

Aus dem Institut für Medizinische Psychologie und
Verhaltensneurobiologie des Universitätsklinikums Tübingen

Direktor: Prof. Dr. Jan Born

**Der Einfluss von Ghrelin auf die schlafassoziierte
Gedächtnisbildung**

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Zahnheilkunde

der Medizinischen Fakultät
der Eberhard Karls Universität
zu Tübingen

vorgelegt von

Hartel, Anita
aus Tübingen

Promotionsjahr 2023

Dekan: Professor Dr. B. Pilcher

1. Berichterstatter: Professor Dr. M. Hallschmid

2. Berichterstatter: Professor Dr. C. Laske

Tag der Disputation: 15.06.2023

Inhaltsverzeichnis

Abkürzungsverzeichnis	I
Abbildungsverzeichnis	II
Tabellenverzeichnis	III
1 Einleitung.....	1
1.1 Das Hormon Ghrelin	1
1.1.1 Metabolische Rolle des Ghrelins	1
1.1.2 Ausschüttung und Funktion	2
1.1.3 Struktur des Ghrelins	3
1.1.4 Growth-Hormone-Secretagogue-Rezeptor 1a	4
1.1.5 Die Auswirkungen von Ghrelin während der Entwicklung.....	5
1.2 Gedächtnis	7
1.2.1 Deklaratives und prozedurales Gedächtnis	7
1.2.2 Gedächtniskonsolidierung	8
1.2.3 Wirkung von Ghrelin auf das Gedächtnis.....	10
1.3 Schlaf	11
1.3.1 Definition von Schlaf	11
1.3.2 Schlafarchitektur	13
1.3.3 Schlafabhängige Gedächtniskonsolidierung.....	14
1.3.4 Wirkung von Ghrelin auf Schlaf	16
2 Fragestellung	19
3 Material und Methoden	21
3.1 Probanden.....	21
3.2 Versuchsablauf	22
3.3 Untersuchungsmethoden	25
3.3.1 Verabreichen von Ghrelin	25
3.3.2 Bestimmung der Blutparameter	25
3.3.3 Gedächtnistests	27

3.3.4	Befindlichkeit und Kontrollmaße	28
3.3.5	Untersuchung des Schlafes der Probanden	29
3.4	Statistische Auswertungen	30
4	Ergebnisse	31
4.1	Probandenkollektiv	31
4.2	Gedächtnistests	32
4.2.1	„Memory“ – deklaratives Gedächtnis.....	32
4.2.2	Fingertapping – prozedurales Gedächtnis	33
4.3	Schlaf	35
4.3.1	Polysomnographie	35
4.3.2	Subjektive Schlafqualität.....	35
4.3.3	Subjektive Beurteilung der Schläfrigkeit.....	36
4.4	Blutparameter.....	37
4.4.1	Acyliertes Ghrelin	37
4.4.2	Desacyliertes Ghrelin.....	38
4.4.3	Kortisol.....	39
4.4.4	Somatropin	40
4.5	Subjektives Hungergefühl und Wohlbefinden.....	41
4.6	Subjektive Befindlichkeit	43
4.7	Einschätzung durch die Probanden	44
5	Diskussion	45
5.1	Ghrelin und Gedächtniskonsolidierung	45
5.2	Prozedurale Gedächtniskonsolidierung unter Einfluss von Ghrelin	46
5.3	Schlaf	48
5.4	Schlaf und Hormone	48
5.5	Limitationen und Ausblick.....	49
6	Zusammenfassung	52

7	Literaturverzeichnis	54
	Erklärung zum Eigenanteil der Dissertationsschrift	65
	Danksagung	66
	Lebenslauf	Fehler! Textmarke nicht definiert.

Abkürzungsverzeichnis

ACTH	Adrenocorticotropin
AMPA	α -Amino-3-Hydroxy-5-Methyl-4-Isoxazolepropionic Acid
BMI	Body-Maß-Index
CA1	Cornu ammonisarea 1
EDTA	Ethylendiamintetraessigsäure
EEG	Elektroenzephalographie
EKG	Elektrokardiographie
EMG	Elektromyographie
EOG	Elektrookulographie
GH	Growth Hormone
GHRH	Growth-Hormone-Releasing-Hormone
GHSR1a	Growth-Hormone-Secretagogue-Receptor 1a
GOAT	Ghrelin-O-Acyltransferase
GOT	Glutamat-Oxalacetat-Transaminase
GPT	Glutamat-Pyruvat-Transaminase
LTP	Long-Term-Potentiation
MDBF	Mehrdimensionaler Befindlichkeitsfragebogen
NMDA	N-Methyl-D-Aspartat
Non-REM	Non rapid eye movement
NTS	Nucleus of the solitary tract
PFS	Power of Food Scale-Fragebogen
PVK	Peripherer Venenkatheter
REM	Rapid Eye Movement
SF-A/R	Schlaffragebogen A
SGZ	Subgranuläre Zone
SSS	Standford-Schläfrigkeits-Skala
STH	Somatropin
SWS	Slow-Wave-Stadium
VAS	Visuelle Analogskala
ZNS	Zentralnervensystem

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Die Entstehung von Acyl-Ghrelin aus Desacyl-Ghrelin.....	4
Abbildung 2: Einteilung der Gedächtnissysteme nach Squire.....	8
Abbildung 3: Idealisieretes Hypnogramm eines gesunden Erwachsenen.....	14
Abbildung 4: Resultate des Memory-Tests unter Verabreichung von Ghrelin und Placebo.....	32
Abbildung 5: Resultate des Fingertapping-Tests vor und nach dem Schlaf....	34
Abbildung 6: Acylierte Ghrelinkonzentrationen während der Nacht bei Verabreichung von Ghrelin und Placebo.....	37
Abbildung 7: Desacylierte Ghrelinkonzentrationen im Verlauf der Nacht bei Gabe von Ghrelin und Placebo.....	38
Abbildung 8: Kortisolkonzentration im Serum im Verlauf der Nacht bei Verabreichung von Ghrelin und Placebo.....	39
Abbildung 9: Somatropinkonzentration im Serum im Verlauf der Nacht bei Verabreichung von Ghrelin und Placebo.....	40

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Übersicht des Versuchsverlaufs	24
Tabelle 2: Probandencharakteristika	31
Tabelle 3: Ergebnisse Memory Placebo vs. Ghrelin und T-Test für gepaarte Stichproben.....	33
Tabelle 4: Ergebnisse Fingertapping Placebo vs. Ghrelin	34
Tabelle 5: Darstellung der prozentualen Anteile der unterschiedlichen Schlafstadien an der Gesamtschlafdauer, Schlaflatenz, Tiefschlaf latenz und REM-Latenz unter Verabreichung von Ghrelin und Placebo	35
Tabelle 6: Resultate des SF-A/R unter Gabe von Ghrelin und Placebo	36
Tabelle 7: Resultate des SSS-Fragebogens unter Gabe von Ghrelin und Placebo	36
Tabelle 8: Acylierte Ghrelinkonzentrationen, statistische Ergebnisse	38
Tabelle 9: Desacylierte Ghrelinkonzentrationen, statistische Ergebnisse.....	39
Tabelle 10: Kortisolkonzentration im Serum, statistische Ergebnisse	40
Tabelle 11: Somatropinkonzentration im Serum, statistische Ergebnisse	41
Tabelle 12: Resultate des VAS unter Verabreichung von Ghrelin und Placebo	42
Tabelle 13: Resultate des MDBF unter Verabreichung von Ghrelin und Placebo	43
Tabelle 14: Einschätzungen der Ghrelingabe durch die Probanden	44

1 Einleitung

„Der Schlaf ist doch die köstlichste Erfindung“ sagt ein Gauner in Heinrich Heines Drama „William Ratcliff“ (1822) nach einer erholsamen Nacht. In der Tat ist für uns Menschen nach dem Schlafen häufig eine physische und psychische Erholung spürbar. Neben dieser regenerativen Funktion optimiert Schlaf auch die Konsolidierung von neu erworbenem Wissen im Gedächtnis. Diese Konsolidierung bewirkt das aktive Wiederaufbereiten von neuen Erinnerungen in einem neuronalen Netzwerk und fördert quantitative und qualitative Veränderungen der Gedächtnisspuren. Diese Regulation von Lernen und Gedächtnis greift auf verschiedene Gehirnstrukturen zurück, unter denen der Hippokampus besonders relevant ist. Hippokampale Neurone weisen bestimmte Rezeptoren auf, Growth-Hormone-Secretagogue-Rezeptoren 1a (GHSR 1a), an die das Hormon Ghrelin und seine Analoga binden können. Zahlreiche Studien belegen bereits die Bedeutung dieses Hormons für die Steuerung der Nahrungsaufnahme, der Gewichtsregulation und der Glucose-Homöostase. Das gastrische Peptidhormon Ghrelin wirkt also auch als Neurotransmitter. Obwohl die Existenz von ghrelinergen Neuronen außerhalb des Hypothalamus noch nicht eindeutig belegt ist, zeigt die Verteilung der GHS 1a-Rezeptoren im Zentralnervensystem (ZNS), dass Ghrelin noch viele weitere Effekte haben könnte, so etwa auch auf den Schlaf sowie vom Schlaf abhängige oder mit ihm verknüpfte Abläufe. Somit kann man annehmen, dass ein Zusammenhang zwischen Schlaf, Gedächtnis und dem Hormon Ghrelin besteht. Die vorliegende Arbeit soll einen Beitrag zur Aufklärung dieser Zusammenhänge leisten und darlegen, ob und wie Ghrelin den Schlaf und die schlafassoziierte Gedächtniskonsolidierung bei gesunden Menschen beeinflusst.

1.1 Das Hormon Ghrelin

1.1.1 Metabolische Rolle des Ghrelins

Ghrelin ist ein aus 28 Aminosäuren bestehendes Peptid und wurde erstmals 1999 von Kojima et al. aus der Mukosa eines Rattenmagens gewonnen. Es ist

assoziiert mit der Ausschüttung von Somatotropin (Growth Hormone, GH) und reguliert den Appetit (Kojima et al., 1999). Der Ursprung des Namens Ghrelin basiert auf dem Wort „ghre“, welches aus der Proto-indo-europäischen Sprache stammt und „wachsen“ bedeutet. Die Endung „relin“ zeigt seine Fähigkeit, die GH-Freisetzung zu stimulieren. Diese Stimulation erfolgt über den Growth-Hormone-Secretagogue-Rezeptor 1a, kurz GHSR 1a, an den das Hormon bindet. Ghrelin ist nicht nur ein gastrisches Peptidhormon, sondern auch ein Neurotransmitter im Hypothalamus. Dort beeinflusst es die Nahrungsaufnahme, reguliert das Körpergewicht sowie die Glucose-Homöostase. Des Weiteren erhöht das Hormon die Magenmotilität (Masuda et al., 2000; Drazen et al., 2006; Cummings et al., 2001).

1.1.2 Ausschüttung und Funktion

Ghrelin wird hauptsächlich im Magen von verschiedenen endokrinen Zellen der Mukosa produziert, im Fundus des Magens quantitativ mehr als im Pylorus (Date et al., 2000; Yabuki et al., 2004). Diese Zellen stehen nicht in Kontakt mit dem Lumen des Magens, vielmehr befinden sie sich nahe den Kapillaren (Korbonits et al., 2004). Aus diesem Grund fällt die Plasmakonzentration des Ghrelins um 80 %, wenn der säureproduzierende Teil des Magens operativ entfernt wird. Dieser Effekt konnte sowohl bei Ratten (Dornonville et al., 2001) als auch bei Menschen (Leonetti et al., 2003) beobachtet werden. Präprandial, also bei Erwartung einer Mahlzeit, steigt die Ghrelinkonzentration an, erreicht im Plasma ihren höchsten Peak und fällt postprandial wieder ab (Nakazato et al., 2001; Tolle et al., 2002). Auf diese Weise steuert das Hormon auf zentraler Ebene die Energiebilanz, indem Ghrelin bei ernährungsbedingtem Energiedefizit ein Hungergefühl hervorruft und damit die Gewichtszunahme fördert, wenn mehr Nahrung als erforderlich aufgenommen wird (Druce et al., 2006). Ghrelin findet man außerdem in anderen Teilen des digestiven Systems (Kojima und Kangava, 2005). Auch ließen sich in Organen außerhalb des Gastrointestinal-Trakts niedrige Konzentrationen von Ghrelin nachweisen, wie in der Niere (Mori et al., 2000), der Plazenta (Gualillo et al., 2001), sowie in den Leydig- und Sertoli-Zellen

des Hodens (Barreiro et al., 2002). Hohe Konzentrationen konnten im Hypothalamus, Hirnstamm, Hippocampus, Dünndarm, in der Lunge oder den Nieren nachgewiesen werden (Kojima et al., 1999; Gnanapavan et al., 2002).

1.1.3 Struktur des Ghrelins

Ghrelin tritt in zwei Formen auf: als nicht acyliertes (desacyliertes) Ghrelin, welches den weitaus größten Teil des im Plasma zirkulierenden Ghrelins ausmacht, und als acyliertes Ghrelin (Kojima und Kangawa, 2005; Müller et al., 2015). Die N-octanoyl-Gruppe des acylierten Ghrelins soll für einige der zuvor genannten biologischen Effekte des Ghrelins verantwortlich sein (Bednarek et al., 2000). Allerdings zeigen andere Studien, dass auch desacyliertes Ghrelin diese biologischen Effekte auslöst (Bedendi et al., 2003; Thompson et al., 2004). Beim Menschen geben die D1-Zellen der Magenschleimhaut Ghrelin in den Blutstrom ab. Aus Pro-Ghrelin, welches aus 117 Aminosäuren besteht, entstehen Ghrelin und Obestatin. Die Acylierung wird über die Ghrelin-O-Acyl-Transferase (GOAT) katalysiert. Danach wird eine Octanoyl-Einheit hinzugefügt, bevor im Golgi-Apparat die Translokation des Ghrelins stattfindet. Aufgrund der verschiedenen modifizierten Ghrelin-Peptide können die Moleküle, basierend auf ihrer Länge (28 oder 27 Aminosäuren), in zwei Gruppen klassifiziert werden. Eine andere Möglichkeit der Einteilung besteht darin, die Ghrelin-Peptide in vier Gruppen zu untergliedern, basierend auf der Anwesenheit der Acyl-Gruppe am Serin in Position drei: non-acyliert, octano-acyliert, decano-acyliert und deceno-acyliert.

Obestatin ist ein Peptidhormon, das aus 23 Aminosäuren besteht und als Gegenspieler zum Ghrelin fungiert. Deutlich wird dies in der Kinetik des Iris-Sphinkter-Muskels: Ghrelin verringert die Muskelspannung, während Obestatin die cholinerge Iris-Sphinkter-Muskelkontraktion erhöht. Der Effekt des Ghrelins ist dabei unabhängig vom GHS 1a-Rezeptor, wohl aber abhängig von der Prostaglandinproduktion. Im menschlichen Plasma liegt desacyliertes Ghrelin im Blutkreislauf als freies Peptid vor, während dagegen der Großteil des acylierten Ghrelins an große Moleküle, wie Lipoproteine, gebunden ist. Eine 24-Stunden-

Messung ergab eine akkumulative Blutkonzentration von 1027-+108 pg/ml (Spiegel et al., 2010).

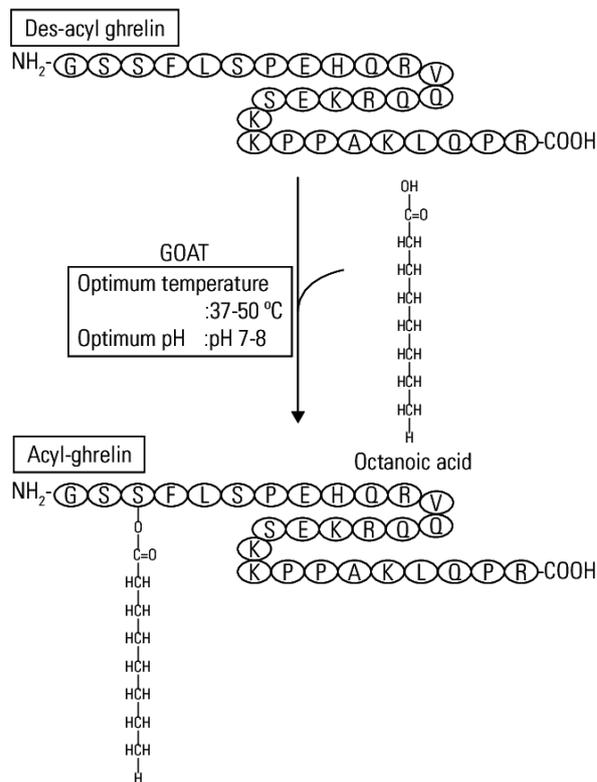


Abbildung 1: Die Entstehung von Acyl-Ghrelin aus Desacyl-Ghrelin (Sato et al., 2012).

1.1.4 Growth-Hormone-Secretagogue-Rezeptor 1a

Das endogene Ghrelin stammt aus zwei Ghrelin-Reservoirs, also dem Gastrointestinaltrakt und dem Zentralnervensystem (Kojima et al., 1999; Lu et al., 2002; Mondal et al., 2005). Über das ZNS wirkt Ghrelin auf den Energiemetabolismus ein. Das Hormon stimuliert somit die Nahrungsaufnahme und sorgt infolgedessen für eine Gewichtszunahme (Nakazato et al., 2001). Dieser Effekt wird der Inhibition der Proopiomelancortin-Neuronen zugeschrieben (Cowley et al., 2003; Chen et al., 2017), während die Regulierung der gastrointestinalen Funktionen durch den Vagus-Nerv geschieht (Date et al., 2001; Masuda et al., 2000). Außerdem stimuliert Ghrelin die Sekretion von GH

aus der Hypophyse. Des Weiteren hat das Hormon auch Auswirkungen auf verschiedene Organsysteme, wie etwa auf endokrine, kardiovaskuläre und muskuloskelettale Systeme, um nur wenige Beispiele zu nennen. Seine biologische Aktivität erfolgt über den Growth-Hormone-Secretagogue-Rezeptor 1a (GHSR 1a). Die Bindung erfolgt an acyliertes Ghrelin, welches eine große hydrophobe Serin-3 Gruppe darstellt. Desacyliertes Ghrelin wirkt über einen bisher unbekanntem Rezeptor.

Der GHS 1a-Rezeptor ist ein G-Protein-gekoppelter Rezeptor, der bereits in 19 Tage alten Rattenembryonen in der Hypophyse nachgewiesen werden kann (Kamegai et al., 1999; Katayama et al., 2000). Diesen Rezeptor findet man in allen untersuchten Wirbeltieren, wie Säugetieren, Vögeln, Amphibien, Reptilien und Fischen (Palyha et al., 2000). Zudem ist dieser Rezeptor in vielen peripheren Organen zu finden, einschließlich dem Herzen, der Lunge, der Leber, der Niere, dem Magen, dem Darm, aber auch an anderen Orten, wie dem Fettgewebe und den Immunzellen. Dies belegt, dass Ghrelin mannigfaltige Funktionen im Körper übernimmt (Broglio et al., 2003). Im Gegensatz dazu ist die Stimulation der Nahrungsaufnahme durch desacyliertes Ghrelin nicht GSHR 1a vermittelt (Toshinai et al., 2006). Daten über die Existenz von außerhypothalamischen ghrelinergen Neuronen sind bisher noch uneindeutig, jedoch zeigt die Verteilung des GHS-Rezeptors 1a außerhalb des Hypothalamus, dass Ghrelin einen wichtigen regulatorischen Einfluss in vielen anderen Prozessen haben muss.

1.1.5 Die Auswirkungen von Ghrelin während der Entwicklung

Studien an sich entwickelnden Organen und Geweben zeigen bereits im frühen Stadium eine Ghrelin-Expression, was bedeutet, dass Ghrelin eine wichtige Rolle in der fetalen und neonatalen Entwicklung spielen muss. Das wird daran deutlich, dass Ghrelin schon in der 8.-10. Schwangerschaftswoche im Thyroid, in der Lunge, im Gastrointestinaltrakt und im Pankreas nachgewiesen wurde (Rindi et al., 2002, Volante et al., 2002; Wierup et al., 2002). Studien an Horticarcinoma-Zellen, die in vitro als Placenta-Modell dienen, führten zu einem besseren Verständnis des stimulierenden Effekts von Ghrelin auf die Zellproliferation

neben den inhibitorischen Effekten an der Zellapoptose (Rak-Mardyla et al., 2010). Hayashida et al. (2002) wiesen nach, dass bis zum 19. Tag der embryonalen Entwicklung keine Ghrelinproduktion im Magen stattfindet. Allerdings ist die embryonale Plasmakonzentration des desacylierten Ghrelins 5–10-fach höher als bei der Mutter. Das maternale Ghrelin wird in den embryonalen bzw. fetalen Blutkreislauf übertragen und veranlasst das fetale Wachstum über die Stimulation der Zellproliferation während der zweiten Schwangerschaftshälfte (Nakahara et al., 2006). Diese maternale-fetale-Kommunikation über Ghrelin scheint einen neuroprotektiven Effekt zu haben und bedeutend für die Neurogenese zu sein, da der teratogene Effekt im Fetus von Vitamin A oder dem Peptid YY von der mütterlichen Ghrelinzufuhr blockiert wird (Yuzuriha et al., 2007). Zahlreiche Studien zeigten, dass Ghrelin nicht nur die Neurogenese in sich entwickelnden Gehirnen fördert, sondern auch in adulten. Zunächst wurden in zwei Regionen des erwachsenen Säugetier-Gehirns eine ghrelinabhängige Neurogenese detektiert: in der subventriculären (Alvarez-Buylla und Garcia-Verdugo, 2002) und in der subgranulären Zone (SGZ) des Gyrus dentatus des Hippokampus (Seri et al., 2001). In diesem Areal wurden auch neuronale Vorläuferzellen gefunden (Roy et al., 2000). Diese unreifen Neuronen sind wichtig für den Erwerb von neuen, vom Hippokampus abhängigen Erinnerungen über zeitlich-räumliche Beziehungen, wie zum Beispiel die Erinnerung an zurückgelegte Wege (Shors et al., 2001). Ghrelin hat auch einen Langzeit-Effekt an den Neuronen des NTS (Nucleus of the Solitary Tract), nämlich bei der Regulierung ihrer Plastizität über die L-Typ-Kalzium-Kanäle (Zhang et al., 2005). Diese Aktivität der Kanäle ist relevant für das Auslösen des Ras/mitogen-aktiviertes-Protein-Kinase-Wegs, welches das Signal zum Nukleus vermittelt und die Expression jener Gene stimuliert, die essenziell für das neuronale Überleben und die neuronale Plastizität sind (Dolmetsch et al., 2001).

1.2 Gedächtnis

1.2.1 Deklaratives und prozedurales Gedächtnis

Das Gedächtnis greift auf mehrere Gehirnsysteme zurück. Diese Systeme unterscheiden sich hauptsächlich darin, ob es um die Speicherung und den Abruf von Fakten und Ereignissen (deklaratives Gedächtnis) oder von unbewussten Gedächtnisinhalten (prozedurales Gedächtnis) geht. Man unterscheidet darüber hinaus in der Neuropsychologie das deklarative vom prozeduralen Gedächtnis in Abhängigkeit vom entscheidenden Einfluss der medialen Temporallappenregion, insbesondere des Hippokampus, dessen Beteiligung für das deklarative Gedächtnis essenziell ist. Das deklarative Gedächtnis – auch Wissensgedächtnis genannt – umfasst episodische Erinnerungen, deren Inhalte in einen raumzeitlichen Kontext eingebettet sind, also Fakten und semantische Erinnerungen, sowie Ereignisse. Deklarative Erinnerungen sind typischerweise durch aktives Wiederholen abrufbar (Tulving, 1983; Squire, 1992). Im Gegensatz dazu können prozedurale Erinnerungen (auch Verhaltensgedächtnis oder implizites Gedächtnis genannt) ohne die Beteiligung der medialen Temporallappenregion erworben werden. Das prozedurale Gedächtnis umfasst ein Erinnerungssystem, welches auf verschiedenen Arealen des Gehirns beruht. Es schließt prozedurale Erinnerungen für motorische Fähigkeiten (motorische Bereiche, Striatum, Cerebellum), aber auch Wahrnehmungsfähigkeiten (sensorischer Kortex) und bestimmte Formen der Konsolidierung sowie implizites Lernen mit ein. Sie können unbewusst erworben und abgerufen werden. Das Erlernen erfolgt langsamer und benötigt in der Regel mehrere Trainingseinheiten.

Studien an unter Amnesie leidenden Patienten, die einen bilateralen Schaden am medialen Temporallappen oder an der Mittellinie der diencephalischen Hirnstrukturen erlitten haben, zeigen deutlich den Unterschied dieser Gedächtnisarten: Amnestische Patienten sind stark bei den üblichen Gedächtnistests beeinträchtigt, zum Beispiel beim Abruftest von Orten, Listen, Gesichtern, Melodien, etc., also Tests, die das deklarative Gedächtnis überprüfen. Allerdings führen diese Patienten genau so erfolgreich wie die gesunden Patienten Tests durch, die das Erlernen von Fähigkeiten und

Gewohnheiten sowie das Phänomen des Primings betreffen (Bahnung, also die Verarbeitung eines Reizes, welches implizite Gedächtnisinhalte aktiviert). Das bedeutet also, dass die Art des Lernens und des Gedächtnisses, welche bei amnestischen Patienten noch zielführend ist, abhängig davon ist, welches Gehirnareal geschädigt bzw. nicht geschädigt wurde und somit, welches Gedächtnis beeinflusst wird. In Abbildung 2 werden die Gedächtnissysteme mit ihrer Einteilung zur Übersicht dargestellt.

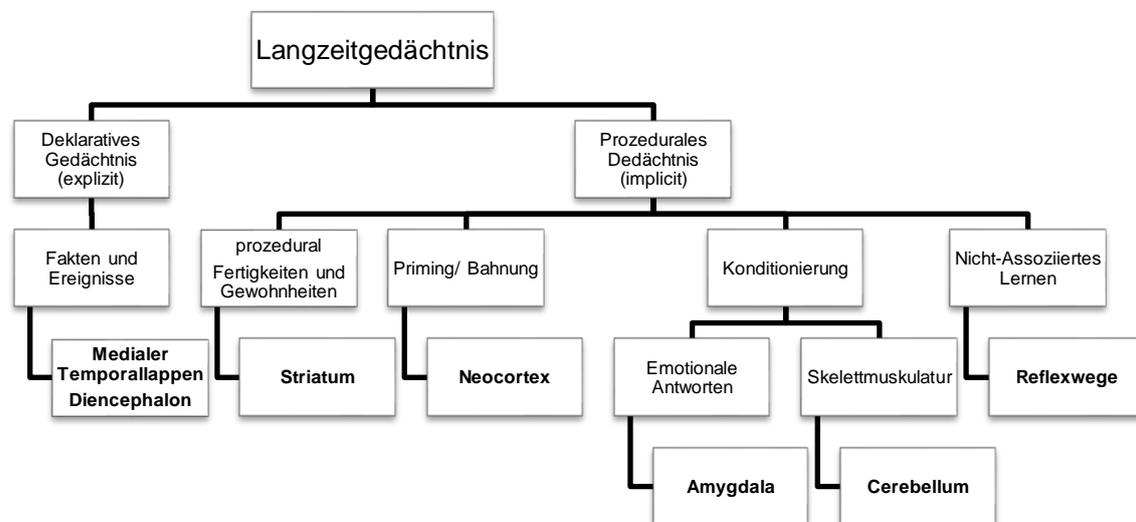


Abbildung 2: Einteilung der Gedächtnissysteme nach Squire, 1992

1.2.2 Gedächtniskonsolidierung

Erinnerungen zu bilden und abrufen zu können ist eine fundamentale Fähigkeit des Menschen. Das versetzt ihn in die Lage, sein Verhalten an das sich stetig verändernde Umfeld anzupassen und die Erinnerungen angemessen zu selektieren. Erinnerungsfunktionen umfassen drei große Prozesse: die Enkodierung, die Konsolidierung und das Abrufen von Erinnerungen. Während der Enkodierung resultiert die Wahrnehmung eines Stimulus in der Entstehung einer neuen Erinnerungsspur, die zu Beginn der Enkodierung stark dazu neigt, durch störende Einflüsse überlagert zu werden. Während der Konsolidierung wird die Gedächtnisspur durch viele kurze und langzeitige Konsolidierungsprozesse stabilisiert, was die Integration der Erinnerung in bereits bestehende Netzwerke

verstärkt (McGaugh, 2000). Beim Abrufen kann auf gespeicherte Erinnerungen zugegriffen werden. In einer Studie von Born und Kollegen 2013 wird dargelegt, dass ein schlafendes Hirn optimale Konditionen für die Konsolidierungsprozesse bietet, um neu enkodierte Erinnerungen in Langzeiterinnerungen zu integrieren. Neuere Erkenntnisse zeigen, dass die Erinnerungsspuren nicht nur einmal konsolidiert werden, sondern einer Abfolge von Rekonsolidierungen unterliegen, sodass die Erinnerungen durch Reaktivieren und wiederholtes Abrufen eine lange Zeit bestehen können. (Nader, 2009). Die Gedächtniskonsolidierung beschreibt also den Prozess, Erinnerungen vom Kurzzeitgedächtnis in das Langzeitgedächtnis zu übertragen. Aus dem Langzeitgedächtnis können dann die gespeicherten Informationen assoziativ oder strategisch abgerufen werden. Am assoziativen Abrufen sind hauptsächlich der Hippokampus und andere Strukturen des medialen Temporallappens beteiligt. Die Erinnerung erfolgt automatisch, beispielsweise nach einem Hinweisreiz. Strategisches Abrufen erfordert dagegen das aktive Suchen nach der Erinnerung. Daran ist der präfrontale Kortex entscheidend beteiligt.

Der Vorgang der Konsolidierung wird vor allem dem Hippokampus und dem Neokortex zugeordnet. Beide Strukturen sind über den entorhinalen Kortex miteinander verbunden und über diesen in der Lage, verarbeitete Informationen hin und her zu leiten: Zunächst werden erste neue Informationen im Hippokampus reorganisiert und zwischengespeichert. Im Schlaf werden dann diese neu enkodierten Erinnerungen allmählich in den Neokortex transferiert, der als Langzeitspeicher dient. Während des Lernens werden Informationen sowohl im Hippokampus als auch im Neokortex verschlüsselt und verarbeitet. Aus biochemischer Sicht werden aufgenommene Informationen in den Neuronen in Aktionspotentiale umgewandelt. Chemische Signale, die Transmitter, leiten diese an den Synapsen weiter. Der wichtigste Transmitter im zentralen Nervensystem ist hierfür das Glutamat. Glutamat kann sich an zwei Rezeptoren binden: an den AMPA- (α -Amino-3-Hydroxy-5-Methyl-4-Isoxazolepropionic Acid) und an den NMDA-Rezeptor (N-Methyl-D-Aspartat). Zunächst bindet der Transmitter an AMPA, da NMDA durch Magnesium blockiert ist. Somit entsteht vorerst ein geringes postsynaptisches Potential. Wird aber als Folge vieler

Aktionspotentialserien vermehrt Glutamat ausgeschüttet, wird das Magnesium von dem NMDA-Rezeptor verdrängt und kann sich nun auch an diesen binden, sodass Calcium-Ionen in das Zellinnere einfließen können. Durch diesen Calciumeinstrom werden vermehrt AMPA-Rezeptoren in die Membran eingebaut. Dieser Vorgang erhöht die Leitfähigkeit und es entsteht ein höheres postsynaptisches Potential. Die Nervenzellen können leichter erregt werden, was als posttetanische Potenzierung bezeichnet wird. Dies wiederum steigert die Proteinbiosynthese der Zelle, Botenstoffe werden in den synaptischen Spalt freigesetzt und die Glutamatfreisetzung wird gesteigert (Huppelsberg & Walter, 2013). Dieser Mechanismus der Langzeitpotenzierung ist also ein Mittel der schlafabhängigen synaptischen Gedächtniskonsolidierung (Collingridge, 2010; Tsanov, 2008; Kandel, 2001).

1.2.3 Wirkung von Ghrelin auf das Gedächtnis

Im Hypothalamus befinden sich zahlreiche Ghrelin-bindende Rezeptoren (GHSR 1a). Dies legt nahe, dass Ghrelin und seine Analoga die Gehirnfunktionen auch abgesehen von den endokrinen und metabolischen Regulationen beeinflussen (Mitchell et al., 2001). Diese Rezeptoren findet man auch im Hippokampus. Studien an Mäusen und Ratten zeigen, dass nach intracerebroventrikulärer Gabe von Ghrelin sich die Gedächtnisfestigung in Vermeidungsaufgaben verbesserte (Carlini et al., 2002, 2004, 2008; Diano et al., 2006). Die Injektionen fanden vor dem Training der Nagetiere statt und die Festigung des Langzeitgedächtnisses hielt für mehr als drei Stunden an (Carlini et al., 2010). Auch verbesserte sich die Objekterkennung der Nagetiere (Carlini et al., 2004) und wirkte der Verschlechterung der Objekterkennung, die durch Hunger entsteht, entgegen (Carlini et al., 2008). Das Hormon Ghrelin bindet im Hippokampus über die Rezeptoren an die Neuronen, verändert die neuronale Morphologie und rearrangiert ihre synaptische Organisation (Pinto, 2004). Experimente an gewöhnlichen Versuchsmäusen und sogenannten „Ghrelin-knockout-Mice“ zeigten, dass die systemische Gabe von Ghrelin oder seinen Analoga zu einem Anstieg der Spine-Dichte im Cornu ammonisarea (CA1-Feld) des Hippokampus

führt. Diese Vergrößerung der dendritischen Synapsendichte verbessert die Performance in Gedächtnistests (Diano et al., 2006). An Ratten zeigte sich ein weiterer neuronaler Effekt von Ghrelin: Das Hormon setzt den Schwellenwert für die Generation eines Langzeitpotentials im Gyrus dentatus herab und erhöht die Nitrit-Oxid-Synthese (NO) im Hippokampus. Die NO-Synthase-Aktivität unterscheidet sich bei trainierten und nicht trainierten Ratten und gilt als einer der endogenen Faktoren im Hippokampus, die den Effekt von Ghrelin auf das Gedächtnis vermitteln. Ghrelin fördert somit die Verdichtung der Neuronenformation sowie das Generieren von Langzeitpotentialen im Hippokampus und verbessert die Gedächtnisfestigung bei Nagetieren. Auch in vitro wurden die Auswirkungen von Ghrelin auf verschiedene Hirnareale beschrieben. Im Großteil der in vitro kultivierten Neuronen ist das Hormon schon in den ersten Wochen der Embryonalentwicklung nachweisbar. In diesem Zeitraum finden die neuronale Differenzierung und Netzwerkbildung statt. Es ist also möglich, dass Ghrelin schon früh die Zell-zu-Zell-Interaktionen beeinflussen kann. Diese sind für die Lern- und Gedächtnisfunktionen von zentraler Bedeutung.

1.3 Schlaf

1.3.1 Definition von Schlaf

Schlaf ist ein lebensnotwendiges Phänomen. Der mit ihm einhergehende Bewusstseinsverlust ist aus evolutionärer Sicht eine potenzielle Gefahr für das Überleben. Dennoch schlafen fast alle Tiere, was von einer adaptiven Rolle des Schlafes zeugt, bei der der gesamte Organismus sich regeneriert (Webb, 1988). Verschiedene Forscher gingen davon aus, dass Schlaf zum Erhalt und Wiederherstellen der körperlichen Energie, zur thermo- und metabolischen Regulation sowie zur Adaptation von Immunologischen Funktionen diene, aber auch um zerstörtes Zellgewebe zu reparieren (Berger, Phillips, 1995; Oswald I, 1980; Poldrack et al., 2001; Knutson et al., 2007). Alle diese Funktionen könnten jedoch auch in einem entspannten, aber wachen Zustand gewährleistet werden und erklären somit nicht die Funktion des Bewusstseinsverlustes während des

Schlafens. Daher liegt nahe, dass Schlaf der Funktion des Gehirns dient (Hobson, 2005; Frankland, 2005). In den 1950er und 1960er Jahren wurden die Schlafstadien einschließlich der REM-Phase (rapid eye movement Phase) und non-REM-Phase (auch NREM) entdeckt (Aserinsky et al., 1953). Die Beobachtung der Korrelation zwischen raschen Augenbewegungen und lebhaften Träumen ist ein Beweis dafür, dass das Gehirn während des Schlafes sehr aktiv ist (Dement et al., 1957).

Schon bald nach dieser Entdeckung fanden die Forscher heraus, dass die sensorischen Inputs und motorischen Outputs simultan zum Aktivieren des Gehirns während der REM- Schlafphase geblockt werden. Es wurde klar, dass die regen Hirnaktivitäten während des REM-Schlafs in regelmäßigen 90-Minuten-Intervallen auftreten und 1/5 des Schlafs ausmachen. Aufgrund dieser Tatsache wurde die Vermutung widerlegt, dass schlafen mit dem Deaktivieren des Gehirns einhergeht. Eine frühere Untersuchung zur Gehirndurchblutung von Kety zeigte 1955, dass während des Schlafs die Gehirndurchblutung lediglich um 20% reduziert wird. Da die Durchblutung stark mit der neuronalen Aktivität zusammenhängt, steigt die Feuerrate der Neuronen (die Frequenz, mit der Aktionspotentiale erzeugt werden) zu Schlafbeginn an (Hobson, J., 2002). Selbst in Non-REM-Schlafphasen, die mit einem besonders ausgeprägten Verlust des Bewusstseins einhergehen, sind signifikante Aktivitäten des Gehirns nachzuweisen.

Man kann also Schlaf als einen natürlichen und reversiblen Status definieren, bei dem Lebewesen auf externe Stimuli gedämpft reagieren und relativ inaktiv sind, verbunden mit dem Verlust des Bewusstseins. Schlaf findet in regelmäßigen Intervallen statt und wird homöostatisch reguliert, beispielsweise resultiert aus Schlafverlust ein länger andauernder Schlaf (Borbély et al., 1999). Schlafentzug und Schlafunterbrechungen führen daher zu schweren kognitiven und emotionalen Problemen (Brown, 2012; Killgore, 2010; Vandekerckhove, 2010).

1.3.2 Schlafarchitektur

Gehirnscans und EEG (Elektroenzephalographie) ermöglichten eine präzisere Beschreibung des Schlafs. Mit Hilfe dieser Bildgebungstechniken konnte belegt werden, dass sich die regionale Aktivität des Gehirns zwischen Wachheit und REM-Schlaf stark unterscheidet. Diese unterscheiden sich wiederum signifikant vom Non-REM Schlaf, Stadium 1-4 (Huber et al., 2004). Kales und Rechtschaffen (1986) teilten die Schlafstadien nach ihren polysomnographischen Kriterien ein. Dies war möglich, weil durch die Gehirnaktivität der Nervenzellen elektrische Potentiale entstehen, die das EEG an der Kopfoberfläche ableitet. Die Größenordnung der registrierten Ströme wird in μV angegeben. In Bezug auf Amplitude und Frequenz können die einzelnen Stadien zugewiesen und ausgewertet werden. Während die Stadien 1 und 2 dem leichten Schlaf (Non-REM-Schlaf) zugeordnet werden, gehören die Stadien 3 und 4 zum tiefen Schlaf mit langsamen Wellen (SWS- Slow Wave Stadium). „W“ beschreibt den Wachzustand. REM-Schlaf und Wachzustand werden daher nebeneinandergestellt, da sie sich im EEG kaum unterscheiden: Dabei treten sekundenlange Anhäufungen von 1-4 Hz schnellen Augenbewegungen auf. Auch sind β -Wellen (13-30 Hz), γ -Wellen (> 30 Hz) und eingestreute, kleinamplitudige δ -Wellen (4-7 Hz) vorherrschend. Bei den Ableitungen entstehen auch typische Muster, wie etwa K-Komplexe. Diese sind kennzeichnend für Stadium 2 und treten dann auf, wenn dem Schlafenden ein Reiz präsentiert wird. Diese K-Komplexe sind im EEG als negative, mit einer darauffolgenden positiven Auslenkung zu erkennen, die zusammen länger als 0,5 Sekunden andauern. Ebenfalls findet man im selben Stadium Schlafspindeln, welche von hemmenden Interneuronen im somatomotorischen Thalamus erzeugt werden. Sie schirmen somit das Gehirn von Außenreizen ab und ermöglichen dadurch die Ruhestellung der zentralen Motorik. Stadium 1 ist ein sehr instabiler Zustand im Verlauf des Schlafes und kann durch kurze Wachepisoden unterbrochen werden. Verminderte α -Wellen-Aktivität sowie rollende Augenbewegungen treten in diesem Stadium auf. Die Dauer beträgt 1-7 Minuten. Stadium 2 ist der eigentliche Zeitpunkt des Schlafbeginns mit den oben genannten typischen K- Komplexen und Schlafspindeln. Es sind weniger

als 20 % δ -Wellen zu verzeichnen. Im Stadium 3 beträgt der Wert der δ -Wellen zwischen 20 % und 50 %. Sie haben mit einer Amplitude von mindestens 75 μ V eine Dauer von zwei Sekunden oder weniger. Dieses Stadium gehört, wie Stadium 4, bereits zum Tiefschlaf. Im Stadium 4 betragen die δ -Wellen in einer Epoche mindestens 50 %.

Anschließend geht der Delta-Schlaf in den REM-Schlaf über, welcher durch schnelle Augenbewegungen im EOG (Elektrookulographie) gekennzeichnet ist. Daher wird dieser Schlaf auch paradoxer Schlaf genannt. Die Dauer der REM-Schlaf-Intervalle nimmt im Laufe der Nacht von 5-10 Minuten auf 20-30 Minuten zu. Somit ist der erste Schlafzyklus abgeschlossen und wiederholt sich mehrmals, ca. 4- bis 5-mal mit einer jeweiligen Dauer von etwa 1,5 Stunden (Huppelsberg und Walter 2013). Mit Hilfe eines Hypnogrammes können diese Verläufe der Stadien dargestellt werden (Abbildung 3).

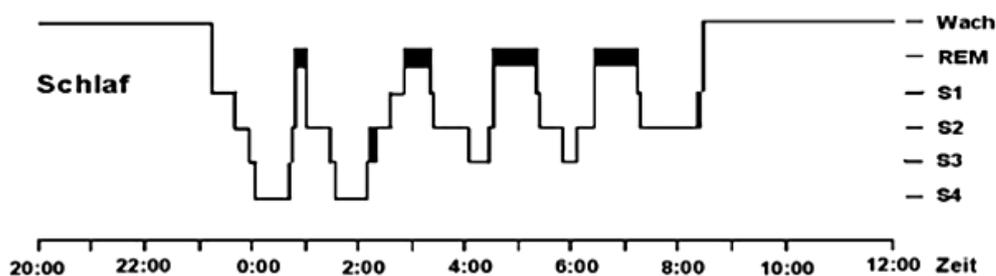


Abbildung 3: Idealisiertes Hypnogramm eines gesunden Erwachsenen. Schlafstadien im Verlauf einer Nacht (Born et al., 1995)

1.3.3 Schlafabhängige Gedächtniskonsolidierung

Nach der Synaptische-Homöostase-Theorie von Tononi und Cirelli (2014) fördert Schlaf die Gedächtniskonsolidierung, indem im Schlaf unnötige Synapsen abgebaut werden und somit weniger Störsignale auftreten. Laut Rasch und Born (2007) würden im Schlaf neue Gedächtnisinhalte, nachdem sie einer Reaktivierung und Reorganisation unterliegen, in bestehende neuronale Netzwerke des Langzeitgedächtnisses integriert werden, was als Aktive-System-Konsolidierungs-Hypothese bekannt ist. Dabei spielen die verschiedenen Schlafstadien eine essenzielle Rolle. Die „Dual Process Hypothesis“ nimmt an,

dass verschiedene Schlafstadien die Konsolidierung von verschiedenen Arten von Erinnerungen fördert (Gais & Born 2004). Insbesondere vermutete man, dass das deklarative Gedächtnis von langsamen Oszillationen (slow waves) profitiere, das prozedurale Gedächtnis dagegen von REM-Schlaf. Yarush et al. (1971) belegten erstmals den positiven Effekt von frühem Slow-Wave-Schlaf auf das deklarative Gedächtnis mit neutralen Wortpaaren. Im Gegensatz dazu legten andere Studien dar, dass emotionale deklarative Erinnerungen vom späten REM-Schlaf profitierten (Wagner et al., 2002). Basierend auf diesen frühen Studien bewiesen Plihal und Born (1997), dass mit SW-reichem Schlaf nicht nur der Lernerfolg mit Wortpaaren und räumlichen Informationen und somit das deklarative Gedächtnis verbessert wird, sondern auch, dass Schlaf, reich an REM-Phasen, das prozedurale Gedächtnis und implizite Erinnerungen optimiert.

Mit Hilfe des Two-Stage-Memory Systems, erstmals erwähnt von Marr (Luo et al., 2010), lässt sich erklären, warum die Gedächtniskonsolidierung im Schlaf stattfindet. Dieses „Zwei-Phasen-Erinnerungssystem“ besagt, dass Erinnerungen zuerst in einen Schnell-Lern-Speicher enkodiert (zum Beispiel im Hippokampus des deklarativen Gedächtnisses) und dann allmählich in einen Langzeit-Speicher transferiert werden (zum Beispiel in den Neokortex). Der Schnell-Lern-Speicher sorgt für ein schnelles und effizientes Enkodieren der Erinnerungen. Zunächst sind diese Darstellungen der Erinnerungen instabil und anfällig für Interferenzen durch neu kodierte Informationen. Im Laufe der Zeit werden diese dann in den Langzeitspeicher übertragen, ohne alte Informationen zu überschreiben oder zu entfernen. Man nimmt an, dass durch wiederholte Reaktivierung der neuen Erinnerungen während sogenannter off-line-Perioden wie Schlaf, der langsam lernende Langzeitspeicher trainiert wird und dass neue Erinnerungen nach und nach gestärkt und in die bereits existierenden Langzeiterinnerungen aufgenommen werden (Lewis, 2011; McClelland et al., 1995; Tse et al., 2007). Die Zeit, die eine Erinnerung für diesen Vorgang braucht, hängt von der erworbenen Information ab, sowie von den bereits vorherrschenden Schemen im Langzeitgedächtnis. Die Dauer hierfür kann von einem Tag über mehrere Monate bis zu einem Jahr betragen (Wang & Morris, 2010).

Die positive Auswirkung des Schlafs bewies auch eine Studie von Gais et al. (2006). Ihre Probanden mit Schlafentzug erzielten beim Abfragen zuvor gelernter Vokabeln schlechtere Ergebnisse als die Probanden, die nach der Lernphase und vor dem Test ausreichend Schlaf erhielten. Dies bestätigt den positiven Einfluss des Schlafes auf das deklarative Gedächtnis. Dass auch das prozedurale Gedächtnis vom Schlaf profitiert, zeigten Studien von Fischer et al. und Walker et al. (2002). Hierbei erlernten Probanden eine Zahlenfolge, die sie auf der Computertastatur wiederholt in genau dieser Reihenfolge eintippen sollten. Nach dem Schlaf schlossen sie die Aufgabe deutlich erfolgreicher ab als vor dem Schlaf. Folglich kann man daraus schließen, dass Schlaf den Stabilisierungsprozess des Erlernten verbessert (Born et al., 2006).

1.3.4 Wirkung von Ghrelin auf Schlaf

Hormone können Schwankungen unterworfen sein, so beispielsweise Kortisol und Somatotropin (GH). Kortisol wird in erster Linie zirkadian, aber auch schlafabhängig reguliert, GH dagegen primär schlafabhängig. Die Konzentration von Kortisol ist in der ersten Nachthälfte, welche reich an Tiefschlafphasen ist, am niedrigsten und steigt gegen Morgen wieder an. Somatotropin wird dagegen nur in der ersten Nachthälfte sezerniert. Die Konzentration dieser Hormone reagiert stark auf Störungen und Stress (Born & Fehm, 1998). Bei chronischem oder akutem Stress wird Kortisol vermehrt, GH dagegen in geringerem Umfang ausgeschüttet. Da in der ersten Nachthälfte, von der die deklarative Gedächtnisbildung besonders stark profitiert, die Werte für Kortisol minimal und für GH maximal sind, hoben 1999 Plihal und Born experimentell die Kortisolkonzentration ihrer Probanden in der ersten Nachthälfte an. Das Resultat war eine Störung der Gedächtniskonsolidierung. Daraus zogen Plihal und Born den Schluss, dass die Vermittlung über Glukokortikoidrezeptoren direkt im Hippokampus stattfindet.

Auch Ghrelin beeinflusst den Schlaf und die Schlafarchitektur und sorgt für weitere endokrine Veränderungen. In einer Studie von Frieboes et al. (1995) wurde männlichen jungen gesunden Probanden das GH-Releasing Peptide -6

(GHRP-6) während des Schlafs intravenös in pulsativer Art verabreicht (4-mal zwischen 22 Uhr und 01 Uhr). GHRP-6 wirkt wie Ghrelin und fördert ebenso die Ausschüttung von GH aus der Hypophyse. Bei diesen Probanden wurde vermehrt das Non-REM-Schlafstadium 2 im EEG verzeichnet. Ebenso waren die nächtlichen Konzentrationen der Hormone GH, Kortisol und ACTH erhöht. Auch Weikel et al. (2003) zeigten mit ihrer Studie die Wirkung von Ghrelin auf Schlaf auf: Jungen, gesunden Probanden wurden zwischen 22:00 Uhr und 01:00 Uhr nachts viermal 50 µg Ghrelin intravenös injiziert. Diese Art und Weise des Verabreichens scheint ausschlaggebend zu sein, um die Effekte des Neuropeptids auf dem EEG erkennen zu können. Demgemäß wird die physiologische Ausschüttung des Hormons nachgeahmt (Steiger 2007). Nach der Verabreichung des Hormons erhöhte sich der Slow-Wave-Schlaf der Probanden deutlich, während der REM-Schlaf in der zweiten Nachthälfte reduziert wurde. GH und Prolaktin wurden in der gesamten Nacht stimuliert, Kortisol sank dabei in der ersten Nachthälfte im Vergleich zur Placebo-Gruppe. Folglich lässt sich sagen, dass Ghrelin und GHRP-6 ähnliche Effekte auf das Schlaf-EEG und die GH-Sekretion ausüben. In einer weiteren Studie fand man heraus, dass nach Schlafentzug eine deutlich höhere Ghrelinkonzentration in der Erholungsnacht nachgewiesen werden konnte. Folglich ist es möglich, dass Ghrelin, dessen Konzentration bei Schlafentzug ansteigt, eine schlaffördernde endogene Substanz ist (Schüssler et al. 2005). Laut Steiger (2007) ist dieser Effekt beim Menschen von Zeitpunkt der Ghrelin-Gabe, Geschlecht und Dosis abhängig. Somit blieb nach pulsativer Gabe von Ghrelin zwischen 04:00 Uhr und 07:00 Uhr das Schlaf-EEG unverändert (Kluge et al., 2007). Kluge et al. (2010) verglichen den Effekt von Ghrelin auf den Schlaf zwischen gesunden Männern und Frauen. Während bei den Männern SWS, Non-REM-Schlaf, GH und Kortisol erhöht waren, zeigten sich bei Frauen keine Veränderungen des Schlaf-EEGs, ebenso keine endokrinen Veränderungen. Da diese Ergebnisse sowohl bei prämenopausalen als auch bei postmenopausalen Frauen beobachtet wurden, kann man einen Einfluss von Östrogen ausschließen (Kluge et al., 2007; Kluge et al., 2010). Einen von der Dosis abhängenden Effekt beschrieben Weikel et al. (2005). Demnach entwickelte ein Proband nach einer Injektion von 100 µg

Ghrelin um 22 Uhr deutlichen Hunger und forderte einen zusätzlichen Imbiss. Nach weiteren 3 Injektionen von 100 µg Ghrelin war der Schlaf des Probanden beeinträchtigt. Auch bei den sogenannten Night-Eating-Syndromen wachen Patienten regelmäßig hungrig auf und essen zudem exzessiv. Bei diesen normalgewichtigen Patienten konnte eine höhere nächtliche Ghrelinkonzentration im Gegensatz zu gesunden Probanden verzeichnet werden (Rosenhagen et al., 2005). Somit lässt sich sagen, dass Ghrelin bei jungen gesunden Männern hochdosiert den Schlaf stört und wegen Hunger unterbricht, niedriger dosiert in pulsatischer Gabe dagegen den Schlaf fördert. Bei Frauen konnten keine Effekte von Ghrelin auf den Schlaf beschrieben werden.

2 Fragestellung

Die Gedächtniskonsolidierung ist ein komplexer Prozess, bei dem Erinnerungen im Gehirn so verarbeitet werden, dass sie im Langzeitgedächtnis gefestigt werden. Das wohl wichtigste Hirnareal für diesen Vorgang bildet der Hippokampus, der sich im Temporallappen befindet. Ist dieser Bereich geschädigt, können keine neu erworbenen Informationen und Erinnerungen vom Kurzzeit- ins Langzeitgedächtnis übertragen werden. Wie genau dieser Vorgang abläuft, ist noch nicht vollständig geklärt. Allerdings zeigen zahlreiche Studien, dass die Gedächtnisfestigung von Schlaf positiv beeinflusst werden kann. Hormone können den Schlaf fördern oder beeinträchtigen. Das Hungerhormon Ghrelin zeigte in vorangegangenen Studien bei jungen männlichen Probanden einen schlaffördernden Effekt. Die Rezeptoren für dieses Hormon findet man unter anderem im Hippokampus, einem Hirnareal, in dem sich die GHS 1a-Rezeptoren nachweisen lassen. In Anbetracht dieser Erkenntnisse wurden in der vorliegenden Studie mittels intravenöser Injektion von Ghrelin zu Beginn der Tiefschlafphase an jungen gesunden männlichen Probanden folgende Fragen untersucht:

- Verbessert die intravenöse Gabe von Ghrelin während des Tiefschlafs die Leistung der Probanden bei Gedächtnistests? Am Computer werden die deklarative Leistung mit einem räumlichen Gedächtnis-Test („Memory“) und die prozedurale Leistung mit einem Fingertapping-Test gemessen. Die Lernphase beider Tests erfolgt vor dem Schlaf der Probanden, das Abrufen am Morgen danach.
- Hat die Injektion von Ghrelin Einfluss auf die Schlafarchitektur der Probanden? Durch die polysomnographische Aufzeichnung des Schlafes werden die verschiedenen Schlafstadien in ihrer Dauer und Häufigkeit unter Einfluss des Hormons untersucht.

- Beeinflusst das applizierte Ghrelin die Sezernierung weiterer Hormone, die physiologischerweise während des Schlafs Schwankungen unterworfen sind? Mit regelmäßigen Blutentnahmen können weitere Hormonkonzentrationen von Kortisol und Somatropin und ihre Konzentrationsverläufe während der Schlafphase gemessen und analysiert werden.

3 Material und Methoden

3.1 Probanden

Die Studie wurde an 16 Männern im Alter von 18 bis 31 Jahren durchgeführt. Diese wurden über eine Rundmail des Zentrums für Datenverarbeitung der Universität Tübingen angeworben. Es wurden ausschließlich männliche Probanden ausgewählt, um hormonelle Zykuseinflüsse auszuschließen. Voraussetzung für die Teilnahme an dieser Studie war, dass die Probanden einen regelmäßigen Schlaf-Wach-Rhythmus hatten, zudem Nichtraucher waren und keine Medikamente einnahmen. Daneben mussten die Probanden normalgewichtig sein, was bei der Voruntersuchung, welche im nüchternen Zustand erfolgte, mit Hilfe des BMI (Body-Mass-Index) ermittelt wurde. Dieser Wert lag bei 20 bis 25. Auch wurde in Voruntersuchungen ausgeschlossen, dass chronische oder akute Erkrankungen, Alkohol- und/oder Tabakabusus sowie besondere Belastungssituationen physischer und psychischer Art vorlagen (SCL-90-R Fragebogen). Bei jedem Probanden wurde eine Anamnese erhoben und mit Blutentnahmen dessen Gesundheit sichergestellt. Bestimmt wurden dabei ein kleines Blutbild, Gerinnungswerte, Leberenzymwerte (GOT/GPT), Kreatinin, Gamma-GT, Mineralstoffe (Natrium, Kalium, Kalzium), Nüchternblutzucker, Triglyceride, HbA1c (Glykohämoglobin), Triglyceride, Cholesterin und Thyreotropin. Mit Fragebögen wurde gewährleistet, dass die Probanden ein gesundes Essverhältnis aufwiesen, sie beispielsweise nicht kompensatorisch aßen, etc. Der Studienarzt klärte hierbei die Probanden über den Ablauf der Versuchsnächte sowie über die Nebenwirkungen des Ghrelins auf. Die Probanden verpflichteten sich durch Unterschreiben einer Erklärung, während der Versuchsreihe kein Blut zu spenden und auf Drogen und Medikamente zu verzichten. In den Versuchsnächten wurden die Versuchspersonen angewiesen, zu gewohnten Zeiten aufzustehen, keinen Alkohol zu konsumieren, am Nachmittag kein Koffein zu sich zu nehmen und nicht zu schlafen. Ohne Einwände wurde die Studie von der Ethik-Kommission der medizinischen Fakultät begutachtet (AZ 086/2014BO1), Bescheid vom 16.6.2014. Nach

Beendigung der Studie wurden die Probanden mit 150 Euro für ihre Teilnahme entschädigt.

3.2 Versuchsablauf

Bei dieser Studie im Cross-over-Design verbrachten die Probanden je drei Nächte im Schlaflabor, wobei die erste Nacht lediglich zur Eingewöhnung diente und im Folgenden als „Eingewöhnungsnacht“ bezeichnet wird. In der Eingewöhnungsnacht, die von 22:00 Uhr bis 8:00 Uhr des Folgetages andauerte, wurden den Versuchspersonen EEG- und EKG- Elektroden angelegt, sowie ein PVK-Zugang, durch den physiologische Kochsalzlösung verabreicht wurde. Hierbei wurden keine Werte aufgenommen. Mit einem zeitlichen Abstand von weniger als sieben Tagen zur Eingewöhnungsnacht begannen je 2 Versuchsnächte, wobei in der einen Nacht Placebo, in der anderen Nacht Ghrelin verabreicht wurde, beide jeweils von 19:00 Uhr bis 10:00 Uhr mit einem Mindestabstand von 4 Wochen zueinander.

Zu Beginn der Versuchsnächte wurden die Probanden gebeten, einen Fragebogen zum persönlichen Wohlbefinden und ihrem Hungergefühl auszufüllen. Zu regelmäßigen Blutentnahmen während der Versuchsnächte wurden den Probanden Venenverweilkanülen angelegt. Nach dem Erwachen am Morgen führten die Probanden die kognitiven Tests Fingertapping, „Memory“ und Zahlennachsprechen in dieser Reihenfolge unter meiner Anleitung durch. Anschließend wurde den Probanden ein Fingerfood-Buffer mit 27 „Lebensmittelsticks“ nach zufälliger Reihenfolge angeboten, um am nächsten Morgen untersuchen zu können, inwiefern sie sich an die Nahrungsaufnahme am Vorabend erinnern. Die Ergebnisse dieses Tests sowie die Wirkungen von Ghrelin auf die schlafassoziierte Regulation metabolischer Abläufe stellt die Paralleldissertation von Frau Sarah Rist dar. Nachdem mehrmalig in bestimmten zeitlichen Abständen, die der Tabelle des Versuchsablaufs entnommen werden können, das Abfragen des Gemütszustandes mit VAS und MDBF, der momentanen Schläfrigkeit, SSS, und der Schlafqualität (SF-A/R) erfolgte, wurden vor 23 Uhr die Elektroden zur EKG- und EEG-Messung für die

Polysomnographie angebracht, sodass um 23:00 Uhr das Licht ausgeschaltet werden und die Probanden schlafen konnten. Die Schlafdauer betrug je Nacht acht Stunden (23:00 Uhr bis 7:00 Uhr). Über diese gesamte Zeit wurde der Schlaf aufgezeichnet. Bei Erreichen des Tiefschlafs, was durch die Polysomnographie festgestellt werden konnte, wurde in der einen Nacht das acylierte Ghrelin, in der anderen das Placebo appliziert. Dies geschah über die Venenkanüle, die durch ein Loch in der Wand ins Nebenzimmer führte. Über den gesamten Versuchszeitraum wurden den Probanden in bestimmten Abständen Blut entnommen. Um mögliche Nebenwirkungen auf das Herz-Kreislaufsystem ausschließen zu können, wurde ebenso die EKG-Aufzeichnung des Probanden kontrolliert. Während der gesamten Zeit der Ghrelin-Applikation von 23:00 Uhr bis 01:30 Uhr war in den Studienräumen auch der Studienarzt anwesend. Um zu gewährleisten, dass die Probanden sich nicht in der Tief- oder REM Schlafphase befinden, wurde für das Wecken der Zeitraum zwischen 6:45 Uhr und 7:00 Uhr angesetzt. Nach dem Erwachen der Probanden konnten die Abruffestungen erfolgen. Im Verlaufe des Vormittags wurden die Probanden bezüglich VAS und MDBF erneut abgefragt. Die Probanden erhielten anschließend ein Frühstück. Ohne die Probanden davon in Kenntnis zu setzen, wurden die einzelnen Bestandteile des Frühstücks vor und die übrig gebliebenen Reste nach dem Verzehr gewogen, um die verspeisten Kalorien messen zu können. Tabelle 1 zeigt chronologisch die Übersicht des Versuchsablaufs. Nach dem Absolvieren beider Versuchsnächte wurden die Probanden vollständig über den Verlauf des Studieninhaltes aufgeklärt.

Tabelle 1: Übersicht des Versuchsverlaufs

Uhrzeit	Versuchsverlauf
19:00	Ankunft des Probanden
19:10	Anamnese
19:20	Applikation der Verweilkanüle
19:35	VAS, MDBF 1, PFS-Fragebögen
20:00	Blutentnahme Fingertapping
20:15	„Memory“
20:30	Blutentnahme Zahlennachsprechen
20:40	Fingerfood
21:30	Blutentnahme VAS, MDBF 2
21:35	Elektroden-Applikation
22:00	Blutentnahme VAS, MDBF 3
22:20	Blutentnahme
22:30	VAS, MDBF 4, SSS
22:35	START EEG Aufzeichnung
22:40	Blutentnahme
23:00	Blutentnahme Licht aus, Proband schläft
23:30	Blutentnahme iv. Gabe von 50 µg Ghrelin/Placebo
23:35	Blutentnahme
23:40	Blutentnahme
23:45	Blutentnahme
00:00	Blutentnahme iv. Gabe von 50 µg Ghrelin/Placebo
00:15	Blutentnahme
00:30	Blutentnahme iv. Gabe von 50 µg Ghrelin/Placebo
00:45	Blutentnahme
01:00	Blutentnahme iv. Gabe von 50 µg Ghrelin/Placebo
01:15	Blutentnahme
01:45	Blutentnahme
02:25	Blutentnahme
03:05	Blutentnahme
03:45	Blutentnahme
04:25	Blutentnahme

05:05	Blutentnahme	
05:45	Blutentnahme	
06:25	Blutentnahme	
07:00		Licht an, der Proband wird geweckt, Ende EEG-Aufzeichnung
07:05	Blutentnahme	Entfernung der Elektroden, VAS, MDBF 5 SSS, SFA-R Fragebögen
07:30		Abrufprüfung Fingertapping
07:45		Abrufprüfung Memory
07:55		Abrufprüfung Zahlennachsprechen
08:05		Abrufprüfung Fingerfood
08:40		VAS, MDBF 6
08:45		Frühstück
09:10	Blutentnahme	
09:15		VAS, MDBF 7
09:20		Einschätzung des Probanden, ob er Ghrelin oder Placebo injiziert bekommen hatte
09:30		Vollständige Aufklärung des Probanden nach Abschluss der Studie

3.3 Untersuchungsmethoden

3.3.1 Verabreichen von Ghrelin

Der Studienarzt verabreichte den Probanden das Ghrelin (cGMP-Qualität, Firma Bachern) intravenös. Insgesamt wurden 200 µg acyliertes Ghrelin appliziert, beginnend mit 50 µg zum Eintritt des Tiefschlafs der Versuchspersonen. Die weiteren drei Dosen, ebenfalls je 50 µg, wurden alle 30 Minuten injiziert, wie es dem Zeitplan zu entnehmen ist.

3.3.2 Bestimmung der Blutparameter

Mit Hilfe einer Venenverweilkanüle (Kanüle VerweilVasofix 18G, Braun Melsungen), die am Unterarm oder Handrücken der Probanden gelegt wurde, konnte durch einen Dreiwegehahn (Braun Melsungen) und einem Verlängerungsschlauch (Heidelberger Verlängerung 150 cm, Angiokard) durch

die Wand führend vom Nachbarzimmer aus Blut entnommen und Ghrelin oder Placebo verabreicht werden, sodass die Probanden im Schlaf nicht gestört wurden. Zudem wurde ein Infusionsbeutel mit 0,9 %iger Kochsalzlösung angeschlossen, um zu verhindern, dass das Blut im Schlauch oder in der Braunüle thrombosiert. Daher wurden bei jeder Blutentnahme die ersten 4 ml verworfen, was dem Volumen des Verlängerungsschlauches entspricht. Gemessen wurden die Laborparameter Glucose, Lactat, Kortisol, C-Peptid, Insulin, Somatropin und acyliertes bzw. desacyliertes Ghrelin.

Glucose und Lactat wurden mittels 2,6 ml entnommenen Blutes bestimmt (S-Monovette, Plasma-Fluorid, Sarstedt). Um Kortisol, C-Peptid, Insulin und Somatropin zu bestimmen, wurden 2,7 ml Blut abgenommen (S-Monovette, 2,6 ml, Plasma-Lithium-Heparin, Sarstedt, Nürnbergrecht), ebensoviel ml jeweils zur Bestimmung von Ghrelin aus dem Blutplasma (EDTA-Monovetten, Sarstedt, mit Kalium-Ethylendiamintetraessigsäure als Inhalt). Um das für uns wichtige Plasma erhalten zu können, wurden die Monovetten zentrifugiert und anschließend das Plasma in Eppendorfhütchen abpipettiert. Die Dauer der Zentrifugation war wie folgt: Serum-Monovetten bei -20°C 10 Minuten (2500 x g, 3980 rpm, 144 mm Radius), EDTA-Monovetten bei 4°C 15 Minuten (1000 x g, 2492 rpm, 144mm Radius), EDTA-Monovetten – Bestimmung Ghrelin – bei 4°C 10 Minuten (2000 x g, 144mm Radius). Zusätzlich wurden zur Bestimmung von acyliertem und desacyliertem Ghrelin dem Plasma jeweils 50µl Salzsäure hinzugefügt. Zur Lagerung wurden die Proben zunächst in Kryo-Boxen bei -20°C eingefroren, später dann bei -80°C. Mit Hilfe des Immunoassay-Systems (ADVIA Centaur XPT, Siemens Healthcare Diagnostics) konnten die Werte für Insulin, Kortisol und C-Peptid bestimmt werden, für das Somatropin wurde das Immunoassay-System Immulite 2000XPi (Siemens Healthcare Diagnostics) verwendet. Zur Bestimmung von Glucose und Lactat wurde das „ADVIA Chemistry XPT“ klinisch-chemische Analysesystem nach der Hexokinase – und kolometrischen Lactatoxidase-Methode verwendet (Siemens Healthcare Diagnostics), zur Bestimmung von Ghrelin wurde das nach dem Boehringer Ingelheim (Biberach) modifizierte „One-Step Sandwich“ – ELISA Verfahren (SpiBio, Frankreich) genutzt. 3.92 pgEq/mL war die Bestimmungsgrenze beim

acyliertem und desacyliertem Ghrelin, wobei der Inter-Assay-Variationskoeffizient jeweils 40% betrug. Dagegen betrug der Intra-Assay-Variationskoeffizient für das acylierte Ghrelin 21-23 % und 10-15 % für das desacylierte Ghrelin.

3.3.3 Gedächtnistests

Räumliche Gedächtnisaufgabe – „Memory“

Zum Erlernen deklarativer und visuell-räumlicher Gedächtnisinhalte spielten die Probanden eine computisierte Version des bekannten Spiels „Memory“. Auf einem Computerbildschirm sahen sie 30 Rechtecke, welche den Rückseiten von Spielkarten nachempfunden waren, angeordnet in sechs Spalten und fünf Zeilen. Darunter versteckten sich an unterschiedlichen Positionen 15 farbige Motivpaare von alltäglichen Gegenständen und Tieren. Den Probanden wurden die Paare, die sich nicht zwangsläufig nebeneinander befanden, in zufälliger Reihenfolge mit gleichbleibender Position zwei Mal präsentiert, indem zunächst die eine Karte und kurz darauf ihr Äquivalent für je eine Sekunde auf und wieder zugedeckt wurden. Beide Karten wurden dem Probanden anschließend für drei Sekunden als Paar gezeigt. Nach den erfolgten Präsentationsdurchgängen deckte das Programm eine der Karten auf. Der Proband wurde aufgefordert das zugehörige Äquivalent zu suchen und per Mausklick aufzudecken. Nachdem mit einem grünen Haken (korrekte Position) oder einem roten Kreuz (falsche Position) die Richtigkeit der Zuordnung gekennzeichnet worden war, wurden die Kartenpaare in ihrer richtigen Position erneut für 2 Sekunden aufgezeigt, damit ein wiederholtes Lernen der korrekten Position möglich war. Dieser Lernprozess wurde so oft wiederholt, bis der Proband 60% der Kartenpaare richtig zuordnete. Am darauffolgenden Morgen erfolgte ebenfalls auf dem Computer der Abrufungstest, in dem der Proband erneut die Kartenpaare korrekt einander zuordnen sollte.

Prozedurale Gedächtnisaufgabe – Fingertapping

Das Fingertapping nach Walker (Walker et al., 2002) sollte das prozedurale Gedächtnis der Probanden analysieren. Am Computerbildschirm sahen die Probanden eine 5-stellige Zahlenfolge. Diese musste mit 4 Fingern (kleiner Finger bis Zeigefinger) der nicht dominanten Hand eingetippt werden, die auf den jeweiligen Tasten der Computertastatur lagen. Die Leserichtung der Zahlenreihenfolge war von links nach rechts. Sobald eine Zahl eingetippt wurde, erschien ein Sternchen auf dem Bildschirm, welches jedoch den Probanden kein Feedback zur Richtigkeit ihrer Angabe übermittelte. In 12 Durchgängen mit je 30 Sekunden sollten die Probanden so schnell und so präzise wie möglich tippen. Am nächsten Morgen erfolgte der Abrufungstest in drei Durchgängen.

3.3.4 Befindlichkeit und Kontrollmaße

VAS-Fragebogen – Visuelle Analogskala

Auf diesem Fragebogen beurteilten die Probanden auf unskalierten 10 cm Linien mittels einer Markierung auf der jeweiligen Linie ihr subjektives Empfinden bezüglich Hunger- und Sättigungsgefühl, ihr aktuelles Bedürfnis nach Süßem oder Deftigem, sowie ihre Gefühle Angst, Stress und Schläfrigkeit. Links bedeutet „überhaupt nicht“ und rechts „extrem“. Mit einem Lineal wurden die Markierungen ausgewertet.

MDBF-Fragebogen – Mehrdimensionaler Befindlichkeitsfragebogen

Dieser Fragebogen (Steyer et al., 1997) bewertet mit 12 Items gute/schlechte Stimmung (GS), Wachheit/Müdigkeit (WM) und Ruhe/Unruhe (RU), um die psychische Befindlichkeit der Versuchspersonen zu messen. Auf einer Skala von 1 (überhaupt nicht) bis 5 (sehr) machten die Probanden mehrmals in unterschiedlichen zeitlichen Abständen (4-mal am Abend, 3-mal am Morgen) Einstufungen zu den Empfindungen zufrieden, ausgeruht, ruhelos, schlecht, schlapp, gelassen, müde, gut, unruhig, munter, unwohl und entspannt.

3.3.5 Untersuchung des Schlafes der Probanden

Polysomnographie

Um die insgesamt neun Elektroden des EEG korrekt mit Elektrodenpaste (EC2 Electrode Cream, Natus Manufacturing Ltd., Galway, Irland) und Leukoplast zu fixieren, wurden die Hautpartien zuvor mit Desinfektionsmittel (Softasept N, B. Braun Melsungen AG, Melsungen) und einem Peeling (Ecericonductive and abrasive paste, Spes Medica, Battipaglia, Italien) entfettet und gesäubert. Auf diese Weise wurden auch die Elektroden zur Darstellung des EKG angebracht, um das Herz-Kreislauf-System des Probanden zu überwachen und mögliche Nebenwirkungen des Ghrelins auszuschließen. Um die Polysomnographie abzuleiten, wurden der unipolare Verstärker „Brain Amp DC“ und der bipolare Verstärker „Brain AmpExG“ (Brain Products GmbH, Gilching, Deutschland) mit der firmeneigenen Software „Brain Vision Recorder“ (Brain Products GmbH, München, Deutschland) verwendet. Eine Onlinefilterung für EEG und EOG 10 s – 80 Hz und für EMG 0,1 s – 100 Hz wurde zur Auswertung vorgenommen. Die Digitalisierungsrate betrug 250 Hz, der Offlinefilter bei allen Kanälen 50 Hz, zusätzlich 0,5 s – 35 Hz für EEG und EOG, sowie 0,1 s – 80 Hz für EMG. Als Referenz dienten Elektroden am Mastoid. Da auch Augenbewegungen über zwei Kanäle registriert wurden, wurden für das EOG jeweils supra- und infraorbital Elektroden und eine Referenzelektrode über dem Nasion angebracht. Über die Muskelaktivität des Musculus mentalis wurde das EMG abgeleitet.

Stanford-Schläfrigkeits-Skala (SSS) und Schlafragebogen-A (SF-A/R)

Die Stanford-Schläfrigkeits-Skala (Hoddes et al., 1973) enthält sieben Aussagen, bei denen der Proband vor dem Einschlafen und nach dem Aufwachen diejenige Aussage ankreuzt, die am besten seinen Schläfrigkeitsgrad repräsentierte.

Der Schlafragebogen-A (Görtelmeyer, 2011) wurde den Probanden nur nach dem Aufwachen vorgelegt, um Fragen zur Schlafqualität der letzten Nacht zu beantworten. Dazu gehörten Einschlaf- und Durchschlafverhalten, Traumhalte und Erholungsgefühl nach dem Schlaf.

3.4 Statistische Auswertungen

Wiedergegeben werden die Ergebnisse als Mittelwerte \pm Standardfehler des Mittelwertes (SEM). Die statistischen Analysen basierten auf Varianzanalysen (ANOVA) mit den Faktoren *Behandlung* (Ghrelin oder Placebo) und *Zeitpunkt* sowie weiteren parameterspezifischen Faktoren wie *Makronährstoff*. Die Varianzanalysen wurden nach dem Greenhouse-Geisser-Verfahren korrigiert. Mit Hilfe abhängiger t-Tests wurden die Werte zu einzelnen Zeitpunkten auf signifikante Unterschiede überprüft. Als statistisch signifikant galt ein p-Wert $< 0,05$.

4 Ergebnisse

Die Resultate beider Versuchsnächte (Ghrelin vs. Placebo) wurden verglichen. Da in beiden Nächten dieselben Bedingungen geschaffen wurden (gleicher Raum, gleicher zeitlicher Versuchsablauf), können die Unterschiede zwischen den beiden Versuchsdurchläufen auf die Verabreichung der Substanz zurückgeführt werden.

4.1 Probandenkollektiv

16 männliche, normalgewichtige (BMI 20-25) Probanden im Alter von 18 bis 31 Jahren nahmen an dieser Studie teil. Mittels Fragebögen und anamnestischer Untersuchung waren psychische und physische Erkrankungen auszuschließen. Ebenso bestätigten die Fragebögen ein gesundes Ess- und Schlafverhalten (Tabelle 2).

Tabelle 2. Probandencharakteristika

Proband-Nr.	Gewicht (in kg)	Größe (in Meter)	BMI	Alter
1	61,50	1,73	20,55	24
2	81,00	1,82	24,45	23
3	70,00	1,81	21,37	24
4	83,00	1,86	23,99	31
5	72,00	1,87	20,59	21
6	60,00	1,70	20,76	21
7	78,00	1,79	24,34	26
8	67,00	1,83	20,01	18
9	78,00	1,78	24,62	28
10	85,00	1,91	23,30	22
11	84,00	1,88	23,77	25
12	80,00	1,88	22,63	26
13	67,00	1,82	20,23	26
14	83,00	1,82	25,06	23
15	73,00	1,77	23,30	27
16	80,00	1,88	22,63	21
Mittelwert ± SEM	75,16 ± 2,03	1,82 ± 0,01	22,60 ± 0,44	24,13 ± 0,81

4.2 Gedächtnistests

4.2.1 „Memory“ – deklaratives Gedächtnis

Bei der Auswertung der Memory-Aufgabe ist kein signifikanter Unterschied in der Leistung zu verzeichnen. Die Probanden zeigten sowohl mit Ghrelin als auch mit Placebo ähnliche Ergebnisse. Der Lerndurchgang endete, nachdem die Probanden mind. 60 % korrekte Antworten erreicht hatten. In der Placebobedingung brauchten sie dazu $2,08 \pm 0,38$, in der Ghrelinbedingung $2,38 \pm 0,57$ Durchgänge. Bei der Abrufleistung war der Unterschied ebenfalls nicht statistisch relevant. Die Leistung lag in der Versuchsreihe mit Ghrelin bei $64,62 \pm 4,19$, mit Placebo $63,00 \pm 2,89$ richtig erinnerten Kartenpaar-Positionen. Somit hatte Ghrelin vermutlich keinen Einfluss auf die Lernleistung.

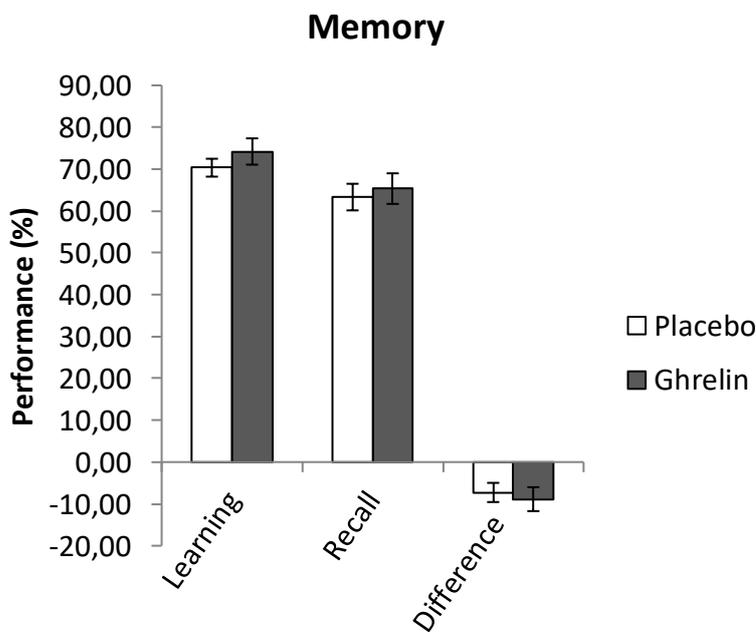


Abbildung 4: Resultate des Memory-Tests unter Verabreichung von Ghrelin (grau) und Placebo (weiß)

Tabelle 3: Ergebnisse Memory Placebo vs. Ghrelin und T-Test für gepaarte Stichproben

	Trials	Lernleistung	Abrufleistung	Diff. Abruf - Lernen
T-Wert	0,671	1,155	0,345	0,850
p-Wert	0,515	0,271	0,736	0,412

Es ist kein ein signifikanter Unterschied zwischen den beiden Versuchsbedingungen (Ghrelin vs. Placebo) sichtbar.

4.2.2 Fingertapping – prozedurales Gedächtnis

Beim Fingertapping erreichten die Probanden, denen im Schlaf Ghrelin verabreicht wurde, im Abruf eine höhere Zahl an korrekt eingetippten Zahlenreihenfolgen.

Die Lernleistung wurde durch die letzten drei Blöcke (Block 10-12) bestimmt, die Abrufleistung wurde durch den Mittelwert von drei Durchgängen festgelegt. Auch die Geschwindigkeit und Genauigkeit der Antworten wurden gemessen. Die Geschwindigkeit wurde durch die Gesamtmenge an richtig eingetippten Sequenzen und die Genauigkeit durch die Fehlerrate in einem Durchgang bestimmt. Die Differenz von Abrufleistung und Lernleistung stellt die Retention, also das Ergebnis der Gedächtniskonsolidierung, der gelernten Fingersequenzen dar.

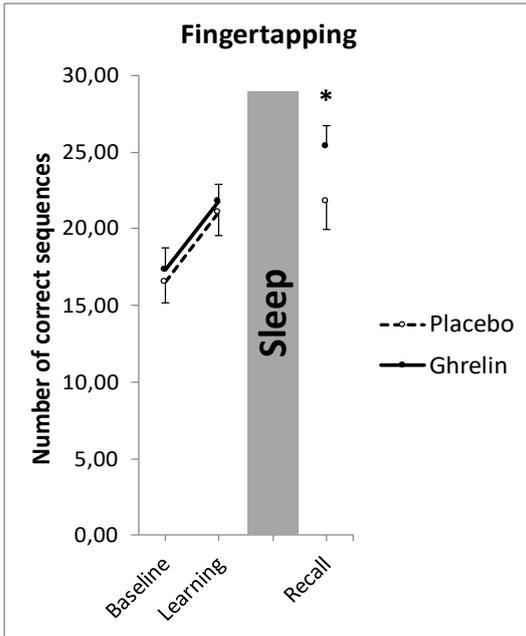


Abbildung 5: Resultate des Fingertapping-Tests vor und nach dem Schlaf.

Die Ergebnisse der Bedingung unter Ghrelin (durchgezogene Linie) unterscheiden sich von der Bedingung unter Placebo (gestrichelte Linie). Unter Ghrelineinfluss wurde eine bessere Lernleistung erreicht.

Tabelle 4 : Ergebnisse Fingertapping Placebo vs. Ghrelin

	Baseline	Learning	Recall
Placebo	16,53	21,10	21,81
SEM	1,38	1,55	1,86
Ghrelin	17,33	21,77	25,33
SEM	1,40	1,13	1,40

4.3 Schlaf

4.3.1 Polysomnographie

Die Aufzeichnungen des EEG zeigen, dass Ghrelin keinen messbaren Einfluss auf den Schlaf hatte. Sowohl der Non-REM-Schlaf als auch der REM-Schlaf wiesen keine signifikanten Unterschiede zwischen den Bedingungen auf.

Tabelle 5: Darstellung der prozentualen Anteile der unterschiedlichen Schlafstadien an der Gesamtschlafdauer, Schlaflatenz, Tiefschlaf latenz und REM-Latenz unter Verabreichung von Ghrelin und Placebo

Schlafparameter	Ghrelin	Placebo	p-Wert	T-Test
%NEM	72,42±2,98	76,42±2,30	0,174	1,432
%S1	10,55±1,00	11,07±1,31	0,730	0,352
%S2	40,24±5,77	41,68±5,29	0,449	0,779
%SWS	21,64±4,65	23,68±4,94	0,442	0,791
%S3	12,65±2,20	13,47±2,35	0,525	0,652
%S4	8,98±2,63	10,21±2,82	0,468	0,746
%REM	16,79±1,37	16,11±1,40	0,664	0,444
%Wach	9,37±2,86	6,53±2,07	0,308	1,508
%Bewegung	1,41±0,39	0,95±0,33	0,221	1,281
Schlaf latenz	17,57±4,69	23,10±8,00	0,532	0,641
SWS-Latenz	35,87±8,08	42,37±12,52	0,678	0,432
REM-Latenz	133,27±26,22	137,53±29,52	0,842	0,203

4.3.2 Subjektive Schlafqualität

Mit dem SF-A/R-Fragebogen beantworteten die Probanden in beiden Versuchsbedingungen Fragen zu Einschlaf- und Durchschlafverhalten, sowie Erholung nach dem Schlaf. Es konnten keine Unterschiede verzeichnet werden.

Tabelle 6: Resultate des SF-A/R unter Gabe von Ghrelin und Placebo

	Ghrelin	Placebo	T-Wert	p-Wert
Konnten Sie direkt, nachdem Sie sich schlafen gelegt hatten, gleich einschlafen?				
	2,25±0,41	2,19±0,39	0,148	0,884
Sind Sie gestern nach dem Einschlafen nachts wieder aufgewacht?				
	2,44±0,34	2,63±0,27	0,588	0,566
Wie haben Sie letzte Nacht geschlafen?				
Gleichmäßig	1,94±0,27	1,81±0,28	0,522	0,609
Gut	2,31±0,25	2,06±0,28	1,704	0,300
Ungestört	2,63±0,26	2,25±0,25	1,567	0,138
Wie fühlten Sie sich gestern vor dem Schlafengehen?				
Erschöpft	2,25±0,19	2,63±0,18	1,307	0,211
Müde	2,75±0,19	2,88±0,18	0,488	0,633
Entspannt	3,00±0,24	3,06±0,19	0,293	0,774
Wie fühlen Sie sich heute Morgen?				
Ausgeglichen	2,56±0,18	2,67±0,21	0,323	0,751
Tatkräftig	1,88±0,20	1,80±0,22	0,694	0,499
Ausgeschlafen	2,06±0,21	2,13±0,27	0,000	1,000

4.3.3 Subjektive Beurteilung der Schläfrigkeit

Die Probanden füllten den SSS-Fragebogen am Abend sowie am Morgen aus. Zwischen Ghrelin- und Placebobedingungen wurden keine Unterschiede verzeichnet.

Tabelle 7: Resultate des SSS-Fragebogens unter Gabe von Ghrelin und Placebo

Uhrzeit	23:30	07:05
Ghrelin	4,81±0,29	3,19±0,23
Placebo	4,75±0,21	3,13±0,13
T-Wert	0,235	0,324
p-Wert	0,817	0,751

4.4 Blutparameter

4.4.1 Acyliertes Ghrelin

Um ca. 23:30 Uhr ist ein deutlicher Anstieg des acylierten Ghrelins bei den Probanden zu verzeichnen. Diese ist zeitlich korrelierend mit der ersten Gabe von 50 µg Ghrelin beim Eintritt des Tiefschlafs. In Abstand von 30 Minuten erfolgten die weiteren 3 Gaben von ebenfalls jeweils 50 µg Ghrelin. Zwischen 0:00 Uhr und 3:00 Uhr wurden keine Blutproben auf Ghrelin analysiert, daher kann keine Aussage über den Verlauf in dieser Zeit gemacht werden. Es ist aber anzunehmen, dass ein Anstieg von Ghrelin bedingt durch die Folgedosen zu verzeichnen gewesen wäre. (Abbildung 6).

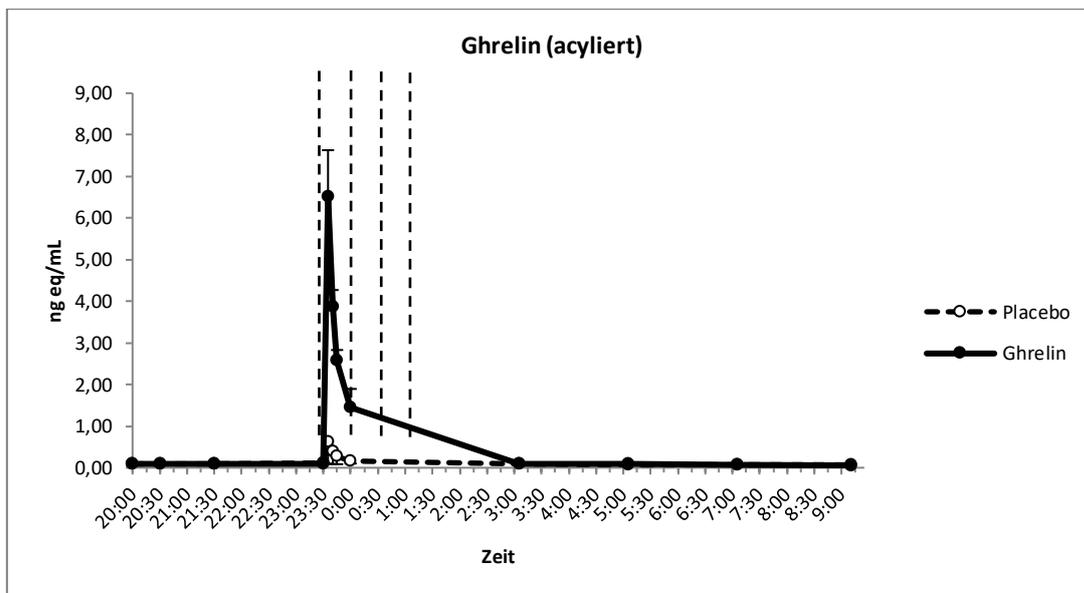


Abbildung 6: Acylierte Ghrelinkonzentrationen während der Nacht (sowie statistische Ergebnisse) bei Verabreichung von Ghrelin (durchgängige Linie) und Placebo (gestrichelte Linie).

Die vier vertikalen gepunkteten Linien zeigen die Gabe der vier Ghrelin-Dosen an. Für den Zeitraum zwischen 0:00 Uhr und 3:00 Uhr wurden keine Werte erhoben ($p < 0,01$ für alle Einzelvergleiche in diesem Zeitraum).

Tabelle 8: Acylierte Ghrelinkonzentrationen, statistische Ergebnisse

	Zeit	Bedingung	Zeit x Bedingung
F (1,25)	59,54	35,40	21,63
p-Wert	p<0,001	p<0,001	p<0,001

4.4.2 Desacyliertes Ghrelin

Man kann an den Werten erkennen, dass die Plasmakonzentration von desacyliertem Ghrelin mit der ersten Ghrelingabe, entsprechend dem acyliertem Ghrelin, stark anstieg. Auch hier sind keine Aussagen zwischen 0:00 Uhr und 3:00 Uhr möglich. Verdeutlicht wird hier die kurze Halbwertszeit von Ghrelin: Seine Konzentration fällt um das Vierfache innerhalb von 30 Minuten ab (Abbildung 7).

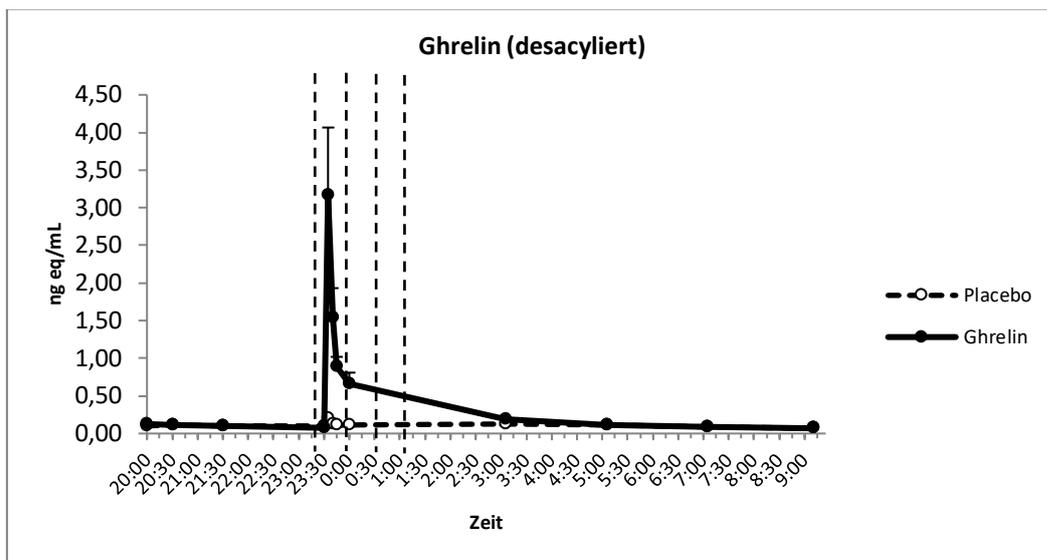


Abbildung 7: Desacylierte Ghrelinkonzentrationen im Verlauf der Nacht (sowie statistische Ergebnisse) bei Gabe von Ghrelin (durchgängige Linie) und Placebo (gestrichelte Linie).

Die vier vertikalen gepunkteten Linien zeigen den Zeitpunkt der Gabe der vier Ghrelin-Dosen an. Für den Zeitraum zwischen 0:00 Uhr und 3:00 Uhr wurden keine Werte erhoben ($p < 0,01$ für alle Einzelvergleiche in diesem Zeitraum).

Tabelle 9: Desacylierte Ghrelinkonzentrationen, statistische Ergebnisse

	Zeit	Bedingung	Zeit x Bedingung
F (1,25)	16,10	25,38	12,64
p-Wert	p <0,001	p <0,001	p <0,001

4.4.3 Kortisol

Entsprechend dem physiologischem Nachtprofil ist ein Abfall der Kortisolkonzentration zu Beginn der Nacht zu verzeichnen, allerdings steigt sie bei der ersten Ghrelingabe signifikant an und erreichte mit jeder weiteren Gabe ihren Peak. Danach sank die Konzentration und stieg entsprechend dem physiologischen Verlauf von Kortisol nach 2 Stunden wieder an. Bei der Placebo-Gabe sind keine bedeutenden Veränderungen zu erfassen (Abbildung 8).

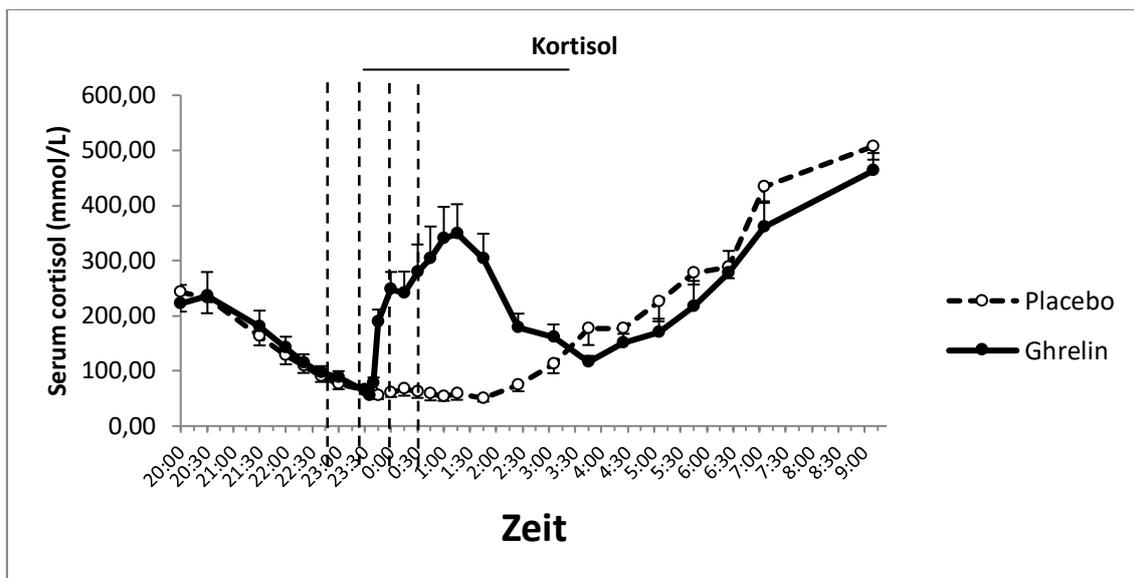


Abbildung 8: Kortisolkonzentration im Serum im Verlauf der Nacht bei Verabreichung von Ghrelin (durchgängige Linie) und Placebo (gestrichelte Linie).

Es war ein signifikanter Anstieg der Kortisolausschüttung unter Ghrelin zu beobachten. Die vier vertikalen gepunkteten Linien zeigen die Gabe der vier Ghrelin-Dosen an ($p < 0,01$ für alle Einzelvergleiche in diesem Zeitraum).

Tabelle 10: Kortisolkonzentration im Serum, statistische Ergebnisse

	Zeit	Bedingung	Zeit × Bedingung
F (1,25)	11,88	11,01	6,12
p-Wert	0,000	0,002	0,000

4.4.4 Somatropin

Es ist ein signifikanter Anstieg der Somatropinkonzentration nach der ersten Ghrelingabe zu verzeichnen, der nach der zweiten Gabe sein Maximum erreichte (0:15 Uhr) und dann im Verlauf der nächsten 90 Minuten auf seine Ausgangskonzentration absank (Abbildung 9).

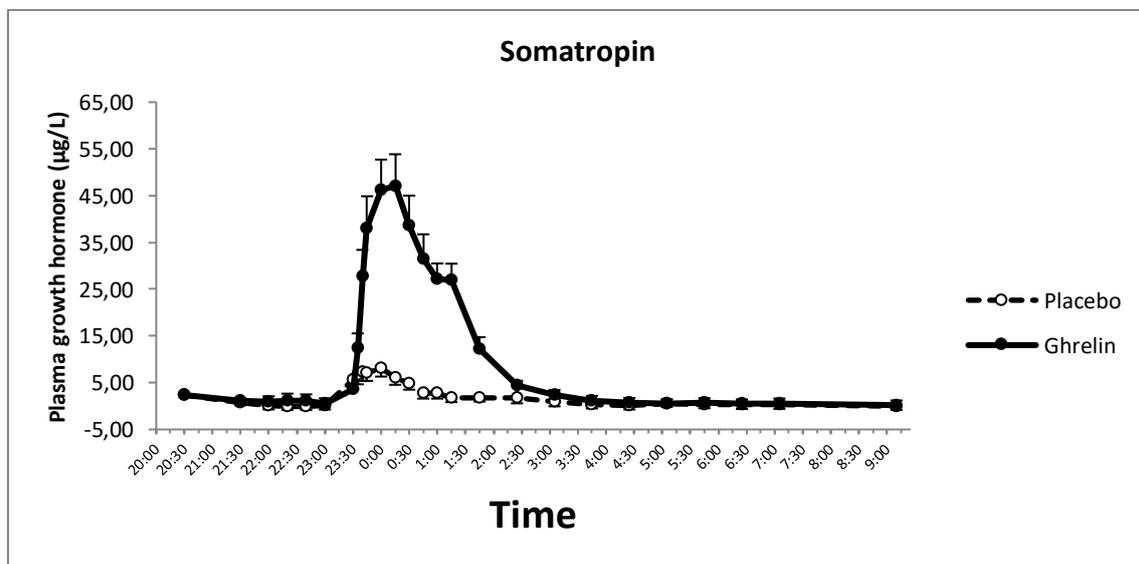


Abbildung 9: Somatropinkonzentration im Serum im Verlauf der Nacht bei Verabreichung von Ghrelin (durchgängige Linie) und Placebo (gestrichelte Linie).

Es war ein signifikanter Anstieg der GH-Ausschüttung unter Ghrelin zu beobachten. Die vier vertikalen gepunkteten Linien zeigen die Gabe der vier Ghrelin-Dosen an ($p < 0,01$ für alle Einzelvergleiche in diesem Zeitraum).

Tabelle 11: Somatotropinkonzentration im Serum, statistische Ergebnisse

	Zeit	Bedingung	Zeit x Bedingung
F (1,25)	11,74	83,67	8,01
p-Wert	0,000	0,000	0,000

4.5 Subjektives Hungergefühl und Wohlbefinden

Die Probanden machten zu unterschiedlichen Zeitpunkten Angaben mittels des VAS-Fragebogens zu Hunger- und Durstgefühl, sowie zu ihrem Wohlbefinden. Um 20:40 Uhr starteten die Probanden das Essen am Fingerfood-Buffer, um 8:45 Uhr nahmen sie das Frühstücksbuffet ein. Entsprechend zu diesen Essenszeiten bildete sich das Hungergefühl der Probanden aus.

Unter Ghrelin war die Ängstlichkeit unerheblich erhöht. Ansonsten ist kein signifikanter Unterschied des Hunger- und Durstgefühls, der Fröhlichkeit oder Vigilanz zwischen den Versuchsbedingungen festzustellen.

Tabelle 12 Resultate des VAS unter Verabreichung von Ghrelin und Placebo.

Hunger							
Uhrzeit	19:35	21:30	22:00	22:30	07:05	08:40	09:15
Ghrelin	56,88±7,28	27,06±6,67	28,88±6,51	26,31±6,29	55,69±4,61	67,69±2,01	10,88±2,29
Placebo	59,31±6,88	26,19±5,42	24,94±5,88	24,56±6,48	56,00±5,61	71,00±4,49	11,00±3,51
p-Wert	0,756	0,902	0,58	0,783	0,964	0,468	0,955
T-Test	0,317	0,126	0,565	281	0,046	0,744	0,057
Durst							
Uhrzeit	19:35	21:30	22:00	22:30	07:05	08:40	09:15
Ghrelin	51,44±5,74	27,56±5,23	29,69±5,42	29,94±5,36	53,19±5,52	45,56±6,62	26,44±4,34
Placebo	58,88±4,98	32,25±4,38	27,44±4,69	30,69±5,42	59,69±3,82	42,50±5,78	22,63±4,85
p-Wert	0,372	0,24	0,621	0,891	0,254	0,596	0,272
T-Test	0,921	1,223	0,504	0,139	1,185	0,542	1,141
Ängstlichkeit							
Uhrzeit	19:35	21:30	22:00	22:30	07:05	08:40	09:15
Ghrelin	11,00±3,60	8,63±3,66	9,69±3,20	15,25±5,28	6,50±2,10	9,19±4,00	6,81±2,41
Placebo	8,31±3,47	6,69±2,43	7,38±2,34	7,31±2,41	5,56±1,60	5,19±1,19	3,44±1,14
p-Wert	0,412	0,366	0,398	0,091	0,619	0,203	0,052
T-Test	0,845	0,931	0,87	1,807	0,508	1,332	2,107
Fröhlichkeit							
Uhrzeit	19:35	21:30	22:00	22:30	07:05	08:40	09:15
Ghrelin	67,19±4,50	68,75±5,43	62,88±4,07	58,19±4,34	56,31±4,64	65,50±3,45	72,00±3,84
Placebo	72,38±3,50	71,19±4,93	65,31±3,89	61,00±3,85	58,63±4,08	66,38±4,31	76,94±3,20
p-Wert	0,203	0,603	0,647	0,513	0,64	0,821	0,152
T-Test	1,331	0,532	0,467	0,669	0,477	0,231	1,511
Schläfrigkeit							
Uhrzeit	19:35	21:30	22:00	22:30	07:05	08:40	09:15
Ghrelin	44,69±4,59	53,25±4,87	63,69±4,11	70,38±4,24	53,00±6,38	28,06±4,26	24,75±3,71
Placebo	48,19±4,19	56,44±5,11	59,81±4,70	72,38±	49,81±4,38	31,31±4,23	22,69±3,13
p-Wert	0,609	0,622	0,481	0,461	0,516	0,581	0,536
T-Test	0,523	0,503	0,723	0,757	0,665	0,564	0,633
Konzentration							
Uhrzeit	19:35	21:30	22:00	22:30	07:05	08:40	09:15
Ghrelin	62,38±4,12	47,13±4,00	42,56±4,10	30,63±3,85	47,75±4,64	61,63±4,53	62,56±3,34
Placebo	57,31±4,19	44,50±4,41	37,56±4,51	30,38±4,27	45,94±2,62	64,00±3,53	64,31±4,46
p-Wert	0,361	0,503	0,33	0,946	0,65	0,558	0,546
T-Test	0,942	0,687	1,007	0,069	0,462	0,6	0,617

4.6 Subjektive Befindlichkeit

Der MDB-Fragebogen (Steyer et al., 1997) gibt Auskunft über Gute-Schlechte-Stimmung (GS), Wachheit-Müdigkeit (WM) und Ruhe-Unruhe (RU). Diese psychischen Befindlichkeiten wurden während des Versuchsablaufes unter beiden Versuchsbedingungen verglichen. Obwohl die Probanden, die Ghrelin erhielten, nach dem Wecken am Morgen eine leichte Verschlechterung der Stimmung angaben, die allerdings auch schon am Abend zuvor aufgetreten war, waren die Angaben über Gute-Schlechte-Stimmung im Verlauf der Versuchsnacht konstant. Auch Wachheit-Müdigkeit zeigte kaum Unterschiede. Wie es auch unter gewöhnlich alltäglichen Umständen der Fall ist, nahm die Müdigkeit der Probanden im Laufe des Tages zu und nach acht Stunden Schlaf wieder ab. Die Unruhe war unter Ghrelin erhöht, Ruhe-Unruhe bleibt über den gesamten Versuchsverlauf konstant. In Tabelle 11 entspricht ein niedriger Zahlenwert bei der GS schlechte Stimmung, bei der WM Müdigkeit und bei der RU Unruhe.

Tabelle 13: Resultate des MDBF unter Verabreichung von Ghrelin und Placebo.

Gute-Schlechte-Stimmung							
Uhrzeit	19:35	21:30	22:00	22:30	07:05	08:40	09:15
Ghrelin	17,63±0,51	17,13±0,76	17,31±0,59	17,56±0,53	15,94±0,63	16,88±0,75	17,81±0,53
Placebo	18,38±0,45	18,00±0,45	17,69±0,41	17,50±0,44	17,19±0,29	17,38±0,34	18,44±0,52
p-Wert	0,238	0,189	0,598	0,8	0,101	0,447	0,178
T-Test	1,23	1,377	0,538	0,258	1,745	0,781	1,412
Wachheit-Müdigkeit							
Uhrzeit	19:35	21:30	22:00	22:30	07:05	08:40	09:15
Ghrelin	12,94±0,71	11,75±0,69	11,25±0,64	10,31±0,75	12,94±0,93	15,06±0,64	15,19±0,81
Placebo	12,63±0,67	12,31±0,80	11,00±0,81	9,56±0,74	13,13±0,75	15,00±0,61	16,50±0,48
p-Wert	0,776	0,703	0,579	0,232	0,753	0,784	0,023
T-Test	0,29	0,389	0,567	1,247	0,321	0,279	2,531
Ruhe-Unruhe							
Uhrzeit	19:35	21:30	22:00	22:30	07:05	08:40	09:15
Ghrelin	16,75±0,62	17,31±0,61	17,00±0,68	16,94±0,74	16,25±0,73	17,06±0,81	17,38±0,65
Placebo	16,63±0,60	17,75±0,54	17,63±0,62	17,75±0,40	16,94±0,57	17,31±0,57	18,19±0,48
p-Wert	0,848	0,245	0,155	0,088	0,324	0,921	0,167
T-Test	0,195	1,21	1,498	1,826		0,101	1,452

Weitere Blutwerte und Parameter, die erhoben wurden, behandelt die Parallelarbeit von Sarah Rist.

4.7 Einschätzung durch die Probanden

Am Morgen nach dem Versuchsablauf wurden die Probanden gebeten, je Nacht einzuschätzen, ob ihnen Ghrelin oder Placebo verabreicht wurde und dies zu begründen. Einer von ihnen konnten keine Abschätzung abgeben (daher die Gesamtsumme je 15, nicht wie zu erwarten 16, siehe Tabelle 14). Als Grund für ihre Vermutung einer Ghrelininjektion gaben die Probanden hauptsächlich ein subjektives Hungergefühl an. Die Verteilung der Antworten erreichte im Chi-Quadrat-Test nach Pearson keine Signifikanz ($p = 0,715$), d.h. die Probanden lagen mit ihrer Einschätzung nicht überzufällig häufig richtig. Die Ergebnisse zeigen keinen Unterschied des Empfindens zwischen der Ghrelin- und der Kontrollgruppe.

Tabelle 14: Einschätzungen der Ghrelingabe durch die Probanden

		Einschätzung		Gesamtsumme
		Placebo	Ghrelin	
Treatment	Placebo	8	7	15
	Ghrelin	7	8	15
Gesamtsumme		15	15	30

5 Diskussion

In dieser Arbeit wurde der Einfluss von Ghrelin auf die schlafassoziierte Gedächtnisbildung untersucht. Hierzu wurde den Probanden beim Eintritt in den Tiefschlaf Ghrelin intravenös injiziert. Um die Schlafstadien bestimmen zu können, wurden die Probanden an ein EEG angeschlossen. Mit Hilfe von regelmäßigen Blutentnahmen konnten die Werte von desacyliertem und acyliertem Ghrelin in der Nacht bestimmt werden. Zudem wurden am darauffolgenden Tag die Gedächtnistests des vorherigen Abends abgerufen, um die Gedächtniskonsolidierung zu überprüfen. Die zu prüfende Hypothese konnte teilweise bestätigt werden. Die vorliegenden Ergebnisse werden nun diskutiert.

Mit Eintreten des Tiefschlafs und der damit einhergehenden Gabe von Ghrelin stiegen die Werte von desacyliertem und acyliertem Ghrelin an, sodass man davon ausgehen kann, dass die Intervention erfolgreich war. Die Auswirkungen von Ghrelin wurden durch den zu erwartenden Anstieg der Kortisolkonzentration und die vermehrte Sekretion von GH deutlich. Die Erhöhung der Kortisolkonzentration nach wiederholter Ghrelingabe bestätigten bereits erfolgte Studien (Kluge et al., 2007b; Weikel et al., 2003). Bei dieser Studie erreichte die Kortisolkonzentration ihren Peak nach der vierten und letzten Ghrelininjektion, sank ab und stieg entsprechend seinem zirkadianen Sekretionsmusters wieder an. Ebenso stieg mit dem Ghrelin die Sekretion von GH stark an, erreichte seinen Peak allerdings schon nach der zweiten Ghrelingabe und sank dann stetig ab. Diesen stimulierenden Effekt beschrieben bereits Kluge et al. (2007b). Hierbei wurden ebenfalls vier Ghrelindosen mit je 50 µg in einem Abstand von 60 Minuten in der zweiten Nachthälfte injiziert. Aufgrund der zeitlich unterschiedlichen Peaks von GH und Kortisol kann man sagen, dass Ghrelin, wie Kortisol, einen zirkadianen Effekt hat.

5.1 Ghrelin und Gedächtniskonsolidierung

Im Gegensatz zur metabolisch nachgewiesenen Wirkung von Ghrelin konnte sein Einfluss auf die Gedächtniskonsolidierung im Schlaf nur teilweise nachgewiesen

werden. Um dieses Ergebnis zu diskutieren, wurde die Studie von Diano et al. von 2006 hinzugezogen. Die Tests wurden dabei im Gegensatz zu dieser Studie an Mäusen durchgeführt.

Ghrelin wirkt nicht nur als orexigenes, sondern auch als endogenes Hormon, welches an den GHS-Rezeptor bindet. Diese Rezeptoren finden sich unter anderem im Thalamus, im Hypothalamus, im ventralen tegmentalen Areal und im Hippokampus. Auf dem Weg dorthin durchquert das Ghrelin die Blut-Hirn-Schranke und bewirkt u.a. im Hippokampus eine Veränderung seiner Formatio hippocampi (Diano et al., 2006). In der Studie von Diano et al. (2006) wurde an Mäusen nachgewiesen, dass sich Ghrelin im Hippokampus an seinen GHS-Rezeptor bindet; besonders viele dieser Rezeptoren wurden im Gyrus dentatus und in den Feldern CA3 und CA1 des Stratum pyramidale nachgewiesen. Da Ghrelin in kurzer Zeit die synaptische Organisation der hypothalamischen anorexigenen Neuronen neu arrangiert (Pinto et al., 2004), wurde in der Studie die Dichte der axondendritischen Synapsen des CA1 Feldes nach Ghrelingabe beurteilt. In der Tat konnte eine signifikant höhere Dichte im Gegensatz zur Kontrollgruppe nachgewiesen werden. Auch wurde eine bedeutende Veränderung des hippocampalen Langzeitpotentials nachgewiesen. Alle Ghrelin-induzierten Tiere zeigten deutlich bessere Resultate in Gedächtnistests. Obwohl Ghrelin nachgewiesenermaßen die Gedächtnisbildung fördert, indem es im Hippokampus die morphologische synaptische Plastizität moduliert, zeigten die Ergebnisse dieser Arbeit jedoch keinen positiven Effekt auf das deklarative Gedächtnis. Zwischen der Ghrelin- und Placebo- Gruppe zeigten sich keine signifikanten Unterschiede bei den Abrufungstests.

5.2 Prozedurale Gedächtniskonsolidierung unter Einfluss von Ghrelin

Andererseits zeigten die Ergebnisse des Fingertappings, dass Probanden, denen Ghrelin verabreicht wurde, eine höhere Zahl an korrekt eingetippten Zahlenreihenfolgen erreicht haben. Somit kann angenommen werden, dass das Hormon positiv auf die Konsolidierung des prozeduralen Gedächtnisses einwirkt.

Hierzu wird eine Studie von Ghersi et al. aus dem Jahr 2015 zur Diskussion hinzugezogen. Sie zeigten an Ratten, dass Ghrelin die Gedächtniskonsolidierung über einen hippokampalen Mechanismus erhöht. Dieser ist in ihrem Versuch abhängig von der Glutamatausschüttung sowie von NR2B- Untereinheiten des n-Methyl-d-Aspartat-Rezeptors (NMDA). Diese Rezeptoren sind entscheidend für die Einleitung der LTP (Langzeitpotenzierung, long-term-potentiation). 2010 zeigten Carlilini et al. auf, dass durch intra-hippokampale Ghrelingabe leichter eine LTP induziert werden kann. Die LTP und die biochemische Signalkaskade in der Regio CA1 und Gyrus dentatus werden durch präsynaptische Glutamatausschüttungen, sowie durch das Aktivieren der ionotropen Glutamaterezeptoren an der postsynaptischen Membran AMPAR und NMDA induziert. Wird letzteres aktiviert, so sorgt es für einen Kalzium-Einstrom über rezeptorassoziierte Ionenkanäle. Durch den starken intrazellulären Kalziumanstieg werden verschiedene Enzyme aktiviert (Izquierdo & Medina 1997). Die Untergruppe NR2B von NMDA scheint eine wichtige Rolle bei der LTP und assoziativem Lernen zu spielen (Sakimura et al., 1995; Valenzuela-Harrington et al. 2007). Den Ratten wurden in dem Versuch von Ghersi et al. über eine intrahippokampale Infusion Ghrelin verabreicht und sie absolvierten den Step-down-Test. Dieser Test beruht auf der Bildung einer Assoziation zwischen dem Herabsteigen einer Plattform mit einem aversiven Reiz, einer Schockgabe an den Füßen. Dabei bildet sich das Langzeitgedächtnis, welches sich darin manifestiert, dass es eine längere Zeit dauert, bis die Ratten wieder von der Plattform absteigen. Die Zeit wird gemessen, sobald die Ratten auf der Plattform abgesetzt werden. In der Trainingsrunde erfuhren die Ratten sofort einen kleinen Elektroschock an den Füßen, sobald sie die Plattform verlassen haben. Nach dem Schock wurden sie sofort in ihre Käfige zurückgesetzt und ihnen 3 nmol/µl Ghrelin verabreicht. Der Abrufungstest erfolgte 24h später und dauerte maximal 180 Sekunden. Das Ergebnis zeigte einen signifikanten Unterschied. Während die Ratten nach der Ghrelingabe nach 180 Sekunden die Plattform nicht verließen, stiegen die Ratten der Kontrollgruppe schon nach ca. 45 Sekunden wieder herab. Die Konditionierung des prozeduralen Gedächtnisses wurde also, wie auch bei unseren Probanden, durch Ghrelin verbessert.

5.3 Schlaf

Die Gabe von Ghrelin zeigte keinerlei Auswirkungen auf den Schlaf der Probanden. Die EEG wiesen keine signifikanten Unterschiede zwischen der Ghrelin- und der Placeboversuchsnacht auf. Die in der Literatur beschriebene schlaffördernde Wirkung von Ghrelin exklusiv bei Männern konnte in dieser Studie nicht nachgewiesen werden, da ausschließlich Männer als Probanden ausgewählt wurden. Eine Studie aus dem Jahr 2003 wies durch Versuche an Mäusen nach, dass die systematische Ghrelingabe die Dauer des Non-REM-Schlafs fördert, intakte GH-Rezeptoren vorausgesetzt (Obál et al., 2003). Gleichzeitig zeigten Weikel et al. (2003), dass nach wiederholter intravenöser Ghrelingabe der Slow -Wave- Schlaf (SWS) erhöht war. Dies belegt somit den schlaffördernden Effekt von Ghrelin auf den Organismus.

5.4 Schlaf und Hormone

Während des Schlafs zeigen beim Menschen nicht nur die Aufnahmen des EEG bestimmte Muster, sondern auch die nächtliche Sekretion von verschiedenen Hormonen. Während der ersten Nachthälfte erreicht Somatotropin seinen Peak und SWS-Phasen überwiegen; dabei ist das Hypothalamus-Hypophysen-adrenokortikale-System herabgesetzt. In der zweiten Nachthälfte sinkt die GH-Konzentration dagegen wieder und es sind steigende Werte von Kortisol und ACTH nachzuweisen mit vermehrten REM-Schlafphasen. Somit lässt sich sagen, dass Neuropeptide einen regulatorischen Effekt auf den Schlaf haben. Auch Ghrelin könnte Einfluss auf die Regulation des zirkadianen Rhythmus haben. Cowley et al. (2003) stellten die Hypothese auf, dass zentrales Ghrelin zirkadiane Informationen aus dem Hypothalamus vermittele. Spiegel et al. (2004) zeigten, dass männliche Probanden, denen Schlaf entzogen wurde, über den Tag von 9:00 Uhr bis 21:00 Uhr erhöhte Ghrelinwerte aufwiesen, im Gegensatz zu denen, die einen ausgedehnten Schlaf hatten. Da in dieser Studie keine Effekte des Ghrelins im EEG zu erkennen waren, kann noch nicht davon ausgegangen

werden, dass Ghrelin einen signifikanten Einfluss auf die schlafabhängige Gedächtniskonsolidierung hat.

Zudem zeigte sich auch keine orexigene Wirkung des Ghrelins. Die Probanden, denen Ghrelin verabreicht wurde, gaben weder ein erhöhtes Hungergefühl an, noch verzehrten sie eine größere Menge Nahrung zum Frühstück am darauffolgenden Morgen. Grund hierfür könnte der Zeitpunkt der Ghrelingabe sein. Die Verabreichung von Ghrelin zu Beginn der Tiefschlafphase scheint keinen appetitfördernden Effekt zu haben.

5.5 Limitationen und Ausblick

In dieser Studie wurde 16 Männern pulsatil nach Eintritt der Tiefschlafphase viermal je 50 µl Ghrelin bzw. Placebo in bestimmten Abständen intravenös verabreicht. Diese bewährte Art der Peptidgabe gleicht der physiologischen, biochemischen, pulsatilen Sekretion von Hormonen oder Neurotransmittern im menschlichen Körper (Steiger et al., 1998) Somit soll durch die Hormonaktivität des Ghrelins das Schlaf-EEG positiv beeinflusst werden. (Marshall et al., 1996; Sassin et al., 1969)

Eine verminderte Resorption des Hormons ist durch die intravenöse Gabe auszuschließen, ebenso verfälschte Ergebnisse. Die Konzentrationszunahmen von Somatotropin und Kortisol sowie die Werte des acyliertem und desacyliertem Ghrelin in den entnommenen Blutproben der Probanden zeigen die erfolgreiche Injektion des Peptids.

Geschlechtsspezifische Wirkungsunterschiede von Ghrelin sind aus dieser Studie nicht zu entnehmen, da nur Männer im Alter von 18 bis 31 Jahren als Probanden teilnahmen. Diese Auswahl erfolgte, damit zusätzliche zyklusbedingte hormonelle Einflüsse ausgeschlossen werden konnten. Barkan et al. (2003) zeigten aber, dass bei Frauen die Ghrelinkonzentration physiologisch höher ist. Auch weisen sie ein anderes Sekretionsmuster auf (Barkan et al., 2003). Zudem zeigt sich bei Frauen im Verlaufe des Schlafes eine konstante Ghrelinkonzentration, im Gegensatz zu Männern (Schüssler et al.,

2006). Es müssen noch weitere Studien erfolgen, um geschlechtsspezifische Unterschiede und Gemeinsamkeiten durch Ghrelin-Einfluss darzustellen. Sinnvoll wäre etwa eine Untersuchung der möglichen Wechselwirkung zwischen Ghrelin und dem weiblichen hormonellen Zyklus mit der Fragestellung, ob darin die Gründe dafür liegen, dass nach heutigem Kenntnisstand Ghrelin allein bei Männern den Schlaf fördert.

Die Förderung des Tiefschlafs bzw. vermehrter SWS, wie es zum Beispiel in der Studie von Weikel et al. 2003 beschrieben wurde, konnte in diesem Fall nicht bestätigt werden. Dies könnte zum einen am Einfluss auf den Schlaf durch die Atmosphäre in der ungewohnten Umgebung des Schlaflabors liegen, zum anderen auch an einem den Probanden störenden physikalischen Einfluss durch die Anschlusselektroden des EEG sowie durch den intravenösen Zugang. Diese Faktoren könnten eventuell dazu beigetragen haben, dass die Probanden eine längere Zeit zum Einschlafen benötigten und der Schlaf durch die am Kopf angeschlossenen Kabel gestört wurde. Es sind keine weiteren Einflüsse des Ghrelins auf den Schlaf zu erkennen. Die ausgewerteten Hypnogramme zeigen keine signifikanten Unterschiede der Schlafstadien und ihrer Dauer zwischen der Ghrelin- und der Kontrollgruppe auf.

Einen positiven Einfluss des Ghrelins auf die schlafabhängige Gedächtniskonsolidierung konnte nur auf das prozedurale Gedächtnis verzeichnet werden. In zahlreichen Studien an Tieren konnte bereits nachgewiesen werden, dass mittels Ghrelingabe die Gedächtnisleistung verbessert wurde, sei es durch das Verdichten der Synapsen im Hippokampus (Diano et al., 2006) oder in Abhängigkeit von Glutamat und postsynaptischen NR2B-Rezeptoren (Gherzi et al., 2015). Möglicherweise ist der Zeitpunkt der Ghrelinapplikation ein mitbestimmender Faktor damit Ghrelin einen Effekt auslösen kann. Bei Ratten zeigten unterschiedliche Zeitpunkte der intra-hippokampalen Injektion von Ghrelin deutliche Abweichungen beim Abrufen des Step-Down-Tests auf. Hier lernten die Ratten, dass sie an den Füßen einen kleinen Elektroschock bekommen, wenn sie die Plattform verlassen, auf der sie sich befinden. Wurde den Ratten direkt nach dem Schock das Ghrelin

verabreicht, verließen sie 24 Stunden später die Plattform nicht mehr. Die Tiere, die 15 bzw. 60 Minuten später das Ghrelin verabreicht bekamen, verhielten sich genau wie die Kontrollgruppe mit Kochsalzlösung und verließen schon nach ca. 45 Sekunden die Plattform (Gherzi et al., 2015). Dies lässt vermuten, dass Ghrelin ein zeitliches Fenster für seine Wirkung hat. Ob das nun auch für Menschen gilt, muss noch in weiteren Studien erforscht werden, da genaue Erkenntnisse über die Eingriffmechanismen von Ghrelin auf molekularer und zellulärer Ebene der Gedächtniskonsolidierung noch fehlen. Auch ist bislang nicht bekannt, wie die Peptide die synaptische Plastizität beeinflussen. Durch weitere Studien in diesen Bereichen könnten unter anderem neurodegenerative Erkrankungen wie Alzheimer effektiver behandelt werden.

6 Zusammenfassung

In dieser humanexperimentellen Studie wurde untersucht, ob die nächtliche Gabe von Ghrelin die schlafassoziierte Gedächtniskonsolidierung fördert. Ghrelin ist ein orexigenes Peptid und wird im Magen und Gehirn synthetisiert. Als endogenes Hormon bindet es an den GHS-Rezeptor, einen transmembranen G-Protein-gekoppelten Rezeptor. Diesen findet man in vielen Gehirnregionen, wie dem Hypothalamus, dem Hippokampus, dem Thalamus und dem ventralen tegmentalen Areal. Das Hormon Ghrelin kann den Schlaf beeinflussen. In Vorläuferstudien zeigte sich, dass Ghrelin bei jungen Männern den Slow-Wave-Schlaf erhöht und einen schlaffördernden Effekt hat. Im Gegensatz dazu kann sehr hoch dosiertes Ghrelin den Schlaf auch hemmen. Wie sehr Ghrelin den Schlaf verändert und wie es sich auf die schlafassoziierte Verfestigung spezifischer Gedächtnisspuren auswirkt, war der Untersuchungsgegenstand dieser Studie. In der doppelblinden Crossover-Studie verbrachten 16 männliche normalgewichtige (BMI 20-25 kg/m²) Probanden im Alter von 18 bis 31 Jahren nach einer Eingewöhnungsnacht zwei Experimentalnächte im Abstand von 2 Wochen im Labor und absolvierten Gedächtnistests vor und nach dem Schlaf: eine räumliche Gedächtnisaufgabe („Memory“), mit der das deklarative, und eine motorische Aufgabe (Fingertapping), mit der das prozedurale Gedächtnis untersucht wurde. Dabei war der Unterschied zwischen Lernleistung am Abend und Abrufleistung am Morgen das entscheidende Kriterium der Gedächtnisbildung. In beiden Nächten wurde während der Nacht von 23:00 Uhr bis 7:00 Uhr der Schlaf polysomnographisch aufgezeichnet, um Schlafstadien bestimmen zu können. Nach Eintritt des Tiefschlafs wurde viermal Ghrelin (je 50 µg) bzw. Placebo verabreicht. Während der gesamten Nacht wurde Blut entnommen, um die Konzentrationen von acyliertem und desacyliertem Ghrelin, Kortisol und Somatotropin zu bestimmen. Obwohl das injizierte Ghrelin einen starken Anstieg der Konzentrationen von acyliertem und desacyliertem Ghrelin sowie erwartungsgemäß von Kortisol und Somatotropin auslöste, hatte die Gabe des Hormons keinen Einfluss auf den Schlaf beziehungsweise auf die Schlafstadien. Die Hypnogramme der Placebo- und der Ghrelin-Nächte zeigen keine signifikanten Unterschiede zwischen den Bedingungen. Auch die subjektiv

empfundene Schlafqualität der Probanden, die sie mittels eines Fragebogens angaben, zeigte keine nennenswerten Abweichungen zwischen den Bedingungen. Während die deklarative Gedächtnisbildung ebenfalls unbeeinflusst blieb, zeigten die Probanden in der Ghrelinbedingung eine bessere Abrufungleistung im Test des prozeduralen Gedächtnisses (Fingertapping) als in der Placebobedingung. Zukünftige Studien können nun auf dieser Grundlage erforschen, wie belastbar der beobachtete verbessernde Effekt von Ghrelin auf die schlafassoziierte Verfestigung prozeduraler Gedächtnisinhalte ist und welche Mechanismen diesen vermitteln. Die erbrachten Ergebnisse liefern einen weiteren Beleg dafür, dass ein metabolisch wirksames Hormon wie Ghrelin auch kognitive Funktionen beeinflusst und demonstrieren mithin die enge Wechselwirkung zwischen Endokrinium, Schlaf und Gedächtnis.

7 Literaturverzeichnis

Achermann, P. & Borbély, A. A. Low frequency (<1 Hz) oscillations in the human sleep electroencephalogram. *Neuroscience* 81, 213-222 (1997)

Allison, T. & Cicchetti, D. V. Sleep in mammals. Ecological and constitutional correlates. *Science* 194, 732-734 (1976)

Alvarez-Buylla A, Garcia-Verdugo JM. Neurogenesis in adult subventricular zone. *J. Neurosci.*, 2002;22 (3):629-634

Aserinsky, E. & Kleitman, N. Regularly occurring periods of eye motility and concomitant phenomena during sleep. *Science* 118, 273-274 (1953)

Barkan AL, Dimaraki EV, Jessup SK, Symons KV, Ermolenko M, Jaffe CA. Ghrelin secretion in humans is sexually dimorphic, suppressed by somatostatin, and not affected by the ambient growth hormone levels. *J Clin Endocrinol Metab* 2003, 88: 2180-2184

Barreiro ML, Gaytan F, Caminos JE, Pinilla L, Casanueva FF, Aguilar E, Dieguez C, TenaSempere M. Cellular location and hormonal regulation of ghrelin expression in rat testis. *Biol. Reprod.*, 2002;67:1768-76

Bedendi I, Alloatti G, Marcantoni A, Malan D, Catapano F, Ghé C, Deghenghi R, Ghigo E, Muccioli G. Cardiac effects of ghrelin and its endogenous derivatives des-octanoylghrelin and des-Gln(14)-ghrelin. *Eur. J. Pharmacol.*, 2003;476(1-2):87-95

Bednarek MA, Feighner SD, Pong SS, McKee KK, Hreniuk DL, Silva MV, Warren VA, Howard AD, Van Der Ploeg LH, Heck JV. Structure-function studies on the new growth hormone-releasing peptide, ghrelin: minimal sequence of ghrelin necessary for activation of growth hormone secretagogue receptor 1a. *J. Med. Chem.*, 2000; 3(23):4370-6

Berger RJ, Phillips NH. Energy conservation and sleep. *Behav Brain Res* 69: 65-73, 1995

Borbély AA, Achermann P. Sleep homeostasis and models of sleep regulation. *J Biol Rhythms* 14: 557-568, 1999

Born J, Rasch B, Gais S. Sleep to remember. *Neuroscientist* 12: 410-424, 2006.

Born, j. & Fehm, H L. (1998). Hypothalamus-pituitary-adrenal activity during human sleep: Coordinating role for the limbic hippocampal system. *Exp. Clin. Endocrinol. Diabetes*, 106, 153-163

Braun, A. R. *et al.* Regional cerebral blood flow throughout the sleep-wake cycle — an (H₂O)-O-15 PET study. *Brain* 120, 1173-1197 (1997)

Broglio F, Gottero C, Arvat E, Ghigo E. Endocrine and non-endocrine actions of ghrelin. *Horm. Res.*, 2003; 59: 109-117

Brown LK. Can sleep deprivation studies explain why human adults sleep? *Curr Opin Pulm Med* 18: 541-545, 2012

Burgess, N., Maguire, E.A. & O'Keefe, J. The human hippocampus and spatial and episodic memory. *Neuron* 35, 625-641 (2002)

Carlini VP, Monzon ME, Varas MM, Cragolini AB, Schiöth HB, Scimonelli TN, De Barioglio SR. Ghrelin increases anxiety-like behavior and memory retention in rats. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2002, 299: 739-743

Carlini VP, Martini AC, Schiöth HB, Ruiz RD, Fiol de Cuneo M, de Barioglio SR. Decreased memory for novel object recognition in chronically food-restricted mice is reversed by acute ghrelin administration. *Neuroscience*, 2008;153(4):929-34

Carlini VP, Perez MF, Salde E, Schiöth HB, Ramirez OA, de Barioglio SR. Ghrelin induced memory facilitation implicates nitric oxide synthase activation and decrease in the threshold to promote LTP in hippocampal dentate gyrus. *Physiol. Behav.*, 2010;101(1):117-23

Carlini VP, Varas MM, Cragolini AB, Schiöth HB, Scimonelli TN, de Barioglio SR. Differential role of the hippocampus, amygdala, and dorsal raphe nucleus in regulating feeding, memory, and anxiety-like behavioral responses to ghrelin. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 2004;313(3):635-4

Castañeda TR, Tong J, Datta R, Culler M, Tschöp MH. Ghrelin in the regulation of body weight and metabolism. *Frontiers in Neuroendocrinology* 2010, 31: 44-60

Collingridge GL, Peineau S, Howland JG, Wang YT. Long-term depression in the CNS. *Nat Rev Neurosci* 11: 459-473, 2010

Chen, Shao-Rui; Chen, Hong; Zhou, Jing-Jing; Pradhan, Geetali; Sun, Yuxiang; Pan, Hui-Lin; Li, De-Pei (2017): Ghrelin receptors mediate ghrelin-induced excitation of agouti-related protein/neuropeptide Y but not pro-opiomelanocortin neurons. In: *Journal of neurochemistry* 142 (4), S. 512-520. DOI: 10.1111/jnc.14080

Cowley MA, Smith RG, Diano S, Tschöp M, Pronchuk N, Grove KL, Strasburger CJ, Bidlingmaier M, Esterman M, Heiman ML, Garcia-Segura LM, Nillni EA, Mendez P, Low MJ, Sotonyi P, Friedman JM, Liu H, Pinto S, Colmers WF, Cone RD, Horvath TL. The distribution and mechanism of action of ghrelin in the CNS demonstrates a novel hypothalamic circuit regulating energy homeostasis. *Neuron*, 2003; 37(4):649-61

Cowley MA, Smith RG, Diano S, Tschöp M, Pronchuk N, Grove KL, Strasburger CJ, Bidlingmaier M, Esterman M, Heiman ML, Garcia-Segura LM, Liu H, Pinto S, Colmers WF, Cone RD, Horvath TL. The distribution and mechanism of action of ghrelin in the CNS demonstrates a novel hypothalamic circuit regulating energy homeostasis. *Neuron* 2003, 37: 649-661

- Cummings DE, Purnell JQ, Frayo RS, Schmidova K, Wisse BE, Weigle DS (2001). A preprandial rise in plasma Ghrelin levels suggests a role in meal initiation in humans. *Diabetes* 50: 1714-1719
- Date Y, Kojima M, Hosoda H, Sawaguchi A, Mondal MS, Suganuma T, Matsukura S, Kangawa K, and Nakazato M. Ghrelin, a novel growth hormone-releasing acylated peptide, is synthesized in a distinct endocrine cell type in the gastrointestinal tracts of rats and humans. *Endocrinology* 141: 4255-4261, 2000
- Date Y, Nakazato M, Murakami N, Kojima M, Kangawa K, Matsukura S. Ghrelin acts in the central nervous system to stimulate gastric acid secretion. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 2001;280(3):904-7
- Dement, W. C. & Kleitman, N. The relation of eye movements, body motility, and external stimuli to dream content. *J. Exp. Psychol.* 55, 543-553 (1957)
- Diano, S., Farr, S.A., Benoit, S.C., McNay, E.C., da Silva, I., Horvath, B., Gaskin, F.S., Nonaka, N., Jaeger, L.B., Banks, W.A., Morley, J.E., Pinto, S., Sherwin, R.S., Xu, L., Yamada, K.A., Sleeman, M.W., Tschop, M.H., Horvath, T.L., 2006. Ghrelin control hippocampal spine synapse density and memory performance. *Nat. Neurosci.* 9, 381-388
- Dolmetsch RE, Pajvani U, Fife K, Spotts JM, Greenberg ME. Signaling to the nucleus by an L-type calcium channel-calmodulin complex through the MAP kinase pathway. *Science*, 2001;294(5541):333-9
- Dornonville de la Cour C, Björkqvist M, Sandvik AK, Bakke I, Zhao CM, Chen D, Håkanson R. A-like cells in the rat stomach contain ghrelin and do not operate under gastrin control. *Regul. Pept.*, 2001;99(2-3):141-50
- Drazen DL, Vahl TP, D'Alessio DA, Seeley RJ, Woods SC. Effects of a fixed meal pattern on ghrelin secretion: evidence for a learned response independent of nutrient status. *Endocrinology* 2006; 147(1):23-30
- Druce MR, Neary NM, Small CJ, et al. Subcutaneous administration of ghrelin stimulates energy intake in healthy lean human volunteers. *Int J Obes (Long)* 2006, 30: 293-296
- Ebbinghaus H. *Über das Gedächtnis. Untersuchungen zur experimentellen Psychologie.* Darmstadt, Germany: Wiss. Buchges., 1992
- Fischer, S., Hallschmid, M., Elsner, A. L. & Born, J. Sleep forms memory for finger skills. *Proc. Natl Acad. Sci. USA* 99, 11987-11991 (2002)
- Frankland PW, Bontempi B. The organization of recent and remote memories. *Nat Rev Neurosci* 6: 119-130, 2005
- Frieboes RM, Murck H, Maier P, Schier T, Holsboer F, and Steiger A. Growth hormone-releasing peptide-6 stimulates sleep, growth hormone, ACTH and cortisol release in normal man. *Neuroendocrinology* 61: 584-589, 1995

Gais S, Born J. Declarative memory consolidation: Mechanisms acting during human sleep. *Learn Mem* 11: 679-685, 2004

Gais S, Lucas B, Born J. Sleep after learning aids memory recall. *Learn Mem* 13: 259-262, 2006

Gherzi, Marisa S.; Gabach, L. A.; Buteler, F.; Vilcaes, A. A.; Schiöth, H. B.; Perez, M. F.; Barioglio, S. R. de (2015): Ghrelin increases memory consolidation through hippocampal mechanisms dependent on glutamate release and NR2B-subunits of the NMDA receptor. In: *Psychopharmacology* 232 (10), S. 1843-1857

Gnanapavan S, Kola B, Bustin SA, et al. The tissue distribution of the mRNA of ghrelin and subtypes of its receptor, GHS-R, in humans. *J Clin Endocrinol Metab.* 2002, 87: 2988

Gualillo O, Caminos J, Blanco M, Garcia-Caballero T, Kojima M, Kangawa K et al. Ghrelin, a novel placental-derived hormone. *Endocrinology* 2001 142 788-794

Guan, X.M. et al. Distribution of mRNA encoding the growth hormone secretagogue receptor in brain and peripheral tissues. *Brain Res. Mol. Brain Res.* 48, 23-29 (1997)

Hallschmid M, Jauch-Chara K, Korn O, Mölle M, Rasch B, Born J, Schultes B, Kern W. Euglycemic infusion of insulin detemir compared with human insulin appears to increase direct current brain potential response and reduces food intake while inducing similar systemic effects. *Diabetes* 2010, 59 4 :1101-7

Hayashida T, Nakahara K, Mondal MS, Date Y, Nakazato M, Kojima M, Kangawa K, Murakami N. Ghrelin in neonatal rats: distribution in stomach and its possible role. *J. Endocrinol.*, 2002;173(2):239-45

Hebb DO. *The Organization of Behavior; A Neuropsychological Theory.* New York: Wiley, 1949

Heine R. über Wiedererkennen und rückwirkende Hemmung. Leipzig, Germany: Barth, 1914

Hobson JA. Sleep is of the brain, by the brain and for the brain. *Nature* 437: 1254-1256, 2005

Hobson JA. Sleep is of the brain, by the brain and for the brain. *Nature* 437 1256, 2005

Hobson, J. A. *Dreaming: An Introduction to the Science of Sleep* (Oxford Univ. Press, New York, 2002)

Huber, R., Ghilardi, M. F., Massimini, M. & Tononi, G. Local sleep and learning. *Nature* 430, 78-81 (2004)

Huppelsberg, Jens; Walter, Kerstin (2013): *Kurzlehrbuch Physiologie.* 4. Aufl. Stuttgart: Thieme.

Interactive memory systems in the human brain. *Nature* 414: 546-550, 2001

- Jenkins, J. G. & Dallenbach, K. M. Obliviscence during sleep and waking. *Am. J. Psychol.* 35, 605-612 (1924)
- Kamegai J, Wakabayashi I, Kineman RD, Frohman LA. Growth hormone-releasing hormone receptor (GHRH-R) and growth hormone secretagogue receptor (GHS-R) mRNA levels during postnatal development in male and female rats. *J. Neuroendocrinol.*, 1999;11(4):299-306
- Kandel ER. The molecular biology of memory storage: a dialogue between genes and synapses. *Science* 294: 1030-1038, 2001
- Katayama M, Nogami H, Nishiyama J, Kawase T, Kawamura K. Developmentally and regionally regulated expression of growth hormone secretagogue receptor mRNA in rat brain and pituitary gland. *Neuroendocrinology.*, 2000;72(6):333-40
- Kety, S. S., Landau, W. M. Freygang, W. H., Rowland, L. P. & Sokoloff, L. The local circulation of the living brain; values in the unanesthetized and anesthetized cat. *Trans. Am. Neurol. Assoc.* 80, 125-129 (1955)
- Killgore WDS. Effects of sleep deprivation on cognition. *Prog Brain Res* 185: 105–129, 2010
- Kluge M, Gazea M, Schüssler P, Genzel L, Dresler M, Kleyer S, Uhr M, Yassouridis A, Steiger A 2010 Ghrelin increases slow wave sleep and stage 2 sleep and decreases stage 1 sleep and REM sleep in elderly men but does not affect sleep in elderly women. *Psychoneuroendocrinology* 35:297-304
- Kluge, M., Schüssler, P., Dresler, M., Yassouridis, A., Steiger, A., 2007a. Sleep onset REM periods in obsessive compulsive disorder. *Psychiatr. Res.* 152, 29–35
- Kluge, M., Schüssler, P., Künzel, H.E., Dresler, M., Yassouridis, A., Steiger, A., 2007b. Increased nocturnal secretion of ACTH and cortisol in obsessive compulsive disorder. *J. Psychiatr. Res.* 41, 928-933
- Kluge, M., Schüssler, P., Uhr, M., Yassouridis, A., Steiger, A., 2007c. Ghrelin suppresses secretion of luteinizing hormone in humans. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 92, 3202-3205
- Kluge, M., Schüssler, P., Zuber, V., Kleyer, S., Yassouridis, A., Dresler, M., Uhr, M., Steiger, A., 2007d. Ghrelin enhances the nocturnal secretion of cortisol and growth hormone in young females without influencing sleep. *Psychoneuroendocrinology* 32, 1079-1085
- Kluge, M., Schüssler, P., Zuber, V., Yassouridis, A., Steiger, A., 2007e. Ghrelin administered in the early morning increases secretion of cortisol and growth hormone without affecting sleep. *Psychoneuroendocrinology* 32, 287-292
- Knutson KL, Spiegel K, Penev P, van Cauter E. The metabolic consequences of sleep deprivation. *Sleep Med Rev* 11: 163-178, 2007

- Kojima M, Hosoda H, Date Y, Nakazato M, Matsuo H, Kangawa K. Ghrelin is a growth-hormone-releasing acylated peptide from stomach. *Nature* 1999, 402: 656-660
- Kojima M, Kangawa K. Ghrelin: structure and function. *Physiol. Rev.* 2005, 85: 495-522
- Kojima, M., Hosoda, H., Date, Y., Nakazato, M., Matsuo, H., Kangawa, K., 1999. Ghrelin is a growth-hormone-releasing acylated peptide from stomach. *Nature* 402, 656-660
- Korbonits M, Goldstone AP, Gueorguiev M, Grossman AB. Ghrelin--a hormone with multiple functions. *Front Neuroendocrinol.*, 2004;25(1):27-68
- Leonetti F, Silecchia G, Iacobellis G, Ribaudo MC, Zappaterreno A, Tiberti C, Iannucci CV, Perrotta N, Bacci V, Basso MS, Basso N, Di Mario U. Different plasma ghrelin levels after laparoscopic gastric bypass and adjustable gastric banding in morbid obese subjects. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 2003;88(9):4227-31
- Lewis PA, Cairney S, Manning L, Critchley HD. The impact of overnight consolidation upon memory for emotional and neutral encoding contexts. *Neuropsychologia*49: 2619 -2629, 2011
- Lewis PA, Couch TJ, Walker MP. Keeping time in your sleep: overnight consolidation of temporal rhythm. *Neuropsychologia* 49: 115-123, 2011
- Lewis PA, Durrant SJ. Overlapping memory replay during sleep builds cognitive schemata. *Trends Cogn Sci* 2011
- Lewis PA, Durrant SJ. Overlapping memory replay during sleep builds cognitiveschemata. *Trends Cogn Sci* 2011
- Lu, S., Guan, J.L., Wang, Q.P., Uehara, K., Yamada, S., Goto, N., Date, Y., Nakazato, M., Kojima, M., Kangawa, K., Shioda, S., 2002. Immunocytochemical observation of ghrelin-containing neurons in the rat arcuate nucleus. *Neurosci. Lett.* 321, 157-160
- Lucero MA. Lengthening of REM sleep duration consecutive to learning in the rat. *Brain Res* 20: 319-322, 1970
- Luo T, Leung LS. Endogenous histamine facilitates long-term potentiation in the hippocampus during walking. *J Neurosci*30: 7845-7852, 2010
- Maquet, P. *et al.* Functional neuroanatomy of human rapid-eye movement sleep and dreaming. *Nature* 383, 163-166 (1996)
- Marshall, L.; Mölle, M.; Böschen, G.; Steiger, A.; Fehm, H. L. und Born, J. Greater efficacy of episodic than continuous growth hormone releasing hormone (GHRH) administration in promoting slow wave sleep (SWS). 1996. *Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* 81, 1009-1013.

Masuda Y, Tanaka T, Inomata N, Ohnuma N, Tanaka S, Itoh Z, et al. Ghrelin stimulates gastric acid secretion and motility in rats. *BiochemBiophys Res Commun* 2000;276 (3):905-8

McClelland JL, McNaughton BL, O'Reilly RC. Why there are complementary learning systems in the hippocampus and neocortex: insights from the successes and failures of connectionist models of learning and memory. *Psychol Rev* 102: 419-457, 1995

McGaugh JL. Memory—a century of consolidation. *Science* 287: 248-251, 2000

Mitchell, V. et al. Comparative distribution of mRNA encoding the growth hormone secretagogue-receptor (GHS-R) in *Microcebus murinus* (Primate, lemurian) and rat forebrain and pituitary. *J. Comp. Neurol.* 429, 469-489 (2001)

Mondal, M.S., Date, Y., Yamaguchi, H., Toshinai, K., Tsuruta, T., Kangawa, K., Nakazato, M., 2005. Identification of ghrelin and its receptor in neurons of the rat arcuate nucleus. *Regul. Pept.* 126, 55-59

Mori K, Yoshimoto A, Takaya K, Hosoda K, Ariyasu H, Yahata K, Mukoyama M, Sugawara A, Hosoda H, Kojima M, Kangawa K, and Nakao K. Kidney produces a novel acylated peptide, ghrelin. *FEBS Lett.*, 2000;486:213-6

Müller, T. D.; Nogueiras, R.; Andermann, M. L.; Andrews, Z. B.; Anker, S. D.; Argente, J. et al. (2015): Ghrelin. In: *Molecular metabolism* 4 (6), S. 437-460. DOI: 10.1016/j.molmet.2015.03.005

Nader K, Hardt O. A single standard for memory: the case for reconsolidation. *Nat Rev Neurosci*10: 224-234, 2009

Nakahara K, Nakagawa M, Baba Y, Sato M, Toshinai K, Date Y, Nakazato M, Kojima M, Miyazato M, Kaiya H, Hosoda H, Kangawa K, Murakami N. Maternal ghrelin plays an important role in rat fetal development during pregnancy. *Endocrinology*, 2006;147(3):1333-42

Nakazato M, Murakami N, Date Y, Kojima M, Matsuo H, Kangawa K, Matsukura S. A role for ghrelin in the central regulation of feeding. *Nature*, 2001;409(6817):194-8

Nakazato M, Murakami N, Date Y, Kojima M, Matsuo H, Kangawa K, Matsukura S. A role for ghrelin in the central regulation of feeding. *Nature*, 2001;409(6817):194-8

Nofzinger, E. A., Mintun, M. A., Wiseman, M. B., Kupfer, D. J. & Moore, R. Y. Forebrain inactivation in REM sleep: An FDG PET study. *Brain Res.* 770, 192-201 (1997)

Obal Jr, F, Alt J, Taishi P, Gardi J, Krueger JM. Sleep in mice with nonfunctional growth hormone-releasing hormone receptors. *Am J PhysiolRegulIntegr Comp Physiol* 2003, 284: R131-139

Oswald I. Sleep as restorative process: human clues. *Prog Brain Res* 53: 279-288, 1980

Palyha OC, Feighner SD, Tan CP, McKee KK, Hreniuk DL, Gao YD, Schleim KD, Yang L, Morriello GJ, Nargund R, Patchett AA, Howard AD, and Smith RG. Ligand activation domain of human orphan growth hormone (GH) secretagogue receptor (GHS-R) conserved from Pufferfish to humans. *Mol. Endocrinol.*, 2000;14:160-9

Patrick G. On the effects of loss of sleep. *Psychol Rev* 3: 468-483, 1896

Pavlov, I. I. *Conditioned Reflexes. An Investigation of the Physiological Activity of the Cerebral Cortex* (Dover, New York, 1960)

Pinto, S. et al. Rapid rewiring of arcuate nucleus feeding circuits by leptin. *Science* 304, 110-115 (2004)

Plihal W, Born J. Effects of early and late nocturnal sleep on declarative and procedural memory. *J Cogn Neurosci* 9: 534-547, 1997

Plihal, W. & Born, J (1999) Memory consolidation in human sleep depends on inhibition of glucocorticoid release. *Neuroreport*, 10, 2741-2747

Poldrack RA, Clark J, Pare-Blagoev EJ, Shohamy D, Moyano JC, Myers C, Gluck MA.

Rak-Mardyła A, Gregoraszczyk E. Effect of ghrelin on proliferation, apoptosis and secretion of progesterone and hCG in the placental JEG-3 cell line. *Reprod. Biol.*, 2010;10(2):159-65

Rasch B, Born J. Maintaining memories by reactivation. *Curr Opin Neurobiol* 17: 698-703, 2007

Rasch, B. & Born, J. (2013) about sleep's role in memory, *Physiol Rev* 93: 681-766, 2013 doi:10.1152/physrev.00032.2012

Rasch, B., & Born, J. (2007). Maintaining memories by reactivation. *Current opinion in neurobiology*, 17(6), 698-703

Rindi G, Necchi V, Savio A, Torsello A, Zoli M, Locatelli V, Raimondo F, Cocchi D, Solcia E. Characterisation of gastric ghrelin cells in man and other mammals: studies in adult and fetal tissues. *Histochem. Cell Biol.*, 2002; 117(6):511-9

Rosenhagen, M.C., Uhr, M., Schüssler, P., Steiger, A., 2005. Elevated plasma ghrelin levels in night-eating syndrome. *Am. J. Psychiatry* 162, 813

Roth DA, Kishon-Rabin L, Hildesheimer M, Karni A. A latent consolidation phase in auditory identification learning: time in the awake state is sufficient. *Learn Mem* 12:159-164, 2005

Roy NS, Wang S, Jiang L, Kang J, Benraiss A, Harrison-Restelli C, Fraser RA, Couldwell WT, Kawaguchi A, Okano H, Nedergaard M, Goldman SA. In vitro

neurogenesis by progenitor cells isolated from the adult human hippocampus. *Nat. Med.*, 2000;6(3):271-7

Sakatal I, Nakamura K, Yamazaki M, Matsubara M, Hayashi Y, Kangawa K, Sakai T. Ghrelin-producing cells exist as two types of cells, closed-and opened-type cells, in the rat gastrointestinal tract. *Peptides*, 2002 23: 531-536

Sassin, J. F.; Parker, D. C.; Mace, J. W.; Gotlin, R. W.; Johnson, L. C. und Rossman, L. G. Human growth hormone release: relation to slow-wave sleep and sleep-waking cycles. 1969. *Science* 165, 513-515

Sato T, Nakamura Y, Shiimura Y, Ohgusu H, Kangawa K, Kojima M. Structure, regulation and function of ghrelin. *J Biochem.* 2012;151(2):119-28.

Schüssler P, Uhr M, Ising M, Weikel JC, Schmid DA, Held K Mathias S, Steiger A. Nocturnal ghrelin, ACTH, GH and cortisol secretion after sleep deprivation in humans. *Psychoneuroendocrinology* 2006, 31(8): 915-923

Schüssler, P., Uhr, M., Ising, M., Schmid, D., Weikel, J., Steiger, A. Nocturnal ghrelin levels – relationship to sleep EEG, the levels of growth hormone, ACTH and cortisol – and gender differences. *J. Sleep Res.* (2005) 14, 329-336

Seri B, García-Verdugo JM, McEwen BS, Alvarez-Buylla A. Astrocytes give rise to new neurons in the adult mammalian hippocampus. *J. Neurosci.*, 2001;21(18):7153-60

Sherrington, C. *Man on his Nature* (Doubleday, Garden City New York, 1995)

Shors TJ, Miesegaes G, Beylin A, Zhao M, Rydel T, Gould E. Neurogenesis in the adult is involved in the formation of trace memories. *Nature*, 2001;410(6826):372-6

Smith C, Kitahama K, Valatx JL, Jouvet M. Increased paradoxical sleep in mice during acquisition of a shock avoidance task. *Brain Res* 77: 221-230, 1974

Smith CT, Lapp L. Prolonged increases in both PS and number of REMS following a shuttle avoidance task. *PhysiolBehav*36: 1053–1057, 1986.

Spiegel K, Tasali E, Leproult R, Scherberg N, Van Cauter E. Twenty-four-hour profiles of acylated and total ghrelin: relationship with glucose levels and impact of time of day and sleep. *J Clin Endocrinol Metab* 2010, 24 as doi: 10.1210/jc.2010-1978

Squire LR, Zola SM. Structure and function of declarative and nondeclarative memory systems. *Proc Natl Acad Sci USA* 93: 13515-13522, 1996

Squire, L & Zola, M (1996) Structure and function of deklarative and nondeklarative memory systems. Colloquium paper entitled "Memory: Recording Experience in Cells and Circuits,"Vol. 93, pp. 13515- 13522

- Squire, L. R. Memory and the hippocampus — a synthesis from findings with rats, monkeys, and humans. *Psychol. Rev.* 99, 195-231 (1992)
- Steiger, A., 2007. Ghrelin and sleep–wake regulation. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* 292, R573-R574
- Steiger, A., 2007. Neurochemical regulation of sleep. *J. Psychiatr. Res.* 41, 537-552
- Steiger, A.; Antonijevic, I. A.; Bohlhalter, S.; Frieboes, R. M.; Friess, E. und Murck, H. Effects of hormones on sleep. 1998. *Hormone Research* 49, 125-130
- Steiger, Axel (2007): Ghrelin and sleep-wake regulation. In: *American journal of physiology. Regulatory, integrative and comparative physiology* 292 (1), R573-4
- Steyer R, Schwenkmezger P, Notz P, Eid M (1997) Der Mehrdimensionale Befindlichkeitsfragebogen (MDBF). Handanweisung, Hogrefe, Göttingen
- Thompson NM, Gill DA, Davies R, Loveridge N, Houston PA, Robinson IC, Wells T. Ghrelin and des-octanoyl ghrelin promote adipogenesis directly in vivo by a mechanism independent of GHS-R1a. *Endocrinology*, 2004;145(1):234-2
- Tolle V, Bassant MH, Zizzari P, Poindessous-Jazat F, Tomasetto C, Epelbaum J, et al. Ultradian rhythmicity of ghrelin secretion in relation with GH, feeding behavior, and sleep–wake patterns in rats. *Endocrinology* 2002;143(4):1353-61
- Tononi G, Cirelli C (2014). Sleep and the price of plasticity: from synaptic and cellular homeostasis to memory consolidation and integration. *Neuron* 81: 12-34
- Toshinai K, Yamaguchi H, Sun Y, Smith RG, Yamanaka A, Sakurai T, Date Y, Mondal MS, Shimbara T, Kawagoe T, Murakami N, Miyazato M, Kangawa K, Nakazato M. Des-acyl ghrelin induces food intake by a mechanism independent of the growth hormone secretagogue receptor. *Endocrinology*, 2006;147(5):2306-14
- Tsanov M, Manahan-Vaughan D. Synaptic plasticity from visual cortex to hippocampus: systems integration in spatial information processing. *Neuroscientist* 14: 584-597, 2008
- Tse D, Langston RF, Kakeyama M, Bethus I, Spooner PA, Wood ER, Witter MP, Morris RGM. Schemas and memory consolidation. *Science* 316: 76-82, 2007
- Tulving E. *Elements of episodic memory*. New York: Clarendon, 1983
- Tulving E. *Elements of episodic memory*. New York: Clarendon, 1983
- Van Kesteren MTR, Ruitter DJ, Fernández G, Henson RN. How schema and novelty augment memory formation. *Trends Neurosci* 35: 211-219, 2012
- Vandekerckhove M, Cluydts R. The emotional brain and sleep: an intimate relationship. *Sleep Med Rev* 14: 219-226, 2010

- Volante M, Fulcheri E, Allia E, Cerrato M, Pucci A, Papotti M. Ghrelin expression in fetal, infant, and adult human lung. *J. Histochem. Cytochem.*, 2002;50(8):1013-21
- Wagner U, Fischer S, Born J. Changes in emotional responses to aversive pictures across periods rich in slow-wave sleep versus rapid eye movement sleep. *PsychosomMed* 64: 627-634, 2002
- Wagner U, Gais S, Born J. Emotional memory formation is enhanced across sleep intervals with high amounts of rapid eye movement sleep. *Learn Mem* 8: 112-119, 2001
- Walker, M. P., Liston, C., Hobson, J. A. & Stickgold, R. Cognitive flexibility across the sleep-wake cycle: REMs sleep enhancement of anagram problem solving. *Brain Res. Cogn. Brain Res.* 14, 317-324 (2002)
- Wang S, Morris RGM. Hippocampal-neocortical interactions in memory formation, consolidation, and reconsolidation. *Annu Rev Psychol* 61: 49–79, 2010
- Webb WB. An objective behavioral model of sleep. *Sleep* 11: 488-496, 1988
- Weikel JC, Wichniak A, Ising M, Brunner H, Friess E, Held K, Mathias S, Schmid DA., Uhr M, Steiger A. Ghrelin promotes slow-wave sleep in humans. *Am J. Physiol. Endocrinol. Metab.* 2003, 284: E407-E415
- Weikel, J., Held, K., Schmid, D.A., Uhr, M., Steiger, A., 2005. Single case report: 100 µg ghrelin at 22:00 increases distinctly hunger, food intake and nocturnal plasma levels of GH, ACTH and cortisol in a young man - evidence for dose-dependent effects of ghrelin on appetite? *Pharmacopsychiatry* 38, 284
- Wetzel W, Wagner T, Balschun D. REM sleep enhancement induced by different procedures improves memory retention in rats. *Eur J Neurosci* 18: 2611-2617, 2003
- Wierup N, Svensson H, Mulder H, Sundler F. The ghrelin cell: a novel developmentally regulated islet cell in the human pancreas. *Regul. Pept.*, 2002;107(1-3):63-9
- Yabuki A, Ojima T, Kojima M, Nishi Y, Mifune H, Matsumoto M, Kamimura R, Masuyama T, Suzuki S. Characterization and species differences in gastric ghrelin cells from mice, rats and hamsters. *J. Anat.*, 2004;205(3):239-46
- Yaroush R, Sullivan MJ, Ekstrand BR. Effect of sleep on memory. II. Differential effect of the first and second half of the night. *J Exp Psychol* 88: 361-366, 1971
- Yuzuriha H, Inui A, Asakawa A, Ueno N, Kasuga M, Meguid MM, Miyazaki J, Ninomiya M, Herzog H, Fujimiya M. Gastrointestinal hormones (anorexigenic peptide YY and orexigenic ghrelin) influence neural tube development. *FASEB J.*, 2007;21(9):2108-12
- Zhang W, Hu Y, Lin TR, Fan Y, Mulholland MW. Stimulation of neurogenesis in rat nucleus of the solitary tract by ghrelin. *Peptides*, 2005;26(11):2280-8

Erklärung zum Eigenanteil der Dissertationsschrift

Die Arbeit wurde im Institut für Medizinische Psychologie und Verhaltensneurobiologie des Universitätsklinikums Tübingen unter Betreuung von Prof. Dr. Hallschmid durchgeführt. Die Konzeption der Studie erfolgte durch Prof. Dr. Hallschmid (erster Berichterstatter) und Dr. Matthias Thienel-Holzmann (praktischer Ansprechpartner). Sämtliche Versuche wurden durch Dr. Matthias Thienel-Holzmann von mir in Zusammenarbeit mit Sarah Rist (Doktorandin) durchgeführt. Die Verarbeitung und Auswertung der Schlafdaten (Scoring) erfolgte nach Einarbeitung durch Dr. Thienel-Holzmann eigenständig durch mich. Die statistische Auswertung der Daten erfolgte durch Dr. Matthias Thienel-Holzmann. Ich versichere, das Manuskript selbständig verfasst zu haben und keine weiteren als die von mir angegebenen Quellen verwendet zu haben.

Karlsruhe, den 28.11.2022

Anita Hartel

Danksagung

Herrn Prof. Dr. Hallschmid möchte ich herzlich für die Überlassung des Themas, die stets verlässliche Betreuung und für seine Hilfsbereitschaft bedanken.

Des Weiteren gilt mein Dank meinem Betreuer Herrn Dr. rer. nat. Matthias Thienel-Holzmann für die Wegleitung und Einweisung in die Untersuchungsmethoden, für die Unterstützung während den Versuchsnächten sowie bei der Auswertung der erhobenen Daten.

Bedanken möchte ich mich auch bei Sarah Rist für die stets zuverlässige und gute Zusammenarbeit. Gemeinsam konnten wir erfolgreich die nächtlichen Versuche durchführen und Probleme zielführend lösen.

Nicht zuletzt danke ich den Probanden dieser Studie für ihre Teilnahme an den Versuchsnächten.

Besonderer Dank gilt meinen Eltern, meiner Schwester und meinem Ehemann, die mich immer unterstützt und dazu beigetragen haben, den Spagat zwischen Arbeit und Dissertation zu meistern.