

Aus der Klinik für Neurologie
der Universität zu Lübeck
Direktor: Prof. Dr. Thomas F. Münte

**Effekte von mehrwöchiger transkutaner
Vagusnervstimulation auf den Fett- und
Glukosestoffwechsel von adipösen Männern**

Inauguraldissertation
zur
Erlangung der Doktorwürde
der Universität zu Lübeck
- Aus der Sektion Medizin –

vorgelegt von
Nick Blümel
aus Bielefeld
Lübeck 2021

1. Berichterstatter: Prof. Dr. med. Thomas Münte

2. Berichterstatter: Prof. Dr. med. Markus Meier

Tag der mündlichen Prüfung: 26.1.2022

Zum Druck genehmigt, Lübeck, den 26.1.2022

-Promotionskommission der Sektion Medizin-

Inhaltsverzeichnis

Inhalt

ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS	
1. EINLEITUNG.....	1
1.1 Der Vagusnerv.....	1
1.2 Vagusnervstimulation	3
1.2.1 Invasive Vagusnervstimulation	4
1.2.2 Transkutane Vagusnervstimulation	4
1.3 Die Rolle des Vagusnervs im Metabolismus	5
1.3.1 Die Rolle des Vagusnervs im Glukosestoffwechsel	5
1.3.2 Wirkung von Inkretinen – am Beispiel von GLP-1	7
1.3.3 Interaktion von GLP-1 und Vagusnerv	8
1.3.4 Die Rolle des Vagusnervs im Fettstoffwechsel.....	9
1.3.5 Interaktion von Leptin und Vagusnerv.....	10
1.4 Fragestellung und Zielsetzung	12
2. MATERIAL UND METHODEN	14
2.1 Probanden	14
2.2 Studiendesign	15
2.3 Versuchsablauf	15
2.4 Darstellung der Einzeluntersuchungen.....	18
2.4.1 Die Vagusnervstimulation	18
2.4.2 Körpergewicht und Bioimpedanzanalyse.....	19
2.4.3 Die indirekte Kalorimetrie	20
2.4.4 Blutentnahmen	22
2.4.5 Fragebögen	25
2.4.6 Hedonisches Essverhalten / Snacktest.....	26
2.5 Statistische Methoden	27

3. ERGEBNISSE	28
3.1 Vagusnervstimulation	28
3.2 Körpergewicht und Körperzusammensetzung	28
3.3 Vitalparameter	29
3.4 Kalorimetrie	31
3.5 Effekte auf den Glukosestoffwechsel	31
3.5.1 GLP-1	35
3.5.2 Hormonelle Gegenregulation.....	37
3.5.3 Ghrelin.....	38
3.6 Effekte auf den Fettstoffwechsel	40
3.7 Fragebögen	43
3.8 Hedonisches Essverhalten / Snacktest	44
4. DISKUSSION	45
4.1 Einordnung der Ergebnisse in aktuelle Literatur	47
4.1.1 Effekte auf den Glukosestoffwechsel.....	47
4.1.2 Effekte auf GLP-1.....	49
4.1.3 Effekte auf den Fettstoffwechsel	50
4.2 Grenzen des Studiendesigns	52
4.3 Ausblick	54
5. ZUSAMMENFASSUNG	55
6. LITERATURVERZEICHNIS	56
7. ANHANG	62
7.1 Ethikvotum	62
7.2 Versuchsprotokoll	63

7.3 Fragebögen	66
8 ABBILDUNGSVERZEICHNIS.....	70
9 TABELLENVERZEICHNIS.....	70
10 DANKSAGUNG	71

Abkürzungsverzeichnis

ACTH	<i>Adrenocorticotropes Hormon</i>
ANOVA	<i>Analysis of Variance = Varianzanalyse</i>
ATP	<i>Adenosintriphosphat</i>
BCM	<i>Körperzellmasse</i>
BIA	<i>bioelektrische Impedanzanalyse</i>
BMI	<i>Body-Maß-Index</i>
DPP-IV	<i>Dipeptidylpeptidase 4</i>
ECM	<i>extrazelluläre Masse</i>
fMRT	<i>funktionelle Magnetresonanztomografie</i>
GLP-1	<i>Glucagon-like Peptid 1 = glukagon-ähnliches Peptid 1</i>
HDL	<i>High-density Lipoprotein = Lipoprotein hoher Dichte</i>
HOMA-IR	<i>Homeostasis Model Assessment - Insulinresistenz</i>
LBM	<i>Magermasse</i>
LDL	<i>Low-density Lipoprotein = Lipoprotein niederer Dichte</i>
MDBF	<i>mehrdimensionaler Befindlichkeitsfragebogen</i>
NTS	<i>Nucleus tractus solitarii</i>
PET	<i>Positronen-Emissions-Tomografie</i>
REE	<i>Ruheenergieverbrauch</i>
RQ	<i>respiratorischer Quotient</i>
SRS	<i>Symptom-Rating-Skala</i>
tVNS	<i>transkutane Vagusnervstimulation</i>
VAN	<i>vagale afferente Neurone</i>
VAS	<i>Visuelle Analogskala</i>
VNS	<i>Vagusnervstimulation</i>
ZNS	<i>Zentralnervensystem</i>

1. Einleitung

Ein weltweites Gesundheitsproblem ist die zunehmende Prävalenz des krankhaften Übergewichts, der sogenannten Adipositas, und den hiermit einhergehenden weiteren metabolischen Erkrankungen (Engin 2017; Jaacks et al. 2019). Hiermit assoziiert sind nicht nur eine individuell erhöhte Mortalität und Morbidität, sondern auch das Risiko für viele Folgeerkrankungen, wie z.B. kardiovaskuläre Erkrankungen, wodurch eine hohe Belastung für die weltweiten Gesundheitssysteme entsteht (Tremmel et al. 2017).

Trotz der hohen Prävalenz und der gesundheitlichen Auswirkungen der Adipositas gibt es bisher wenige langfristige Therapiekonzepte. Die bariatrische Chirurgie ist eine wirkungsvolle Option zur dauerhaften Behandlung der Adipositas, allerdings kann sie aufgrund der hiermit verbundenen gesundheitlichen Risiken und hohen Kosten nicht bei allen Patienten eingesetzt werden (Dyaczyński et al. 2018). Deshalb erscheint die Entwicklung weniger invasiver Therapieverfahren umso wichtiger.

Die Regulationsmechanismen der Gewichtshomöostase und der Genese von Adipositas sind vielfältig und beinhalten ein Zusammenspiel diverser endokriner, genetischer und sozioökonomischer Faktoren. Darüber hinaus sind auch erlernte Verhaltensweisen von Belang (Hruby und Hu 2015; Qasim et al. 2018).

1.1 Der Vagusnerv

Eine wichtige Rolle in der Regulation der menschlichen Energiehomöostase übernimmt der Vagusnerv. Er ist der X. Hirnnerv und versorgt die obere Körperhälfte und einen Großteil der thorakalen und abdominalen Organe parasymphatisch. Es handelt sich um einen gemischten Nerv, der verschiedene Fasertypen und Qualitäten beinhaltet. Er besteht aus einem größeren Anteil sensorisch-afferenter Fasern, die Signale aus der Peripherie an das zentrale Nervensystem (ZNS) leiten, und zu einem geringeren Anteil aus motorisch-efferenten Fasern, die unter anderem die Sekretion und Motorik des Magen-Darmtrakts modulieren. Er steht im Zentrum der neuronalen Regulation des Magen-Darmtrakts und nimmt Einfluss auf die Verdauung und Resorption von Nahrung und beeinflusst somit die gesamte Energiebilanz des Körpers.

Der Vagusnerv entspringt lateral aus der Medulla oblongata. Von dort aus zieht er durch die Schädelbasis mit dem IX. und XI. Hirnnerv durch das Foramen jugulare. Danach bildet er ein somatosensibles Ganglion superius und ein viszerosensibles Ganglion inferius. Der weitere Verlauf des Nervs kann in einen Kopf-, einen Hals-, einen Brust- und einen Bauchteil aufgeteilt werden. Der Kopfteil gibt einen Ramus meningeus zu den Hirnhäuten der hinteren Schädelgrube ab sowie einen Ramus auricularis, der durch den Canaliculus mastoideus im Processus mastoideus zur Haut des äußeren Gehörgangs verläuft und dort den Gehörgang und den inneren Bereich der Ohrmuschel, die sogenannte Cymba conchae, sensibel innerviert (Berthoud und Neuhuber 2000).

Im Halsbereich zieht der Nerv in der Gefäßnervenscheide gemeinsam mit der Arteria carotis communis und der Vena jugularis interna nach kaudal und tritt rechts zwischen A. subclavia und V. brachiocephalica, links zwischen Aortenbogen und V. brachiocephalica in den Thorax ein. Hier besteht er nur noch aus parasymphatischen und einigen viszerosensiblen Fasern. Danach vermischen sich die Fasern der Nn. vagi beider Seiten und bilden jeweils vor und hinter dem Ösophagus einen Truncus vagalis anterior (90 % Fasern aus dem linken Vagus) und einen Truncus vagalis posterior (90 % Fasern aus dem rechten Vagus). Nach dem Durchtritt der Trunci vagales durch den Hiatus oesophageus in das Abdomen ziehen sie zu den Organen des Oberbauchs und dem Gastrointestinaltrakt. In neuroanatomischen Studien konnte gezeigt werden, dass der Vagusnerv den Magen, das Duodenum, Jejunum, Ileum, Coecum und Colon innerviert. Des Weiteren wird die Leber von einem Ast, der aus dem ventralen Truncus hervorgeht, versorgt (Berthoud und Neuhuber 2000). Der Versorgungsbereich des N. vagus endet dann im Bereich der linken Kolonflexur, dem sogenannten Cannon-Böhm-Punkt (Trepel 2017).

Der viszerosensible Anteil des Nervus vagus sitzt mit seinen Perikaryen im Ganglion inferius und projiziert unter anderem Informationen über die Sensibilität des Gastrointestinaltrakts mit seinen zentralen Fortsätzen in den Nucleus tractus solitarii (NTS). Die somatosensiblen Wahrnehmungen von peripher aus dem äußeren Gehörgang und einem Teil der Ohrmuschel werden auf den Nucleus spinalis nervi trigemini projiziert, wobei die Perikaryen wiederum im Ganglion superius liegen. Die allgemein-viszeromotorischen Fasern entspringen im Nucleus dorsalis nervi vagi und bis auf wenige Ausnahmen sind sie es, welche alle Organe des Körpers parasymphatisch bis zur linken Kolonflexur innervieren.

Die speziell efferenten Fasern, welche die Schlund- und Kehlkopfmuskulatur innervieren, entstammen dem Nucleus ambiguus in der Medulla oblongata (Norgren und Smith 1994).

1.2 Vagusnervstimulation

Aufgrund seiner vielfältigen oben genannten Funktionen und Innervationsbreite bietet eine Beeinflussung des Vagusnervs eine therapeutische Option für die Behandlung verschiedener Erkrankungen. So wird die Vagusnervstimulation bereits seit einigen Jahren erfolgreich zur Behandlung von Depressionen (Hotujac und Kuzman 2008) und Epilepsie (González et al. 2019) eingesetzt.

In einer retrospektiven Studie an 31 Patienten mit therapierefraktärer Epilepsie konnte gezeigt werden, dass es unter langzeitiger Vagusnervstimulation, neben einer Reduktion der Anfallshäufigkeit, teilweise zu einer ausgeprägten Gewichtsreduktion kam (Abubakr und Wambacq 2008). Im Rahmen einer weiteren Studie wurden 14 Patienten (8 weiblich, 6 männlich) mit invasiver Vagusnervstimulation am linken cervicalen Trunkus des Vagusnervs aufgrund einer schweren Depression behandelt. Es ließ sich eine graduelle Gewichtsabnahme über den Stimulationszeitraum beobachten. Interessanterweise fiel dieser Effekt besonders stark bei adipösen Patienten aus und verstärkte sich proportional zunehmend zum BMI, so dass besonders adipöse Patienten eine starke Gewichtsabnahme zeigten (Pardo et al. 2007). Allerdings gibt es auch entgegengesetzte Studienergebnisse, in welchen keine Gewichtsreduktion beobachtet werden konnte. So zeigte eine Nachuntersuchung an 205 Patienten, welche ebenfalls aufgrund einer schweren Depression mit invasiver Vagusnervstimulation behandelt wurden, dass nach einem Jahr keine signifikante Gewichtsänderung im Vergleich zum Ausgangsgewicht festzustellen war (Rush et al. 2005). Auch in einer weiteren retrospektiven Arbeit an 21 Patienten (13 männlich, 8 weiblich) wurde nach 2 Jahren invasiver Vagusnervstimulation als Epilepsiebehandlung keine signifikante Gewichtsreduktion im Verhältnis zum Ausgangswert festgestellt. Allerdings fand der initiale BMI hier keine Berücksichtigung in der Analyse der Daten (Koren und Holmes 2006).

1.2.1 Invasive Vagusnervstimulation

Eine Variante zur Beeinflussung des Vagusnervs stellt die abdominelle Modulation des Vagusnervs (vBloc) dar, wobei der Vagusnerv nicht durchtrennt wird, sondern mittels implantierter Elektroden intermittierend stimuliert und somit blockiert wird. Dieses Verfahren zeigte in mehreren Studien eine erfolgreiche Gewichtsreduktion bei stark übergewichtigen Probanden und eine Senkung des Cholesterins in dem Studienzeitraum von 2 Jahren (Camilleri et al. 2008; Apovian et al. 2017). Allerdings handelt es sich hierbei um ein invasives Verfahren, das einen chirurgischen Eingriff benötigt, mit allen damit einhergehenden Risiken. Ein weiteres Verfahren zur Vagusnervstimulation (VNS), das für die Behandlung von Depression und Epilepsie zugelassen ist, stellt die Implantation eines Vagusnervstimulators, ähnlich einem Herzschrittmacher, subkutan im Thoraxbereich, dar. Von diesem aus wird typischerweise der linke Vagusnerv im Halsbereich, in seinem Verlauf in der Gefäß- Nervenscheide der Arteria carotis und Vena jugularis, mit einer Elektrode umwickelt und dort stimuliert (Howland 2014). Auch hier ist ein chirurgischer Eingriff nötig und es gibt Berichte, dass die invasive Vagusnervstimulation mit potentiellen Nebenwirkungen, wie Arrhythmie und Dyspnoe, einhergehen kann (Asconapé et al. 1999).

1.2.2 Transkutane Vagusnervstimulation

Eine neuere Alternative zur Beeinflussung des Vagusnervs stellt die transkutane Anwendung von Reizstrom dar (tvNS). Dabei werden die multiplen Faserqualitäten des Vagusnervs genutzt und die sensorischen Afferenzen zu bestimmten Hautbereichen stimuliert, welche damit eine Aktivierung des gesamten Vagusnervs erzeugen. Damit wird kein chirurgischer Eingriff mehr benötigt, um eine Vagusnervstimulation durchzuführen, was eine risikoärmere und breitere Anwendung der Vagusnervstimulation ermöglicht. Die transkutane Stimulation kann an verschiedenen Stellen des Körpers geschehen, entweder am vom Vagusnerv innervierten Teil des äußeren Ohrs (Ramus auricularis nervi vagi) oder am Halsbereich (Ramus cervicalis nervi vagi). Dass die Afferenzen der Ohrmuschel auf die Vagusnervkerne projizieren und somit eine gezielte Stimulation des Nervs dort möglich ist, ließ sich mittels Injektion eines retrograden Markierungsstoffs schon 1984 bei Katzen nachweisen (Nomura und Mizuno 1984). Dass dies auch bei Menschen der Fall ist, konnte in einer funktionellen Magnetresonanztomografie (fMRT)-Studie an 12 gesunden

Probanden gezeigt werden. Die Probanden wurden jeweils am Ohrläppchen und im Bereich der Cymba conchae stimuliert und die Aktivität von Hirnarealen während der jeweiligen Stimulation im fMRT, durch Darstellung von Bereichen mit erhöhtem Blutfluss, untersucht. Es ließ sich zeigen, dass die Stimulation der Cymba conchae eine Aktivierung der dem Vagusnerv zugeordneten Kernbereiche des ZNS auslöst, wobei die Stimulation des Ohrläppchens dies nicht zur Folge hat. Dabei ließ sich nicht nur die zu erwartende Aktivierung des Nucleus spinalis nervi trigemini nachweisen, sondern die multipler Kernbereiche, insbesondere auch des ipsilateralen Nucleus tractus solitarii (NTS), der klassischerweise den viszerale Afferenzen zugeordnet wird, welche die Organe des Verdauungssystems innervieren (Frangos et al. 2015). Diese großflächige Aktivierung der Vaguskerne durch die Stimulation eines Hautastes bietet die Basis für den Einsatz der aurikulären tVNS als nichtinvasive Methode zur Modulation der parasympathischen Wirkung des Vagusnervs auf innere Organe und somit ggf. auf metabolische Prozesse.

In einer Übersichtsarbeit der 51 von 1996 bis 2017 publizierten Studien zur tVNS wurden diese auf mögliche Nebenwirkungen untersucht, wobei hauptsächlich milde Nebenwirkungen angegeben wurden. Dazu gehörten lokale Hautirritationen durch die Elektroden, Kopfschmerzen und Entzündungen der Nase und des Rachens. Von den 1.322 Probanden die in den Studien eingeschlossen wurden, brachen lediglich 35 Probanden die Studien aufgrund von Nebenwirkungen ab (Redgrave et al. 2018). Dies unterstreicht die Sicherheit der tVNS und macht sie zusammen mit der einfachen Anwendung zu einer breit einsetzbaren Alternative zur invasiven VNS.

1.3 Die Rolle des Vagusnervs im Metabolismus

Der Vagusnerv entspringt dem ZNS und interagiert aufgrund seines anatomischen Verlaufs mit vielen stoffwechselaktiven Organen. Dies ermöglicht eine Vielzahl von Interaktionen mit Stoffwechselprozessen, insbesondere im Glukose- und Fettstoffwechsel.

1.3.1 Die Rolle des Vagusnervs im Glukosestoffwechsel

Glukose ist der primäre Energielieferant des Körpers und wird sowohl mit der Nahrung aufgenommen, als auch aus verschiedenen Vorläufern vom Körper selbst synthetisiert. Im Zentrum der Regulation eines konstanten Blutzuckerspiegels steht das Pankreas und die

dort synthetisierten Hormone Insulin und Glukagon, welche den Blutzucker senken beziehungsweise steigern. Das ZNS regelt den „Sollwert“ der Blutglukose durch Änderungen in der Aktivität des Sympathikus und des Parasympathikus, in Abhängigkeit von der Gesamtenergiebilanz des Körpers. In Fastenphasen wird so ein niedrigerer Blutzuckerspiegel aufrechterhalten als in Zeiten mit ausreichendem oder überhöhtem Energieangebot.

Der Vagusnerv stimuliert die exokrine Insulinsekretion des Pankreas. So gibt es Studien, die zeigen konnten, dass eine Stimulation des Vagusnervs die Insulinausschüttung des Pankreas potenziert. Im Tierexperiment konnte schon 1967 am isolierten Hundepankreas ein Anstieg der Insulinkonzentration als Reaktion auf eine elektrische Stimulation des Vagusnervs gemessen werden. Diese verstärkte Freisetzung von Insulin bei einer Vagusnervstimulation ließ sich durch die Gabe von Atropin, das als kompetitiver Antagonist die parasympathische Wirkung des Vagusnervs aufhebt, unterdrücken. Auch eine chirurgische Vagotomie führte zu einem Abfall der Insulinkonzentration in der Portalvene (Frohman et al. 1967). Zusätzlich ließ sich, ebenfalls am isolierten Hundepankreas, eine Verstärkung der vagusnervabhängigen Insulinausschüttung messen, wenn die Blutglukosespiegel in den zuführenden Gefäßen des untersuchten Pankreas erhöht waren. Auch hier ließ sich eine Beendigung des Effekts durch Atropingabe beobachten. Zusätzlich wurde das Volumen des exokrinen Pankreassaftes gemessen, wobei sich ebenfalls eine Zunahme der Sekretionsleistung zeigen ließ (Bergman und Miller 1973). Zusammenfassend lässt sich feststellen, dass die Vagusnervstimulation, zumindest im Tiermodell, eine Erhöhung der endokrinen und exokrinen Aktivität des Pankreas bedingt.

In einer neueren Studie am Mausmodell wurde untersucht, ob der Vagusnerv zusätzlich auch eine Rolle in der Wahrnehmung der Insulinausschüttung spielt. Dabei könnte der Vagusnerv als Mediator dienen und die Wirkung von Insulin auf das ZNS ermöglichen. Es konnte mittels immunhistochemischer Färbung nachgewiesen werden, dass die Ganglien von isolierten afferenten Vagusnervfasern Insulinrezeptoren enthielten. Mittels Patch-Clamp-Technik, wobei ein Bereich der Membranoberfläche der afferenten Vagusnervzellen isoliert auf Veränderungen in der Durchlässigkeit für Ionen untersucht wurde, konnte zusätzlich gezeigt werden, dass die Präsenz von Insulin einen Ca^{2+} -Einstrom und somit die Depolarisation dieser afferenten Vagusfasern auslösen konnte. Insbesondere Fasern,

welche anatomisch dem Pankreas zuzuordnen waren, reagierten stark auf Insulin (Iwasaki et al. 2013). Eine Aktivierung des Vagusnervs durch die Anwesenheit bzw. Ausschüttung von Insulin in dessen Nähe lässt auf einen Rückkopplungsmechanismus zwischen Pankreas und ZNS schließen, was die Wichtigkeit des Vagusnervs als Mediator in der Aufrechterhaltung des physiologischen Gleichgewichts in der Energiebilanz des Körpers unterstreicht. Auch die Leber steht im Mittelpunkt des Glukosestoffwechsels, speichert sie doch unter anabolen Bedingungen Glukose in Form von Glykogen und gibt sie kontrolliert in katabolen Ernährungszuständen wieder ins Blut und somit an die peripheren Verbraucher ab. Sie wird durch den Vagusnerv afferent und efferent innerviert, was sich in einer Studie an Ratten nachweisen ließ. Hierzu wurde der axonale Transport eines Markierungsstoffes (Meerrettich Peroxidase), welcher vorher entweder in die Leber oder das Gallengangssystem injiziert oder auf die abgetrennten Nervenfasern selbst gegeben wurde, untersucht. Es ließ sich zeigen, dass beide Trunci vagales bei der Innervation der Leber beteiligt sind (Magni und Carobi 1983). In einer weiteren Studie ließ sich an Meerschweinchenlebern eine selektive Suppression der Aktivität von afferenten Fasern durch die Gabe von D-Glukose in die Portalvene zeigen. Die Gabe eines Analogons (2-Deoxy-D-Glukose) bewirkt jedoch das Gegenteil und erhöht die Entladungsrate der Vagusnervfasern. Dies scheint die Annahme zu unterstützen, dass der Vagusnerv eine Funktion in der Wahrnehmung von Nahrungsaufnahme hat und somit eine Rolle in der Glukosehomöostase spielt (Niijima 1984).

1.3.2 Wirkung von Inkretinen – am Beispiel von GLP-1

Bei Inkretinen handelt es sich um Hormone, die von spezialisierten Zellen des Gastrointestinaltrakts synthetisiert werden. Es handelt sich nach derzeitigem Wissensstand hauptsächlich um glukose-abhängiges insulinotropisches Polypeptid (GIP) aus K-Zellen des oberen Gastrointestinaltrakts und glukagon-ähnliches Peptid-1 (GLP-1) aus L-Zellen des unteren Gastrointestinaltrakts. Diese sind für den sogenannten „Inkretin-Effekt“ verantwortlich, welcher eine zwei- bis dreifach verstärkte Insulinausschüttung bei oraler Glukoseaufnahme im Vergleich zur Insulinausschüttung bei einer intravenös verabreichten, äquivalenten Menge Glukose beschreibt und schon 1979 beschrieben wurde (Creutzfeldt 1979).

Es sind auch eine Reihe von zusätzlichen biologischen Funktionen der Hormone beschrieben, die über den „Inkretin-Effekt“ hinausgehen. So verzögert GLP-1 die Entleerung des Magens und damit den postprandialen Anstieg der Blutglukosekonzentration. Die physiologische Halbwertszeit des Hormons liegt nur bei etwa 2 bis 3 Minuten im Blut, weshalb die Wirkung relativ kurzfristig ist. Die entwickelten GLP-1 Analoga wie Liraglutid wirken dagegen deutlich länger und bewirken eine Verstärkung der Insulinausschüttung und eine Reduktion der Glukagon-Produktion (Meier 2012). Die erste Verwendung fanden GLP-1-Rezeptor-Agonisten als medikamentöse Therapie für die Verbesserung der Blutzuckerkontrolle bei Menschen mit Diabetes mellitus Typ 2. In einem Review von 21 Studien zur Verwendung von GLP-1-Agonisten zur Behandlung von Typ-2-Diabetes zeigten diese eine gute Wirksamkeit, wobei hier eine Gewichtsreduktion als Nebeneffekt beobachtet werden konnte (Deacon et al. 2012).

Dieser gewichtsreduzierende Effekt von GLP-1 wurde in einer randomisierten, verblindeten und placebo-kontrollierten Studie an 20 jungen, gesunden Männern schon 1998 näher untersucht. Ihnen wurde ein GLP-1-Analogon, im Vergleich mit einer Placebo-Gruppe, infundiert und eine Verstärkung des Sättigungsgefühls bei gleichzeitiger Reduktion des Hungergefühls nach einer standardisierten Mahlzeit beobachtet. Auch die „ad libitum“-Nahrungsaufnahme war hier nach GLP-1-Gabe reduziert (Flint et al. 1998). Diese Untersuchungen konnten nachweisen, dass GLP-1 einen appetitreduzierenden Effekt besitzt und ein physiologischer Stimulus für den Stopp der Nahrungsaufnahme ist. Es folgten multiple Studien, welche die Möglichkeit der Verwendung von GLP-1-Analoga zur Reduktion von Nahrungsaufnahme und somit zur Behandlung von Adipositas untersuchten.

1.3.3 Interaktion von GLP-1 und Vagusnerv

Es ist bisher nicht abschließend geklärt, wie die Gewichtsreduktion durch GLP-1-Analoga vermittelt wird und ob dies durch eine Wirkung auf den Gastrointestinaltrakt, auf periphere Nerven oder direkt im ZNS stattfindet. Es scheint jedoch dem Vagusnerv eine besondere Rolle als Mediator zwischen peripherer Freisetzung des GLP-1 durch Nahrungsaufnahme aus den L- Zellen des Gastrointestinaltrakts und Veränderungen des Essverhaltens und der Sättigung zuzukommen. Ein Zusammenhang zwischen dem Vagusnerv und dem Hormon GLP-1 ist in der Literatur etabliert und besteht aus verschiedenen Interaktionen und

Innervationsgebieten. So innervieren vagale afferente Neurone (VAN) die Lamina propria der intestinalen Mukosa und weitere abdominale Organe (Berthoud und Neuhuber 2000). Die afferenten Vagusfasern besitzen multiple Rezeptoren, die gastrointestinale Signalmoleküle binden, unter anderem GLP-1. Die Freisetzung von GLP-1 nach Nahrungsaufnahme führt zu einer Aktivierung der VANS, welche wiederum höhere Zentren im ZNS aktivieren, insbesondere den Nucleus tractus solitarii und somit die neuronale Wirkung der gastrointestinale Signalmoleküle vermitteln (Nakabayashi et al. 1996; Bucinskaite et al. 2009). Auch zeigen Studien an vagotomierten Mäusen, dass die Sättigung und Kontrolle der Blutzuckerspiegel im Vergleich zu nicht vagotomierten Mäusen reduziert waren, was nahe legt, dass die zentralen GLP-1-vermittelten Effekte über den Vagusnerv realisiert werden (Krieger et al. 2015). Ein Knockout der GLP-1-Rezeptoren in vagalen Afferenzen führt in Mäusen zu einer verminderten Wirkung von GLP-1 und somit zu erhöhten postprandialen Blutzuckerspiegeln und gleichzeitig zu erhöhter Nahrungsaufnahme (Krieger et al. 2016).

1.3.4 Die Rolle des Vagusnervs im Fettstoffwechsel

Fett wird primär, in Form von Monoacylglycerinen und langkettigen freien Fettsäuren, durch die Nahrung aufgenommen und im Darm resorbiert. Von dort aus werden sie, in Form von Chylomikronen, über Lymphbahnen in die großen Venen des Thorax geleitet und gelangen so zur Leber, welche im Zentrum des Fettstoffwechsels steht. Dort wird aus Triacylglycerinen und Cholesterin VLDL (very low density Lipoprotein) und LDL (low density Lipoprotein) synthetisiert, welches dann über die Blutbahn in die Peripherie exportiert und dort aufgenommen wird.

Schon in einer experimentellen Studie an Ratten konnte 1985 ein deutlicher Zusammenhang von Vagusnervaktivität und Cholesterinbiosynthese und Verwertung gezeigt werden. Es wurden gesunde Tiere vagotomiert, d.h. der Vagusnerv wurde chirurgisch durchtrennt, und diese mit einer jeweiligen Gruppe aus sham-operierten Tieren verglichen. Es zeigte sich bei gesunden, vagotomierten Ratten eine erhöhte Aktivität der HMG-CoA Reduktase und der Acyl-CoA-Cholesterin-Acyltransferase, kurz ACAT, beides Enzyme, die Schlüsselrollen im hepatischen Fettstoffwechsel erfüllen. Diese erhöhte Aktivität resultierte in einer verstärkten Neusynthese von Cholesterin und Speicherung. Die Aktivität des geschwindigkeitsbestimmenden Enzyms der Gallensäuresynthese und somit

der Ausscheidung von Cholesterin, Cholesterin-7-alpha-Hydroxylase, war hingegen reduziert. (Scott und Tomkin 1985). In einer weiteren Studie wurde Ratten ein Vagusnervstimulator implantiert und eine Stimulation des Nervs über 42 Tage durchgeführt. Den Ratten wurde während des Versuchs eine hochkalorische Diät gefüttert. Darunter kam es, neben einer signifikanten Gewichtsreduktion und Reduktion der Futteraufnahme, zu einer Reduktion der Konzentration von Gesamtcholesterin und Triglyzeriden im Plasma im Vergleich zu den Ausgangswerten (Gil et al. 2012). In einer Nachuntersuchung einer randomisierten, kontrollierten Studie mit übergewichtigen Probanden, bei denen eine chirurgische Vagusblockade durchgeführt wurde, ließ sich ebenfalls, neben einer Gewichtsreduktion, bei einem Teil der Probanden eine signifikante Reduktion in der LDL und Triglyzerid Konzentration nach 2 Jahren beobachten (Apovian et al. 2017).

1.3.5 Interaktion von Leptin und Vagusnerv

Bei Leptin handelt es sich um ein Hormon, welches im weißen und braunen Fettgewebe von Säugetieren und somit auch beim Menschen produziert wird (Zhang et al. 1994). Die im Blut zirkulierende Menge an Leptin korreliert sehr gut mit der absolut vorhandenen Menge an Körperfett in einem Individuum und das sowohl bei normal- als auch übergewichtigen Probanden. Bei Gewichtsabnahme reduziert sich der Leptinspiegel im Blut entsprechend (Maffei et al. 1995). Das Hormon bindet im ZNS an Kerngruppen des Hypothalamus, insbesondere den Nucleus arcuatus (Baskin et al. 1999). Das Binden von Leptin an diese Kerngruppen unterdrückt die Produktion der dort gebildeten anabolischen Botenstoffe wie das Neuropeptid NPY, agouti-verwandtes Peptid und γ -Aminobuttersäure. Von diesen Botenstoffen ist bekannt, dass sie Hunger auslösen bzw. verstärken und ihre Abwesenheit in Mäusen zum Verhungern dieser führte (Wu et al. 2009). Leptin supprimiert einerseits die Expression der oben genannten anabolischen Peptide und andererseits stimuliert es die Bildung von Proopiomelanocortin, welches in melanozyten-stimulierendes Hormon und β -Endorphin gespalten wird. Diese Hormone lösen unter anderem ein Sättigungsgefühl aus (Zhang und Chua 2017).

Leptin scheint außerdem eine entscheidende Rolle in der Aufrechterhaltung der Homöostase des Glukose- und Fettstoffwechsels zu spielen. Dieser Zusammenhang ließ sich in einer Studie an 9 weiblichen Patientinnen, welche unter einer sogenannten

Lipodystrophie litten, zeigen. Dieses heterogene Krankheitsbild beschreibt eine partielle oder generalisierte Zerstörung von Fettgewebszellen, was ein angeborener oder erworbener Defekt sein kann. Hier wurden verschiedene von der Erkrankung Genesene eingeschlossen, wobei alle einen stark reduzierten Leptin-Ausgangswert aufwiesen. Begleitend zu der Erkrankung zeigten sich die Leptinspiegel stark erniedrigt und eine ausgeprägte Insulinresistenz, Hypertriglyzeridämie und Fettlebererkrankung waren festzustellen. Die Gabe von rekombinantem Leptin verbesserte die glykämische Situation und reduzierte gleichzeitig die Triglyzeridspiegel der Patientinnen (Oral et al. 2002).

Wie oben beschrieben, besitzen die afferenten Vagusfasern multiple Rezeptoren, die gastrointestinale Signalmoleküle binden, was zu einer Aktivierung der VANs führt, welche wiederum höhere Zentren im ZNS aktivieren und somit die neuronale Wirkung der gastrointestinalen Signalmoleküle vermitteln. Diese vagalen Afferenzen exprimieren auch Leptinrezeptoren, ebenso wie die Kernbereiche, wo die VANs im ZNS terminieren. In einer tierexperimentellen Studie ließ sich darstellen, dass die, durch Bindung von Leptin in gesunden Ratten ausgelöste Signalkaskade, in VAN unterbrochen wird, wenn diese mittels hochkalorischer Nahrung übergewichtig gefüttert werden. Dies zeigt, dass eine hochkalorische Ernährung, zumindest in Ratten, zu einer Leptin-Resistenz in VAN führt und somit zur Aufrechterhaltung von Übergewicht beitragen könnte (de Lartigue et al. 2011). In einer neuen Studie an Ratten, konnte mithilfe von immunhistochemischer Färbung der Leptinrezeptoren nachgewiesen werden, dass die Areale, die eine hohe Dichte an Leptinrezeptoren im ZNS aufweisen, insbesondere der Nucleus tractus solitarii, auch besonders dicht mit monosynaptischen VAN-Terminalen verschaltet sind. Die Bindung von Leptin erzeugte hier eine Verstärkung der stimulierenden Signalübertragung und der ausgelösten exzitatorischen postsynaptischen Potentiale bei hochfrequenter Vagusnervstimulation sowie eine Senkung der Schwelle, ab welcher niedrigfrequente Vagusnervstimulation ein exzitatorisches postsynaptische Potential auslösen konnte. Diese Untersuchungen suggerieren, dass Leptin eine wichtige Rolle in der Modulation der Signalübertragung der VAN hat, welche wiederum die, die Nahrungsaufnahme terminierenden, Signale aus dem Gastrointestinaltrakt ins ZNS übertragen (Neyens et al. 2020).

1.4 Fragestellung und Zielsetzung

Wie in den vorherigen Abschnitten beschrieben, zeigen diverse retrospektive Studien, dass die transkutane Vagusnervstimulation zu einer Gewichtsabnahme beim Menschen führen kann (Pardo et al. 2007; Abubakr und Wambacq 2008). Dabei sind diese Studienergebnisse im Hinblick auf Stimulationsort, Frequenz und Dauer sowie Probandenkollektiv sehr heterogen und daher nicht direkt miteinander vergleichbar. Es fehlen zudem prospektive, randomisierte, placebo-kontrollierte Langzeitstudien bei gesunden Probanden, in denen mögliche metabolische Effekte weitergehend untersucht werden. Vor dem Hintergrund einer Zunahme der Prävalenz von Adipositas und den hiermit einhergehenden metabolischen Erkrankungen scheint es dringend geboten, neue Ansatzpunkte zur Behandlung zu untersuchen (Engin 2017; Jaacks et al. 2019). Auch die weitere Aufklärung des komplexen und bisher nur unzureichend verstandenen Zusammenspiels von Hormonen, endokrinen Organen und dem ZNS via neuronaler Verschaltungen ist hierfür von Bedeutung.

Mit der Methode der transkutanen Vagusnervstimulation besteht die Möglichkeit einer nicht-invasiven Vagusnervbeeinflussung beim Menschen (Johnson und Wilson 2018), welche sicher ist und risikoarm eingesetzt werden kann (Redgrave et al. 2018). Diese Therapieform wird schon in multiplen Bereichen zur Therapie verschiedener Erkrankungen, wie Depression (Hotujac und Kuzman 2008) und Epilepsie (González et al. 2019), eingesetzt. In Anbetracht der multiplen möglichen metabolischen Effekte einer tVNS, wie die Wirkung auf Körpergewicht, Körperzusammensetzung, Energieumsatz, aber auch auf den Fett- und Glukosestoffwechsel und das Essverhalten, war es das Ziel dieser Studie, diese Parameter an einem gesunden Studienkollektiv in einem randomisierten, placebo-kontrollierten Versuchsdesign zu untersuchen. Da eine Gewichtsreduktion in Vorstudien insbesondere bei adipösen Patienten beschrieben wurde, entschieden wir uns hier zunächst zur Untersuchung adipöser, gesunder Männer.

Diese Studie untersuchte also den Effekt einer mehrwöchigen transkutanen Vagusnervstimulation auf den Glukose- und Fettstoffwechsel, diverse Hormone, das Körpergewicht und die Körperzusammensetzung, den Energiegrundumsatz und das Essverhalten bei gesunden, adipösen Männern.

Ziel war es, folgende Hypothesen detailliert zu untersuchen:

- Durch die mehrwöchige transkutane Vagusnervstimulation wird das Körpergewicht reduziert.
- Durch die mehrwöchige transkutane Vagusnervstimulation wird der Energiegrundumsatz erhöht.
- Durch die mehrwöchige transkutane Vagusnervstimulation wird die postprandiale Glukosekonzentration gesenkt.
- Durch die mehrwöchige transkutane Vagusnervstimulation wird die Blutkonzentration von GLP-1, Ghrelin und Leptin beeinflusst.
- Durch die mehrwöchige transkutane Vagusnervstimulation wird der Fettstoffwechsel verbessert.
- Durch die mehrwöchige transkutane Vagusnervstimulation wird das Essverhalten beeinflusst, also die aufgenommene Nahrungsmenge reduziert.

2. Material und Methoden

2.1 Probanden

An der Studie nahmen initial 40 übergewichtige ($\text{BMI} > 28 \text{ kg/m}^2$) Männer teil, wobei 34 Probanden die Studie abgeschlossen haben. 5 Probanden brachen die Studie im Verlauf ab, ein Proband musste aufgrund technischer Fehler bei der Durchführung ausgeschlossen werden. Die Probanden wurden vor Beginn der Studie in 2 Gruppen (Verum und Sham) randomisiert. Das Alter der Teilnehmer lag zwischen 18 – 45 Jahren (Mittelwert \pm Standardfehler: $31 \pm 5,8$ vs. $35 \pm 7,8$ Jahre, $p=0,11$) und der Ausgangs-BMI bei $34,5 \pm 6,5$ vs. $33,8 \pm 5,2 \text{ kg/m}^2$, $p=0,74$. Von den 34 Probanden, die in die Analyse eingeschlossen wurden, sind nicht alle Datensätze vollständig erhoben, sodass bei einigen Teilanalysen nur eine reduzierte Gruppengröße berücksichtigt werden konnte. Die reduzierte Gruppengröße wird deshalb im entsprechenden Abschnitt des Ergebnisteils angegeben.

Die Probanden wurden über öffentliche Aushänge, Rundmails und Zeitungsannoncen rekrutiert. Alle Teilnehmer waren psychisch und physisch gesund und nahmen zum Zeitpunkt der Studie keine Medikamente ein. Alle Probanden waren außerdem Rechtshänder, Nichtraucher und nicht im Schichtdienst tätig.

Bei allen Probanden wurde vor der Teilnahme eine allgemein-internistische Untersuchung mit ausführlicher Anamnese und körperlicher Untersuchung durchgeführt, ein EKG erstellt sowie eine Blutprobe entnommen, wobei die Analyse ein kleines Blutbild, Gerinnungsparameter, Leberenzymwerte, Nierenretentionsparameter, Elektrolyte, TSH-Wert, sowie die Glukose-, Cholesterin- und Triglyzeridkonzentration umfasste.

Es folgte eine mündliche und schriftliche Aufklärung der Probanden, wobei die in der Studie angewandten Methoden, die Risiken der Teilnahme und der Nervenstimulation sowie der fMRT-Messung erläutert wurden. Hiernach gaben alle Probanden eine schriftliche Einverständniserklärung ab. In diesem Rahmen erfolgte die Belehrung, dass 8 Wochen vor und nach den Versuchen keine Blutspende erfolgen sollte. Die Probanden durften ab 22:00 Uhr des Vorabends keine Nahrung oder zuckerhaltige Getränke sowie Kaffee und Alkohol zu sich nehmen. Spätestens um 22:30 Uhr des Vorabends sollten die Probanden zu Bett gehen und möglichst anstrengungsarm, das heißt mit Auto, Bus oder zu Fuß, zum Versuchsort kommen.

Nach Abschluss der Untersuchungen erhielten die Probanden jeweils eine Aufwandsentschädigung von 208 Euro.

Die Studie wurde durch die Ethikkommission der Universität zu Lübeck vor ihrer Durchführung genehmigt (Aktenzeichen 17-051, siehe Anhang 7.1).

2.2 Studiendesign

Es handelt sich um eine kontrollierte, randomisierte und einfach verblindete Studie. Insgesamt wurden 34 Probanden über einen Zeitraum von 5 Wochen (35 Tage) untersucht, wobei je 17 Probanden entweder der Verum- oder der Placebogruppe randomisiert zugeordnet wurden. Pro Proband fanden 2 Versuchstage statt, zwischen denen ein Zeitraum von 5 Wochen lag. In diesem führten die Probanden pro Tag eine 4-stündige Stimulation des jeweils gruppenspezifischen anatomischen Zielbereichs selbständig mittels Neurostimulator durch (Nemos, ®Cerbomed, Deutschland). Die Stimulationsdauer und -stärke wurde von den Probanden schriftlich dokumentiert und während der Versuchsdurchführung mittels telefonischer Abfrage mehrfach standardisiert kontrolliert. Die Studie wurde insgesamt von zwei Doktoranden betreut, wobei jeweils getrennte Themenbereiche betreut wurden. In dieser Arbeit werden die metabolischen Auswirkungen der tVNS beschrieben und es wird nicht weiter auf die neurologischen Untersuchungen, die am selben Tag erfolgten, eingegangen. Die Auswertung der fMRT-Untersuchungen erfolgt in einer gesonderten Publikation.

2.3 Versuchsablauf

Die Versuche wurden im Center of Brain, Behavior and Metabolism (CBBM) der Universität zu Lübeck im Zeitraum von Juli 2017 bis November 2018 durchgeführt.

Die folgende Zeitleiste bietet einen Überblick über die Tagesstruktur:

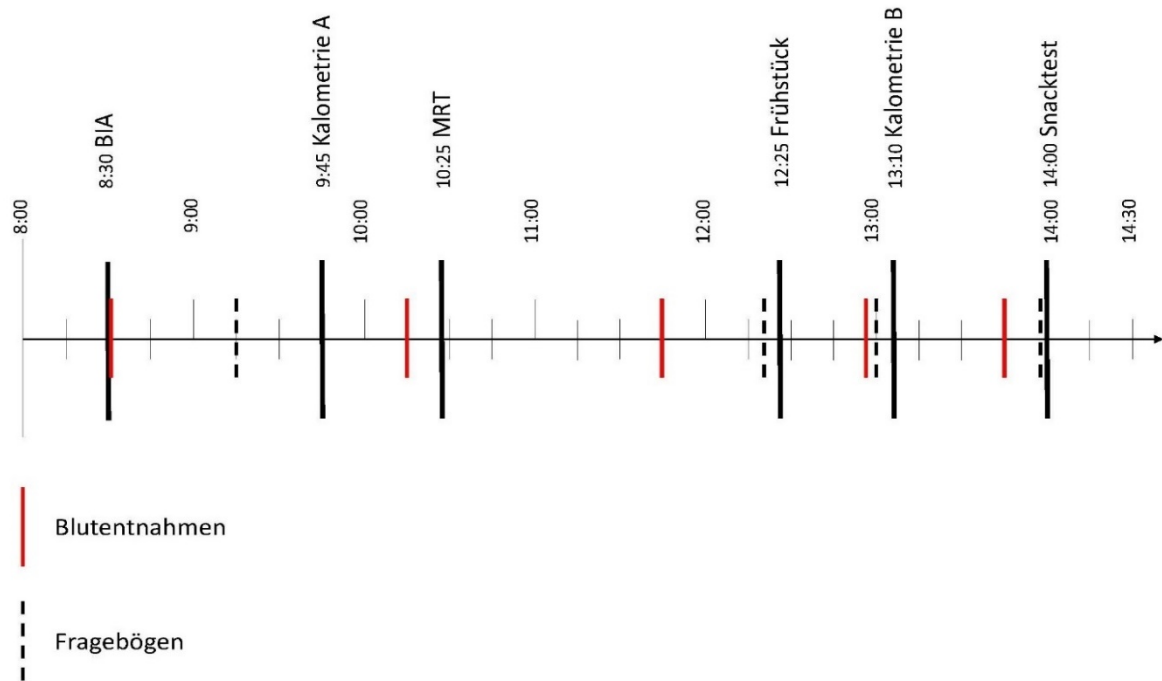


Abbildung 1 Zeitstrahl Versuchsaufbau

Eine detaillierte Übersicht über den zeitlichen Ablauf eines Versuchstages bietet das Versuchsprotokoll (siehe Anhang 7.2).

Zusammengefasst sah das Protokoll den folgenden Ablauf vor:

Die Probanden trafen um 8:30 Uhr am Versuchstag ein und wurden in den Versuchsraum gebracht. Es wurde erneut das Einverständnis der Probanden eingeholt, am Versuch teilzunehmen. Der Proband wurde anamnestisch nach Einhaltung der Nüchternheit, der Wahl des Verkehrsmittels zum Labor und dem Schlafverhalten der letzten Wochen befragt. Als Tarngeschichte wurde den Probanden vor der Teilnahme gesagt, dass die Studie die Auswirkungen der Vagusnervstimulation auf das Kurzzeitgedächtnis ermitteln soll. Deshalb wurde mit den Probanden ein kurzer Erinnerungstest durchgeführt. In einer körperlichen Untersuchung wurden das Körpergewicht und das Verhältnis von Taillenumfang zu Hüftumfang, nach einem Toilettengang, erhoben. Hiernach begaben sich die Probanden unverzüglich in ein Bett, in dem sie, bis auf den kurzen Weg zum MRT, auf dem Rücken liegend bis zur Beendigung des Versuches um 14:00 Uhr verblieben. Das Bett befand sich in einem ruhigen und gleichbleibend temperierten (21-22°C) Versuchsraum. Danach wurde mittels Bioimpedanzanalyse (Nutriguard-M, Data Input, Darmstadt, Deutschland) die Körperzusammensetzung untersucht.

Im Anschluss wurde ein Venenkatheter (Vasofix® Safety, B.Braun, Melsungen, Deutschland) in die Armbeuge oder den Unterarm der nicht dominanten Hand zur Blutentnahme gelegt, welche zum ersten Mal um 9:00 Uhr zur Erhebung von Ausgangswerten der Glukose, Blutfett und Hormonkonzentrationen erfolgte. Vor jeder Blutentnahme wurden ca. 3 ml Blut abgenommen und verworfen und nach jeder Blutentnahme wurde der Katheter mit physiologischer Kochsalzlösung durchgespült. Danach wurde um 9:45 Uhr eine 30-minütige indirekte Kalorimetrie mit einer belüfteten Haube (Deltatrac II, MBM-200 Metabolic Monitor; Datex-Engström Deutschland) durchgeführt, um den Ruheenergieverbrauch im nüchternen Zustand zu bestimmen. Es folgte eine zweite Blutentnahme und die Probanden wurden in den MRT-Untersuchungsraum gebracht. Dort fand von 10:25 bis 11:45 Uhr eine fMRT Messung statt, in welcher die Probanden visuell mit Essensbildern stimuliert und ihre Reaktionsgeschwindigkeit auf den jeweiligen Stimulus gemessen wurden. Dieser Teil der Studie wurde durch einen anderen Doktoranden betreut und ausgewertet. Es folgte eine dritte Blutentnahme direkt nach der MRT-Messung. Um 12:15 Uhr bekam der Proband ein standardisiertes Frühstück bestehend aus Brötchen, Brot, Käse, Salami, Frischkäse, Butter, Schokoladen-Haselnuss-Brottaufstrich, Früchtetee und Wasser (740 kcal, bestehend aus 17,17g Protein, 45,78g Fett, 63,55g Kohlenhydraten). Das dargebotene Essen mussten die Probanden vollständig über einen Zeitraum von 30 Minuten zu sich nehmen und danach folgten eine vierte Blutentnahme und das Ausfüllen der Fragebögen. Um 12:45 Uhr, also nach der Nahrungsaufnahme, wurde erneut eine Kalorimetrie für 30 Minuten durchgeführt. Im Anschluss erfolgte die letzte Blutabnahme. Abschließend folgte noch ein „Snacktest“. Die Probanden bekamen mitgeteilt, dass sie so viel essen könnten, wie sie wollten und wussten nicht, dass die verzehrte Menge erfasst wurde. Die Probanden füllten während der beiden Versuchstage jeweils verschiedene Fragebögen zu ihrer Stimmung, autonomen Symptomen und Hunger (MDBF, VAS, SRS) an 4 Zeitpunkten (09:15, 12:20, 13:00, 13:30 Uhr) aus. Es wurde zu festen Zeitpunkten sowohl der Blutdruck als auch der Puls der Probanden erhoben und dokumentiert.

Die Probanden wurden vor dem Versuchstag randomisiert entweder der „Verum-“ oder „Shamgruppe“ zugeordnet, entsprechend unterschied sich die Einweisung in die Handhabung des tvNS Gerätes am Ende des ersten Versuchstages.

Nach 5 Wochen täglicher Stimulation über 4 Stunden durch die Probanden erfolgte der zweite Versuchstag. Die Messungen des ersten Tages wurden nach dem oben aufgeführten Schema identisch wiederholt.

2.4 Darstellung der Einzeluntersuchungen

2.4.1 Die Vagusnervstimulation

Die Vagusnervstimulation wurde mittels eines tragbaren Neurostimulators der Firma Cerbomed (Nemos, ®Cerbomed, Deutschland) von den Probanden selbständig durchgeführt. Das Gerät besteht aus einer Stimulationseinheit und einer Elektrode, die wie ein Kopfhörer getragen wird und transkutan den Nervus Vagus (R. auricularis n.vagi) stimuliert. In der Verumgruppe wurde das Gerät wie vom Hersteller intendiert getragen und somit der Vagusnerv im Zielbereich der Cymba conchae an der Ohrmuschel stimuliert. Die Shamgruppe trug die Elektrode so, dass der Stimulationsbereich am Lobus auriculae und somit dem Plexus Cervicalis lag (Frangos et al. 2015). Die Stimulation sollte täglich für den Studienzeitraum von 35 Tagen durchgeführt werden, wobei die Probanden instruiert wurden, die Stimulation möglichst nachmittags und zur gleichen Tageszeit durchzuführen. Die Stimulation erfolgte biphasisch, jeweils für 30 Sekunden mit 30 Sekunden anschließender Pause. Dabei wurde in der aktiven Phase mit einer prädefinierten Stimulationsfrequenz von 25 Hz und einer Impulsbreite von 250 µs stimuliert, wobei die Stromstärke vom Probanden gewählt wurde. Dies war in 0,1-mV-Schritten möglich und sollte so gewählt werden, dass die jeweils individuelle Wahrnehmungsschwelle stets überschritten wurde. Sobald eine Adaptation des Nervs zu einer erhöhten Wahrnehmungsschwelle führte, sollte die Stromstärke bis zur erneuten Wahrnehmung erhöht werden.

Die Erfolgskontrolle wurde mittels eines Probandentagebuches durchgeführt, wo jeweils der Stimulationszeitraum, die maximal erreichte Stimulationsstärke und etwaige Nebenwirkungen festgehalten wurden. Des Weiteren erfolgte eine Plausibilitätskontrolle durch Auswertung der Stimulatoren, welche die jeweilig erreichte Stimulationszeit als Prozentwert der idealen Stimulationsdauer ($4 \cdot 35 = 140$ Stunden) aufzeichneten.

2.4.2 Körpergewicht und Bioimpedanzanalyse

Nach der Ankunft der Probanden wurde unter Zuhilfenahme eines geeichten, fest verbauten Maßbandes die Körpergröße auf 0,5 cm genau am bis auf die Unterwäsche entkleideten stehenden Probanden gemessen. Das Körpergewicht wurde anschließend nach einem Toilettengang mittels geeichter elektronischer Waage ermittelt. Dabei standen die Probanden stets ruhig und mit vollem Gewicht auf der Waage, welche auf ebenem Boden platziert wurde. Aus diesen Messwerten wurde der Body-Maß-Index (BMI) mithilfe folgender Formel errechnet:

$$\text{BMI} = \text{Körpergewicht (kg)} / [\text{Körpergröße (m)}]^2$$

Die Veränderung der Körperzusammensetzung über den Versuchszeitraum wurde durch eine anschließende bioelektrische Impedanzanalyse (BIA, Nutriguard-M, Data Input, Darmstadt, Deutschland) ermittelt (Kyle et al. 2004).

Dabei handelt es sich um eine Messmethode, bei der ein elektrischer Wechselstrom durch den Körper der Probanden geleitet wird und der Gesamtwiderstand (Impedanz, Z) des Körpers bestimmt wird. Dabei ist die Impedanz definiert als Gesamtwiderstand eines biologischen Leiters gegen Wechselstrom und setzt sich aus zwei Anteilen zusammen: der Resistance (R) und der Reactance (Xc). Die Resistance ist definiert als der reine (Ohmsche) Widerstand eines Leiters und umgekehrt proportional zum elektrolythaltigen Gesamtkörperwassers. Die Reactance ist der kapazitive Anteil des Widerstands, der durch die Kondensatoreigenschaften von Zellmembranen erzeugt wird.

Basierend auf einem Drei-Kompartimente-Modell wird der Körper in seinen Anteil an Fettmasse und Magermasse (Lean Body Mass, LBM) als Bereiche aufgeteilt, wobei die LBM wiederum in die Körperzellmasse (Body Cell Mass, BCM) und die extrazelluläre Masse (Extra Cellular Mass, ECM) unterteilt wird. Die BCM besteht aus der Summe aller stoffwechselaktiven Zellen des Körpers, deren Zellmembranen aus einer Protein-Lipid-Schicht zusammengesetzt sind und somit Kondensatoreigenschaften besitzen, welche einen kapazitiven Widerstand (Reactance, Xc) aufweisen. Die ECM besteht aus allen nicht zellhaltigen Geweben wie Bindegewebe oder Knochen und der transzellulären Flüssigkeit. Die Fettmasse wird, da Fettzellen fast keinen Strom leiten und auch kaum kapazitiven Widerstand (Reactance) erzeugen, über die oben erwähnten Messgrößen nicht erfasst. Die

Bestimmung der Fettmasse ist somit nur indirekt möglich, nämlich als Differenz der LBM zum Gesamtgewicht.

Die in der BIA gemessenen physikalischen Parameter korrelieren also mit der Körperzusammensetzung und können mittels mathematischer Formeln und Vergleichsdatenbanken Aufschluss über Fettmasse, fettfreie Masse und Gesamtkörperwasser der Probanden geben, wobei Körpergewicht, Körpergröße, Geschlecht und Alter berücksichtigt werden (Data Input Geräte, Software und Seminare zur BIA: Startseite 2019).

2.4.3 Die indirekte Kalorimetrie

Der klinische Goldstandard zur Bestimmung des Energieverbrauchs eines Menschen ist die indirekte Kalorimetrie. Sie basiert auf der Messung des aufgenommenen Sauerstoffs, als Differenz der Konzentration in der Ein- und Ausatemluft des Menschen und der Kohlenstoffdioxidproduktion. Hiermit lässt sich indirekt auf die Wärmeproduktion des Körpers schließen, da bei der oxydativen Energiegewinnung im Körper Sauerstoff verbraucht wird, um Energie in Form von ATP zu synthetisieren, was zusätzlich eine bestimmte Menge an thermischer Energie erzeugt. Dies lässt sich entsprechend der folgenden Formel nach Weir berechnen:

$$\text{REE (in kcal/d)} = 1,44 \times (3,9 \times \text{VO}_2 + 1,1 \times \text{VCO}_2) \quad (\text{VO}_2 \text{ und VCO}_2 \text{ in ml pro Minute})$$

Abhängig von der verstoffwechselten Substanz wird eine konstante Menge Energie (kJ) pro verbranntem Liter Sauerstoff erzeugt, das sogenannte energetische Äquivalent. Dies lässt sich für die drei verschiedenen biologischen Grundenergieträger Kohlenhydrate, Fette und Proteine bestimmen (Tabelle 1 Energetische Äquivalente der Makronährstoffe).

Substrat	Sauerstoff verbraucht (l/g)	Kohlenstoffdioxid produziert (l/g)	energetisches Äquivalent (kJ/l O ₂)
Glukose	0.746	0.746	21,0
Fette	2.029	1.430	19,6
Protein	0.966	0.782	18,8

Tabelle 1 Energetische Äquivalente der Makronährstoffe

*Werte für O₂ und CO₂ aus (Haugen et al. 2007) und für KJ aus (Brandes et al. 2019, S. 536)

Um bestimmen zu können, welche Mischung an Substraten zum Zeitpunkt der Messung verstoffwechselt wird, bildet man den sogenannten metabolischen respiratorischen Quotienten (RQ) nach der folgenden Formel:

$$RQ = \frac{V_{CO_2}}{V_{O_2}}$$

Dieser beträgt für die reinen Substrate*:

RQ - Kohlenhydrate = 1,0

RQ – Fett = 0,7

RQ – Protein = 0,81

* (Brandes et al. 2019, S. 536)

Für die gemessen RQ-Werte lässt sich ein entsprechendes energetisches Äquivalent bestimmen und der aktuelle Energieumsatz wie folgt berechnen:

Energieumsatz = energetisches Äquivalent × O₂-Aufnahme/Zeit

Es wurde während des Versuchs das Gerät Deltatrac II, MBM-200 Metabolic Monitor der Firma Datex-Engström Deutschland, Achim, Germany verwendet. Hier findet ein offenes Haubensystem Verwendung, bei dem eine kontinuierliche Aufzeichnung des O₂ - Verbrauchs und der CO₂ -Produktion während der jeweils halbstündigen Messung erfolgt. Dabei wird Raumluft in die Atemhaube mit einem Luftfluss (Flow) gepumpt, wobei die Flowmenge (l/min) vom Körpergewicht des Probanden abhängt. Die Messung der Atemgase (Sättigung) erfolgt gleichzeitig in der Ein- und Ausatemluft. Die ausgeatmeten Gase werden nach der Dilutionsmethode in einem konstanten, bekannten Flow (Raumluft) verdünnt und analysiert.

Vor der Datenerfassung wurde an jedem Versuchstag darauf geachtet, eine suffiziente Warmlaufphase von mindestens einer halben Stunde zu erlauben, worauf eine Kalibrierung mittels eines standardisierten Referenzgases aus 5% CO₂ und 95% O₂ erfolgte. Während der Messung lagen die Probanden stets in Rückenlage im Versuchslabor, in dem eine konstante Temperatur (21-22°C) gehalten wurde. Die Probanden wurden darauf hingewiesen, ruhig und gleichmäßig zu atmen, nicht zu sprechen oder zu schlafen. Dies wurde durch ständige Videoüberwachung kontrolliert.

2.4.4 Blutentnahmen

Während des Versuchstages erfolgten die jeweiligen Blutentnahmen aus dem Venenverweilkatheter. Die verwendeten Monovetten wurden bis auf die Serum-Monovette spätestens seit dem Vortag des jeweiligen Versuchstages bei 4°C vorgekühlt.

Es wurden insgesamt 5 Blutproben pro Versuchstag entnommen. Die Entnahme der Blutproben erfolgte über eine Drei-Wege-Hahn-Verlängerung von 10 cm, welche beim Legen des Venenverweilkatheters zu Beginn des Versuchs angebracht wurde. Vor jeder Entnahme wurde eine 10ml-Spritze entnommen und verworfen, um eine Verdünnung durch im Schlauchsystem verbliebene Lösung zu verhindern. Im Anschluss an jede Blutentnahme wurde die Verweilkanüle mit 20 ml NaCl-Lösung gespült.

Bei der ersten Abnahme wurden 2 S-Monovetten® der Firma Sarstedt mit unterschiedlichen Zusätzen (Tabelle 2 Pipettierschema: BE A) verwendet. Nach der Entnahme wurde das Serum-Gel für mindestens 20 Minuten aufrecht bei Raumtemperatur hingestellt, danach bei 2500 g zentrifugiert und der Überstand abpipettiert. 1000 µl wurden bei -20°C und der Rest bis zum Weitertransport zu dem Labordienstleister LADR bei 4°C zwischengelagert. Das Kalium-EDTA wurde ebenfalls direkt nach der Abnahme bei 4°C bis zum Transport per Botendienst zum Labordienstleister LADR aufbewahrt. Dieser erfolgte regulär bis 13:00 Uhr am selben Tag und an Sonn- und Feiertagen am nächsten Tag um 10:00 Uhr.

Bei den restlichen 4 Abnahmen wurden jeweils 3 S-Monovetten® der Firma Sarstedt mit unterschiedlichen Zusätzen (Tabelle 2 Pipettierschema: BE B) abgenommen. Direkt nach der Entnahme wurde das Kalium-EDTA und Fluoridplasma bei 4°C 15 Minuten mit 1000g

zentrifugiert, danach der Überstand pipettiert und bei $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ bis zum Ende des Versuchstages (14:00 Uhr) aufbewahrt. Nach der Entnahme wurde das Serum-Gel für mindestens 20 Minuten aufrecht bei Raumtemperatur hingestellt, danach bei 2500g zentrifugiert, der Überstand abpipettiert und ebenfalls bei $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ eingefroren. Die bei $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ gelagerten Proben wurden spätestens zum Folgetag in einen Gefrierkühler transferiert und dort bei $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ bis zur laborchemischen Untersuchung aufbewahrt. Das Pipettieren erfolgte mit geeichten Pipetten in entsprechend gekennzeichnete Reaktionsgefäße.

Art des Entnahmesystems	Füllmenge	Pipettierte Menge	Zu bestimmender Parameter
BE A			
S-Monovetten® Serum-Gel	7,5ml	1. 1000µl 2. Rest LADR	Leptin Cholesterin gesamt, Triglyceride, HDL, LDL
S-Monovetten® Kalium-EDTA	2,6ml	---	HbA1c
BE B			
S-Monovetten® Kalium-EDTA	4,9ml	1. 1000µl in Sarstedt 5ml Probenröhre 2. 500µl in Eppendorfggefäß (rot) 3. 500µl in Eppendorfggefäß (rot)	ACTH GLP-1 Ghrelin
S-Monovetten® Serum-Gel	4,9ml	1. 1000µl in Sarstedt 5ml Probenröhre 2. 500µl in Eppendorfggefäß (weiß) 3. 500µl in Eppendorfggefäß (weiß)	Insulin C-Peptid Cortisol
S-Monovetten® Fluoridplasma	2,6ml	1. 1000µl in Sarstedt 5ml Probenröhre	Glukose

Tabelle 2 Pipettierschema

Die laborchemische Analyse erfolgte durch den Labordienstleister LADR unter Verwendung folgender Methoden:

Insulin, C-Peptid, Cortisol und Adrenocortikotropes Hormon (ACTH) wurden mittels Elektrochemilumineszenz-Immunoassay (ECLICA, COBAS 8000, Roche-Diagnostics GmbH, Mannheim, Germany) bestimmt. Leptin wurde mittels Enzyme-linked Immunosorbent Assay (Sandwich-ELISA, DRG, Marburg, Germany) und das Gesamt-Ghrelin mittels Radioimmunoassay (RIA, Biotrend, Cologne, Germany) nachgewiesen. Die Parameter Glukose, Gesamtcholesterin, HDL, LDL und Triglyzeride wurden alle photometrisch bestimmt (Roche-Diagnostic GmbH, Mannheim, Germany). Hochleistungsflüssigkeitschromatographie (Tosoh Bioscience, G11, Tokio, Japan) kam zur Messung von HbA1c zum Einsatz.

Die Bestimmung der GLP-1 Konzentration erfolgte aus - bei -80°C gelagertem - EDTA-Plasma in einem auswärtigen Labor im Department of Biomedical Sciences, University of Copenhagen, Blegdamsvej 3B, 2200 København N, Denmark.

Sie wurde im Plasma nach der Extraktion mit 70%-igem Ethanol (vol/vol, Endkonzentration) mittels Radioimmunoassay gemessen. Die Immunreaktivität des carboxyterminalen GLP-1 wurde unter Verwendung von Antiserum 89390 bestimmt. Dieses benötigt ein intaktes carboxyterminales Ende mit einer Amidgruppe von GLP-1 7-36 um zu binden und kreuzreagiert weniger als 0,01% mit carboxyterminalen trunkierten Fragmenten und zu 89% mit GLP-1 9-36 Amid, welches der primäre Metabolit des Dipeptidylpeptidase 4 katalysierten Abbaus ist. Die Summe der beiden nachgewiesenen Komponenten (gesamte GLP-1-Konzentration) spiegelt die Sekretionsrate der L-Zellen des gastroenteropankreatischen Systems wider. Die Sensivität war unter 1 pmol/l und der Intrassay Variationskoeffizient unter 5 % (Orskov et al. 1994).

2.4.5 Fragebögen

Zur Erhebung verschiedener psychometrischer Variablen wurden von den Probanden mehrere Fragebögen (siehe Anhang 7.3) ausgefüllt, welche im Folgenden näher beschrieben werden:

MDBF

Die Stimmung wurde mit dem mehrdimensionale Befindlichkeitsfragebogen (MDBF) bewertet, auf dem die Probanden in einer 5-Punkte-Skala die 12 Elemente der Kategorien „gute/schlechte Laune“, „Wachheit/Müdigkeit“ und „Ruhe/Aufregung“ nach ihrem Zutreffen auswählen konnten (Hinz et al. 2012).

SRS

Mithilfe einer 27 Elemente umfassenden Symptom-Rating-Skala (SRS) wurden die Zeichen einer Neuroglykopenie wie Kribbelgefühl, verschwommenes Sehen, verminderte Konzentrationsfähigkeit, Müdigkeit, Nervosität und Schwäche bewertet. Dies erfolgte auf einer Skala von 0-9 durch die Probanden. Ebenfalls wurden Symptome einer Aktivierung des autonomen Nervensystems, wie Angst, Ärger, Schwitzen, Herzklopfen, Hunger und Zittern abgefragt sowie mögliche unspezifische Begleitsymptome wie Kopfschmerzen, Schwindel, Übelkeit (Mitrakou et al. 1991).

VAS

Zur Evaluation der subjektiven Gefühle von Hunger, Sättigung oder Durst wurde eine visuelle Analogskala (0-100 mm) genutzt. Diese beinhaltete zusätzlich die Elemente ängstlich, fröhlich, gestresst, schläfrig und konzentriert. Weiterhin wurde das Bedürfnis nach Essen generell und die Lust auf süßes oder herzhaftes Essen abgefragt (Flint et al. 2000).

Um Aussagen zur Veränderung dieser erhobenen psychometrischen Variablen machen zu können, wurden die oben aufgeführten Fragebögen zu mehreren Zeitpunkten des Versuchs verwendet (siehe Versuchsprotokoll im Anhang).

2.4.6 Hedonisches Essverhalten / Snacktest

Am Ende des jeweiligen Versuchstages wurde ein sogenannter „Snacktest“ durchgeführt, wobei den Probanden vier verschiedene abgewogene Knabberartikel (Gummibärchen, Schokoladencrossies, Chips und gesalzene Nüsse) in einem standardisierten Aufbau präsentiert wurden. Es sollte hiermit die sogenannte hedonische Komponente des Essverhaltens während der Sättigung getestet werden (Higgs et al. 2008; Hallschmid et al. 2012). Dieses Phänomen beschreibt den Drang etwas zu essen, um einen Lustgewinn zu erleben, wobei der erlebte Lustgewinn unabhängig von der Befriedigung von Hunger durch Nahrungsaufnahme zu sehen ist. Die Probanden bekamen mitgeteilt, dass sie so viel essen könnten, wie sie wollten und dass es sich um eine kleine Aufmerksamkeit für die Teilnahme handele. Die verzehrte Menge an Makronährstoffen wurde durch Wiegen und Berechnung der Differenz zwischen Ausgangs- und Abschlussgewicht in Gramm der jeweiligen Behälter mit Inhalt ermittelt. Über die Nährstoffangaben wurde die verzehrte Menge in Kilokalorien umgerechnet und verglichen. Es wurden folgende Produkte und Mengen verwendet: Gummibärchen der Marke „Haribo Goldbären von Haribo“ (77g Kohlenhydrate, 0,5g Fett, 6,9g Protein und 343 Kilokalorien jeweils pro 100g), Choco-Crossies der Marke „Choco-Crossies Classic von Nestle“ (59,9g Kohlenhydrate, 26,6g Fett, 7,1g Protein und 516 Kilokalorien jeweils pro 100g), Cashews der Marke „Cashew-Kerne gesalzen von Edeka“ (21g Kohlenhydrate, 51g Fett, 20g Protein und 631 Kilokalorien jeweils pro 100g) und Chips der Marke „Chipsfrisch ungarisch von Funny frisch“ (49g Kohlenhydrate, 33g Fett, 6,1g Protein und 530 Kilokalorien pro 100g).

2.5 Statistische Methoden

Die statistische Auswertung der laborchemischen Ergebnisse der Blutanalysen erfolgte mithilfe der Statistiksoftware „R v4.2“ (The Comprehensive R Archive Network) unter Verwendung des Pakets „Rstatix“ (Framework for Basic Statistical Tests [rstatix version 0.6.0] 2021) und die Erstellung der entsprechenden Graphen erfolgte mit der „ggplot2“ Software (Grafiksoftware ggplot2). Die statistische Auswertung der Ergebnisse der Körperzusammensetzung, der Vitalparameter, der Kalorimetrie, der Fragebögen (MDBF, VAS, SRS) und des hedonischen Essverhaltens erfolgte mit dem Programm SPSS Statistics (IBM, Armonk, New York, U.S.A).

Der statistische Vergleich der Daten erfolgte für die Blutwerte basierend auf einer univariante Varianzanalyse (ANOVA). Dabei handelt es sich um eine multifaktorielle Varianzanalyse, welche entweder als ein „mixed model“ mit einem Gruppenfaktor („group“) mit 2 Faktorstufen (Sham, Verum) und einem Messwiederholungsfaktor „pp“ (Prä-post Stimulation; 2 Faktorstufen) verwendet wurde oder als ein „mixed model“ mit einem Gruppenfaktor mit 2 Faktorstufen (Sham, Verum) und zwei Messwiederholungsfaktoren „pp“ (Prä-post Stimulation; 2 Faktorstufen) und „time“ (Zeitpunkte der Blutentnahmen; 4 Faktorstufen). Diese Faktoren wurden jeweils auf Signifikanz getestet, ebenso wie ihre Interaktionen. ANOVA-Effekte wurden bei signifikanten Interaktionen in die zu Grunde liegenden Haupteffekte des Interaktionsterms aufgelöst und erneut getestet. Für die Körperzusammensetzung, die Vitalparameter, die Kalorimetrie, die Fragebögen und das hedonische Essverhalten wurden verschiedene t-Tests verwendet. Bei Vergleichen zwischen den beiden Gruppen wurde ein t-Test für unabhängige Gruppen verwendet, für Vergleiche innerhalb einer Gruppe ein t-Test für gepaarte Stichproben. Die Normalverteilung der Messwerte wurde vor der Analyse mittels des Shapiro-Wilk-Tests getestet. Für Werte ohne Normalverteilung wurde der Wilcoxon-Test verwendet (für neuroglykopen Symptome in beiden Gruppen; in der MDBF-Kategorie „gute/schlechte Laune“ in der Shamgruppe).

Für die graphische Darstellung wurden die Mittelwerte \pm Standardfehler dargestellt.

Ein P-Wert $<0,05$ (Alpha Fehler $< 5\%$) wurde als signifikant bewertet.

3. Ergebnisse

3.1 Vagusnervstimulation

Statistisch zeigte sich zwischen den Gruppen im t-Test für unabhängige Gruppen kein signifikanter Unterschied, sowohl in der durchschnittlichen Stimulationsdauer als auch in der durchschnittlich gewählten Stimulationsstärke (mittlere Stimulationsdauer pro Tag $3,8 \pm 0,06$ vs. $3,8 \pm 0,06$ h/Tag, $t(31) = 0,06$, $p = 0,95$; mittlere Stimulationsstärke pro Tag $1,36 \pm 0,15$ vs. $1,34 \pm 0,13$ mA, $t(31) = 0,12$, $p = 0,91$ Stimulationsstärke). Bei einem Probanden fehlten in der Auswertung die Aufzeichnungen des Stimulationstagebuchs, sodass dieser in dem Vergleich nicht berücksichtigt wurde.

3.2 Körpergewicht und Körperzusammensetzung

Das Körpergewicht wurde zu Beginn der Versuchstage erhoben. In der Verumgruppe wurden alle 17 Datensätze vollständig erhoben, in der Shamgruppe waren nur 14 vollständige Datensätze vorhanden.

Das Ausgangskörpergewicht unterschied sich nicht signifikant zwischen der Verum- und der Shamgruppe im t-Test für unabhängige Gruppen ($117,6 \pm 5,8$ kg vs. $109,1 \pm 5,3$ kg, $t(29) = 1,07$, $p = 0,29$). Nach mehrwöchiger Vagusnervstimulation zeigte sich allerdings auch weiterhin kein signifikanter Unterschied zwischen der Verum- und der Shamgruppe im t-Test für unabhängige Gruppen ($118,5 \pm 6,2$ kg vs. $108,6 \pm 5,4$ kg, $t(29) = 1,19$, $p = 0,24$).

Ebenso war weder für die Shamgruppe ($109,1 \pm 5,3$ vs. $108,6 \pm 5,4$ kg, $t(13) = 0,77$, $p = 0,45$) noch für die Verumgruppe ($117,6 \pm 5,8$ vs. $118,5 \pm 6,2$ kg, $t(16) = -1,43$, $p = 0,172$) der Unterschied zwischen dem Ausgangswert und dem Abschlusswert signifikant.

Die Körperzusammensetzung wurde zu Beginn jedes Versuchstages mittels bioelektrischer Impedanzanalyse (BIA) gemessen.

Probanden aus der Verum- und der Shamgruppe unterschieden sich nicht signifikant im t-Test für unabhängige Gruppen in dem durchschnittlichen Ausgangswert ihrer Magermasse ($81,3 \pm 2,7$ vs. $77,7 \pm 3,6$ kg, $t(29) = 0,8$, $p = 0,43$) und Fettmasse ($36,4 \pm 3,6$ vs. $31,4 \pm 2,4$ kg, $t(29) = 1,10$, $p = 0,28$) vor Beginn der Stimulation. Nach mehrwöchiger Vagusnervstimulation zeigte sich allerdings auch weiterhin kein signifikanter Unterschied zwischen der Verum- und der Shamgruppe im t-Test für unabhängige Gruppen in Bezug

auf die Magermasse ($81,9 \pm 3,0$ vs. $78,0 \pm 3,8$ kg, $t(29) = 0,81$, $p = 0,42$) und Fettmasse ($36,6 \pm 3,5$ vs. $30,6 \pm 2,2$ kg, $t(29) = 1,39$, $p = 0,17$).

Auch innerhalb der Verumgruppe ließ sich kein Unterschied im t-Test für gepaarte Stichproben in der Magermasse ($81,3 \pm 2,7$ vs. $81,9 \pm 3,0$ kg, $t(16) = -0,84$, $p = 0,42$) und Fettmasse ($36,4 \pm 3,6$ vs. $36,6 \pm 3,5$ kg, $t(16) = -0,43$, $p = 0,675$) nach 5-wöchiger Stimulation beobachten. Das gleiche gilt in der Shamgruppe im t-Test für gepaarte Stichproben, sowohl für die Magermasse ($77,7 \pm 3,6$ vs. $78,0 \pm 3,8$ kg, $t(13) = -0,40$, $p = 0,69$) als auch für die Fettmasse ($31,4 \pm 2,4$ vs. $30,6 \pm 2,2$ kg, $t(13) = 1,49$, $p = 0,16$).

3.3 Vitalparameter

In der Varianzanalyse ergaben sich für die Herzfrequenz keine statistisch signifikanten Haupteffekte für Gruppe oder Behandlung sowie die Interaktion zwischen den Haupteffekten Gruppe, Behandlung und Zeit (alle $F < 2$, alle $p > 0,15$); siehe Tabelle 3 Herzfrequenz. Lediglich der Haupteffekt Zeit war signifikant: Haupteffekt Zeit: ($F_{4, 128} = 27,29$, $p < 0,001$).

In der Varianzanalyse ergaben sich für den systolischen und den diastolischen Blutdruck keine statistisch signifikanten Haupteffekte für Gruppe oder Behandlung sowie die Interaktion zwischen den Haupteffekten Gruppe, Behandlung und Zeit (alle $F < 8$, alle $p > 0,4$); siehe Tabelle 4 Blutdruck. Lediglich der Haupteffekt Zeit war für beide Parameter signifikant: Haupteffekt Zeit: ($F_{4, 128} = 6,56$, $p < 0,001$, systolischer Blutdruck; $F_{4, 128} = 15,33$, $p < 0,001$, diastolischer Blutdruck).

	Messpunkt 1	Messpunkt 2	Messpunkt 3	Messpunkt 4	Messpunkt 5
Verumgruppe (n = 17)	68,6 ± 2,2 vs. 68,2 ± 2,6	65,9 ± 2,3 vs. 68 ± 2,7	67,7 ± 2,5 vs. 66,4 ± 2,7	73,7 ± 2,3 vs. 73,8 ± 2,4	72,2 ± 2,3 vs. 70,5 ± 2,4
Shamgruppe (n = 17)	63,5 ± 2,2 vs. 64,5 ± 2,0	63,6 ± 1,8 vs. 65,1 ± 1,8	63,6 ± 2,4 vs. 64,3 ± 2,6	72,9 ± 2,4 vs. 72,2 ± 2,2	72,5 ± 2,8 vs. 70,7 ± 1,7

Tabelle 3 Herzfrequenz

	Messpunkt 1	Messpunkt 2	Messpunkt 3	Messpunkt 4	Messpunkt 5
systolischer Blutdruck Verumgruppe (n = 17)	126,4 ± 2,6 vs. 126,3 ± 2,3	128,2 ± 2,3 vs. 126,3 ± 2,0	133,2 ± 1,8 vs. 130,6 ± 2,0	129,7 ± 2,4 vs. 129,8 ± 2,0	129,9 ± 2,4 vs. 129,1 ± 1,6
diastolischer Blutdruck Verumgruppe (n = 17)	71,0 ± 2,1 vs. 68,8 ± 2,0	71,8 ± 2,8 vs. 69,9 ± 2,0	78,6 ± 2,7 vs. 73,9 ± 1,3	72,6 ± 2,5 vs. 71,5 ± 2,5	71,5 ± 2,5 vs. 68,0 ± 1,5
systolischer Blutdruck Shamgruppe (n = 17)	122,5 ± 2,3 vs. 122,4 ± 2,6	127,1 ± 1,9 vs. 123,6 ± 2,3	129,4 ± 2,4 vs. 126,3 ± 2,4	125,5 ± 2,0 vs. 127,5 ± 1,9	126,3 ± 2,3 vs. 125,5 ± 2,8
diastolischer Blutdruck Shamgruppe (n = 17)	70,2 ± 2,4 vs. 71,6 ± 2,6	75,2 ± 1,9 vs. 75,9 ± 1,6	77,4 ± 2,2 vs. 79,6 ± 2,3	72,2 ± 1,6 vs. 74,6 ± 2,5	73,8 ± 2,0 vs. 74,4 ± 2,4

Tabelle 4 Blutdruck

3.4 Kalorimetrie

Der Energiegrundumsatz der Probanden wurde mittels indirekter Kalorimetrie sowohl im nüchternen Zustand als auch im postprandialen Zustand an jedem Versuchstag ermittelt. Die Veränderung im Grundumsatz desselben Probanden wurde nach der 5-wöchigen Vagusnervstimulation in den beiden Zuständen miteinander verglichen. Außerdem erfolgte eine Auswertung der gruppenspezifischen Mittelwerte im Vergleich untereinander, ebenfalls in beiden Zuständen. In der Verumgruppe wurden nur 10 von 17 Datensätzen vollständig erhoben, in der Shamgruppe 12 von 17.

Die Analyse der Daten zeigte keinen signifikanten Unterschied im Grundumsatz der einzelnen Probanden im t-Test für gepaarte Stichproben zwischen erstem und zweiten Versuchstag, sowohl in der Verumgruppe (1719 ± 115 vs. 1686 ± 110 kcal, $t(9) = 0,77$, $p = 0,46$, nüchtern; 1918 ± 104 vs. 1951 ± 118 kcal, $t(9) = -0,65$, $p = 0,53$, postprandial) als auch in der Shamgruppe (1606 ± 90 vs. 1552 ± 68 kcal, $t(11) = 1,08$, $p = 0,30$, nüchtern; 1829 ± 99 vs. 1834 ± 53 kcal, $t(11) = -0,08$, $p = 0,94$, postprandial).

Der Vergleich beider Gruppen im t-Test für unabhängige Gruppen zeigte ebenfalls vergleichbare prä- und postprandiale Ergebnisse zwischen der Sham- und Verumgruppe (alle $p > 0,3$).

3.5 Effekte auf den Glukosestoffwechsel

Glukose

In der Varianzanalyse ergaben sich für die Glukosekonzentration keine statistisch signifikanten Haupteffekte für Gruppe oder Behandlung sowie die Interaktion zwischen den Haupteffekten Gruppe, Behandlung und Zeit (alle $F < 2,4$, alle $p > 0,1$). Lediglich der Haupteffekt Zeit war signifikant: Haupteffekt Zeit: ($F_{3, 96} = 62,85$, $p < 0,001$, partielles $\eta^2 = 0,663$). Die Glukosekonzentration veränderte sich also signifikant über den Verlauf des Versuchstages, was sich in einer post-hoc-Analyse sowohl für die Sham- als auch für die Verumgruppe und da jeweils vor und nach Vagusnervstimulation nachweisen ließ (Interaktion Shamgruppe und Prä- Behandlung x Zeit ($F_{3, 96} = 23,48$, $p < 0,001$, partielles $\eta^2 = 0,442$); Shamgruppe und Post- Behandlung x Zeit ($F_{3, 96} = 31,41$, $p < 0,001$, partielles $\eta^2 = 0,464$); Verumgruppe und Prä- Behandlung x Zeit ($F_{3, 96} = 25,36$, $p < 0,001$, partielles $\eta^2 =$

0,513); Verumgruppe und Post- Behandlung x Zeit ($F_{3, 96} = 18,82$, $p < 0,001$, partielles $\eta^2 = 0,432$)).

Die mittlere basale Glukosekonzentration fiel im Verlauf des Vormittages zum ersten Messzeitpunkt erst leicht ab, um dann nach der Mahlzeit anzusteigen und blieb bis zum letzten Messzeitpunkt um 13:45 Uhr etwa konstant. Dieser Verlauf zeigte sich in beiden Gruppen (siehe Abbildung 2 Glukose).

In der Verumgruppe fiel der Anstieg der Glukosekonzentration nach der Nahrungsaufnahme (Messzeitpunkt 3), ausgehend von der präprandialen basalen Konzentration (Mittel Messung 1 und 2), im gepaarten t-Test nach Vagusnervstimulation signifikant niedriger aus (Verumgruppe ($t(16) = -2,23$, $p = 0,04$), was für die Shamgruppe nicht zu beobachten war (Shamgruppe ($t(16) = -1,05$, $p = 0,31$); siehe Abbildung 2 Glukose.

Für den Vergleich wurde die Differenz des Ausgangsmittelwertes (Mittel Messung 1 und 2) der Blutglukosekonzentration zu dem Messzeitpunkt 3 gebildet und für beide Gruppen der Wert vor und nach der Stimulation verglichen.

Insulin

In der Varianzanalyse ergaben sich für die Insulinkonzentration keine statistisch signifikanten Haupteffekte für Gruppe oder Behandlung sowie die Interaktion zwischen den Haupteffekten Gruppe, Behandlung und Zeit (alle $F < 1$). Lediglich der Haupteffekt Zeit war signifikant: Haupteffekt Zeit: ($F_{3, 96} = 43,48$, $p < 0,001$, partielles $\eta^2 = 0,576$). Die Insulinkonzentration veränderte sich also signifikant über den Verlauf des Versuchstages, was sich in einer post- hoc-Analyse sowohl für die Sham- als auch für die Verumgruppe und da jeweils vor und nach Vagusnervstimulation nachweisen ließ (alle $p < 0,001$).

Wie in Abbildung 4 Insulin zu sehen, blieb die mittlere basale Insulinkonzentration zum zweiten Messzeitpunkt um 11:45 Uhr annähernd konstant, stieg nach der Mahlzeit, zum Messzeitpunkt 3, um 12:55 Uhr stark an und blieb bis zum letzten Messzeitpunkt um 13:45 Uhr etwa konstant. Dieser Verlauf unterschied sich also weder zwischen der Verum- und der Shamgruppe signifikant, noch hatte die Vagusnervstimulation einen signifikanten Einfluss.

C-Peptid

In der Varianzanalyse ergaben sich für die C-Peptid-Konzentration keine statistisch signifikanten Haupteffekte für Gruppe oder Behandlung sowie die Interaktion zwischen den Haupteffekten Gruppe, Behandlung und Zeit (alle $F < 1$). Lediglich der Haupteffekt Zeit war signifikant: Haupteffekt Zeit: ($F_{3, 96} = 149,3$, $p < 0,001$, partielles $\eta^2 = 0,824$). Die C-Peptid-Konzentration veränderte sich also signifikant über den Verlauf des Versuchstages, was sich in einer post-hoc-Analyse sowohl für die Sham- als auch für die Verumgruppe und da jeweils vor und nach Vagusnervstimulation nachweisen ließ (alle $p < 0,001$).

Wie in Abbildung 3 C-Peptid zu sehen, blieb die mittlere basale C-Peptid-Konzentration zum zweiten Messzeitpunkt um 11:45 Uhr annähernd konstant und stieg nach der Mahlzeit, zum Messzeitpunkt 3, um 12:55 Uhr stark an und stieg bis zum letzten Messzeitpunkt um 13:45 Uhr noch weiter an. Dieser Verlauf unterschied sich weder zwischen der Verum- und der Shamgruppe signifikant, noch hatte die Vagusnervstimulation einen signifikanten Einfluss.

HOMA-IR

Bei der Berechnung des Glukosemetabolismus Indexes (HOMA-IR) zeigten beide Gruppen in den Ausgangswerten eine erhöhte Wahrscheinlichkeit für das Vorliegen eines gestörten Nüchternblutzuckers und somit einer reduzierten Insulinsensitivität ($3,61 \pm 0,85$ Verumgruppe; $2,84 \pm 0,42$ Shamgruppe; Stadium 3, 2,5 - 5,0, Insulinresistenz wahrscheinlich).

In der Varianzanalyse ergaben sich für den Glukosemetabolismus-Index keine statistisch signifikanten Haupteffekte für Gruppe oder Behandlung sowie die Interaktion zwischen den Haupteffekten Gruppe und Behandlung: Haupteffekt Gruppe ($F_{1, 32} = 0,59$, $p = 0,448$, partielles $\eta^2 = 0,02$); Haupteffekt Behandlung ($F_{1, 32} = 0,004$, $p = 0,95$, partielles $\eta^2 < 0,001$); Interaktion Gruppe nach Behandlung ($F_{1, 32} = 0,04$, $p = 0,84$, partielles $\eta^2 < 0,001$).

Da der Glukosemetabolismus-Index nur für den Nüchternblutzucker berechnet werden kann, wurde er nur für den Messzeitpunkt 1 berechnet und verglichen.

HbA1c

Bei der Auswertung des HbA1c wurde ein unvollständiger Datensatz aus der Analyse ausgeschlossen. In der Varianzanalyse ergaben sich für die HbA1c Werte, im nüchternen Zustand, keine statistisch signifikanten Haupteffekte für Gruppe oder Behandlung sowie die Interaktion zwischen den Haupteffekten Gruppe und Behandlung: Haupteffekt Gruppe ($F_{1,31} = 0,63$, $p=0,434$, partielles $\eta^2 = 0,02$); Haupteffekt Behandlung ($F_{1,31} = 0,134$, $p=0,716$, partielles $\eta^2 = 0,01$); Interaktion Gruppe nach Behandlung ($F_{1,31} = 0,037$, $p=0,849$, partielles $\eta^2 = 0,01$); siehe Tabelle 5 Blutfette, Leptin und HbA1.

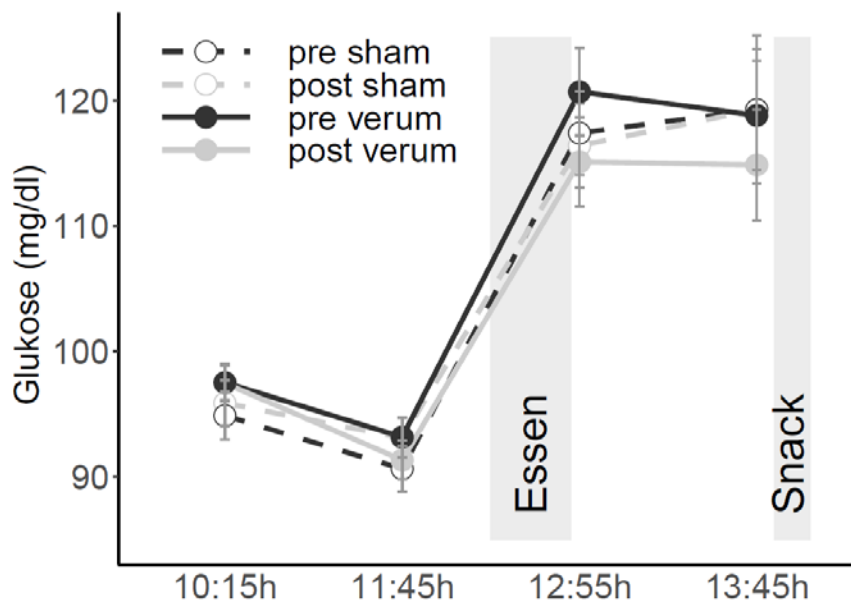


Abbildung 2 Glukose

Darstellung des Mittelwertes \pm des Standardfehlers der Glukosekonzentrationen unter basalen Bedingungen, im Vormittagsverlauf um 11:45 Uhr, direkt nach dem Essen um 12:55 Uhr und 50 Minuten nach Beendigung des Essens um 13:45 Uhr, vor (schwarze Linie) und nach 5-wöchiger Vagusnervstimulation (graue Linie). Die ausgefüllten Kreise stellen die Verumgruppe dar, die leeren Kreise die Shamgruppe. $N=34$.

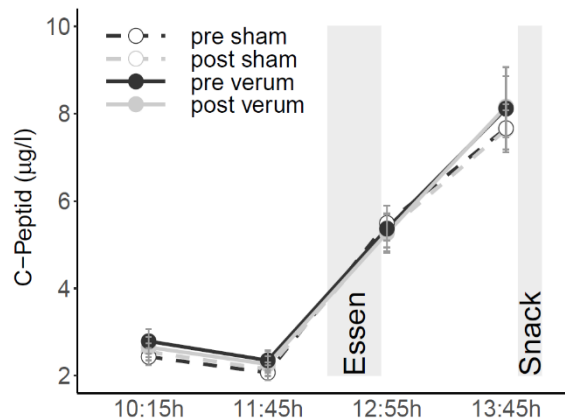


Abbildung 3 C-Peptide

Darstellung des Mittelwertes \pm des Standardfehlers der C-Peptide Konzentrationen unter basalen Bedingungen, im Vormittagsverlauf um 11:45 Uhr, direkt nach dem Essen um 12:55 Uhr und 50 Minuten nach Beendigung des Essens um 13:45 Uhr, vor (schwarze Linie) und nach 5-wöchiger Vagusnervstimulation (graue Linie). Die ausgefüllten Kreise stellen die Verumgruppe dar, die leeren Kreise die Shamgruppe. N=34.

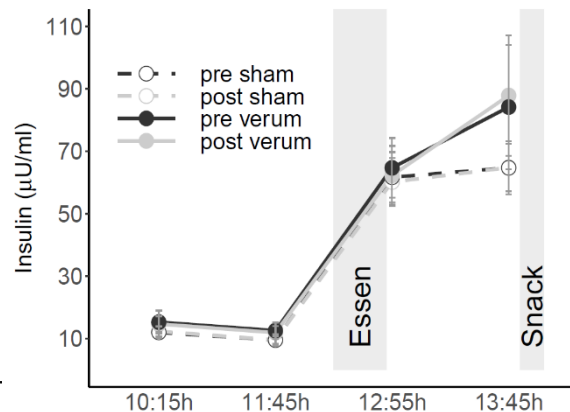


Abbildung 4 Insulin

Darstellung des Mittelwertes \pm des Standardfehlers der Insulinkonzentrationen unter basalen Bedingungen, im Vormittagsverlauf um 11:45 Uhr, direkt nach dem Essen um 12:55 Uhr und 50 Minuten nach Beendigung des Essens um 13:45 Uhr, vor (schwarze Linie) und nach 5-wöchiger Vagusnervstimulation (graue Linie). Die ausgefüllten Kreise stellen die Verumgruppe dar, die leeren Kreise die Shamgruppe. N=34.

3.5.1 GLP-1

Bei der Auswertung der GLP-1-Konzentration wurden zwei unvollständige Datensätze aus der Analyse ausgeschlossen. In der Varianzanalyse ergab sich für die GLP-1-Konzentration, dass die Haupteffekte Zeit und Behandlung statistisch signifikant waren, nicht aber der Haupteffekt Gruppe: Haupteffekt Behandlung: ($F_{1,30} = 21,77$, $p < 0,001$, partielles $\eta^2 = 0,42$); Haupteffekt Zeit: ($F_{3,90} = 39,79$, $p < 0,001$, partielles $\eta^2 = 0,57$); Haupteffekt Gruppe: ($F_{1,30} = 2,60$, $p = 0,117$, partielles $\eta^2 = 0,08$). Die Interaktion Gruppe und Zeit war ebenfalls signifikant: Interaktion Gruppe x Zeit ($F_{3,90} = 5,23$, $p = 0,009$, partielles $\eta^2 = 0,15$). Die Interaktionen Gruppe und Behandlung, Behandlung und Zeit und die Interaktion aller drei Haupteffekte waren jedoch nicht signifikant (alle $F < 1$, alle $p > 0,3$).

Die GLP-1 Konzentration veränderte sich also signifikant über den Verlauf des Versuchstages, was in einer post-hoc Analyse sowohl für die Sham- als auch für die Verumgruppe galt (alle $F > 30$, alle $p < 0,001$). Zusätzlich zeigte sich in der post-hoc-Analyse, dass es einen statistisch signifikanten Unterschied zwischen der Sham- und Verumgruppe an den Messzeitpunkten 3 und 4 gab, nicht jedoch an den Messzeitpunkten 1 und 2:

Interaktion Gruppe x Messzeitpunkt 3 ($F_{1,62} = 10,36$, $p = 0,002$, partielles $\eta^2 = 0,01$);
 Interaktion Gruppe x Messzeitpunkt 4 ($F_{1,62} = 5,41$, $p = 0,009$, partielles $\eta^2 = 0,08$); Interaktion
 Gruppe x Messzeitpunkt 1 ($F_{1,62} = 0,14$, $p = 0,71$, partielles $\eta^2 = 0,002$); Interaktion Gruppe x
 Messzeitpunkt 2 ($F_{1,62} = 0,84$, $p = 0,36$, partielles $\eta^2 = 0,013$).

Ausgehend von der mittleren basalen GLP-1-Konzentration blieb die GLP-1-Konzentration zum zweiten Messzeitpunkt um 11:45 Uhr in beiden Gruppen annähernd konstant und stieg in der Shamgruppe, nach der Mahlzeit, zum Messzeitpunkt 3, um 12:55 Uhr stark an, was in der Verumgruppe signifikant weniger stark der Fall war. Danach stieg sie in beiden Gruppen bis zum letzten Messzeitpunkt um 13:45 Uhr jeweils leicht an, unterschied sich aber immer noch signifikant (siehe Abbildung 5 GLP-1).

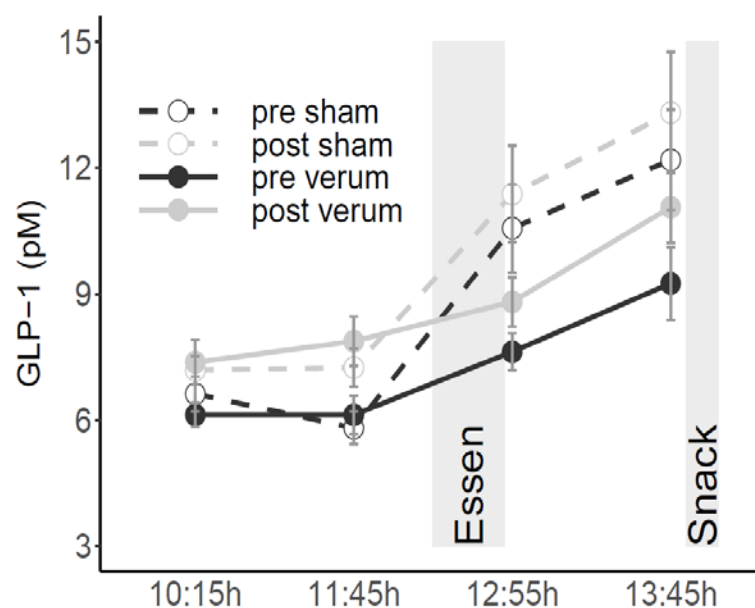


Abbildung 5 GLP-1

Darstellung des Mittelwertes \pm des Standardfehlers der GLP-1 Konzentrationen unter basalen Bedingungen, im Vormittagsverlauf um 11:45 Uhr, direkt nach dem Essen um 12:55 Uhr und 50 Minuten nach Beendigung des Essens um 13:45 Uhr, vor (schwarze Linie) und nach 5-wöchiger Vagusnervstimulation (graue Linie). Die ausgefüllten Kreise stellen die Verumgruppe dar, die leeren Kreise die Shamgruppe. $N=34$.

3.5.2 Hormonelle Gegenregulation

In der Varianzanalyse ergaben sich für die ACTH-Konzentration keine statistisch signifikanten Haupteffekte für Gruppe oder Behandlung sowie die Interaktion zwischen den Haupteffekten Gruppe, Behandlung und Zeit (alle $F < 1,7$, alle $p > 0,2$). Lediglich der Haupteffekt Zeit war signifikant: Haupteffekt Zeit: ($F_{3, 96} = 4,38$, $p = 0,023$, partielles $\eta^2 = 0,12$).

Die ACTH-Konzentration veränderte sich also signifikant über den Verlauf des Versuchstages, was allerdings nicht abhängig von der Gruppenzugehörigkeit oder der Vagusnervstimulation war (siehe Abbildung 6 ACTH).

In der Varianzanalyse ergaben sich für die Cortisol-Konzentration keine statistisch signifikanten Haupteffekte für Gruppe oder Behandlung sowie die Interaktion zwischen den Haupteffekten Gruppe, Behandlung und Zeit (alle $F < 0,7$, alle $p > 0,11$). Lediglich der Haupteffekt Zeit war signifikant: Haupteffekt Zeit: ($F_{3, 96} = 4,00$, $p = 0,015$, partielles $\eta^2 = 0,11$).

Die Cortisol-Konzentration veränderte sich also signifikant über den Verlauf des Versuchstages, was allerdings nicht abhängig von der Gruppenzugehörigkeit oder der Vagusnervstimulation war (siehe Abbildung 7 Cortisol).

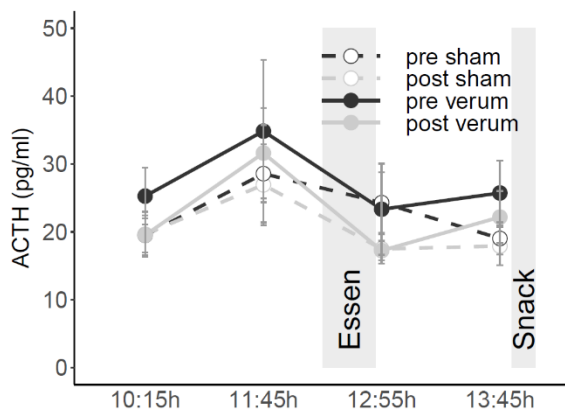


Abbildung 6 ACTH

Darstellung des Mittelwertes \pm des Standardfehlers der ACTH-Konzentrationen unter basalen Bedingungen, im Vormittagsverlauf um 11:45 Uhr, direkt nach dem Essen um 12:55 Uhr und 50 Minuten nach Beendigung des Essens um 13:45 Uhr, vor (schwarze Linie) und nach 5-wöchiger Vagusnervstimulation (graue Linie). Die ausgefüllten Kreise stellen die Verumgruppe dar, die leeren Kreise die Shamgruppe. N=34.

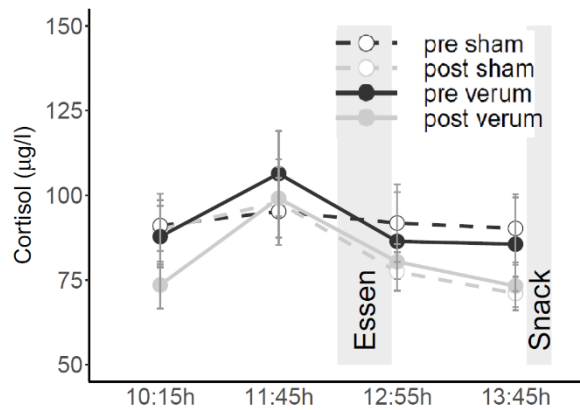


Abbildung 7 Cortisol

Darstellung des Mittelwertes \pm des Standardfehlers der Cortisolkonzentrationen unter basalen Bedingungen, im Vormittagsverlauf um 11:45 Uhr, direkt nach dem Essen um 12:55 Uhr und 50 Minuten nach Beendigung des Essens um 13:45 Uhr, vor (schwarze Linie) und nach 5-wöchiger Vagusnervstimulation (graue Linie). Die ausgefüllten Kreise stellen die Verumgruppe dar, die leeren Kreise die Shamgruppe. N=34.

3.5.3 Ghrelin

In der Varianzanalyse ergaben sich für die Ghrelin-Konzentration keine statistisch signifikanten Haupteffekte für Gruppe oder Behandlung sowie die Interaktion zwischen den Haupteffekten Gruppe, Behandlung und Zeit (alle $F < 1,4$, alle $p > 0,3$). Lediglich der Haupteffekt Zeit war signifikant: Haupteffekt Zeit: ($F_{3, 96} = 30,39$, $p < 0,001$ partielles $\eta^2 = 0,487$).

Die Ghrelin-Konzentration veränderte sich also signifikant über den Verlauf des Versuchstages, was allerdings nicht abhängig von der Gruppenzugehörigkeit oder der Vagusnervstimulation war (siehe Abbildung 8 Ghrelin).

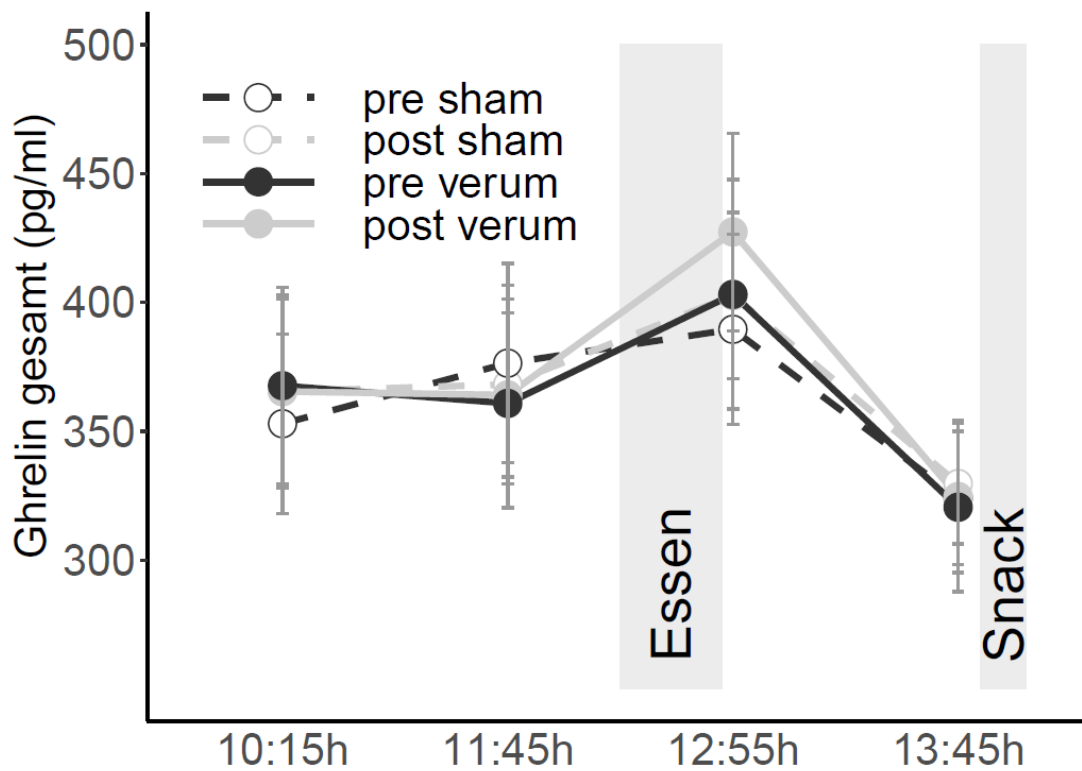


Abbildung 8 Ghrelin

Darstellung des Mittelwertes \pm des Standardfehlers der Ghrelinkonzentratione unter basalen Bedingungen, im Vormittagsverlauf um 11:45 Uhr, direkt nach dem Essen um 12:55 Uhr und 50 Minuten nach Beendigung des Essens um 13:45 Uhr, vor (schwarze Linie) und nach 5-wöchiger Vagusnervstimulation (graue Linie). Die ausgefüllten Kreise stellen die Verumgruppe dar, die leeren Kreise die Shamgruppe. N=34.

3.6 Effekte auf den Fettstoffwechsel

Gesamtcholesterin

In der Varianzanalyse ergab sich für die Gesamtcholesterinkonzentration ein statistisch signifikanter Haupteffekt für Behandlung, nicht jedoch für Gruppe sowie die Interaktion zwischen den Haupteffekten Gruppe und Behandlung: Haupteffekt Behandlung: ($F_{1, 32} = 9,38$, $p=0,004$ partielles $\eta^2 = 0,227$); Haupteffekt Gruppe: ($F_{1, 32} = 0,033$, $p=0,857$, partielles $\eta^2 = 0,001$); Gruppe x Behandlung: ($F_{1, 32} = 0,037$, $p=0,566$, partielles $\eta^2 = 0,01$).

Die Gesamtcholesterinkonzentration veränderte sich also signifikant während der Vagusnervstimulation, was in einer post-hoc-Analyse nur für die Verumgruppe galt, nicht jedoch für die Shamgruppe: Verumgruppe x Behandlung: ($F_{1, 16} = 6,02$, $p=0,026$, partielles $\eta^2 = 0,031$); Shamgruppe x Behandlung: ($F_{1, 16} = 3,43$, $p=0,083$, partielles $\eta^2 = 0,006$); siehe Abbildung 9 Blutfette.

LDL

In der Varianzanalyse ergab sich für die LDL-Konzentration ein statistisch signifikanter Haupteffekt für Behandlung, nicht jedoch für Gruppe sowie die Interaktion zwischen den Haupteffekten Gruppe und Behandlung: Haupteffekt Behandlung: ($F_{1, 32} = 7,299$, $p=0,011$ partielles $\eta^2 = 0,186$); Haupteffekt Gruppe: ($F_{1, 32} = 0,053$, $p=0,82$, partielles $\eta^2 = 0,002$); Gruppe x Behandlung: ($F_{1, 32} = 0,119$, $p=0,732$, partielles $\eta^2 = 0,004$).

Die LDL Konzentration veränderte sich also signifikant während der Vagusnervstimulation, was in einer post-hoc-Analyse aber nicht für die jeweils einzelnen Gruppen galt: Verumgruppe x Behandlung: ($F_{1, 16} = 4,201$, $p=0,057$, partielles $\eta^2 = 0,006$); Shamgruppe x Behandlung: ($F_{1, 16} = 3,101$, $p=0,097$, partielles $\eta^2 = 0,004$); siehe Abbildung 9 Blutfette.

HDL

In der Varianzanalyse ergab sich für die HDL-Konzentration ein statistisch signifikanter Haupteffekt für Behandlung, nicht jedoch für Gruppe sowie die Interaktion zwischen den Haupteffekten Gruppe und Behandlung: Haupteffekt Behandlung: ($F_{1, 32} = 5,967$, $p=0,02$,

partielles $\eta^2 = 0,157$); Haupteffekt Gruppe ($F_{1, 32} = 0,002$, $p=0,966$, partielles $\eta^2 < 0,001$); Gruppe x Behandlung: ($F_{1, 32} = 1,653$, $p=0,208$, partielles $\eta^2 = 0,049$).

Die HDL-Konzentration veränderte sich also signifikant während der Vagusnervstimulation, was in einer post-hoc-Analyse nur für die Shamgruppe galt, nicht jedoch für die Verumgruppe: Verumgruppe x Behandlung: ($F_{1, 16} = 0,8$, $p=0,384$, partielles $\eta^2 = 0,004$); Shamgruppe x Behandlung: ($F_{1, 16} = 5,972$, $p=0,026$, partielles $\eta^2 = 0,039$).

Triglyceride

In der Varianzanalyse ergab sich für die Triglyceridkonzentration kein statistisch signifikanter Haupteffekt für Behandlung, Gruppe sowie der bei Interaktion zwischen den Haupteffekten Gruppe und Behandlung (alle $F < 1,5$, alle $p > 0,2$).

Leptin

In der Varianzanalyse ergab sich für die Leptinkonzentration kein statistisch signifikanter Haupteffekt für Behandlung, Gruppe sowie die Interaktion zwischen den Haupteffekten Gruppe und Behandlung (alle $F < 0,9$, alle $p > 0,3$).

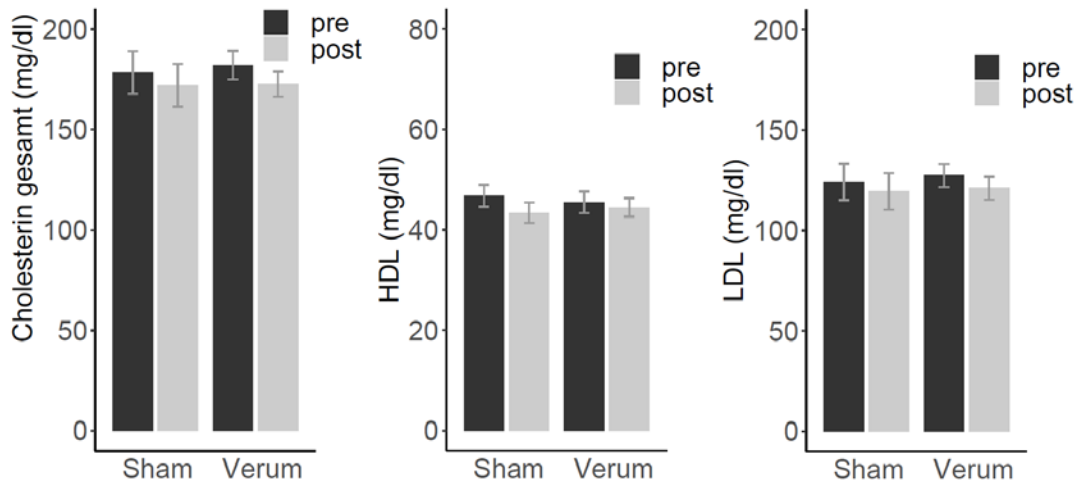


Abbildung 9 Blutfette

Darstellung des Mittelwertes \pm des Standardfehlers der Konzentration des Gesamtcholesterin, von high-density lipoprotein (HDL) und low-density lipoprotein (LDL) im nüchternen Zustand vor (schwarze Balken) und nach 5-wöchiger Vagusnervstimulation (graue Balken) in der Verum- und Shamgruppe; N=17.

	Cholesterin Gesamt (mg/dl)	HDL Cholesterin (mg/dl)	LDL Cholesterin (mg/dl)	Triglyzerid (mg/dl)	HbA1c (%)	Leptin (ng/ml)
Verum- gruppe (n = 17)	182 \pm 7,0	45,5 \pm 2,1	127,4 \pm 5,8	116,4 \pm	5,2 \pm 0,1	12,1 \pm 2,6
	vs. 173 \pm 6,1	vs. 44,5 \pm 1,8	vs. 121,2 \pm 5,8	14,7 vs. 112,3 \pm 15,5	vs. 5,2 \pm 0,1	vs. 12,2 \pm 2,1
Sham- gruppe (n = 17)	178,4 \pm 10,5	46,8 \pm 2,2	124,3 \pm 9,0	139,5 \pm	5,1 \pm 0,1	9,6 \pm 1,1
	vs. 172 \pm 10,6	vs. 43,4 \pm 2,1	vs. 119,5 \pm 9	18,8 vs. 120,8 \pm 16,2	vs. 5,1 \pm 0,1	vs. 9,9 \pm 1,4

Tabelle 5 Blutfette, Leptin und HbA1

3.7 Fragebögen

In der Varianzanalyse des mehrdimensionalen Befindlichkeitsfragebogen (MDBF) ergab sich ein signifikanter Unterschied in der Verumgruppe für die subjektiven Gefühle der Kategorien „gute/schlechte Laune“ für die Behandlung x Zeit-Interaktion ($F_{3,48} = 5,148$, $p = 0,001$), was für die Behandlung x Zeit-Interaktion der Shamgruppe ($p > 0,2$) nicht galt. Auch in der Varianzanalyse des Gruppenvergleichs für dieselbe Kategorie war die Interaktion Behandlung x Zeit x Gruppe nicht signifikant unterschiedlich ($p > 0,5$).

In den weiteren Kategorien „Wachheit/Müdigkeit“ und „Ruhe/Aufregung“ unterschieden sich die Bedingungen ebenfalls nicht in der Varianzanalyse (alle $p > 0,2$). In allen Kategorien des mehrdimensionalen Befindlichkeitsfragebogens zeigte sich kein Unterschied zwischen den Gruppen (alle $p > 0,5$ für Interaktion Behandlung x Zeit x Gruppe).

Die Symptom-Rating-Skala zeigte bezüglich der Elemente für eine Neuroglykopenie in der Varianzanalyse keine Unterschiede vor und nach der Stimulation in den jeweiligen Gruppen für die Interaktion Behandlung x Zeit (alle $p > 0,1$ für die Verumgruppe, alle $p > 0,2$ für die Shamgruppe). Außerdem fanden sich in der Varianzanalyse keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen für die Interaktion Behandlung x Zeit x Gruppe (alle $p > 0,3$). Auch für die autonomen Symptome ließen sich keine Unterschiede zwischen den Bedingungen ($p = 0,13$ für ANOVA Faktor „Behandlung“ in der Verumgruppe; $p = 0,25$ für „Behandlung“ in der Shamgruppe) feststellen. In der Varianzanalyse des Gruppenvergleichs ließ sich ebenfalls kein signifikanter Unterschied zwischen den Gruppen beobachten $p > 0,2$ für die Behandlung x Gruppen x Zeit-Interaktion.

Die Bewertung des Parameters „Hunger“ in der visuellen analogen Skala zeigte keine Differenz zwischen den Bedingungen sowohl für die Verumgruppe ($p = 0,19$ für ANOVA-Faktor „Behandlung“) als auch für die Shamgruppe ($p = 0,38$ für ANOVA-Faktor „Behandlung“). Ebenfalls kein Unterschied fand sich in der Bewertung für „Sättigung“ ($p = 0,83$ für „Behandlung“ in der Verumgruppe; $p = 0,59$ für „Behandlung“ in der Shamgruppe) und der Bewertung für „Bedürfnis nach Essen“ ($p = 0,89$ für „Behandlung“ in der Verumgruppe; $p = 0,64$ für „Behandlung“ in der Shamgruppe).

Der Gruppenvergleich wies einen Trend zu einer höheren Bewertung für „Hunger“ postprandial in der Shamgruppe im Vergleich mit der Verumgruppe nach der 5-wöchigen

Stimulation ($F_{3, 96} = 3,413$, $p=0,065$ für ANOVA Faktor "Behandlung x Gruppe x Zeit") auf. Die Bewertung der Parameter „Sättigung“ und „Bedürfnis nach Essen“ unterschied sich jedoch nicht zwischen den Gruppen (alle $p>0,1$).

3.8 Hedonisches Essverhalten / Snacktest

Es zeigte sich kein signifikanter Unterschied in der Aufnahme der gesamten Kalorien, von Kohlenhydraten, von Fett und von Protein im sattten Zustand der Verumgruppe nach 5-wöchiger Stimulation im gepaartem t-Test im Vergleich zu den Ausgangswerten (gesamt Kalorien $284,44 \pm 51,33$ vs. $315,26 \pm 49,75$ Kcal, $t(16) = -0,59$, $p = 0,56$; Kohlenhydrate $28,42 \pm 5,10$ vs. $30,34 \pm 5,24$ g, $t(16) = -0,39$, $p = 0,70$; Fett $16,01 \pm 3,29$ vs. $18,23 \pm 3,19$ g, $t(16) = -0,66$, $p = 0,52$; Protein $5,58 \pm 1,11$ vs. $6,24 \pm 1,19$ g, $t(16) = -0,60$, $p = 0,56$).

Es zeigte sich allerdings ein signifikanter Unterschied in der Aufnahme der gesamten Kalorien, von Fett und von Protein im sattten Zustand der Shamgruppe nach 5-wöchiger Stimulation im gepaarten t-Test (gesamt Kalorien $319,12 \pm 70,23$ vs. $397,71 \pm 78,80$ Kcal, $t(16) = -2,6$, $p = 0,02$; Fett $19,11 \pm 4,77$ vs. $23,99 \pm 5,14$ g, $t(16) = -2,87$, $p = 0,01$; Protein $6,93 \pm 1,70$ vs. $8,63 \pm 1,93$ g, $t(16) = -2,87$, $p = 0,01$). Nur für die Aufnahme von Kohlenhydraten gab es keinen signifikanten Unterschied ($28,64 \pm 5,79$ vs. $35,32 \pm 7,11$ g, $t(16) = -1,83$, $p = 0,08$).

Jedoch war der Unterschied zwischen der Verum- und Shamgruppe in der gesamt Kalorienaufnahme sowohl vor als auch nach Stimulation im t-Test für unabhängige Gruppen nicht signifikant (($284,44 \pm 51,33$ vs. $319,12 \pm 70,23$ Kcal, $t(32) = -0,44$, $p = 0,66$ prä- Stimulation); ($315,26 \pm 49,75$ vs. $397,71 \pm 78,80$ Kcal, $t(32) = -0,91$, $p = 0,37$ post- Stimulation)). Ebenso war der Unterschied zwischen den Gruppen, bezogen auf die einzelnen Bestandteile der Snacks (Fett, Kohlenhydrate, Proteine) nicht signifikant (alle $p > 0,45$).

Somit wurden in der Shamgruppe insgesamt am zweiten Versuchstag mehr Snacks konsumiert, was in der Verumgruppe nicht der Fall war, wobei beide Gruppen ähnliche Ausgangsmengen an Snacks konsumiert hatten. Diese unterschieden sich auch nicht in ihrer Präferenz für eine bestimmte Zusammensetzung der Snacks.

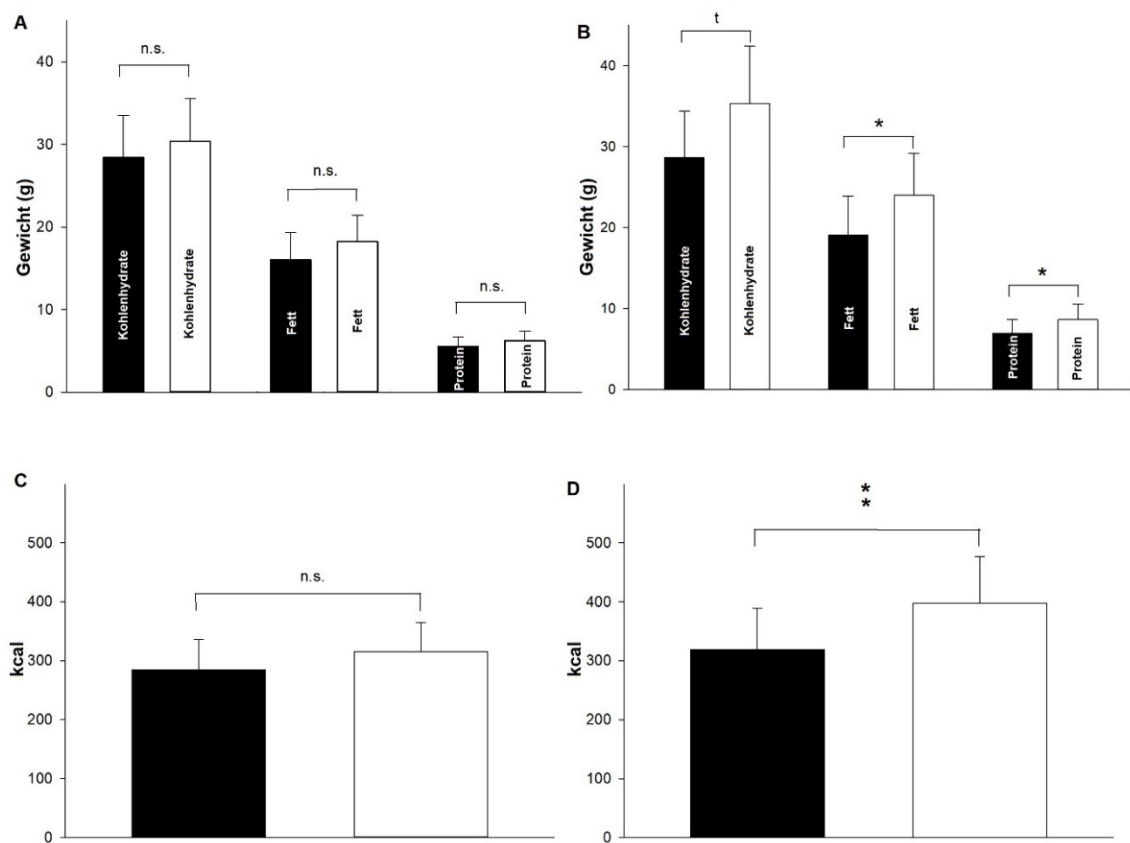


Abbildung 10 Hedonisches Essverhalten

Darstellung des Mittelwertes \pm des Standardfehlers des Gesamtgewichts der Kohlenhydrate, Fette und Proteine und der gesamten Kalorienaufnahme im gesättigten Zustand vor der Stimulation (schwarze Balken) und nach 5-wöchiger Vagusnervstimulation (weiße Balken). Diagramme A und C zeigen die Verumgruppe, die Diagramme B und D die Shamgruppe. $tP \leq 0.1$, $*P \leq 0.05$, $**P < 0.01$ berechnet durch gepaarten T-Test; $N=17$.

4. Diskussion

In multiplen tier- und humanexperimentellen Studien ließen sich metabolische Effekte einer Vagusnervstimulation insbesondere auf den Energie- und Glukosehaushalt beobachten. Allerdings sind die Studiendesigns hinsichtlich der verwendeten Stimulationsart, des Stimulationsorts und der Stimulationsdauer sehr heterogen und nicht direkt miteinander vergleichbar. Bisher fehlen außerdem prospektive randomisierte, kontrollierte Studien beim Menschen, um die Datenlage zu möglichen metabolischen Effekten zu objektivieren und somit gegebenenfalls die Vagusnervstimulation als eine therapeutische Option in der Behandlung metabolischer Erkrankungen zu etablieren. In dieser Studie untersuchten wir die Auswirkungen der mehrwöchigen nicht-invasiven, transkutanen Vagusnervstimulation auf den Glukose- und Fettstoffwechsel, endokrine Parameter, die Körperzusammensetzung, den Energiegrundumsatz und das Essverhalten bei gesunden, adipösen Männern.

Die hier präsentierten Studienergebnisse zeigen, dass nach 5-wöchiger tVNS eine signifikante postprandiale Reduktion der Blutglukosekonzentration nach einer standardisierten Mahlzeit erfolgte. Allerdings fanden wir keine signifikante Änderung des Körpergewichts, der Körperzusammensetzung und des Energieumsatzes. Dazu passend waren auch die Blutkonzentration von Leptin, als mit der Menge des Fettgewebes korrelierenden Hormons, sowie die Parameter des Fettstoffwechsels (Gesamtcholesterin, LDL, HDL und Triglyzeridkonzentrationen) nicht signifikant verändert. Auch Herzfrequenz, Blutdruck und hedonisches Essverhalten blieben durch die tVNS unbeeinflusst. Ebenso zeigten sich keine Veränderungen bei der subjektiven Bewertung der Stimmung, des Hungers, der Sättigung, dem Wunsch zu essen und bei autonomen und neuroglykopenen Symptomen. Korrespondierend konnten wir keine Konzentrationsveränderung des Hormons Ghrelin nachweisen. Auch die Konzentration gegenregulatorischer Hormone, wie ACTH und Cortisol, waren vor und nach tVNS vergleichbar. Diese Ergebnisse deuten darauf hin, dass die tVNS die postprandiale Glukoseverwertung positiv beeinflussen könnte, wobei ein möglicher Mechanismus dazu die Steigerung der postprandialen GLP-1-Sekretion sein kann. Es scheint außerdem möglich, dass der Cholesterinstoffwechsel durch die mehrwöchige tVNS modulierbar sein könnte.

4.1 Einordnung der Ergebnisse in aktuelle Literatur

4.1.1 Effekte auf den Glukosestoffwechsel

Unsere Daten weisen darauf hin, dass durch eine mehrwöchige tVNS die Glukosetoleranz postprandial positiv beeinflusst werden könnte. Als Erklärung des zugrundeliegenden Mechanismus existieren bereits einige Studiendaten. So konnte bereits im Jahr 1973 von Bergmann und Kollegen im Rahmen von Experimenten am isolierten Hundepankreas eine erhöhte Insulinausschüttung durch VNS nachgewiesen werden (Bergman und Miller 1973). Zusätzlich gibt es histologische Studien, die zeigen, dass vagale Afferenzen in den Pankreas-Inseln vorhanden sind, was auf eine Funktion des Vagus als Detektor für die Ausschüttung von Pankreashormonen hinweist (Neuhuber 1989). Diese Funktion ließ sich in einer neueren Studie in Mäusen nachweisen, wo die Anwesenheit von Insulin zu einer Aktivierung der vagalen Afferenzen des Pankreas führte, insbesondere solcher, die aus dem inferioren (nodosen) Ganglion des Vagus stammen (Iwasaki et al. 2013). Dies zeigt, dass neben der direkten Insulinwirkung auch die Aktivierung des Vagusnervs als Rückkopplung des Insulinstoffwechsels an das ZNS dienen kann. Zusätzlich zeigten die Autoren, dass in übergewichtigen Knock-out-Mäusen die Aktivierung des Vagus signifikant verringert war, was einen Zusammenhang zwischen der Gewichtshomöostase und intakter Vagusfunktion suggeriert. Auch die direkte Wirkung der in unserer Studie verwendeten Form der VNS, der tVNS, auf die Blutglukosespiegel ist im Tiermodell eindeutig belegt worden. Dort wurde gezeigt, dass in diabetischen, übergewichtigen Mäusen eine 5-wöchige tVNS eine Reduktion der Blutglukosekonzentration auf normale Werte zur Folge hatte (Wang et al. 2015). Die Übertragbarkeit dieser Effekte auf den Menschen konnte in einer randomisierten Pilotstudie demonstriert werden, die zeigte, dass Patienten mit eingeschränkter Glukosetoleranz nach 12-wöchiger tVNS ebenfalls signifikant niedrigere postprandiale Blutglukosewerte aufwiesen (Huang et al. 2014). Diese Beobachtung deckt sich mit unseren Ergebnissen einer erniedrigten postprandialen Glukose nach dem Verzehr einer standardisierten Mahlzeit nach Behandlung mit einer 5-wöchigen tVNS. Unsere Probanden wurden vor Beginn der Studie auf das Vorliegen eines manifesten Diabetes mellitus untersucht und beim Vorliegen eines solchen ausgeschlossen. Allerdings ergab die Berechnung des HOMA-IR eine hohe Wahrscheinlichkeit für das Vorliegen einer beginnenden Insulinresistenz. Der für den Nachweis einer gestörten Glukosetoleranz nötige orale Glukosetoleranz-Test war jedoch nicht in unserem Studienprotokoll enthalten,

sodass hierzu in Bezug auf unser Probandenkollektiv keine Aussage möglich ist. Das von Huang und Kollegen untersuchte Studienkollektiv bestand ebenfalls aus Probanden, bei denen eine Insulinresistenz festgestellt wurde. Vergleichbar zu unseren Ergebnissen, konnten die Autoren ebenfalls keine Effekte auf den HbA1c-Wert, die Nüchtern glukose, das Körpergewicht und den BMI nach 12-wöchiger tVNS nachweisen (Huang et al. 2014). Dies deckt sich auch mit den Ergebnissen anderer Studien zur tVNS, die auch keine Änderungen des Gewichts oder des BMI unter Stimulation beobachten konnten (Koren und Holmes 2006; Kansagra et al. 2010). Im Gegensatz dazu fand eine Studie bei übergewichtigen Menschen mit Typ-2-Diabetes eine Reduktion des Gewichts, des HbA1c-Wert und auch des Blutdrucks (Shikora et al. 2013). Allerdings wurde hier der Vagusnerv mittels implantierbaren Geräts intermittierend über 12 Monate blockiert, so dass die Methodik und Zeitdauer nicht mit der bei uns verwendeten 5-wöchigen tVNS verglichen werden kann. Änderungen des Blutdrucks oder der Herzfrequenz konnten von uns nicht nachgewiesen werden. Ergänzend sollte zudem angemerkt werden, dass in der erwähnten Studie von Shikora et al. die Blutdrucksenkung hauptsächlich bei Probanden erfolgte, die vorher eine manifeste Hypertonie aufwiesen, was in unserer Studie ein Ausschlusskriterium darstellte.

Das aktuelle Verständnis, wie der Vagusnerv mit dem Glukosestoffwechsel interagiert, ist noch sehr unvollständig. Eine eindeutige Aussage über die Mechanismen, die der Senkung der postprandialen Glukose in unserer Studie zugrunde liegen, lässt sich nicht treffen. Allerdings ist eine mögliche Erklärung für die postprandiale Senkung des Blutzuckers bei konstanten Insulinspiegeln eine erhöhte Sensitivität auf Insulin und somit eine vermehrte Aufnahme von Glukose aus der Blutbahn in die Skelettmuskulatur. Diese Wirkweise der langzeitigen VNS konnte in einer Studie an adipösen Zwergschweinen nachgewiesen werden. In der Studie wurde ihnen ein abdominaler Vagusnervstimulator implantiert und eine 12-wöchige Stimulation damit durchgeführt. Danach wurde die Glukoseaufnahme und Insulinsensitivität mittels PET (Positronen-Emissions-Tomografie) während eines isoglykämischen Clamps gemessen. Dort zeigte sich eine signifikant erhöhte Insulinsensitivität durch sowohl periphere als auch zentrale Effekte. Es konnte also eine VNS-abhängige Insulinsensitivitätssteigerung und somit erhöhte Glukoseaufnahme in die Leber und Skelettmuskulatur nachgewiesen werden. Außerdem fanden die Autoren einen erhöhten Glukosemetabolismus in bestimmten Bereichen des Gehirns (cingulate and

prefrontal brain areas) (Malbert et al. 2017). Ob unsere Ergebnisse durch diese Insulinsensitivitätssteigerung bedingt sind, lässt sich aus unserem Studiendesign nicht schließen. Eine Rolle auf die Beeinflussung der postprandialen Glukose könnte aber auch das Inkretin GLP-1 haben, was im Weiteren erläutert werden soll.

4.1.2 Effekte auf GLP-1

In unserer Auswertung zeigte sich eine statisch signifikante Veränderung der postprandialen GLP-1-Konzentration nach 5-wöchiger tVNS in gesunden, übergewichtigen Männern. Allerdings ergibt sich im Gruppenvergleich, dass bereits vor Beginn der Stimulation ein unterschiedlicher postprandialer GLP-1-Anstieg vorlag. Es kann daher nicht sicher die tVNS als auslösender Stimulus der Inkretinveränderung beschrieben werden. Bisherige Studien weisen jedoch eine enge Interaktion des Vagusnervs mit der GLP-1-Freisetzung im GI-Trakt nach. Die Lamina propria der intestinalen Mukosa und weitere abdominale Organe werden durch vagale afferente Neurone (VAN) innerviert (Berthoud und Neuhuber 2000). Diese afferenten Vagusfasern besitzen Rezeptoren, die GLP-1 binden und bei GLP-1-Gabe zu einer Aktivierung der vagalen afferente Neurone führen (Nakabayashi et al. 1996; Bucinskaite et al. 2009). Dies deutet daraufhin, dass die zentralnervösen GLP-1-Effekte über den Vagusnerv vermittelt werden können. Ein Knockout der GLP-1-Rezeptoren in vagalen Afferenzen führt in Mäusen zu einer verminderten Wirkung von GLP-1 und somit zu erhöhten postprandialen Blutzuckerspiegeln und gleichzeitig zu erhöhter Nahrungsaufnahme (Krieger et al. 2016).

Eine weitere Wirkungsweise von GLP-1 ist der sogenannten „Inkretin-Effekt“, welcher eine verstärkte Sekretion von Insulin bei oraler Nahrungsaufnahme im Vergleich zur intravenösen Applikation beschreibt und somit zu einer stärkeren Senkung der postprandialen Glukose beiträgt (Nauck und Meier 2016). Es wird angenommen das GLP-1 als Reaktion auf die Nahrungsaufnahme aus den enteroendokrinen L-Zellen des Verdauungstrakts ausgeschüttet wird und an die entsprechenden Rezeptoren auf den β -Zellen des Pankreas bindet und dort eine vermehrte Insulinsekretion durch erhöhte Transkription des Zielgens auslöst (Drucker et al. 1987). Allerdings wird die alleinige Attribution dieses Effekts auf die direkte Wirkung des Hormons auf die endokrinen Inseln des Pankreas zunehmend hinterfragt. Insbesondere bei der kurzen biologischen

Halbwertszeit der aktiven Form von GLP-1 und seinem konsekutiven Abbau über Dipeptidylpeptidase 4 (DPP-IV) scheint eine direkte Wirkung im Pankreas und insbesondere im ZNS unwahrscheinlich. Als alternativer Vermittler kommt der Vagusnerv in Frage, was als „Neuroinkretin-Effekt“ in aktuellen Studien beschrieben wird. Es konnte gezeigt werden, dass die Ausschüttung von GLP-1 auch Rezeptoren in der Portal- und Lebervene stimuliert (Burcelin et al. 2001). Dies führt zu einer Aktivierung des Vagusnervs und somit des Nucleus tractus solitarii, welcher wiederum auf hypothalamische Kerne projiziert (Donath und Burcelin 2013). Es wird außerdem postuliert, dass ein Teil des „Inkretin-Effekts“ durch eine Rückkopplung in die Peripherie bedingt ist, welche dort eine erhöhte Ausschüttung von Insulin bewirken könnte. Diese Hypothese wird durch die Beobachtung gestützt, dass ein GLP-1-Analogon seine verstärkende Wirkung auf die Insulinsekretion in vagotomierten Mäusen verlor (Charpentier et al. 2018). Die Datenlage zu der Relevanz dieser neuronalen Komponente des „Inkretin-Effekts“ ist jedoch heterogen und scheint auch dosisabhängig zu sein (Ahrén 2004). Somit gibt es zwar Hinweise auf eine Interaktion von Vagusnerv, GLP-1 und Insulin, welche wir durch die erhobenen Daten unserer Studie mit Anwendung der tVNS nicht detaillierter untersuchen können.

Eine zusätzliche, insulinunabhängige, Wirkung von GLP-1 auf den Glukosespiegel wird aktuell diskutiert. So könnte eine erhöhte GLP-1-Konzentration die hepatische Neogenese von Glukose senken und somit zu einer erniedrigten postprandialen Blutglukosekonzentration führen. In einer klinischen Studie an Menschen ließ sich dieses Phänomen, bei konstant gehaltenen Insulin und Glukagonspiegeln, beobachten (Seghieri et al. 2013). Bedingt durch unser Studiendesign lassen sich jedoch keine spezifischen Schlussfolgerungen zum Mechanismus der festgestellten postprandialen Glukosebeeinflussung durch die tVNS treffen. Weitere detaillierte Studien werden notwendig sein, um eine mögliche Imitation des „Neuroinkretin-Effektes“ durch die tVNS weiter zu untersuchen.

4.1.3 Effekte auf den Fettstoffwechsel

Nach 5-wöchiger tVNS bei gesunden, übergewichtigen Männern konnte in der post-hoc-Analyse eine signifikante Reduktion des Gesamtcholesterins in der Verumgruppe sowie ein Trend zu erniedrigten LDL-Cholesterin Werten nachgewiesen werden. Eine Interaktion

zwischen transkutaner Vagusnervstimulation und Fettstoffwechsel erscheint demnach möglich. Auch tierexperimentelle Studien an Ratten mit langzeitiger subdiaphragmaler VNS konnte bereits eine Reduktion von Gesamtcholesterin zeigen (Gil et al. 2012). Ebenso wies eine vorangegangene humane Studie mit übergewichtigen Probanden, bei denen eine chirurgische Implantation eines Vagusnervblockers vorgenommen wurde, eine signifikante Reduktion des mittleren LDL-Cholesterinwertes neben weiteren metabolischen Verbesserungen nach 12 Monaten nach (Apovian et al. 2017). Die dort untersuchte Subpopulation zeigte jedoch schon primär pathologisch erhöhte Konzentrationen von Cholesterin, wohingegen unsere Probanden im Mittel ein normales Gesamtcholesterin und LDL-Cholesterin aufwiesen. Ebenso zu beachten ist die unterschiedliche Stimulationsart sowie die Stimulationsdauer, so dass die Untersuchungsergebnisse nicht unmittelbar vergleichbar sind. Auch ist zu vermuten, dass der beschriebene Effekt umso größer ist, je weiter die untersuchte Population von den Normwerten abweicht. Die genannte Studie von Apovian et al. (2017) dokumentierte zusätzlich zu der Cholesterinsenkung eine Senkung der Triglyzeridkonzentration. Diese war in unserer Studie nicht nachweisbar, was ggf. auch durch die fehlende Gewichtsabnahme bedingt sein mag. Als möglicher Mechanismus, über den die Cholesterinsenkung durch tVNS bedingt werden könnte, wäre die oben diskutierte Beeinflussung der GLP-1-Konzentration denkbar. Es konnte gezeigt werden, dass GLP-1-Rezeptor abhängige Signalwege eine Rolle im postprandialen Lipidstoffwechsel spielen (Campbell und Drucker 2013). Außerdem zeigte eine Metanalyse, dass GLP-1-Rezeptor-Agonisten zu einer Senkung der Gesamtcholesterinmenge führen (Dalsgaard et al. 2018). Die genaueren Mechanismen sind zum jetzigen Zeitpunkt allerdings nicht bekannt und können durch unser Studiendesign nicht weiter aufgeklärt werden.

4.2 Grenzen des Studiendesigns

Das von uns gewählte Studiendesign hat mehrere Grenzen bezüglich der allgemeingültigen Aussagekraft der Effekte durch eine tVNS. Ziel war hier zunächst, diverse metabolische Effekte einer mehrwöchigen tVNS in einem randomisierten Studiendesign bei gesunden, adipösen Männern zu untersuchen, da solche Daten bisher fehlen.

Die multiplen vorbeschriebenen metabolischen Effekte, welche direkt oder indirekt durch den Vagusnerv bedingt werden, zeigten sich in den Studien nach oft deutlich längeren Zeiträumen über mehrere Monate, so dass unser Versuchszeitraum von 5 Wochen möglicherweise zu kurz war, um diese möglichen Langzeiteffekte einer tVNS nachzuweisen. Insbesondere die in anderen Studien beobachtete Gewichtsreduktion unter VNS scheint ein längerfristiger Effekt zu sein, der erst nach 6-12 Monaten beobachtet werden konnte (Apovian et al. 2017; Bonaz et al. 2019) und möglicherweise erst bei einer verlängerten Stimulationsdauer aufgetreten wäre. Außerdem gibt es mehrere Verfahren zur Beeinflussung des Vagusnervs und die Studien, in den ein Gewichtsverlust auftrat, verwendeten einen implantierten Neurostimulator zur Vagusnervstimulation. Auch gibt es Unterschiede in den Stimulationszielen, so wurde bisher häufig der abdominelle Part des Vagusnervs als Ziel verwendet, was bei einer transkutanen Stimulation wie in unserer Studie nicht möglich war. Des Weiteren kamen verschiedene Stimulationsmuster zum Einsatz, da bisher nicht vollständig klar ist, ob eine Blockade oder auch eine selektive Aktivierung der Afferenzen oder Efferenzen die gewünschten metabolischen Effekte der VNS bedingt. Insgesamt zeigen bisher durchgeführten Studien zu den metabolischen Effekten der VNS sehr heterogene und widersprüchliche Ergebnisse, was neben den oben genannten Gründen der hohen Störanfälligkeit durch die multiplen externen Einflussgrößen, wie körperliche Aktivität oder individuelle Nahrungsaufnahme, über einen langen Beobachtungszeitraum geschuldet sein kann.

Auch die relativ geringe Gruppengröße von 17 Probanden könnte dazu beigetragen haben, dass eventuelle, über den kurzen Beobachtungszeitraum gering ausgeprägte, metabolische Effekte der VNS, in unseren Ergebnissen nicht signifikant wurden. In unserer Studie wurden zudem nur Männer eingeschlossen, um mögliche hormonelle Effekte auf die untersuchten Parameter wie das Gewicht auszuschließen, so dass keine Aussage zu den möglichen geschlechtsspezifischen Effekten einer tVNS getroffen werden kann. Zusätzlich ist zu

erwähnen, dass die Effekte, wie Cholesterin- und Blutdrucksenkung, in den Vorstudien insbesondere bei Probanden beobachtet werden konnten, welche primär pathologische Messwerte aufwiesen. Ziel unserer Studie war aber zunächst die Untersuchung metabolisch gesunder Männer und potentielle Probanden mit vorhandenen metabolischen Erkrankungen, wie Diabetes mellitus oder Hypertonie, wurden durch eine Voruntersuchung detektiert und aufgrund der Einschlusskriterien nicht in die Studie aufgenommen. Hierzu benötigt es weitere Studien, welche sich primär mit dem Effekt der tvNS bei bestehendem manifestem metabolischem Syndrom beschäftigen. Auch wurden bei unserer Studie sehr viele Daten erhoben, um viele mögliche Effekte der tvNS zunächst zu überprüfen und hieraus ggf. weiterführende Studien zu konzipieren. Hieraus ergibt sich auch das Problem der multiplen Tests an derselben Stichprobe, so dass eine genauere Evaluation der einzelnen Effekte in mehreren Studien mit einer engeren Hypothesenauswahl erfolgen müsste, um die beobachteten Effekte zu bestätigen oder die Unwirksamkeit der tvNS auf den jeweiligen Parameter zu beweisen.

In Bezug auf das Essverhalten muss angemerkt werden, dass ein standardisiertes Essen verwendet wurde, um die Vergleichbarkeit des postprandialen Energieumsatzes und des Glukosestoffwechsels zu ermöglichen. Mögliche Unterschiede in der Nahrungsaufnahme hätten sich bei freier Essenswahl - aus einem Buffet nach Belieben - eventuell zeigen lassen. Der ergänzende „Snacktest“ zur Untersuchung des hedonischen Essens fand bereits eine Stunde nach Beendigung der Standardmahlzeit statt. Der gesamte Versuchstag endete etwa 90 Minuten nach der ersten Mahlzeit, so dass der Zeitraum für die Essensaufnahme möglicherweise zu kurz gewählt war. Eine Beeinflussung des Essverhaltens ist zudem unter experimentellen, beobachteten Bedingungen nie sicher auszuschließen. Zusammengefasst könnte die Art der Mahlzeit und der Zeitablauf dazu geführt haben, dass Effekte auf das Essverhalten durch unser Studiendesign nicht registriert wurden.

4.3 Ausblick

Die in dieser Arbeit untersuchten Einflüsse einer transkutanen Vagusnervstimulation auf den Metabolismus scheinen für manche Parameter, wie den postprandialen Glukosestoffwechsel, bei adipösen Männern möglich zu sein. Insbesondere vor dem Hintergrund einer stetig zunehmenden Population an Menschen mit Adipositas sowie Diabetes mellitus Typ 2 und der damit verbundenen Steigerung der Morbidität und Mortalität ist eine Erweiterung der bisher nur sehr eingeschränkten Therapieoptionen unbedingt indiziert. Die Vagusnervstimulation ist aufgrund ihrer Breite an therapeutisch nutzbaren Möglichkeiten ein Gegenstand vieler aktueller Studien und bereits etabliert in der Therapie der refraktären Epilepsie und Depression. Häufig kommen bisher invasive Verfahren zu Einsatz, wobei der Stimulator und die Elektroden unter die Haut implantiert werden. Möglicherweise ist die transkutane Stimulation eine weniger risikoreiche und nicht-invasive Alternative.

Dabei fehlen zurzeit prospektive Studien über Langzeiteffekte der tVNS auf den Metabolismus bei Menschen. So sind beispielsweise die beschriebenen Effekte auf das Körpergewicht sehr heterogen hinsichtlich der Ergebnisse, aber auch der verwendeten Stimulationsmethode. Es sind zudem weitere Studien notwendig, die den Effekt der tVNS auf GLP-1 untersuchen und diese in Bezug auf Veränderungen im Essverhalten und Glukosestoffwechsel evaluieren. Sollte sich weitere Evidenz für einen positiven Effekt der tVNS auf die GLP-1-Konzentration demonstrieren lassen, wäre es möglich, dies für die klinische Anwendung zur Therapie von diversen metabolischen Krankheiten wie Diabetes mellitus Typ 2 und Adipositas zu nutzen. So scheinen Studien mit einer längeren und standardisierten tVNS dringend angebracht, um die tatsächliche Effektivität weiter zu evaluieren und hieraus ggf. therapeutische Optionen zur Behandlung metabolischer Erkrankungen zu etablieren.

5. Zusammenfassung

Zahlreiche Studien legen eine herausragende Bedeutung des Vagusnervs in Bezug auf den Metabolismus und die Gewichtshomöostase nahe. Insbesondere in Tiermodellen ließ sich der positive Einfluss einer Vagusnervstimulation auf den Glukose- und Fettstoffwechsel bereits nachweisen. Vergleichbare Studien am Menschen fehlen jedoch bisher weitestgehend. Im Rahmen einer kontrollierten, randomisierten und einfach verblindeten Studie untersuchten wir daher systematisch die Auswirkungen einer transkutanen Vagusnervstimulation über einen Zeitraum von 5 Wochen. In dieser Studie konnten wir beobachten, dass eine mehrwöchige tVNS die postprandiale Glukosekonzentration bei gesunden, übergewichtigen Männern signifikant senkt. Diese Glukoseveränderung geht jedoch nicht mit einer Änderung der Konzentrationen von Insulin oder C-Peptid einher. Als mögliche Ursache für den Glukoseeffekt kann eine verstärkte Sensitivität auf endogenes Insulin oder auch eine verstärkte Sekretion des Inkretinhormons GLP-1 durch die tVNS vermutet werden. Zusätzlich war eine Senkung der Gesamtcholesterinkonzentration, verursacht durch eine Reduktion des LDL-Cholesterins, bei den adipösen Männern nach Stimulation des Vagusnervs feststellbar. Auch hier bietet die Interaktion mit GLP-1 eine mögliche kausale Erklärung, wobei die zugrunde liegenden Mechanismen und Interaktionen des Vagusnervs mit dem Metabolismus jedoch insgesamt noch weitestgehend unklar sind. Neben den genannten Effekten auf Glukose- und Lipidstoffwechsel konnten wir in unserer Studie keine Änderungen des hedonischen Essverhaltens oder der subjektiven Wahrnehmung von Hunger, Sättigung oder Lust auf Essen nachweisen. Ebenso ließen sich durch die 5-wöchige tVNS keine Änderungen des Körpergewichts oder eine Beeinflussung des Ruheenergieumsatzes erzielen. Vor dem Hintergrund der stetig steigenden Prävalenz von Übergewicht und damit assoziierter metabolischer Erkrankungen sind weitere Studien dringend notwendig, um die beobachteten Effekte der tVNS auf Glukose- und Fettstoffwechsel weitergehend zu untersuchen und hieraus gegebenenfalls langfristig nicht-invasive Therapieoptionen zu entwickeln.

6. Literaturverzeichnis

- Abubakr A, Wambacq I (2008): Long-term outcome of vagus nerve stimulation therapy in patients with refractory epilepsy. *J Clin Neurosci Off J Neurosurg Soc Australas* 15, 127–129
- Ahrén B (2004): Sensory nerves contribute to insulin secretion by glucagon-like peptide-1 in mice. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 286, R269-272
- Apovian CM, Shah SN, Wolfe BM, Ikramuddin S, Miller CJ, Tweden KS, Billington CJ, Shikora SA (2017): Two-Year Outcomes of Vagal Nerve Blocking (vBloc) for the Treatment of Obesity in the ReCharge Trial. *Obes Surg* 27, 169–176
- Asconapé JJ, Moore DD, Zipes DP, Hartman LM, Duffell WH (1999): Bradycardia and asystole with the use of vagus nerve stimulation for the treatment of epilepsy: a rare complication of intraoperative device testing. *Epilepsia* 40, 1452–1454
- Baskin DG, Hahn TM, Schwartz MW (1999): Leptin sensitive neurons in the hypothalamus. *Horm Metab Res Horm Stoffwechselforschung Horm Metab* 31, 345–350
- Bergman RN, Miller RE (1973): Direct enhancement of insulin secretion by vagal stimulation of the isolated pancreas. *Am J Physiol* 225, 481–486
- Berthoud HR, Neuhuber WL (2000): Functional and chemical anatomy of the afferent vagal system. *Auton Neurosci Basic Clin* 85, 1–17
- Bonaz B, Sinniger V, Pellissier S (2019): Vagus Nerve Stimulation at the Interface of Brain-Gut Interactions. *Cold Spring Harb Perspect Med* 9
- Brandes R, Lang F, Schmidt RF (Hrsg.): *Physiologie des Menschen: mit Pathophysiologie (Springer-Lehrbuch)*. 32. Auflage; Springer-Verlag, Berlin Heidelberg 2019
- Bucinskaite V, Tolessa T, Pedersen J, Rydqvist B, Zerihun L, Holst JJ, Hellström PM (2009): Receptor-mediated activation of gastric vagal afferents by glucagon-like peptide-1 in the rat. *Neurogastroenterol Motil Off J Eur Gastrointest Motil Soc* 21, 978-e78
- Burcelin R, Da Costa A, Drucker D, Thorens B (2001): Glucose competence of the hepatoportal vein sensor requires the presence of an activated glucagon-like peptide-1 receptor. *Diabetes* 50, 1720–1728
- Camilleri M, Toouli J, Herrera MF, Kulseng B, Kow L, Pantoja JP, Marvik R, Johnsen G, Billington CJ, Moody FG, et al. (2008): Intra-abdominal vagal blocking (VBLOC therapy): clinical results with a new implantable medical device. *Surgery* 143, 723–731
- Campbell JE, Drucker DJ (2013): Pharmacology, physiology, and mechanisms of incretin hormone action. *Cell Metab* 17, 819–837
- Charpentier J, Waget A, Klopp P, Magnan C, Cruciani-Guglielmacci C, Lee SJ, Burcelin R, Grasset E (2018): Lixisenatide requires a functional gut-vagus nerve-brain axis to

- trigger insulin secretion in controls and type 2 diabetic mice. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 315, G671–G684
- Creutzfeldt W (1979): The incretin concept today. *Diabetologia* 16, 75–85
- Dalsgaard NB, Vilsbøll T, Knop FK (2018): Effects of glucagon-like peptide-1 receptor agonists on cardiovascular risk factors: A narrative review of head-to-head comparisons. *Diabetes Obes Metab* 20, 508–519
- de Lartigue G, Barbier de la Serre C, Espero E, Lee J, Raybould HE (2011): Diet-induced obesity leads to the development of leptin resistance in vagal afferent neurons. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 301, E187-195
- Deacon CF, Mannucci E, Ahrén B (2012): Glycaemic efficacy of glucagon-like peptide-1 receptor agonists and dipeptidyl peptidase-4 inhibitors as add-on therapy to metformin in subjects with type 2 diabetes-a review and meta analysis. *Diabetes Obes Metab* 14, 762–767
- Donath MY, Burcelin R (2013): GLP-1 Effects on Islets: Hormonal, Neuronal, or Paracrine? *Diabetes Care* 36, S145–S148
- Drucker DJ, Philippe J, Mojsov S, Chick WL, Habener JF (1987): Glucagon-like peptide I stimulates insulin gene expression and increases cyclic AMP levels in a rat islet cell line. *Proc Natl Acad Sci U S A* 84, 3434–3438
- Dyaczyński M, Scanes CG, Koziec H, Koziec H, Pierzchała-Koziec K (2018): Endocrine implications of obesity and bariatric surgery. *Endokrynol Pol* 69, 574–597
- Engin A (2017): The Definition and Prevalence of Obesity and Metabolic Syndrome. *Adv Exp Med Biol* 960, 1–17
- Flint A, Raben A, Astrup A, Holst JJ (1998): Glucagon-like peptide 1 promotes satiety and suppresses energy intake in humans. *J Clin Invest* 101, 515–520
- Flint A, Raben A, Blundell JE, Astrup A (2000): Reproducibility, power and validity of visual analogue scales in assessment of appetite sensations in single test meal studies. *Int J Obes Relat Metab Disord J Int Assoc Study Obes* 24, 38–48
- Frangos E, Ellrich J, Komisaruk BR (2015): Non-invasive access to the vagus nerve central projections via electrical stimulation of the external ear: fMRI evidence in humans. *Brain Stimulat* 8, 624–636
- Frohman LA, Ezdinli EZ, Javid R (1967): Effect of Vagotomy and Vagal Stimulation on Insulin Secretion. *Diabetes* 16, 443–448
- Gil K, Bugajski A, Kurnik M, Thor P (2012): Chronic vagus nerve stimulation reduces body fat, blood cholesterol and triglyceride levels in rats fed a high-fat diet. *Folia Med Cracov* 52, 79–96

- González HFJ, Yengo-Kahn A, Englot DJ (2019): Vagus Nerve Stimulation for the Treatment of Epilepsy. *Neurosurg Clin N Am* 30, 219–230
- Hallschmid M, Higgs S, Thienel M, Ott V, Lehnert H (2012): Postprandial administration of intranasal insulin intensifies satiety and reduces intake of palatable snacks in women. *Diabetes* 61, 782–789
- Haugen HA, Chan L-N, Li F (2007): Indirect calorimetry: a practical guide for clinicians. *Nutr Clin Pract Off Publ Am Soc Parenter Enter Nutr* 22, 377–388
- Higgs S, Williamson AC, Attwood AS (2008): Recall of recent lunch and its effect on subsequent snack intake. *Physiol Behav* 94, 454–462
- Hinz A, Daig I, Petrowski K, Brähler E (2012): [Mood in the German population: norms of the Multidimensional Mood Questionnaire MDBF]. *Psychother Psychosom Med Psychol* 62, 52–57
- Hotujac L, Kuzman MR (2008): Vagus nerve stimulation in the treatment of pharmacoresistant depression. *Neuro Endocrinol Lett* 29 Suppl 1, 133–146
- Howland RH (2014): Vagus Nerve Stimulation. *Curr Behav Neurosci Rep* 1, 64–73
- Hruby A, Hu FB (2015): The Epidemiology of Obesity: A Big Picture. *Pharmacoeconomics* 33, 673–689
- Huang F, Dong J, Kong J, Wang H, Meng H, Spaeth RB, Camhi S, Liao X, Li X, Zhai X, et al. (2014): Effect of transcutaneous auricular vagus nerve stimulation on impaired glucose tolerance: a pilot randomized study. *BMC Complement Altern Med* 14, 203
- Iwasaki Y, Shimomura K, Kohno D, Dezaki K, Ayush E-A, Nakabayashi H, Kubota N, Kadowaki T, Kakei M, Nakata M, Yada T (2013): Insulin Activates Vagal Afferent Neurons Including those Innervating Pancreas via Insulin Cascade and Ca(2+) Influx: Its Dysfunction in IRS2-KO Mice with Hyperphagic Obesity. *PloS One* 8, e67198
- Jaacks LM, Vandevijvere S, Pan A, McGowan CJ, Wallace C, Imamura F, Mozaffarian D, Swinburn B, Ezzati M (2019): The obesity transition: stages of the global epidemic. *Lancet Diabetes Endocrinol* 7, 231–240
- Johnson RL, Wilson CG (2018): A review of vagus nerve stimulation as a therapeutic intervention. *J Inflamm Res* 11, 203–213
- Kansagra S, Ataya N, Lewis D, Gallentine W, Mikati MA (2010): The effect of vagus nerve stimulation therapy on body mass index in children. *Epilepsy Behav EB* 19, 50–51
- Koren MS, Holmes MD (2006): Vagus nerve stimulation does not lead to significant changes in body weight in patients with epilepsy. *Epilepsy Behav EB* 8, 246–249
- Krieger J-P, Langhans W, Lee SJ (2015): Vagal mediation of GLP-1's effects on food intake and glycemia. *Physiol Behav* 152, 372–380

- Krieger J-P, Arnold M, Pettersen KG, Lossel P, Langhans W, Lee SJ (2016): Knockdown of GLP-1 Receptors in Vagal Afferents Affects Normal Food Intake and Glycemia. *Diabetes* 65, 34–43
- Kyle UG, Bosaeus I, De Lorenzo AD, Deurenberg P, Elia M, Gómez JM, Heitmann BL, Kent-Smith L, Melchior J-C, Pirlich M, et al. (2004): Bioelectrical impedance analysis--part I: review of principles and methods. *Clin Nutr Edinb Scotl* 23, 1226–1243
- Maffei M, Halaas J, Ravussin E, Pratley RE, Lee GH, Zhang Y, Fei H, Kim S, Lallone R, Ranganathan S, et al. (1995): Leptin levels in human and rodent: Measurement of plasma leptin and ob RNA in obese and weight-reduced subjects. *Nat Med* 1, 1155–1161
- Magni F, Carobi C (1983): The afferent and preganglionic parasympathetic innervation of the rat liver, demonstrated by the retrograde transport of horseradish peroxidase. *J Auton Nerv Syst* 8, 237–260
- Malbert C-H, Picq C, Divoux J-L, Henry C, Horowitz M (2017): Obesity-Associated Alterations in Glucose Metabolism Are Reversed by Chronic Bilateral Stimulation of the Abdominal Vagus Nerve. *Diabetes* 66, 848–857
- Meier JJ (2012): GLP-1 receptor agonists for individualized treatment of type 2 diabetes mellitus. *Nat Rev Endocrinol* 8, 728–742
- Mitrakou A, Ryan C, Veneman T, Mokan M, Jenssen T, Kiss I, Durrant J, Cryer P, Gerich J (1991): Hierarchy of glycemic thresholds for counterregulatory hormone secretion, symptoms, and cerebral dysfunction. *Am J Physiol* 260, E67-74
- Nakabayashi H, Nishizawa M, Nakagawa A, Takeda R, Nijijima A (1996): Vagal hepatopancreatic reflex effect evoked by intraportal appearance of tGLP-1. *Am J Physiol* 271, E808-813
- Nauck MA, Meier JJ (2016): The incretin effect in healthy individuals and those with type 2 diabetes: physiology, pathophysiology, and response to therapeutic interventions. *Lancet Diabetes Endocrinol* 4, 525–536
- Neuhuber WL (1989): Vagal afferent fibers almost exclusively innervate islets in the rat pancreas as demonstrated by anterograde tracing. *J Auton Nerv Syst* 29, 13–18
- Neyens D, Zhao H, Huston NJ, Wayman GA, Ritter RC, Appleyard SM (2020): Leptin Sensitizes NTS Neurons to Vagal Input by Increasing Postsynaptic NMDA Receptor Currents. *J Neurosci Off J Soc Neurosci* 40, 7054–7064
- Nijijima A (1984): The effect of D-glucose on the firing rate of glucose-sensitive vagal afferents in the liver in comparison with the effect of 2-deoxy-D-glucose. *J Auton Nerv Syst* 10, 255–260
- Nomura S, Mizuno N (1984): Central distribution of primary afferent fibers in the Arnold's nerve (the auricular branch of the vagus nerve): a transganglionic HRP study in the cat. *Brain Res* 292, 199–205

- Norgren R, Smith GP (1994): A method for selective section of vagal afferent or efferent axons in the rat. *Am J Physiol* 267, R1136-1141
- Oral EA, Simha V, Ruiz E, Andewelt A, Premkumar A, Snell P, Wagner AJ, DePaoli AM, Reitman ML, Taylor SI, et al. (2002): Leptin-replacement therapy for lipodystrophy. *N Engl J Med* 346, 570–578
- Orskov C, Rabenhøj L, Wettergren A, Kofod H, Holst JJ (1994): Tissue and plasma concentrations of amidated and glycine-extended glucagon-like peptide I in humans. *Diabetes* 43, 535–539
- Pardo JV, Sheikh SA, Kuskowski MA, Surerus-Johnson C, Hagen MC, Lee JT, Rittberg BR, Adson DE (2007): Weight loss during chronic, cervical vagus nerve stimulation in depressed patients with obesity: an observation. *Int J Obes* 2005 31, 1756–1759
- Qasim A, Turcotte M, de Souza RJ, Samaan MC, Champredon D, Dushoff J, Speakman JR, Meyre D (2018): On the origin of obesity: identifying the biological, environmental and cultural drivers of genetic risk among human populations. *Obes Rev Off J Int Assoc Study Obes* 19, 121–149
- Redgrave J, Day D, Leung H, Laud PJ, Ali A, Lindert R, Majid A (2018): Safety and tolerability of Transcutaneous Vagus Nerve stimulation in humans; a systematic review. *Brain Stimulat* 11, 1225–1238
- Rush AJ, Sackeim HA, Marangell LB, George MS, Brannan SK, Davis SM, Lavori P, Howland R, Kling MA, Rittberg B, et al. (2005): Effects of 12 months of vagus nerve stimulation in treatment-resistant depression: a naturalistic study. *Biol Psychiatry* 58, 355–363
- Scott LM, Tomkin GH (1985): Cholesterol metabolism: regulatory effects of the vagus in the normal and diabetic animal. *Diabetes Res Edinb Scotl* 2, 313–317
- Seghieri M, Rebelos E, Gastaldelli A, Astiarraga BD, Casolaro A, Barsotti E, Pocai A, Nauck M, Muscelli E, Ferrannini E (2013): Direct effect of GLP-1 infusion on endogenous glucose production in humans. *Diabetologia* 56, 156–161
- Shikora S, Toouli J, Herrera MF, Kulseng B, Zulewski H, Brancatisano R, Kow L, Pantoja JP, Johnsen G, Brancatisano A, et al. (2013): Vagal blocking improves glycemic control and elevated blood pressure in obese subjects with type 2 diabetes mellitus. *J Obes* 2013, 245683
- Tremmel M, Gerdtham U-G, Nilsson PM, Saha S (2017): Economic Burden of Obesity: A Systematic Literature Review. *Int J Environ Res Public Health* 14
- Trepel M: *Neuroanatomie Struktur und Funktion*. 7. Auflage; S73-78, Urban & Fischer Verlag/Elsevier GmbH, München 2017
- Wang S, Zhai X, Li S, McCabe MF, Wang X, Rong P (2015): Transcutaneous vagus nerve stimulation induces tidal melatonin secretion and has an antidiabetic effect in Zucker fatty rats. *PloS One* 10, e0124195

Wu Q, Boyle MP, Palmiter RD (2009): Loss of GABAergic signaling by AgRP neurons to the parabrachial nucleus leads to starvation. *Cell* 137, 1225–1234

Zhang Y, Chua S (2017): Leptin Function and Regulation. *Compr Physiol* 8, 351–369

Zhang Y, Proenca R, Maffei M, Barone M, Leopold L, Friedman JM (1994): Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue. *Nature* 372, 425–432

Data Input Geräte, Software und Seminare zur BIA: Startseite. <http://www.data-input.de/bia/deutsch/startseite.php>; Zugriff am 07.10.2019

Framework for Basic Statistical Tests [rstatix version 0.6.0]. <https://CRAN.R-project.org/package=rstatix>; Zugriff am 06.03.2021

Grafiksoftware ggplot2. <https://ggplot2.tidyverse.org/>; Zugriff am 22.05.2021

The Comprehensive R Archive Network. <https://cran.r-project.org/>; Zugriff am 06.03.2021

7. Anhang

7.1 Ethikvotum

H. Prock



UNIVERSITÄT ZU LÜBECK

Universität zu Lübeck · Ratzeburger Allee 160 · 23538 Lübeck

Herrn
Prof. Dr. med. Münte
Direktor der Klinik für Neurologie

im Hause

Ethik-Kommission

Vorsitzender:
Herr Prof. Dr. med. Alexander Katalinic
Universität zu Lübeck
Stellv. Vorsitzender:
Herr Prof. Dr. med. Frank Gieseler
Ratzeburger Allee 160
23538 Lübeck

Sachbearbeitung: Frau Janine Erdmann
Tel.: +49 451 3101 1008
Fax: +49 451 3101 1024

ethikkommission@uni-luebeck.de

Aktenzeichen: 17-051

Datum: 12. Mai 2017

Sitzung der Ethik-Kommission am 02. März 2017

Antragsteller: Herr Prof. Münte

**Titel: Untersuchung der neuronalen und metabolischen Effekte von langzeitiger transkutane
r Vagusnervstimulation bei übergewichtigen Männern (MetVNS-Studie)**

Sehr geehrter Herr Prof. Münte,

vielen Dank für Ihr Schreiben vom 27. April 2017, in dem Sie unserem Wunsch nach weiteren
Informationen zum Studienvorhaben nachkommen und die überarbeiteten Unterlagen vorlegen.

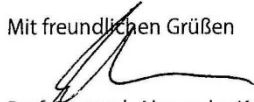
Die Kommission hat nunmehr keine Bedenken mehr.

Bei Änderung des Studiendesigns sollte der Antrag erneut vorgelegt werden.

Über alle schwerwiegenden oder unerwarteten und unerwünschten Ereignisse, die während der Studie auftreten, ist die Kommission
umgehend zu benachrichtigen.

Die Deklaration von Helsinki in der aktuellen Fassung fordert in § 35 dazu auf, jedes medizinische Forschungsvorhaben mit Menschen zu
registrieren. Daher empfiehlt die Kommission grundsätzlich die Studienregistrierung in einem öffentlichen Register (z.B. unter www.drks.de).
Die ärztliche und juristische Verantwortung des Studienleiters und der an der Studie teilnehmenden Ärzte bleibt entsprechend der
Beratungsfunktion der Ethikkommission durch unsere Stellungnahme unberührt.

Mit freundlichen Grüßen


Prof. Dr. med. Alexander Katalinic
Vorsitzender

7.2 Versuchsprotokoll

Untersuchung der neuronalen und metabolischen Effekte von langzeitiger transkutaner Vagusnervstimulation bei übergewichtigen Männern

Versuchsprotokoll

Probanden-Kürzel: _____ Sitzung: _____

Datum: _____

08:00 Uhr (reale Uhrzeit: _____)

- Aufbau des Blutentnahmesystems und der Infusion
- Anschalten Kalorimeter
- Frühstück – alles vorhanden?
- Snacks ausreichend vorhanden?
- Fragebögen nummerieren und vorbereiten
- Kalibrierung indirektes Kalorimeter
- Vorbereitung BIA

08:30 Uhr (reale Uhrzeit: _____)

Ankunft des Probanden

- Probandenbegrüßung und erneute mündliche und schriftliche Einholung des Einverständnisses
- Toilettengang
- Erfassung des Körpergewichtes und Taillen- und Hüftumfang nach Toilettengang

Körpergewicht: _____ kg Taille: _____ cm Hüfte: _____ cm

- **Bioimpedanzanalyse**

	5 Hz	50 Hz	100 Hz
R Resistance			
Xc Reactance			
Arm (R↑)			
Fuß (R↓)			
S Summe			
R total			
Alpha (α)			

Untersuchung der neuronalen und metabolischen Effekte von langzeitiger transkutaner Vagusnervstimulation bei übergewichtigen Männern

- Ausfüllen des Fragebogens:

Name (und Kürzel): _____ Geburtsdatum: _____
Ankunftszeit: _____ Uhr
Nachtwachen in den letzten 2 Wochen?: _____
Wann sind Sie letzte Nacht zu Bett gegangen? _____
Wie viele Stunden haben Sie in der letzten Nacht geschlafen? _____
Wann sind Sie heute aufgestanden? _____
heute kein Alkohol/Koffein: _____ keine Medikamente: _____
kein außergewöhnlicher Stress: _____
letzte Mahlzeit: _____ um: _____
Wie sind Sie heute zum Versuchsort gekommen (z.B. zu Fuß, Fahrrad, Bus)?

subjektives Wohlbefinden heute (1 = schlecht bis 5 = sehr gut): _____

- Braunülenanlage:
 1. 1 Braunüle: 20 oder 18 G am Unterarm oder in der Ellenbeuge
 2. Wie viele Versuche der Kanülenanlage? _____ Welche Größe? _____
Komplikationen? _____
- Die Venenverweilkanüle wird nach Anlage auf ihre richtige Lage hin überprüft und unmittelbar nach den Blutentnahmen mit Vollelektrolytlösung nachgespült.

**Untersuchung der neuronalen und metabolischen Effekte von langzeitiger
transkutaner Vagusnervstimulation bei übergewichtigen Männern**

Zeit	Zeit (real)	Puls	RR	BE	min	Tests/Maßnahmen	Zusatzinformationen
8:30						BIA, Anamnese, Braunülenanlage	
9:00							
9:15						BDI, VAS1, MDBF1, SRS1	
9:40							
9:45						Indirekte Kalorimetrie	30 Minuten
10:00							
10:15				1			Direkt nach Kalo
10:20							
10:25						MRT	
11:45				2			BE direkt nach MRT
11:50						Computer Task	
12:05						Merktest 1(3 min) VAS2, MDBF2, SRS2	
12:15						Standard. Frühstück	30 Minuten,
12:45						Ende	
12:45				3			BE direkt nach Essen
12:50						VAS3, MDBF3, SRS3	
12:55							
12:55						Indirekte Kalorimetrie	30 Minuten
13:25				4			
13:30						VAS4, MDBF4, SRS4	
13:45						Snacktest und VAS5, MDBF5, SRS 5	10 Minuten
13:55							
13:55						Bei Versuchstag 1: tVNS Einweisung und Ausgabe Tagebuch	20 Minuten
Ca. 14:15						Ende Versuchstag	

Zum Versuchsende:

- Entfernen der Venenverweilkanüle
- Erinnerung an neuen Termin (bei Versuchstag 1)
- Snacks abwiegen
- Aufräumen und Dateneingabe

Besonderheiten ?

7.3 Fragebögen

MetVNS- Studie

Probanden-ID _____

Datum _____

Listen-Nr. _____

MDBF-Kurzform A

Im Moment fühle ich mich	überhaupt nicht					sehr
	1	2	3	4	5	
1. zufrieden	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
2. ausgeruht	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
3. ruhelos	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
4. schlecht	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
5. schlapp	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
6. gelassen	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
7. müde	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
8. gut	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
9. unruhig	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
10. munter	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
11. unwohl	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
12. entspannt	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
	überhaupt nicht				sehr	

MetVNS_ Studie

Probanden-ID _____

Datum _____

Listen-Nr. _____

Symptom- Rating Skala

Symptom:	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
	schwach					mittel				stark
1. Angst	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
2. Schwitzen	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
3. Körperliches Unwohlsein	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
4. Innere Unruhe	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
5. Kribbelgefühl	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
6. Zittern	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
7. Hunger	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
8. Herzklopfen	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
9. Verschwommenes Sehen	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
10. Konzentrationsfähigkeit	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
11. Durst	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
12. Ärger	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
13. Kopfschmerzen	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
14. Sattheit	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
15. Übelkeit	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
16. Traurigkeit	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
17. Atembeschwerden	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
18. Freude	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
19. Müdigkeit	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
20. Schwindel	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
21. Nervosität	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
22. Appetit	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
23. Juckreiz	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
24. Schwäche	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
25. Wärme	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
26. Aktivität	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
27. Völlegefühl	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9

MetVNS-Studie

Probanden-ID _____

Datum _____

Listen-Nr. _____

In welchem Ausmaß treffen folgende Aussagen zur Beurteilung ihres subjektiven Gefühles auf Sie zu? Bitte markieren Sie bei jeder Aussage die entsprechende Stelle auf der schwarzen Linie mit einem Kreuz.

Wie XXX fühlen Sie sich im Moment?

Überhaupt nicht	hungrig	Extrem

Überhaupt nicht	satt	Extrem

Überhaupt nicht	durstig	Extrem

Überhaupt nicht	ängstlich	Extrem

Überhaupt nicht	fröhlich	Extrem

Überhaupt nicht	gestresst	Extrem

Überhaupt nicht	schläfrig	Extrem

Überhaupt nicht	konzentriert	Extrem

Wie stark ist Ihr momentanes Bedürfnis nach Essen?

Überhaupt nicht stark	...generell	Sehr stark

Überhaupt nicht stark	...nach Süßem	Sehr stark

Überhaupt nicht stark	...nach Herzhaftem	Sehr stark

MetVNS-Studie

Probanden-ID _____

Datum _____

Listen-Nr. _____

Welche Objekte wurden Ihnen auf den Bildern gezeigt? Nennen sie bitte alle Objekte, die sie sich merken konnten.

8 Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1 Zeitstrahl Versuchsaufbau.....	16
Abbildung 2 Glukose.....	34
Abbildung 3 C-Peptid.....	35
Abbildung 4 Insulin.....	35
Abbildung 5 GLP-1.....	36
Abbildung 6 ACTH.....	38
Abbildung 7 Cortisol.....	38
Abbildung 8 Ghrelin.....	39
Abbildung 9 Blutfette.....	42
Abbildung 10 Hedonisches Essverhalten.....	45

9 Tabellenverzeichnis

Tabelle 1 Energetische Äquivalente der Makronährstoffe.....	21
Tabelle 2 Pipettierschema.....	23
Tabelle 3 Herzfrequenz.....	30
Tabelle 4 Blutdruck.....	30
Tabelle 5 Blutfette, Leptin und HbA1.....	42

10 Danksagung

Ich möchte mich von ganzem Herzen bei allen Personen bedanken, die zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen haben.

Mein besonderer Dank gilt Herrn Prof. Dr. Thomas F. Münte für die Organisation der Studie und Betreuung beim Verfassen der Promotionsschrift.

Ganz besonders dankbar bin ich auch für die stets ausgezeichnete Betreuung meines Promotionsvorhabens durch Frau Dr. Swantje Kannenberg. Ich bedanke mich für die Bereitstellung des Dissertationsthemas und die Vorarbeit bei der Planung des Versuchsaufbaus. Insbesondere möchte ich mich auch für die exzellente Unterstützung im Rahmen der Versuchsdurchführung und -auswertung bedanken sowie bei der anschließenden Verfassung der Dissertation. Auch Herrn PD Dr.rer.nat. Marcus Heldmann möchte ich für die Unterstützung bei der statistischen Auswertung herzlich danken.

Herr Prof. Dr. med. Hendrik Lehnert und seiner Arbeitsgruppe möchte ich danken insbesondere für die Möglichkeit, die Untersuchungen in den Räumlichkeiten der Arbeitsgruppe durchführen zu können und die Überlassung der benötigten Arbeitsmaterialien.

Frau Kirstin Nordhausen danke ich herzlich für die kompetente Einarbeitung in die Versuchsabläufe und Labortechniken sowie die Unterstützung während der Experimente und bei dem dazugehörigen organisatorischen Aufwand.

Für die weiterführende Analyse unserer Blutproben zur Bestimmung von GLP-1 gilt mein Dank Herrn Prof. Holst und seiner Arbeitsgruppe vom Department of Biomedical Sciences der University of Copenhagen.

Ein besonderer Dank gilt auch meiner Familie und meinen Freunden, die stets mit guten Ratschlägen und viel Motivation an meiner Seite standen und so einen wichtigen Beitrag zum Gelingen dieser Arbeit geleistet haben.

Auch gilt mein Dank nicht zuletzt den Probanden, die mit ihrer Teilnahme diese Studie erst ermöglicht haben.