils vor der Ableitung (vorher) und nach der Ableitung (nachher) ausgefüllt. $n = 14$.

* $p \leq 0.05$; Delta für den Unterschied zwischen den Bedingungen.

In der Dimension 11 (satt-hungrig) waren die Probanden unter Placebo nach dem Versuch signifikant satter ($p=0.03$) als unter der Orexin-Bedingung. Orexin machte im Laufe des Versuches nur tendenziell satter ($p=0.06$). Der Vergleich zwischen beiden Bedingungen ergab keine Signifikanz, ($p=0.38$).

In der Dimension 10 (aktiv-paasiv) änderte sich das Verhältnis unter der Orexin Bedingung im Laufe des Versuches nicht (Mittelwerte blieben gleich)($p=0.43$). Unter Placebo wurden die Probanden aktiver ($p=0.13$). Der Vergleich zwischen beiden Bedingungen ergab $p=0.07$.

Unter Placebo vergrößerte sich die Schläfrigkeit (Dimension 4: schläfrig-wach) im Laufe des Versuches, ($p=0.76$). Unter der Orexin-Bedingung stellte sich dies deutlicher mit $p=0.06$ ein. Die Differenz zwischen beiden Bedingungen ergab ein Delta von $p=0.05$. Diese Ergebnisse sprechen für eine Abnahme der Wachheit unter Orexin (Abb.9).

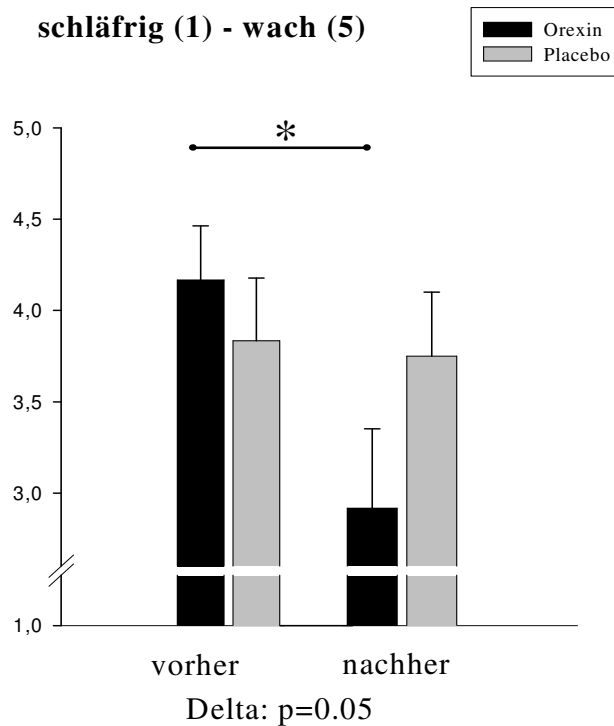


Abb.9: graphische Darstellung der Bipolar-Skala (schläfrig - wach). Die Bipolar-Skala wurde jeweils vor der Ableitung (vorher) und nach der Ableitung (nachher) ausgefüllt. $n = 14$. * $p \leq 0.05$; Delta für den Unterschied zwischen den Bedingungen.

In der Dimension 15 (vertrauend-misstrauend) ergab sich, dass die Probanden unter Orexin im Laufe des Versuches vertrauender wurden ($p=0.65$) im Gegensatz zu Placebo, wo die Probanden tendenziell misstrauischer wurden ($p=0.1$). Nach dem Versuch unterschieden sich beide Bedingungen (knapp) signifikant mit $p=0.05$. Der Vergleich zwischen beiden Bedingungen war signifikant ($p=0.03$).

3.3. Endokrine Parameter

Aus den abpipetierten Serumproben der Blutentnahmen wurden sechs Parameter bestimmt und im Vergleich zu den Zeitpunkten *vorher* und *nachher* sowie zwischen den Bedingungen analysiert und verglichen. Dabei ergaben sich keine Signifikanzen (Tab.8).

Parameter	Orexin A		Placebo		p
	Mittel +/-SEM	Mittel +/-SEM	Mittel +/-SEM	Mittel +/-SEM	
	<i>vorher</i>	<i>nachher</i>	<i>vorher</i>	<i>nachher</i>	
Leptin	10.09 +/- 2.28	9.09 +/- 2.1	10.04 +/- 2.39	8.92 +/- 2.26	0.59
Cortisol	17.60 +/- 1.96	16.85 +/- 1.43	17.31 +/- 1.41	15.9 +/- 0.85	0.65
HGH	5.18 +/- 2.18	0.32 +/- 0.13	4.48 +/- 1.39	0.52 +/- 0.27	0.68
LH	6.28 +/- 3.21	5.84 +/- 2.49	2.97 +/- 0.38	2.78 +/- 0.48	0.80
Insulin	7.22 +/- 2.14	54.59 +/- 11.94	8.28 +/- 2.5	48.57 +/- 5.67	0.47
ACTH	10.38 +/- 1.27	14.51 +/- 2.0	11.24 +/- 1.61	15.03 +/- 2.38	0.91

Tab.8: Durchschnittliche Resultate der Serumanalysen, die jeweils vor (*vorher*) und nach der Ableitung (*nachher*) abgenommen wurden. Mittel = Mittelwert; SEM = Standardfehler. n = 14. p (rechte Spalte) für den Vergleich der Differenzen vorher und nachher zwischen den Bedingungen. Adrenocorticotropes Hormon (ACTH), Luteotropes Hormon (LH), Human Growth Hormon (HGH).

3.4. Brötchenverzehr

Der Brötchenverzehr zum Abschluss des Versuches zeigte, dass unter der Orexin Bedingung (7.5 +/- 0.97) signifikant (p=0.04) weniger Brötchenstücke gegessen wurden als unter Placebo (9 +/- 1.04). Es stellte sich auch heraus, daß die Probanden unter der Orexin Bedingung (2.79 +/- 0.69) signifikant (p=0.01) weniger Wurstbrötchen verzehrten als unter Placebo (3.93 +/- 0.82). Die Ergebnisse bezüglich der Käsebrötchen blieben zwischen beiden Bedingungen ohne Signifikanz (p=0.4)(Abb.10).

Brötchenverzehr

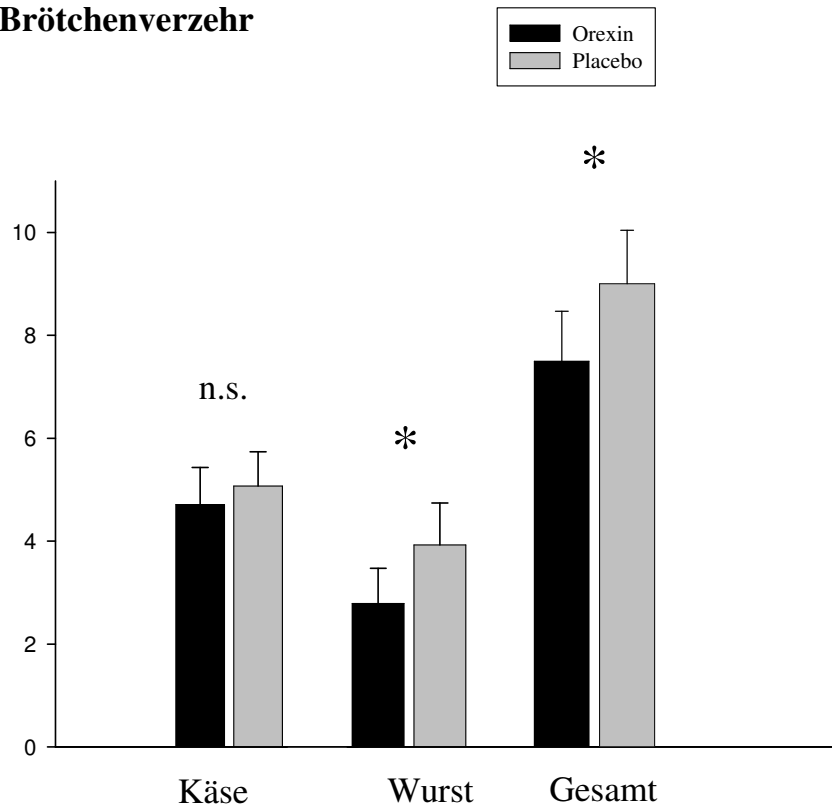


Abb.10: graphische Darstellung des Brötchenverzehrs nach der Ableitung. n = 14. * $p \leq 0.05$; n.s. für nicht signifikant.

3.5. Revisionstest

Die Analyse des Revisionstests blieb ohne signifikante Ergebnisse. ($p > 0.55$ für alle Vergleiche).

4. Diskussion

Die wichtigsten Ergebnisse der Studie können wie folgt zusammengefasst werden: Im **Spontan-EEG** nimmt der Anteil an unterer Alpha-Power zu den Zeitpunkten 6,5-9,5 Minuten sowie 12-14 Minuten und der Anteil an Theta-Power zum Zeitpunkt 9-9,5 Minuten im Orexin-Abschnitt unter der Orexin-Bedingung im Vergleich zur Placebo-Bedingung zu. Das **10-Punkte-Rating** zeigt unter der Orexin-Bedingung einen Anstieg der Müdigkeit über den Verlauf des Versuches im Vergleich zu Placebo. Hunger- und Durstratings bleiben ohne Effekte. Die **EWL-K** zeigt einen Anstieg der Desaktivität unter der Orexin-Bedingung bis Ende des Versuches. In der **Bipolar-Skala** zeigt sich ein deutlicher Unterschied zwischen beiden Bedingungen am Ende des Versuches: Während unter der Orexin-Bedingung das Gefühl „vollgeessen“ sowie „schläfrig“ ansteigt, fühlen sich die Probanden unter Placebo „aktiver“. Der **Wurstbrötchen- und generelle Brötchenverzehr** fällt unter der Orexin-Bedingung niedriger aus als unter Placebo.

4.1. Spontan-EEG

Was den Zusammenhang zwischen Veränderungen im EEG einerseits und Aufmerksamkeitsgrad bzw. Schläfrigkeit einer Person andererseits angeht, so gilt insgesamt, dass mit Verlangsamung der EEG-Frequenz die Aktivierung bzw. das Arousal abnehmen (Buchwald et al., 1964; Niedermeyer, 1998a, 1998b; Halasz et al., 2004). Innere und äußere Anspannung (Aktivierung), Angst und Aufregung korrespondieren dementsprechend mit Amplitudenverminderung und Frequenzerhöhung (Desynchronisierung).

Betrachtet man die Ergebnisse des Spontan-EEGs, so fällt ins Auge, dass unter Orexin A die Anteile der unteren Alpha-Power (8-10Hz) sowohl im Vergleich zur Placebobedingung wie auch im Vergleich zur Grundlinie in den Zeiträumen 6,5-9,5 bzw. 12-14 Minuten nach Sprayapplikation signifikant zunehmen. Unter der Placebo-Bedingung zeigte sich dagegen keine Erhöhung im Vergleich zur Grundlinie. Zum Zeitpunkt 9-9,5 Minuten nach Sprayapplikation kommt es unter Orexin A im Gegensatz zu Placebo zusätzlich zu einer signifikanten Zunahme der Theta-Power. Orexin A führt somit zu einer Synchronisierung und Verlangsamung des Spontan-EEGs nach intranasaler Gabe (Orexin-Abschnitt) und nicht zu einer erwarteten Desynchronisierung durch Aktivierung. Ein träge machender Effekt von Orexin A wird hierdurch bereits angezeigt.

Im Konsum-Abschnitt bleiben erwartete Sättigungseffekte nach dem Trinken von Flüssignahrung (Post-Konsum-Phase) im Sinne einer De- bzw. Synchronisierung durch Orexin

A aus (Hallschmid et al., 2002; Marczyński et al., 1981). Weder das in der Fragestellung erwartete schwächer ausgeprägte Sättigungsgefühl (Desynchronisierung) noch das unter Berücksichtigung der erhaltenen behavioralen Ergebnisse (s.u.) stärker ausgeprägte Sättigungsgefühl (Synchronisierung) unter Orexin A schlägt sich im Spontan-EEG nieder. Dies könnte einerseits methodische Gründe haben. Wenn z.B. die Veränderungen in den Ableitungen sich nur über Sekunden erstreckten oder einzelne Ableitepositionen betrafen, wurden diese in den durchgeführten Analysen nicht weiterverfolgt, weil sie nicht für ausreichend konsistent erachtet wurden. Schlüssiger scheint jedoch die Erklärung, dass in der Post-Konsum-Phase weniger sättigungsbezogene Effekte von Orexin A im Vordergrund stehen, sondern die Folgen der Desaktivierungseffekte von Orexin A, welche sich auch in den behavioralen Ergebnissen (s.u.) zeigen und dazu führen könnten, dass die Probanden weniger Nahrung zu sich nehmen (signifikant reduzierter Brötchenverzehr). Diese Argumentation der zunehmenden Müdigkeit (Desaktivierung) unter Orexin A erklärt eine geringere Nahrungsaufnahme ohne sättigungsspezifische Korrelation im Spontan-EEG. Höhere Frequenzbänder (Beta, Gamma) und das Delta-Band zeigen in beiden Abschnitten (Orexin- und Konsum-Abschnitt) keine Effekte zwischen den Bedingungen. Dort lassen sich daher keine eindeutigen Aussagen machen. Zusammen mit der signifikanten Müdigkeitszunahme unter Orexin A im 10-Punkte-Rating von *vorher* bis *während* (also dem Orexin Abschnitt) lassen die vorliegenden Ergebnisse im EEG auf ein zentralnervöses Wirkungsmaximum von intranasal appliziertem Orexin A in den ersten 5-15 Minuten nach Gabe schließen.

Die erste Hypothese wird somit unter den gegebenen Versuchsbedingungen widerlegt, die ursprünglich von einer Desynchronisation des Spontan-EEGs ausgegangen ist. Es wird dennoch das Vorliegen eines zentralnervösen Effektes von Orexin A mit inhibitorischer Komponente nach intranasaler Verabreichung angezeigt.

4.2. Behaviorale Maße (10-Punkte-Rating, Bipolar-Skala und Eigenschaftswörterliste)

4.2.1. Einfluss von Orexin A auf Hunger und Essverhalten

Während die EWL-K und das 10-Punkte-Rating diesbezüglich ohne signifikante Ergebnisse bleiben, zeigt sich unter der Orexin-Bedingung in der Bipolar-Skala ein Anstieg des Gefühls „vollgeessen“. Der Wurstbrötchen- und generelle Brötchenverzehr fällt unter der Orexin Bedingung niedriger aus als unter Placebo.

Der laterale Hypothalamus ist seit langem als regulierende Instanz für Nahrungsaufnahme bekannt. Die Theorie, dass Orexin in diese Regelkreise eingebunden ist, wurde schon von der ursprünglichen Studie von Sakurai unterstützt (Sakurai et al., 1998).

Hierbei führte eine zentrale Verabreichung von Orexin A und B zu einer Stimulation der Nahrungsaufnahme bei Ratten. Spätere Studien zeigten jedoch, dass Orexin bei der Regulation von Nahrungsaufnahme eine weitaus komplexere und kompliziertere Rolle spielt als schlicht nur Stimulation: Während mehrere Studien bei Nagetieren von einer vermehrten Nahrungsaufnahme berichten (Haynes et al., 1999; Sweet et al., 1999; Rodgers et al., 2000), gibt es andere Studien, die keine Veränderung bezüglich der Nahrungsaufnahme beobachteten (Ida et al., 1999; Sunter et al., 2001). Ramsey und Mitarbeiter berichten bei Rhesus-Affen, die dem Menschen phylogenetisch näher stehen als Nager, sogar von einer Verminderung der Nahrungsaufnahme nach zentraler Gabe von Orexin A (Ramsey et al., 2005). Da die meisten Orexin-Studien, die mit vermehrter Nahrungsaufnahme einhergehen, von Nagetieren, Katzen oder Hunden stammen, und gegenläufige Ergebnisse überwiegend von phylogenetisch höher gestellten Lebewesen auftreten, liegt hier der Verdacht nahe, die Orexin-Wirkung könne Spezies-abhängig sein und wandele sich im Laufe der Evolution.

Die Tatsache, dass in der vorliegenden Studie keine signifikanten Unterschiede im 10-Punkte-Rating für Hunger- und Durstgefühl auftreten, steht dieser Argumentation somit nicht entgegen. Bestärkt wird Sie sogar noch durch eine Studie bei Menschen, in der nach intravenöser Verabreichung von Orexin A keine signifikanten Unterschiede im Bezug auf Hunger- und Sättigungsgefühl beschrieben werden (gemessen wurde hier mit einer dem 10-Punkte-Rating ähnlichen visuellen Analog-Skala) (Ehrström et al., 2005). Der signifikant verminderte Brötchenverzehr unter Orexin am Ende des Versuches und die Bipolar-Skala, in der die Probanden unter Orexin signifikant ($p=0.02$) „vollgeessener“ sind als unter Placebo ($p=0.16$), unterstützt Ramseys Aussage über einen Funktionswandel von Orexin im Laufe der Zeit.

Bei Menschen könnte Orexin also eine gegenteilige, anorektische Wirkung haben. Herabgesetzte Plasma-Orexin A-Spiegel, die bei fettleibigen Menschen gemessen wurden, legen dies nahe (Schuld et al., 2000; Adam et al., 2002). Die Frage nach den Einflüssen von Orexin A auf Hunger und Essverhalten bei Menschen kann daher mit einer Verminderung des Nahrungsaufnahmeverhaltens und einer Herabsetzung des Hungergefühls beantwortet werden. Die aus Nagerstudien bekannten Orexin A-Effekte lassen sich somit nicht auf den Menschen übertragen. Dennoch steht außer Frage, daß Orexine in die Regulation von Nahrungsaufnahme und Sättigungsvermittlung involviert sind. Doch ihre ursprüngliche Bedeutung für die Kurzzeitregulation der Nahrungsaufnahme scheint im Laufe der Evolution geringer zu werden oder sich sogar umzukehren.

4.2.2. Einfluss von Orexin auf das Aktivitätsniveau

Der Schlaf-Wach-Rhythmus wird durch eine innere Uhr bestimmt, die von komplexen neuromodulatorischen Mechanismen synchronisiert wird. Da Orexine hierbei eine wichtige, kontrollierende Rolle (Moore et al., 2001) spielen, stellt sich die Frage, ob Orexine die Wachheit stimulieren oder lediglich aufrecht erhalten. Nach intrazerebroventrikulärer Injektion von Orexin bei Ratten erhöht sich die Wachheit (Ida et al., 1999). Direkte Applikation von Orexin in wachsamkeitsassoziierte Hirnkerne (Nucleus coeruleus, tuberomammilaris, etc.) bewirken eine Steigerung der Aktivität (Bourgin et al., 2000). Eine Funktion des Orexins, Wachheit zu stimulieren wäre hieraus daraus zu schließen. Bei Ratten gemessene Liquor-Orexin-Spiegel zeigen einen Sekretionshöhepunkt in der aktiven Phase (Fujiki et al., 2001). Demnach liegt also ein zirkadianes Signal zur Wachsamkeitsförderung vor. Doch besitzen Nagetiere als nachtaktive Tiere wie auch Hunde, Katzen oder Fische keinen einheitlichen durch Lichtverhältnisse festgelegten, zusammenhängenden Schlaf-Wach-Rhythmus (polyphasische Lebensweise) wie z.B. Primaten oder der Mensch (monophasische Lebensweise). Während beim Menschen der Aktivitätszustand normalerweise mit den Lichtverhältnissen korreliert, ist das bei niederen Tieren nicht der Fall. Die polyphasisch lebenden Tiere stellen demnach kein ohne weiteres übertragbares Modell für die Schlaf-Wach-Regulierung beim monophasisch lebenden Menschen dar.

Studien mit monophasisch lebenden Totenkopffaffen zeigen einen Anstieg der intrathekal gemessenen Orexin A-Konzentration im Liquor bis zum Ende der Wachphase (Zeitzer et al., 2003, 2004). Bei Menschen wurden überraschenderweise höchste Liquor-Orexin A-Spiegel gegen zwei Uhr morgens gemessen, was für ein als Peptid wie Orexin, das die Wachheit fördern soll, ungewöhnlich erscheint (Salomon et al., 2003). Auch wenn die Autoren dieser Studie eine Verzögerung der Orexin-Messung durch dessen Transport vom Hirn zum Spinalpunktionsort nicht ausschließen, zeigt dies doch, dass ein uneinheitliches Bild der Orexin-Sekretion bei unterschiedlichen Spezies vorliegt. Es ist also nicht unwahrscheinlich, dass die Wirkung von Orexin A demnach auch speziesabhängig sein könnte.

Vor diesem Hintergrund lässt sich ebenfalls erklären, dass die vorliegenden Ergebnisse der Ratings keinen Anstieg an Aktivität bzw. Wachheit unter Orexin aufweisen. Das Gegenteil ist der Fall: Vergleicht man die Ergebnisse der Ratings (10-Punkte-Rating und Bipolar-Skala) mit der Eigenschaftswörterliste, so fällt auf, dass sich während des Versuches eine Ermüdung der Probanden unter der Orexin Bedingung sowohl im 10-Punkte-Rating (*vorher-nachher*: $p=0.07$; *während-nachher*: $p=0.007$) wie auch in der EWL-K ($p=0.15$)

entwickelt. Auch die Desaktivität, die sich unter Orexin in der EWL-K einstellt ($p=0.03$), passt zu dem Gesamteindruck, Orexin A mache beim Menschen nach externer Gabe träge. Die Tatsache, dass unter dieser Bedingung in der Bipolar-Skala auch die Schläfrigkeit ($p=0.5$) und die Passivität ($p=0.07$) zunehmen bzw. die vertrauende Komponente signifikant zunimmt, ($p=0.03$) untermauert dieses Bild. Obengenannte Ergebnisse beziehen sich jeweils auf den Vergleich der Differenzen beider Bedingungen. Schließlich kann der Revisionstest, der keine Effekte zeigt, hier in diesem Zusammenhang ebenfalls ergänzend aufgeführt werden.

Wie passen diese Erkenntnisse jedoch in den Zusammenhang eines ursprünglich als „Wachhaltungssignal“ definierten Orexin A? Grund hierfür könnte der oben angesprochene speziesspezifische Effekt (s.o.) von Orexin A sein, der beim Menschen möglicherweise nach intranasaler Verabreichung von Orexin A gegenregulatorische Prozesse anregt. Auch ein dosisabhängiger gegenregulatorischer Effekt ist nicht auszuschließen. Rodgers und Mitarbeiter beschreiben diesbezüglich einen sedierenden Effekt mit Rückgang der Nahrungsaufnahme des Orexin A bei Ratten, wenn dieses in hohen Dosen ($30 \mu\text{g i.c.v.}$) verabreicht wird (Rodgers et al., 2000). Auch bei narkoleptischen Hunden wurden dosisabhängige, widersprüchliche Orexin A-Effekte nach peripherer Gabe entdeckt (John et al., 2000; Fujiki et al., 2003). Dabei führte eine i.v.-Gabe von $3\mu\text{g/kg}$ Orexin A zu Kataplexieminderung, eine Dosis von $4\mu\text{g/kg}$ zu Verstärkung der Kataplexie.

Es besteht also die Frage, ob Orexin A in hohen Dosen sowohl auf exzitatorische als auch auf inhibierende Strukturen wirkt. Da bisher keinerlei evidenzbasierte Ergebnisse bezüglich wirksamer/unwirksamer Orexin A-Dosierungen beim Menschen vorliegen, ist neben dem vermuteten speziesspezifischen Orexineffekt ein Dosiseffekt in der vorliegenden Studie als Begründung für die paradoxe Orexin-Wirkung nicht auszuschließen und in die Überlegung mit einzubeziehen.

Des Weiteren könnten die vorliegenden Effekte auch über periphere Mechanismen ausgelöst werden, falls Orexin A nach intranasaler Gabe in die Peripherie gelangt und dort Wirkung entfaltet. Zwar wird bislang nur ein Orexin-Transport über die Blut-Hirn-Schranke aus der Peripherie ins ZNS beschrieben (Kastin und Akerstrom, 1999). Doch kann auch ein Weg in umgekehrter Richtung nicht mit Sicherheit ausgeschlossen werden, wie eine Studie von Hallschmid und Mitarbeitern zeigt, die einen Plasmagipfel nach intranasaler Gabe von Orexin A beschreibt (Hallschmid et al., unveröffentlichte Daten). Vor dem Hintergrund der in dieser Studie bestimmten Serumparameter, die während des Versuchs keine signifikanten Konzentrationsschwankungen von Leptin, HGH, LH, ACTH, Cortisol und Insulin im Blut

zeigten (Tab. 8), kann ein peripherer Einfluss von Orexin A hier jedoch weder belegt noch ausgeschlossen werden. Auf diesem Gebiet ist daher noch weitere Forschung notwendig.

Im Bezug auf die dritte Frage der Einleitung legen diese Ergebnisse also eine Wirkungsumkehr der Orexinfunktion als Neurotransmitter im Laufe der Weiterentwicklung der Organismen nahe. Es wird gezeigt, dass eine grundsätzlich aktivierende Wirkung des Orexins beim Menschen in Frage gestellt werden sollte. Dies ist eine Schlussfolgerung, die vor dem Hintergrund von Versuchen, Orexin A als Therapeutikum der Schlaf-Wach-Störung Narkolepsie einzusetzen (John et al., 2000), bedacht werden sollte.

5. Zusammenfassung

Orexin A und Orexin B gehören zu einer neu entdeckten Gruppe von Peptiden, die erstmalig im Hypothalamus der Ratte isoliert wurden. Vor dem Hintergrund von Experimenten, die an Nagetieren durchgeführt wurden, werden ihnen zentrale hungerstimulierende sowie wachsamkeitsfördernde Wirkungen zugeschrieben. Die vorliegende Studie untersuchte an 14 gesunden Probanden die Auswirkung von einmalig intranasal verabreichtem Orexin A (100 nmol) auf Veränderungen im Spontan-EEG und in psychischen Parametern im Bezug auf Aktivitätsniveau, Hunger, Durst und Essverhalten. Zur Erfassung der psychischen Parameter wurden die EWL-K, ein 10-Punkte-Rating sowie eine Bipolar-Skala mit 20 Gegensatzpaaren verwendet. Die Anzahl belegter Brötchenstücken, welche die Probanden nach dem Versuchsablauf ad libitum verzehren durften, wurde dokumentiert.

Der Versuch erbrachte überraschende Ergebnisse: Intranasal verabreichtes Orexin A zeigt bei Menschen zentralnervöse Effekte in Form von einer **Verlangsamung der Spontan-EEG-Frequenzen** („Synchronisierung“). Es kommt dabei zu einer **Minderung der Aktivität** und einer **Reduktion der Nahrungsaufnahme**. Diese Ergebnisse stehen im Widerspruch zu der bisher angenommenen Wirkung von Orexin A als Hungerstimulans und Aktivator. Wo intranasal verabreichtes Orexin A genau wirkt und ob diese Effekte **direkt zentralnervös oder sekundär zentralnervös über peripher vermittelte Mechanismen** verursacht werden, ist nicht mit Sicherheit zu beantworten. Die erforschte Methode der intranasalen Applikation von kleinen Peptiden sowie Serumanalysen aus vor und nach der Aufzeichnung abgenommenen Blutproben geben keinen Hinweis auf peripher vermittelte Vorgänge und machen somit einen zentralnervösen Effekt wahrscheinlich. Auch die Idee einer **Speziesspezifität** oder **Dosisabhängigkeit** der beobachteten Effekte sollte weiter verfolgt werden und Inhalt zukünftiger Studien sein, da verlässliche Daten insbesondere im Bezug auf Menschen in diesem Gebiet noch ausstehen.

Die vorliegenden Ergebnisse führen dazu, die bisher angenommene Rolle des Orexin A bezüglich Aktivität und Essverhalten beim Menschen kritisch zu hinterfragen und die bisherigen Kenntnisse dazu neu zu überdenken. In diesem Sinne wäre eine Rückbesinnung auf den strukturellen Namen Hypocretin-1 bzw. -2 für diese Neuropeptide angebracht, bis eine detaillierte, speziessübergreifende Entschlüsselung der Orexin-Wirkung vorliegt.

6. Literaturverzeichnis

- Adam JA, Menheere PP, van Dielen FM, Soeters PB, Buurman WA, Greve JW. Decreased plasma orexin A levels in obese individuals. *Int J Obes Relat Metab Disord.* 26(2), 274-6. (2002)
- Beck B, Richy S. Hypothalamic hypocretin/orexin and neuropeptide Y: divergent interaction with energy depletion and leptin. *Biochem Biophys Res Commun.* 258(1), 119-22. (1999)
- Bernardis LL, Medige J, Gillespie R, Wu H, Zivt I. The lateral hypothalamic syndrome in the weanling rat: bone geometry and biomechanics. *Physiol Behav.* 67(5), 799-802. (1999)
- Born J, Lange T, Kern W, McGregor GP, Bickel U, Fehm H. Sniffing neuropeptides: a transnasal approach to the human brain. *Nat Neurosci.* 5, 514-516 (2002)
- Bourgin P, Huitron-Resendiz S, Spier AD, Fabre V, Morte B, Criado JR, Sutcliffe JG, Henriksen SJ, de Lecea L. Hypocretin-1 modulates REM sleep through activation of locus coeruleus neurons. *J. Neurosci.* 20, 7760–7765 (2000).
- Brown RE, Sergeeva O, Eriksson KS, Haas HL. Orexin A excites serotonergic neurons in the dorsal raphe nucleus of the rat. *Neuropharmacology.* 40(3), 457-9. (2001)
- Buchwald NA, Horvath FE, Wyers EJ, Wakefield C. Electroencephalogram rhythms correlated with milk reinforcement in cats. *Nature.* 201, 830-1. (1964)
- Cai XJ, Evans ML, Lister CA, Leslie RA, Arch JR, Wilson S, Williams G. Hypoglycemia activates orexin neurons and selectively increases hypothalamic orexin B levels: responses inhibited by feeding and possibly mediated by the nucleus of the solitary tract. *Diabetes.* 50(1),105-12 (2001)
- Chemelli RM, Willie JT, Sinton CM, Elmquist JK, Scammell T, Lee C, Richardson JA, Williams SC, Xiong Y, Kisanuki Y, Fitch TE, Nakazato M, Hammer RE, Saper CB, Yanagisawa M. Narcolepsy in orexin knockout mice: molecular genetics of sleep regulation. *Cell.* 98(4), 437-51 (1999)
- Clemente CD, Serman MB, Wyrwicka W. Post-reinforcement EEG synchronization during alimentary behavior. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol.* 16, 355-65. (1964)
- Date Y, Ueta Y, Yamashita H, Yamaguchi H, Matsukura S, Kangawa K, Sakurai T, Yanagisawa M, Nakazato M. Orexins, orexigenic hypothalamic peptides, interact with autonomic, neuroendocrine and neuroregulatory systems. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 96(2), 748-53. (1999)
- de Lecea L, Kilduff TS, Peyron C, Gao X, Foye PE, Danielson PE, Fukuhara C, Battenberg EL, Gautvik VT, Bartlett FS 2nd, Frankel WN, van den Pol AN, Bloom FE, Gautvik KM, Sutcliffe JG. The hypocretins: hypothalamus-specific peptides with neuroexcitatory activity. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 95(1), 322-7 (1998)
- Ehrström M, Gustafsson T, Finn A, Kirchgessner A, Gryback P, Jacobsson H, Hellstrom PM, Naslund E. Inhibitory effect of exogenous orexin a on gastric emptying, plasma leptin, and the distribution of orexin and orexin receptors in the gut and pancreas in man. *J Clin Endocrinol Metab.* 90(4), 2370-7. (2005)

- Fujiki N, Yoshida Y, Ripley B, Honda K, Mignot E, Nishino S. Changes in CSF hypocretin-1 (orexin A) levels in rats across 24 hours and in response to food deprivation. *Neuroreport*. 12(5), 993-7. (2001)
- Fujiki N, Yoshida Y, Ripley B, Mignot E, Nishino S. Effects of IV and ICV hypocretin-1 (orexin A) in hypocretin receptor-2 gene mutated narcoleptic dogs and IV hypocretin-1 replacement therapy in a hypocretin-ligand-deficient narcoleptic dog. *Sleep*. 26(8), 953-9. (2003)
- Hagan JJ, Leslie RA, Patel S, Evans ML, Wattam TA, Holmes S, Benham CD, Taylor SG, Routledge C, Hemmati P, Muntun RP, Ashmeade TE, Shah AS, Hatcher JP, Hatcher PD, Jones DN, Smith MI, Piper DC, Hunter AJ, Porter RA, Upton N. Orexin A activates locus coeruleus cell firing and increases arousal in the rat. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 96(19), 10911-6 (1999)
- Hakansson M, de Lecea L, Sutcliffe JG, Yanagisawa M, Meister B. Leptin receptor- and STAT3-immunoreactivities in hypocretin/orexin neurones of the lateral hypothalamus. *J Neuroendocrinol*. 11(8), 653-63 (1999)
- Halasz P, Terzano M, Parrino L, Bodizs R. The nature of arousal in sleep. *J Sleep Res*. 13(1), 1-23 (2004)
- Hallschmid M, Molle M, Fischer S, Born J. EEG synchronization upon reward in man. *Clin Neurophysiol*. 113(7), 1059-65 (2002)
- Hanson LR, Martinez PM, Taheri S, Kamsheh L, Mignot E, Frey II WH. Intranasal administration of hypocretin-1 (orexin A) bypasses the blood-brain barrier and targets the brain: a new strategy for the treatment of narcolepsy. *Drug Delivery Techn*. 4(4), 66-71. (2004)
- Hara J, Beuckmann CT, Nambu T, Willie JT, Chemelli RM, Sinton CM, Sugiyama F, Yagami K, Goto K, Yanagisawa M, Sakurai T. Genetic ablation of orexin neurons in mice results in narcolepsy, hypophagia, and obesity. *Neuron*. 30(2), 345-54. (2001)
- Haynes AC, Jackson B, Overend P, Buckingham RE, Wilson S, Tadayyon M, Arch JR. Effects of single and chronic intracerebroventricular administration of the orexins on feeding in the rat. *Peptides*. 20(9), 1099-105. (1999)
- Horvath TL, Diano S, van den Pol AN. Synaptic interaction between hypocretin (orexin) and neuropeptide Y cells in the rodent and primate hypothalamus: a novel circuit implicated in metabolic and endocrine regulations. *J Neurosci*. 19(3), 1072-87. (1999)
- Ida T, Nakahara K, Katayama T, Murakami N, Nakazato M. Effect of lateral cerebroventricular injection of the appetite-stimulating neuropeptide, orexin and neuropeptide Y, on the various behavioral activities of rats. *Brain Res*. 821(2), 526-9 (1999)
- Illum L. Transport of drugs from the nasal cavity to the central nervous system. *Eur J Pharm Sci*. 11, 1-18 (2000)
- Jackson RT, Tigges J, Arnold W. Subarachnoid space of the CNS, nasal mucosa, and lymphatic system. *Arch Otolaryngol*. 105(4), 180-4. (1979)

- John J, Wu MF, Siegel JM. Systemic administration of hypocretin-1 reduces cataplexy and normalizes sleep and waking durations in narcoleptic dogs. *Sleep Res Online*. 3(1), 23-8. (2000)
- Kastin AJ, Akerstrom V. Orexin A but not orexin B rapidly enters brain from blood by simple diffusion. *J Pharmacol Exp Ther*. 289(1), 219-23. (1999)
- Kennedy GC. The role of depot fat in the hypothalamic control of food intake in the rat. *Proc R Soc Lond B Biol Sci*. 140(901), 578-96. (1953)
- Khatami R, Maret S, Werth E, Retey J, Schmid D, Maly F, Tafti M, Bassetti CL. Monozygotic twins concordant for narcolepsy-cataplexy without any detectable abnormality in the hypocretin (orexin) pathway. *Lancet*. 363(9416), 1199-200. (2004)
- Klimesch W. Memory processes, brain oscillations and EEG synchronization. *Int J Psychophysiol*. ;24(1-2), 61-100. (1996)
- Kunii K, Yamanaka A, Nambu T, Matsuzaki I, Goto K, Sakurai T. Orexins/hypocretins regulate drinking behaviour. *Brain Res*. 842(1), 256-61. (1999)
- Lopez M, Seoane L, Garcia MC, Lago F, Casanueva FF, Senaris R, Dieguez C. Leptin regulation of prepro-orexin and orexin receptor mRNA levels in the hypothalamus. *Biochem Biophys Res Commun*. 269(1), 41-5. (2000)
- Lubkin M, Stricker-Krongrad A. Independent feeding and metabolic actions of orexins in mice. *Biochem Biophys Res Commun*. 253(2),241-5 (1998)
- Marcus JN, Aschkenasi CJ, Lee CE, Chemelli RM, Saper CB, Yanagisawa M, Elmquist JK. Differential expression of orexin receptors 1 and 2 in the rat brain. *J Comp Neurol*. 435(1), 6-25. (2001)
- Marczynski TJ, York JL, Allen SL, Rick JH, Sherry CJ. Steady potential correlates of positive reinforcement and sleep onset in the cat; 'reward contingent positive variation' (RCPV). *Brain Res*. 26, 305-32 (1971)
- Marczynski TJ, Harris CM, Livezey GT. The magnitude of post-reinforcement EEG synchronisation (PRS) in cats reflects learning ability. *Brain Res*. 204(1), 214-9 (1981)
- Mayer J. Regulation of energy intake and the body weight: the glucostatic theory and the lipostatic hypothesis. *Ann N Y Acad Sci*. 63(1), 15-43. (1955)
- Mieda M, Willie JT, Hara J, Sinton CM, Sakurai T, Yanagisawa M. Orexin peptides prevent cataplexy and improve wakefulness in an orexin neuron-ablated model of narcolepsy in mice. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 101(13), 4649-54. (2004)
- Mignot E. Sleep, sleep disorders and hypocretin (orexin). *Sleep Med*. 5 Suppl 1:S2-8. (2004)
- Moore RY, Abrahamson EA, Van Den Pol A. The hypocretin neuron system: an arousal system in the human brain. *Arch Ital Biol*. 139(3), 195-205. (2001)

- Moriguchi T, Sakurai T, Nambu T, Yanagisawa M, Goto K. Neurons containing orexin in the lateral hypothalamic area of the adult rat brain are activated by insulin-induced acute hypoglycemia. *Neurosci Lett.* 264(1-3), 101-4 (1999)
- Muroya S, Uramura K, Sakurai T, Takigawa M, Yada T. Lowering glucose concentrations increases cytosolic Ca²⁺ in orexin neurons of the rat lateral hypothalamus. *Neurosci Lett.* 309(3), 165-8 (2001)
- Nakamura T, Uramura K, Nambu T, Yada T, Goto K, Yanagisawa M, Sakurai T. Orexin-induced hyperlocomotion and stereotypy are mediated by the dopaminergic system. *Brain Res.* 873(1), 181-7. (2000)
- Nambu T, Sakurai T, Mizukami K, Hosoya Y, Yanagisawa M, Goto K. Distribution of orexin neurons in the adult rat brain. *Brain Res.* 827(1-2),243-60. (1999)
- Niedermeyer E: The normal EEG of the waking adult. In: Niedermeyer E, Lopes da Silva F: *Electroencephalography.* 4. Aufl., 149-73, Williams & Wilkins, Baltimore. (1998a)
- Niedermeyer E: Sleep and EEG. In: Niedermeyer E, Lopes da Silva F: *Electroencephalography.* 4. Aufl., 174-88, Williams & Wilkins, Baltimore. (1998b)
- Nishino S, Mignot E. Article reviewed: Plasma orexin A is lower in patients with narcolepsy. *Sleep Med.* 3, 377-378 (2002)
- Peyron C, Tighe DK, van den Pol AN, de Lecea L, Heller HC, Sutcliffe JG, Kilduff TS. Neurons containing hypocretin (orexin) project to multiple neuronal systems. *J Neurosci.* 18(23), 9996-10015. (1998)
- Ramsey JJ, Kemnitz JW, Newton W, Hagopian K, Patterson TA, Swick AG. Food intake in rhesus monkeys following central administration of orexins. *Regul Pept.* 124(1-3), 209-14. (2005)
- Rodgers RJ, Halford JC, Nunes de Souza RL, Canto de Souza AL, Piper DC, Arch JR, Blundell JE. Dose-response effects of orexin A on food intake and the behavioural satiety sequence in rats. *Regul Pept.* 96(1-2), 71-84. (2000)
- Russell SH, Small CJ, Kennedy AR, Stanley SA, Seth A, Murphy KG, Taheri S, Ghatei MA, Bloom SR. Orexin A interactions in the hypothalamo-pituitary gonadal axis. *Endocrinology* 142, 5294-5302 (2001)
- Sadowski B, Longo VG. Electroencephalographic and behavioural correlates of an instrumental reward conditioned response in rabbits. A physiological and pharmacological study. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* 14, 465-76 (1962)
- Sakane T, Akizuki M, Yamashita S, Nadai T, Hashida M, Sezaki H. 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 (Tokyo).* 39(9), 2456-8. (1991)
- Sakane T, Akizuki M, Yamashita S, Sezaki H, Nadai T. Direct drug transport from the rat nasal cavity to the cerebrospinal fluid: the relation to the dissociation of the drug. *J Pharm Pharmacol.* 46(5), 378-9. (1994)

- Sakane T, Akizuki M, Taki Y, Yamashita S, Sezaki H, Nadai T. Direct drug transport from the rat nasal cavity to the cerebrospinal fluid: the relation to the molecular weight of drugs. *J Pharm Pharmacol.* 47(5), 379-81. (1995)
- Sakurai T, Amemiya A, Ishii M, Matsuzaki I, Chemelli RM, Tanaka H, Williams SC, Richardson JA, Kozlowski GP, Wilson S, Arch JR, Buckingham RE, Haynes AC, Carr SA, Annan RS, McNulty DE, Liu WS, Terrett JA, Elshourbagy NA, Bergsma DJ, Yanagisawa M. Orexins and orexin receptors: a family of hypothalamic neuropeptides and G protein-coupled receptors that regulate feeding behavior. *Cell.* 92(5), 573-585 (1998)
- Sakurai T. Roles of orexins in regulation of feeding and wakefulness. *Neuroreport* 13, 987-995 (2002a)
- Sakurai T. Roles of orexins in the regulation of feeding and arousal. *Sleep Med.* 3, 3-9 (2002b)
- Salomon RM, Ripley B, Kennedy JS, Johnson B, Schmidt D, Zeitzer JM, Nishino S, Mignot E. Diurnal variation of cerebrospinal fluid hypocretin-1 (Orexin A) levels in control and depressed subjects. *Biol Psychiatry.* 54(2), 96-104. (2003)
- Samson WK, Resch ZT. The hypocretin/orexin story. *Trends Endocrinol Metab.* 1, 257-262 (2000)
- Sartin JL, Dyer C, Matteri R, Buxton D, Buonomo F, Shores M, Baker J, Osborne JA, Braden T, Steele B. Effect of intracerebroventricular orexin B on food intake in sheep. *J Anim Sci.* 79, 1573-1577 (2001)
- Schmitt B, Molle M, Marshall L, Born J. Scalp recorded direct current potential shifts associated with quenching thirst in humans. *Psychophysiology* 37, 766-776 (2000)
- Schuld A, Hebebrand J, Geller F, Pollmacher T. Increased body-mass index in patients with narcolepsy. *Lancet.* 355(9211), 1274-5. (2000)
- Seeley RJ, Woods SC. Monitoring of stored and available fuel by the CNS: implications for obesity. *Nat Rev Neurosci.* 4(11), 901-9. (2003)
- Shirasaka T, Nakazato M, Matsukura S, Takasaki M, Kannan H. Sympathetic and cardiovascular actions of orexins in conscious rats. *Am J Physiol.* 277(6 Pt 2), R1780-5 (1999)
- Sunter D, Morgan I, Edwards CM, Dakin CL, Murphy KG, Gardiner J, Taheri S, Rayes E, Bloom SR. Orexins: effects on behavior and localisation of orexin receptor 2 messenger ribonucleic acid in the rat brainstem. *Brain Res.* 907(1-2), 27-34. (2001)
- Sutcliffe JG, de Lecea L. The hypocretins: setting the arousal threshold. *Nat Rev Neurosci.* 3(5), 339-349. (2002)
- Sweet DC, Levine AS, Billington CJ, Kotz CM. Feeding response to central orexins. *Brain Res.* 821(2), 535-8. (1999)

- Thorne RG, Emory CR, Ala TA, Frey WH 2nd. Quantitative analysis of the olfactory pathway for drug delivery to the brain. *Brain Res.* 692(1-2), 278-82. (1995)
- Trivedi P, Yu H, MacNeil DJ, Van der Ploeg LH, Guan XM. Distribution of orexin receptor mRNA in the rat brain. *FEBS Lett.* 438(1-2), 71-5. (1998) Erratum in: *FEBS Lett* 8;442(1), 122. (1999)
- van den Pol AN, Gao XB, Obrietan K, Kilduff TS, Belousov AB. Presynaptic and postsynaptic actions and modulation of neuroendocrine neurons by a new hypothalamic peptide, hypocretin/orexin. *J Neurosci.* 18(19), 7962-71 (1998)
- van den Pol AN. Hypothalamic hypocretin (orexin): robust innervation of the spinal cord. *J Neurosci.* 19(8), 3171-82. (1999)
- Woertz M, Pfurtscheller G, Klimesch W. Alpha power dependent light stimulation: dynamics of event-related (de)synchronization in human electroencephalogram. *Brain Res Cogn Brain Res.* 20(2), 256-60. (2004)
- Yamada H, Okumura T, Motomura W, Kobayashi Y, Kohgo Y. Inhibition of food intake by central injection of anti-orexin antibody in fasted rats. *Biochem Biophys Res Commun.* 267(2), 527-31. (2000)
- Yamanaka A, Kunii K, Nambu T, Tsujino N, Sakai A, Matsuzaki I, Miwa Y, Goto K, Sakurai T. Orexin-induced food intake involves neuropeptide Y pathway. *Brain Res.* 859(2), 404-9 (2000)
- Yamanaka A, Tsujino N, Funahashi H, Honda K, Guan JL, Wang QP, Tominaga M, Goto K, Shioda S, Sakurai T. Orexins activate histaminergic neurons via the orexin 2 receptor. *Biochem Biophys Res Commun.* 290(4), 1237-45. (2002)
- Young JK, Wu M, Manaye KF, Kc P, Allard JS, Mack SO, Haxhiu MA. Orexin stimulates breathing via medullary and spinal pathways. *J Appl Physiol.* 98(4), 1387-95. (2005)
- Zeitler JM, Buckmaster CL, Parker KJ, Hauck CM, Lyons DM, Mignot E. Circadian and homeostatic regulation of hypocretin in a primate model: implications for the consolidation of wakefulness. *J Neurosci.* 23(8), 3555-60. (2003)
- Zeitler JM, Buckmaster CL, Lyons DM, Mignot E. Locomotor-dependent and -independent components to hypocretin-1 (orexin A) regulation in sleep-wake consolidating monkeys. *J Physiol.* 557(Pt 3), 1045-53. (2004)
- Zhang W, Fukuda Y, Kuwaki T. Respiratory and cardiovascular actions of orexin A in mice. *Neurosci Lett.* 385(2), 131-6. (2005)

7. Anhang

Anhang A:

Informationen für Probanden

In diesem Experiment untersuchen wir Indikatoren von Hunger und Sättigung im EEG. Ein Experiment nimmt ungefähr 3 Stunden in Anspruch.

Sind Sie Raucher? Falls Sie mehr als 3 Zigaretten am Tag rauchen, können Sie wegen der Länge der Untersuchung leider nicht teilnehmen.

Sie werden an 2 verschiedenen Tagen untersucht. Vor diesen Untersuchungen dürfen Sie jeweils ab 19.00 Uhr abends nichts mehr essen und nur noch ungesüßten Kräutertee oder Mineralwasser trinken. Am nächsten Morgen erwarten wir Sie um 11.00 Uhr in unserem Labor. In den Nächten vor den Testtagen sollten Sie ausreichend geschlafen haben, d.h. keine Schichtarbeit oder Nachtwachen absolviert haben. Der Versuch selbst dauert ungefähr zwei bis drei Stunden.

Sie bekommen bei diesem Experiment ein EEG abgeleitet. An der Kopfhaut werden 11 Elektroden mit Kollodium befestigt. Vor allem, um die Übergangswiderstände der Elektroden zu minimieren, wird mit Hilfe einer sterilen Einwegnadel die oberste Schicht der Kopfhaut leicht angeritzt. Es gibt einen winzigen Kratzer, der aber nicht schmerzhaft ist.

Darüber hinaus wird Ihnen bei dieser Untersuchung Blut abgenommen. Die Risiken der Blutentnahme unterscheiden sich nicht von denen der Routine-Blutentnahme: kleine Blutergüsse, Fehlpunktionen mit Verletzungen von Nerven und Gefäßen (mit Bildung von Blutergüssen, Venenentzündung, ggf. Armvenenthrombose). Diese Nebenwirkungen treten aber bei sachgerechter Durchführung extrem selten auf.

Ihnen wird bei diesem Versuch das körpereigene Orexin A in Form eines Nasensprays verabreicht. Orexin A ist ein Botenstoff im Zentralnervensystem; es wird überwiegend im menschlichen Hirn produziert. Aus Tierexperimenten ist bekannt, dass Orexin A eine Rolle im Energiehaushalt und bei der Schlafregulation des Organismus spielt. Bei der intranasalen Gabe und aufgrund der verwendeten Menge gehen wir davon aus, dass nur ein geringer Teil der verabreichten Substanz ins Blut gelangt und deshalb keine peripheren Nebenwirkungen auftreten. Bei entsprechender Allergieneigung können jedoch Überempfindlichkeitsreaktionen bis hin zu Atemnot und Bewusstlosigkeit auftreten. Es ist nicht zu erwarten, dass sich bei der hier gewählten Dosis andere Risiken realisieren.

Für die Teilnahme an dieser Untersuchung erhalten Sie 20 Euro pro Sitzung, d.h. insgesamt 40 Euro.

Für die Versuchsteilnehmer wurde eine allgemeine Probandenhaftpflichtversicherung abgeschlossen. Die während der Studie von Ihnen erhobenen Daten werden anonymisiert weiterverwendet.

Anhang B:

Einverständniserklärung

Ich nehme freiwillig und gegen Bezahlung von 40 Euro an einer Studie teil, welche die Wirkung von Orexin A, das als Nasenspray eingenommen wird, auf elektrokortikale Parameter untersucht.

Ich wurde über den Inhalt, die Vorgehensweise und die Risiken der Studie informiert. Auch eine Kopie der Probandeninformationen habe ich erhalten. Meine Fragen wurden ausreichend und verständlich beantwortet. Ich hatte ausreichend Zeit, mich gegen die Teilnahme an der Studie zu entscheiden und willige hiermit in die Teilnahme ein.

Mir ist bekannt, dass ich jederzeit ohne Angabe von Gründen und ohne persönliche Nachteile vom Versuch zurücktreten kann und für die Teilnahme anteilmäßig bezahlt werde.

Ich leide, soweit mir bekannt ist, nicht an Krankheiten des Herzens, der Lunge, des Magen-/Darmtrakts, der endokrinen Organe oder psychiatrischen Krankheiten.

Die Versuchsbedingungen habe ich eingehalten.
Ich kann das Experiment jederzeit abbrechen.

Lübeck, den Unterschrift

Anhang C: Ethikantrag

Die im Rahmen dieser Studie durchgeführten Experimente wurde von der Ethikkommission der Universität zu Lübeck mit Bescheid vom 12.11.2002 bewilligt (Aktenzeichen: 02 – 103).

Anhang D: Bioplar-Skala

Name: _____ Proband Nr. _____ Datum: _____

Liebe/r Versuchsteilnehmer/in,

im folgenden finden Sie eine Reihe von Adjektivpaaren, die jeweils zwei Pole einer Zustandsbeschreibung bilden. Bitte kreuzen Sie jeweils dasjenige der fünf Kästchen zwischen den Adjektivpaaren an, das Ihrem augenblicklichen Zustand am nächsten kommt. 2 und 1 stehen für eine starke oder mittelstarke Ausprägung des danebenstehenden Pols, 0 für eine gleich starke Ausprägung beider Pole.

	2	1	0	1	2	
aktiviert						träge
neugierig						gelangweilt
kritisch						anpassend
schläfrig						wach
ausgeglichen						nervös
heißhungrig						vollgeessen
faul						unternehmungslustig
verkrampft						entspannt
erhöhter Speichelfluss						Mund trocken
aktiv						passiv
satt						hungrig
schwitzend						fröstelnd
zufrieden						unzufrieden
ruhig						lebhaft
vertrauend						misstrauend
matt						frisch
kalt						warm
konzentriert						eher abgelenkt
zurückhaltend						forsch
interessiert						desinteressiert

8. Danksagung

Mein erster Dank gilt den Mitgliedern des Instituts für Neuroendokrinologie der Universität zu Lübeck für die gute Arbeitsatmosphäre, allen voran meinem Doktorvater, Herrn Prof. Dr. rer. soc. Jan Born für die Betreuung meiner Doktorarbeit. Ganz besonders bedanken möchte ich mich bei meinem persönlichen Betreuer Herrn Dr. Manfred Hallschmid für den fabelhaften Beistand über all die Jahre hinweg. Ihm habe ich die Aufgabenstellung dieser Arbeit, die technische Organisation der EEG-Versuche, die statistische Auswertung meiner Daten und tatkräftige Unterstützung meiner wissenschaftlichen Arbeit und Recherchen zu verdanken. Ein besonderer, herzlicher Dank an meine verehrte Wegbegleiterin und Kollegin Barbara Will für emotionalen Beistand und geduldiges Korrekturlesen.

Danke an meine Probanden, die ich hier nicht namentlich nennen darf.

Zum Schluss möchte ich mich bei meiner Familie und Angehörigen bedanken. Sie haben mir das Medizinstudium überhaupt erst ermöglicht und mich während meines Studiums finanziell und ideell unterstützt und begleitet.

Diese Arbeit widme ich meinem Vater Klaus-Dieter und meiner Mutter Dr. Ursula Haase.

9. Lebenslauf

Zur Person: - Name: Kilian Haase
 - Geburtsdatum: 06.08.1977
 - Geburtsort: Bamberg
 - Familienstand: ledig

Schulbildung:

1983 - 1985 : Grundschule Deutsche Schule Madrid/Spanien
1985 - 1987 : Grundschule Rothenburg o. d. T.
1987 - 1990 : Reichstadtgymnasium Rothenburg o. d. T.
1990 - 1997 : FLSH Schloss Gaibach
27.06.1997 : Allgemeine Hochschulreife

Studienvorbereitung:

1997-1998 : Zivildienst, Orthopädische Fachklinik, Düsseldorf
 Abteilung: Anästhesie / OP
1998-1999 : - medizinisches Vorsemeester, Institut für Medizin
 und Biologie, Köln
 - Ausbildung zur Pflegehilfe bei den Maltesern,
 Würzburg
 - Praktikum an der chirurgischen Abteilung,
 Geomed-Klinik, Gerolzhofen

Hochschulstudium:

WS 1999 : Studium der Medizin, Semmelweis Universität Budapest
WS 2001 : Ärztl. Vorprüfung, Julius-Maximilians Universität Würzburg
WS 2002 : 1. Teil Ärztl. Prüfung, Medizinischen Universität zu Lübeck
WS 2004 : 2. Teil Ärztl. Prüfung
16.11.2005 : 3. Teil Ärztl. Prüfung;

Zeitraum der Dissertation: Oktober 2002 – Januar 2006