

Aus dem Institut für Neuroendokrinologie

der Universität zu Lübeck

Direktor: Prof. Dr. J. Born

**Wirkung einer kombinierten zentralvenösen
muskarinergen und nikotinerger cholinergen Blockade
auf die Gedächtniskonsolidierung**

Inauguraldissertation

zur

Erlangung der Doktorwürde

der Universität zu Lübeck

- Aus der Medizinischen Fakultät -

vorgelegt von

Julia Lingscheidt

aus Berlin

Lübeck 2007

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

2. Berichterstatter: Prof. Dr. med. Wolfgang Heide

Tag der mündlichen Prüfung: 17.07.2008

Zum Druck genehmigt: Lübeck, den 17.07.2008
gez. Prof. Dr. Werner Solbach
-Dekan der Medizinischen Fakultät-

Inhaltsverzeichnis

Abkürzungsverzeichnis.....	II
1. Einleitung.....	1
1.1 Schlaf.....	2
1.1.1 Schlafstadien und die Polysomnographie.....	4
1.1.2 Schlaf im Verlauf der Nacht.....	5
1.2 Gedächtnisklassifikation.....	6
1.2.1 Deklaratives und Non-deklaratives Gedächtnis.....	6
1.2.2 Gedächtnisstadien.....	8
1.3 Schlaf und Gedächtnis.....	11
1.4 Gedächtnis, Schlaf und Hormone.....	15
1.5 Gedächtnis, Schlaf und Neurotransmitter.....	16
1.6 Gedächtnis, Schlaf und ACh.....	18
1.7 Fragestellung und Hypothese.....	24
2. Material und Methoden.....	25
2.1 Probandenkollektiv.....	25
2.2 Versuchsdesign und experimenteller Ablauf.....	26
2.3 Polysomnographie.....	29
2.4 Blutentnahme.....	29
2.5 Hormonmessung und Spiegelbestimmung im Plasma.....	30
2.6 Substanzapplikation.....	30
2.7 Gedächtnistests.....	32
2.7.1 Deklarativer Gedächtnistest: Wortpaar- Assoziationstest.....	33
2.7.2 Prozeduraler Gedächtnistest: Erlernen einer Fingersequenz...	33
2.7.3 Reaktionszeittest.....	34
2.8 Fragebogen zum subjektiven Empfinden der Schlafqualität.....	35
2.9 Statistische Datenauswertung:.....	35
3. Ergebnisse.....	36
4. Diskussion.....	43
5. Zusammenfassung.....	49
6. Literaturverzeichnis.....	50
7. Anhang.....	58
8. Danksagung.....	62
9. Lebenslauf.....	63

Abkürzungsverzeichnis

Abb.:	Abbildung
ACh:	Acetylcholin
AMPA:	Alpha-Amino-3-Hydroxy-5-Methyl-4-Isoxazolpropionsäure
Anw.:	Anwendung
Def.:	Definition
EEG:	Elektroenzephalogramm
EKG:	Elektrokardiogramm
EMG:	Elektromyogramm
EOG:	Elektrookulogramm
h:	hora (e) ≈ Stunde(n)
HF:	Herzfrequenz
Kg:	Kilogramm
LTP:	Langzeitpotenzierung
mg:	Milligramm
Min:	Minuten
µg:	Mikrogramm
MT:	Mirror Tracing (Spiegelzeichnen)
MW:	Mittelwert
NMDA:	N-Methyl-D-Aspartat
NW:	Nebenwirkung(en)
PAL:	Paarassoziiertes Lernen (Wortpaarassoziationstest)
REM:	rapid eye movement (schnelle Augenbewegungen)
RR:	Blutdruck (Riva Rocci)
S1-4:	Schlafstadium 1-4

Sek.:	Sekunden
SEM:	Standardfehler des Mittelwertes
SWS:	Tiefschlaf (slow-wave sleep)
Tab:	Tabelle
TST:	Gesamtschlaf (total sleep time)
VDT:	visuelle Diskriminationsaufgabe (visual discrimination task)
W:	Wachzustand

1. Einleitung

Der Schlaf versetzt Menschen und Tiere in einen Zustand der Ruhe. Puls, Atemfrequenz und der Blutdruck sinken, die Hirnaktivität ändert sich. Der Schlaf beschäftigt die Wissenschaft schon seit dem Altertum und trotz mehr als einem Jahrhundert Forschungsarbeit (Foster, 1901) konnte die Funktion des Schlafes noch nicht ausreichend geklärt werden. Mehrere Studien zeigen als eine mögliche Funktion des Schlafes einen positiven Einfluss auf die Gedächtnisleistung (Walker und Stickgold, 2004; Stickgold, 1999; Cipolli, 1995; Dujardin et al., 1990; Van Ormer, 1932; Jenkins und Dallenbach, 1924; Heine, 1914). Als Grundlage zur Festigung neu erworbener Gedächtnisinhalte werden elektrophysiologische Prozesse, sowie charakteristische Hormon- und Neurotransmitterrhythmiken vermutet, die während des Schlafes auftreten (Hasselmo und McGaugh, 2004; Hobson, Pace-Schott und Stickgold, 2000). So sinkt z.B. der Spiegel des Neurotransmitters Acetylcholin (ACh) während des Tiefschlafes auf ein Minimum im Vergleich zum Wachzustand, während der ACh-Spiegel in Schlafphasen mit schnellen Augenbewegungen (REM: Rapid Eye Movement) wieder auf das Wachniveau ansteigt (Hasselmo, 1999). Studien von Plihal und Born zeigen, dass besonders der frühe Tiefschlaf-reiche Schlaf einen förderlichen Einfluss auf die deklarative Gedächtnisbildung hat (1997,1999a). Der späte, REM-Schlaf reiche Schlaf hat dagegen keinen Effekt auf das deklarative Gedächtnis. Gais und Born (2004b) bestätigen, dass eine erniedrigte ACh-Aktivität während des Tiefschlafs eine entscheidende Rolle auf die positive Wirkung dieser Schlafphase für die deklarative Gedächtniskonsolidierung spielt. Denn die medikamentöse Steigerung der ACh-Aktivität verhindert den förderlichen Effekt des Tiefschlafs auf die Gedächtnisbildung. In einer Folgestudie führt eine Blockade der cholinergen Neurotransmission während des Wachzustands zu einer verbesserten Erinnerungsleistung in einem deklarativen Wortpaar-Assoziationstest (Rasch et al., 2006). Diese beiden Studien belegen, dass eine erniedrigte ACh-Aktivität nach dem Lernen, wie sie

natürlicherweise im Tiefschlaf vorkommt, positiv für die Speicherung von deklarativen Gedächtnismaterialien ist. Aufbauend auf diesen Ergebnissen soll in der hier vorliegenden Studie geprüft werden, ob eine Hemmung der cholinergen Aktivität während des REM-Schlafs, in dem normalerweise ein hoher ACh-Spiegel vorliegt, zu einer verbesserten Konsolidierung des deklarativen Gedächtnisses führt.

Im ersten Abschnitt meiner Arbeit werde ich zunächst die Grundlagen des Schlafs und der Schlafstadien beschreiben. Dann werde ich kurz auf die unterschiedlichen Gedächtnissysteme und Mechanismen der Gedächtnisbildung eingehen, sowie einige grundlegende Zusammenhänge von Schlaf und Gedächtnis bei Mensch und Tier vorstellen. Es folgt eine kurze Erläuterung der wichtigsten schlafbezogenen Hormone und Neurotransmitter. Dann werde ich genauer auf den Neurotransmitter Acetylcholin und seine Spiegelschwankungen in Abhängigkeit vom Schlaf-Wach-Rhythmus eingehen. Auf der Grundlage aktueller Studien über die Wirkungen von Acetylcholin auf die deklarative Gedächtnisbildung im Schlaf baut sich letztlich meine Fragestellung auf.

1.1 Schlaf

Der Schlaf versetzt uns in einen Zustand veränderter Bewusstseinslage und stellt durch den Verlust der bewussten Wahrnehmung sowohl eine Gefahr als auch Erholung für den Organismus dar. Es stellt sich die Frage, warum sich dieser Ruhezustand in der Evolution durchgesetzt hat, obwohl der Organismus in dieser Phase vollkommen wehrlos ist. Nicht zuletzt aus diesem Grund ist die Funktion des Schlafes bis heute von wissenschaftlichem Interesse. In vorangegangenen Studien wurden eine energiesparende, eine restaurative und

eine adaptive Funktion diskutiert (Nicolau et al., 2000; Horne, 1988; Berger und Philipps, 1995; Webb, 1988).

Im Schlaf ist die Muskeltätigkeit herabgesetzt (Koella, 1988), die Körpertemperatur sinkt (Gilberg und Akerstedt, 1982) und der Stoffwechsel läuft auf einem niedrigeren Niveau als im Wachzustand ab (Ryan et al. 1989). Das heißt, dass der Organismus insgesamt weniger Energie benötigt.

Spezielle restaurative Zellregenerationsprozesse des Gehirns (Horne, 1988), Wachstumsprozesse und das Wiederauffüllen der Energiereserven (Oswald, 1980) unterstützen die aktive Rolle des Schlafes.

Die essenzielle Bedeutung des Schlafes wird bewusst, wenn dem Körper über einen längeren Zeitraum Schlaf entzogen wird. Bei Tieren kommt es zu Verhaltensauffälligkeiten und Funktionsstörungen des Körpers, bis hin zum Tod. Der Mensch zeigt nach längerem Schlafentzug kognitive und emotionale Beeinträchtigungen wie Konzentrationsschwäche, Gereiztheit und Gedächtnisstörungen (Cipolli, 1995; Borbely, 1984).

Der Zusammenhang zwischen Schlaf und Gedächtnis mit dem Zusammenspiel elektrophysiologischer Prozesse und neurochemischer Veränderungen soll im Folgenden herausgearbeitet werden. Hierzu werden im folgenden Abschnitt zunächst die wesentlichen Grundlagen des Schlafs beschrieben.

1.1.1 Schlafstadien und die Polysomnographie

Lange Zeit stellte die Tatsache, dass jegliche Manipulation den Schlaf stört oder sogar unterbricht, ein unüberwindliches Problem in der Schlafforschung dar. Ein Durchbruch gelang erst Berger zwischen 1924-1929, als durch die Polysomnographie Beobachtungen gemacht werden konnten, ohne den Schlafenden zu stören. Verschiedene Schlafstadien wurden polysomnographisch erstmals 1953 von Aserinsky und Kleitman differenziert in REM und Non-REM Phasen. Heute werden nach Allen Rechtschaffen und Anthony Kales (1968) 5 Schlafphasen unterschieden, die durch differente Amplitudenausschläge mittels Polysomnographie charakterisiert werden. Das Polysomnographiegerät zeichnet synchron die elektrische Gehirnaktivität (Elektroenzephalogramm, EEG), die Muskelaktivität (Elektromyogramm, EMG) und die Augenbewegungen (Elektrookulogramm, EOG) auf. In ruhiger Wachheit bei geschlossenen Augen dominieren α -Wellen (8-13Hz). Stadium 1 ist ein leichter Schlaf, aus dem der Schlafende gut zu wecken ist. Langsam-Rollende Augenbewegungen, θ -Wellen (4-8 Hz) und sehr niedrige Schwellenwerte gehören zu Stadium 1 (Dauer wenige Minuten). Im Stadium 2 treten charakteristische Schlafspindeln (10-15 Hz) und K-Komplexe auf. Stadium 3 wird durch δ -Wellen (0,5-4 Hz) mit hoher Amplitude charakteristisch, die zum Stadium 4 häufiger und regelmäßiger werden („Delta-Schlaf“). Die Stadien 3 und 4 werden als Tiefschlaf oder „slow wave sleep“ (SWS) zusammengefasst. Diesen vier Non-REM (non-rapid-eye-movement)-Schlafphasen steht der REM (rapid-eye-movement)-Schlaf gegenüber. Charakteristisch für den REM-Schlaf sind eine niedrige Amplitude und schnelle Oszillationen im EEG, schnelle Augenbewegungen und ein erniedrigter Muskeltonus (Payne, 2004).

1.1.2 Schlaf im Verlauf der Nacht

Die zuvor beschriebenen Schlafstadien treten im Verlauf einer Nacht in 4-6 Zyklen aus Non-REM-Schlaf und REM-Schlaf von ca. 90-100 Minuten Dauer auf, wobei in der ersten Nachthälfte der SWS (slow wave sleep, Tiefschlaf) und in der zweiten Nachthälfte der REM-Schlaf überwiegt (Gais und Born, 2004a). Der typische Verlauf einer Nacht sowie die Hormonschwankungen von Kortisol und GH (growth hormon; Wachstumshormon) sind in Abbildung 1 dargestellt.

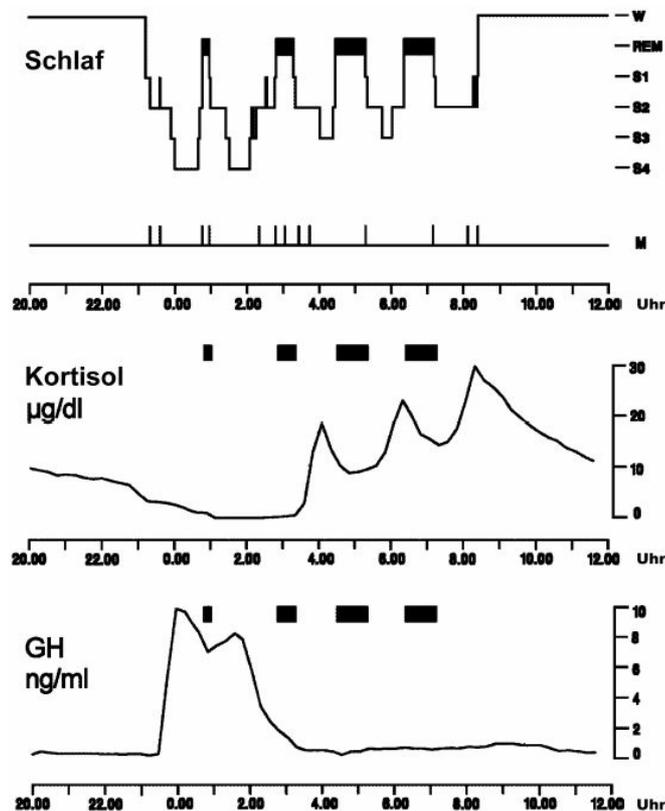


Abb.1: Verlauf von Schlaf, Kortisol und Wachstumshormon (GH) über die Nacht. Die schwarzen Balken repräsentieren die Perioden des REMs. Auffällig sind die gegenläufigen Kurven der Kortisol- und GH-Konzentrationen. W: Wachzustand, REM: rapid eye-movement sleep, S1-4: Schlafstadium 1-4, M: Bewegungsartefakte (movement time) (Darstellung aus Born und Fehm, 1998)

Die neuroendokrine Aktivität des Gehirns unterscheidet sich während des Schlafes sehr vom Wachzustand. Auch die wechselnden Schlafphasen korrelieren mit Hormonschwän-

kungen. Die Hormonsekretion wird vor allem bei Cortisol, ACTH (Adrenokortikotropes Hormon) und dem Wachstumshormon GH (growth hormon) durch die Hypothalamus-Hypophysen-Nebennierenachse und die somatotrope Achse gesteuert. Die Sekretion ist starken zirkadianen und zustandsabhängigen Schwankungen unterworfen. Das GH wird vermehrt beim SWS ausgeschüttet, obgleich die Hypothalamus-Hypophysen-Nebennierenachse unterdrückt wird (Born et al., 1988; Bierwolf et al., 1997). Im Gegensatz dazu erreicht die ACTH- und Kortisolachse ihr Minimum in der ersten Nachthälfte und steigt in der zweiten Nachthälfte. Die höchsten Werte werden in den frühen Morgenstunden erreicht (Golenhofer, 1997).

1.2 Gedächtnisklassifikation

1.2.1 Deklaratives und Non-deklaratives Gedächtnis

Das Langzeitgedächtnis lässt sich in deklarative und non-deklarative Gedächtnisinhalte unterteilen (Squire 1992), ausgehend vom Grad der Hippokampusabhängigkeit. Gedächtnisaufgaben, die von Patienten mit geschädigtem Hippokampus nicht gelöst werden, sind Hippokampus-abhängig und gelten als deklarativ. Gedächtnisaufgaben, die Probanden ohne intakten Hippokampus lösen können, werden als non-deklarativ bezeichnet (Cohen und Squire, 1980; Squire, 1992; Zola-Morgan und Squire, 1993).

Das deklarative Gedächtnis umfasst das Einprägen und Abrufen von Episoden, Namen und Fakten (z.B. das Erlernen von Wortpaaren). Man unterteilt das deklarative Gedächtnis zusätzlich in ein episodisches und semantisches Gedächtnis, wobei das episodische Gedächtnis viele Ereignisse und Erinnerungen beinhaltet, die an eine Zeit und einen Ort geknüpft

sind, während das semantische Gedächtnis von Zeit und Ort unabhängig, allgemeine Tatsachen und Zusammenhänge enthält (Wilhite und Payne, 1992). Menschen, deren Hippokampi operativ entfernt oder zerstört wurden, ist es nicht möglich neue Erinnerungen zu formen. Sie weisen eine anterograde Amnesie (Gedächtnisverlust für den Zeitraum nach Eintreten eines schädigenden Ereignisses) auf. Vor dem Ereignis erlebte Erinnerungen bleiben jedoch meist erhalten (Squire, 1998), da der Hippokampus vor allem für das Lernen von neuen Informationen essentiell ist und die bis dato erlebten Informationen vom Hippokampus zum Neokortex transferiert und in neokortikalen Bereichen gespeichert werden.

Das non-deklarative Gedächtnis zeichnet sich durch Speicherung von Fertigkeiten und Gewohnheiten mit motorischen und sensorischen Informationen (z.B. Klavier spielen, Fahrrad fahren) aus. Diesen Prozess nennt man Priming (Karni et al., 1994; Smith, 1995; Plihal und Born, 1997; Fischer et al., 2002). Auch die klassische Konditionierung (assoziatives Lernen), Habituation (Abnahme der Reaktionsstärke) und Sensitivierung (Zunahme der Stärke einer Reaktion bei wiederholter Darbietung desselben Reizes) fallen unter den Begriff des non-deklarativen Gedächtnisses (Gais et al., 2004a). Diese Gedächtnisform wird abhängig vom Aufgabentyp mit dem visuellen Kortex (Schwartz et al., 2002), oder mit dem motorischen Kortex (Ungerleider et al., 2002) in Verbindung gebracht. Das prozedurale Gedächtnis umfasst motorische und kognitive Fertigkeiten, wie visuelle Objektidentifizierung und akustische Erkennung (Birbaumer, 1999), die unbewusst erlernt und angewendet werden.

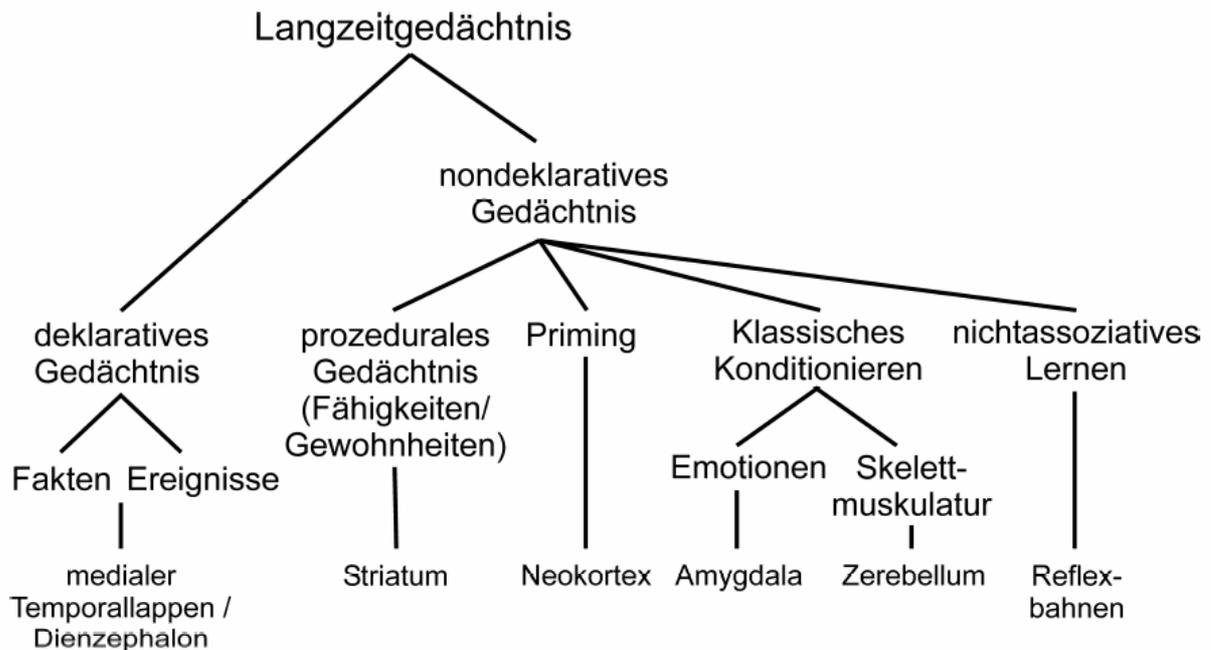


Abb.2: Einteilungen der Gedächtnisarten des Langzeitgedächtnisses. Das deklarative Gedächtnis funktioniert einheitlich. Das „non-deklarative Gedächtnis“ funktioniert nach unterschiedlichen Systemen und es ist keine Homogenität zu erkennen. (nach Squire, 1998)

1.2.2 Gedächtnisstadien

Der Gedächtnisprozess setzt sich aus 3 Stadien zusammen, aus Enkodierung (Aufnahme der Informationen und Verarbeitung zur Einspeisung in das Gedächtnis), Konsolidierung (Reaktivierung, Analyse und wiederholte Verarbeitung zur Überführung in das Langzeitgedächtnis) (nach Sutherland und McNaughton, 2000; McGaugh, 2000; Gais, 2004a) und Abruf von Informationen. Information ist in diesem Zusammenhang definiert als ein umfassender Begriff für Erfahrung, Reaktionsweisen, Zusammenhänge und Fakten.

Die Enkodierung bedeutet das Aufnehmen von Informationen und wird von Aufmerksamkeit, Wiederholung, Bekanntheit und Verarbeitungstiefe der Lernaufgaben beeinflusst (Craik und Lockhart, 1972).

Die Konsolidierungsphase kann in eine zelluläre und eine systemische Konsolidierung unterteilt werden. Für die zelluläre Konsolidierung kann die „Dual trace theory of memory“ nach Hebb (1949) herangezogen werden.

In dieser Theorie beschreibt Hebb, dass durch Wachstum und metabolische Prozesse die Verbindung zweier Neuronen verändert wird und ein gemeinsames Feuern beider Neuronen dadurch verstärkt wird.

Allgemein werden synaptische Verschaltungen im Gehirn verstärkt, wenn sie wiederholt aktiviert werden, und abgeschwächt, wenn sie über längere Zeit inaktiv bleiben (Bliss und Collingridge, 1993). Von Bliss und Lomo wurde 1973 das Modell der Langzeitpotenzierung (long-term potentiation, LTP) entwickelt. Das zur Zeit geltende „Standardmodell“ nach Malenka und Nicoll (1999) wird im Folgenden näher beschrieben.

Die Induktion von LTP löst ein Aktionspotenzial durch präsynaptische Glutamatfreisetzung aus. Der Transmitter bindet zuerst an glutaminerge AMPA-Rezeptoren, was zu einem Natriumeinstrom und damit zu einer Depolarisation der postsynaptischen Zellmembran führt. Diese Depolarisation entfernt den Magnesiumblock der NMDA-Rezeptoren. Kommt es zu einer erneuten Ausschüttung von Glutamat aus der Präsynapse, strömt Ca^{2+} in das postsynaptische Neuron ein und löst eine Kaskade intrazellulärer Prozesse aus, die in der Folge zu Ausbildung von Langzeitveränderungen der Erregbarkeit der Synapse führen. Durch die erneute präsynaptische Glutamatfreisetzung für die Depolarisierung der Zellmembran hat die Induktion von LTP die notwendigen Eigenschaften der Hebb- Synapse.

Die Ausbildung von LTP wird durch verschiedene Faktoren moduliert. Stress und die Glukokortikoide scheinen ein solcher Einfluss zu sein (Garcia, 2001).“(Gais et al, 2004)

Ein Erklärungsmodell der systemischen Konsolidierung ist das Zweiphasenmodell (nach McClelland et al., 1995) für das deklarative Gedächtnis. Bei diesem werden neue Informationen in das hippokampale und das neokortikale System aufgenommen. Auf den Hippo-

kampus können die Informationen auf Grund seiner höheren Plastizität wesentlich stärker wirken als auf den Neokortex. Nach McClellands Modell arbeitet der Hippokampus als schnelles System, welches auch einmalig präsentiertes Material speichern kann. Der Neokortex hingegen fungiert als langsames System, welches Informationen erst nach mehrmaliger Präsentation aufnimmt. Der Hippokampus transferiert Informationen in den Neokortex, andere Informationen zerfallen oder gehen verloren. Dabei ermöglicht das Gehirn, dass Informationen in funktionellen Zusammenhängen und an vielen Orten parallel gespeichert werden (Mc Clelland et al., 1995).

Für das non-deklarative Gedächtnis liegen noch keine speziellen Modelle vor. Eine Schlafabhängige Verbesserung des prozeduralen Gedächtnisses konnten Fischer et al. (2006) mit einer Aktivierung der linken parietalen Kortexregion in Verbindung bringen. Walker et al. (2005) wiesen außerdem nach, dass nach dem Erlernen prozeduraler Gedächtnisaufgaben nicht nur die linke parietale Kortexregion vermehrt aktiv war, sondern gleichzeitig auch Hirnareale des präfrontalen, prämotorischen und primär motorischen Kortex in ihrer Aktivität heruntergeregelt wurden. Diese Ergebnisse machten erstmals eine Zuordnung des non-deklarativen Gedächtnisses zu spezifischen Hirnarealen möglich.

Der Abruf der Informationen, die Kodierung, findet abhängig von der Art des gelernten Materials vorwiegend in Neostriatum, visuellem motorischen und primär motorischen Kortex oder subkortikalen Bereichen (Basalganglien, Kleinhirn, Amygdala) statt (Squire und Zola-Morgan, 1991).

1.3 Schlaf und Gedächtnis

In zahlreichen Studien ist der Schlaf als ein Zustand definiert worden, der besondere Bedeutung für den Prozess der Gedächtnisbildung hat (Stickgold, 2005; Heine, 1914; Jenkins und Dallenbach, 1924; Van Ormer, 1932; Dujardin et al., 1990; Cipolli, 1995). Die Experimente wurden mit unterschiedlich langen Retentionsintervallen und Lernmaterialien differenziert und konnten einen positiven Einfluss des Schlafes auf die Gedächtnisbildung bestätigen. Der Einfluss des Schlafes auf die Konsolidierung von Gedächtnisinhalten ist Gegenstand aktueller Forschungstätigkeit. Schon 1924 wurde gezeigt, dass der Lerneffekt beim Lernen einer Wortpaarliste (PAL \approx pair associated learning, Wortpaarassoziations-test) vom Retentionsintervall zwischen Üben und Wiederholen der Aufgabe abhing. Versuchspersonen, die im Retentionsintervall für 8 Stunden schliefen, zeigten bessere Leistungen als Versuchspersonen, die wach blieben (Jenkins und Dallenbach, 1924).

Der SWS zeigte einen deutlich positiven Einfluss auf das PAL-Experiment und damit auf das deklarative Gedächtnis (Plihal und Born 1997, 1999a). Dies zeigte erstmals, dass die deklarative Gedächtniskonsolidierung nicht vom REM-reichen Schlaf profitiert. Allerdings wurde eine positive Beeinflussung des prozeduralen Gedächtnisses durch REM-reichen Schlaf gefunden (Karni et al., 1994). Hier wurden Versuchsaufbauten des Spiegelzeichnens und der Priming Prozesse verwendet (Plihal und Born, 1997; Fischer et al., 2002). Hierbei blieb das deklarative Gedächtnis unbeeinflusst (Smith, 1995).

Zur Untersuchung des REM-Schlafs auf Gedächtnisprozesse wurde in einigen Experimenten eine selektive REM-Schlaf-Deprivation eingesetzt (Tilley und Empson, 1978; Karni et al., 1994). Das Wecken während des REM-Schlafs führte bei den Versuchspersonen zu Stress und kognitiven Defiziten (Cipolli, 1995), sowie negativen Ergebnissen bei den Gedächtnisaufgaben. Die selektive REM-Schlaf-Deprivation wurde kritisch gesehen (Born

und Gais, 2001) und deshalb wurde eine andere Methode zur Untersuchung der verschiedenen Schlafphasen herangezogen (Barrett und Ekstrand, 1972). Die erste Nachthälfte wird von Tiefschlaf (SWS) dominiert und die zweite Nachthälfte von REM-reichem Schlaf; durch einfache Teilung in zwei Nachthälften lassen sie sich getrennt betrachten und ein Schlafentzug wird umgangen.

Die Studie von Plihal und Born (1997) war die Grundlage für die vorliegende Arbeit zur differenzierten Erforschung des Einflusses vom „Frühen“ und „Späten“ Nachtschlaf auf verschiedene Gedächtnisformen und soll deswegen näher beschrieben werden. Verglichen wurde mit einer Wachkontrollgruppe.

Zur Untersuchung des deklarativen Gedächtnisses wurde das Wortpaarlernen (PAL) und für das prozedurale Gedächtnis das Spiegelzeichnen verwendet, bei dem die Probanden eine nur im Spiegel sichtbare Linie einer Testfigur mit einem elektrischen Stift nachzeichneten. Die Gesamtschlafzeit der ersten und zweiten Nachthälfte (NH) war identisch, jeweils ca. 3 Stunden. Alle Probanden wurden aus dem Non-REM-Schlaf geweckt. Die erste NH zeigte fünffach verlängerten SWS und nur 35% REM-Schlaf. Die zweite NH zeigte doppelt so viel REM-Schlaf.

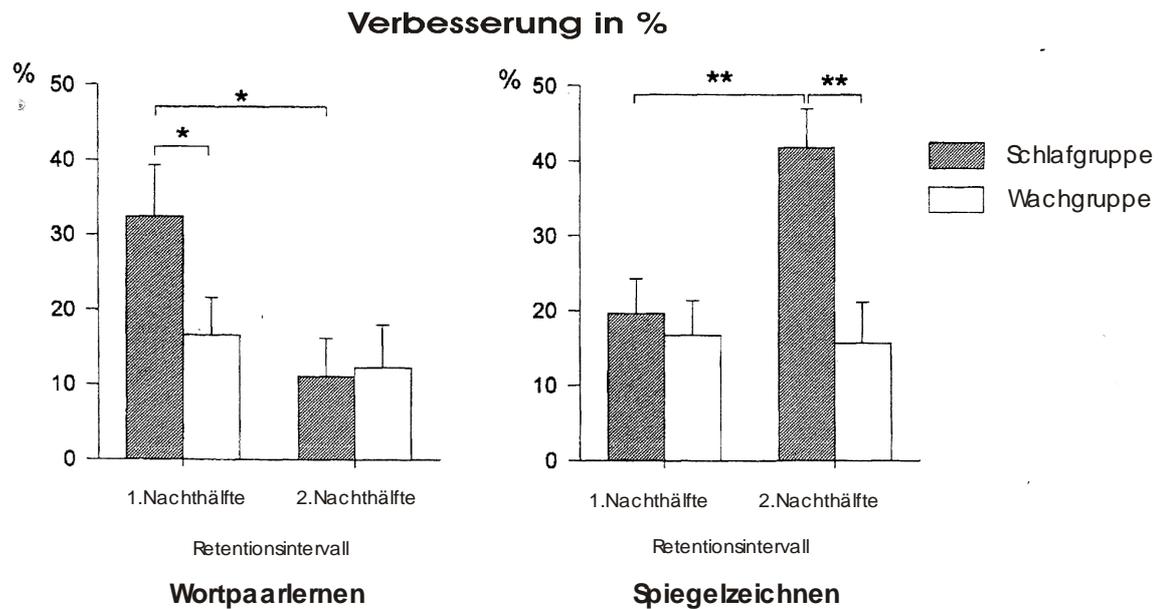


Abb.3: Prozentualer Verbesserung der Schlafgruppe im Vergleich zur Wachkontrollgruppe von der ersten zur zweiten Nachthälfte beim Wortpaarlernen und Spiegelzeichen Experiment (aus Plihal und Born, 1997)

Ergebnis war, dass eine bei der Reproduktionsabfrage für das Wortpaarlernen eine entscheidende Verbesserung nach der ersten NH im Vergleich zur zweiten NH bestand. Die absolute Anzahl der erinnerten Wortpaare nach einem frühen Schlaf war signifikant höher als nach einem späten Schlaf. In der wachen Kontrollgruppe unterschieden sich die Abfrageergebnisse der frühen Wachmessung von der späten nicht. Im direkten Vergleich zwischen der Schlafgruppe und Wachkontrollgruppe zeigt sich bei der Abfrage nach dem frühen Schlaf eine deutliche Verbesserung.

Die prozedurale Gedächtnisaufgabe (Exp. Spiegelzeichen) zeigte durch den Schlaf eine verbesserte Gedächtnisleistung. Während Fehlerzeit und Zahl beim Spiegelzeichnen in der ersten und zweiten NH vergleichbar waren, fiel ein extremer Unterschied bei der Zeichenzeit auf. Bei der Abfrage nach der 2. NH waren die Probanden mehr als doppelt so schnell. Bei der wachen Kontrollgruppe unterschied sich die Probandenleistung während des frü-

hen und späteren Intervalls nicht. Die absolute Zeichenzeit war nach der 2. Nachthälfte bei den Probanden der Schlafgruppe entscheidend kürzer als in der vergleichbaren Wachkontrollgruppe.

Durch diese Studie zeigt sich deutlich der positive Einfluss des Schlafs auf das Gedächtnis. Wie bereits erwähnt, überwiegt in der ersten Nachthälfte der Tiefschlaf (SWS). Die Studienergebnisse bestätigen die Annahme, dass der SWS entscheidend für die Hippokampusabhängige deklarative Gedächtniskonsolidierung ist, repräsentiert durch das Experiment des Wortpaarlernens (Peigneux et al., 2004; Marshall, Molle, Hallschmid und Born, 2004; Molle, Marshall, Gais und Born, 2004; Gais und Born, 2004a; Lee und Wilson, 2002; Plihal und Born, 1997; Yarouth et al., 1971; Fowler et al., 1973).

Ein direkter Zusammenhang zwischen dem REM-reichen Schlaf der 2. Nachthälfte und der prozeduralen Gedächtnisbildung demonstriert das Ergebnis des Spiegelzeichnens. Dies wurde durch weitere Studien bestätigt (Karni et al., 1994, Plihal und Born, 1999a; Fischer et al., 2002). Abweichende Studien propagierten einen Zusammenhang zwischen dem Anteil des Stadiums 2 und einer verbesserten prozeduralen Gedächtniskonsolidierung (Smith und MacNeill, 1994; Walker et al., 2002). Kritisch anzumerken ist, dass hier speziell das letzte Schlafviertel betrachtet wurde und vermehrten Schlafspindeln im EEG ein positiver Einfluss zugeschrieben wird.

Nachdem grundlegende Kenntnisse über den Zusammenhang zwischen unterschiedlichen Schlafphasen und Gedächtnis vermittelt wurden, wird im folgenden Abschnitt der Einfluss von Hormonen auf die Gedächtniskonsolidierung erläutert.

1.4 Gedächtnis, Schlaf und Hormone

Nach aktuellem Kenntnisstand beeinflussen sich Schlaf und Gedächtnis gegenseitig. In aktuellen Studien wird untersucht, in wieweit neuroendokrine Hormone auf beide Systeme wirken. Die Hormonkonzentrationen verändern sich im Verlauf der Nacht und nach dem Lernen einer Gedächtnisaufgabe. Für das vorliegende Experiment müssen die Einflüsse der im folgenden Abschnitt dargestellten Hormone berücksichtigt werden.

Kortisol beeinflusst viele Systeme des Gehirns, die im Zusammenhang mit Gedächtnisbildung stehen (Payne, 2004). Im Verlauf der Nacht steigt Kortisol in der Mitte der Schlafperiode langsam an und entwickelt nach kurzen Schüben im REM-Schlaf, höchste Kortisolspitzen in den frühen Morgenstunden (Van Cauter et al., 1996, 2000; Weitzmann et al., 1971). Im Elektroenzephalogramm (EEG) konnte ein zeitlicher Zusammenhang zwischen vermehrter SWS-Aktivität (entspricht einem tiefem Schlaf) und einer verminderten Kortisolsekretion nachgewiesen werden (Gronfier et al., 1998). Diese Ergebnisse bestätigen, dass Alternationen zwischen REM und Non-REM-Schlaf mit Änderungen in der Kortisolsekretion assoziiert sind (Born et al., 1986). Durch experimentelles Anheben des Kortisolspiegels in der ersten Nachthälfte wurde eine Störung der Gedächtniskonsolidierung nachgewiesen (Plihal und Born, 1999b) und durch Suppression des Kortisolspiegels im REM-Schlaf der Umkehreffekt (Wagner et al., 2004).

Weiteren Einfluss auf die Gedächtniskonsolidierung hat das Wachstumshormon (GH). Beispielsweise wurde in Tierexperimenten an Ratten ein positiver Einfluss auf das Langzeitgedächtnis durch das Wachstumshormon erzielt (Azcoitia et al., 2005; Schneider-Rivas et al., 1995). Diese Ergebnisse konnten beim Menschen nicht bestätigt werden. Hier konnte durch eine GH-Senkung im Tiefschlaf mittels Somatostatin kein Unterschied zu Placebo erzielt werden (Gais et al., 2006).

1.5 Gedächtnis, Schlaf und Neurotransmitter

Neben der endokrinen Beeinflussung des Schlafs und Gedächtnisses findet eine Regulation der Schlafstadien über die Neurotransmitter Noradrenalin (NE), Serotonin (5-HT) und Acetylcholin(ACh) statt. Der Zusammenhang wurde 1975 von McCarley und Hobson in ihrem reziproken Interaktionsmodell erläutert (McCarley und Hobson, 1975; Hobson et al., 1975) und durch verschiedene andere Studien überarbeitet (Hobson et al., 2000; Pace-Schott und Hobson, 2002). Man vermutet eine zentrale Regulierung der Schlaf- Wachstadien durch Ausschüttung von Transmittern im gesamten Kortex. Durch gegenseitige Hemmung von den Kerngebieten (hauptsächlich der serotonerge Nucleus raphe, der noradrenerge Locus coeruleus und die cholinergen Zellen des mesopontinen Tegmentums) kommt es abwechselnd zu einer aminergen oder überwiegend cholinergen Aktivität und darüber zum zyklischen Wechsel der Schlafstadien (Gais, 2005). Das führt zu hoher aminergener Aktivität im SWS und hoher cholinergener Aktivität im REM-Schlaf. Im Wachzustand liegt sowohl eine hohe aminerge als auch eine hohe cholinerge Aktivität vor (siehe Abbildung 4).

Wach SWS REM

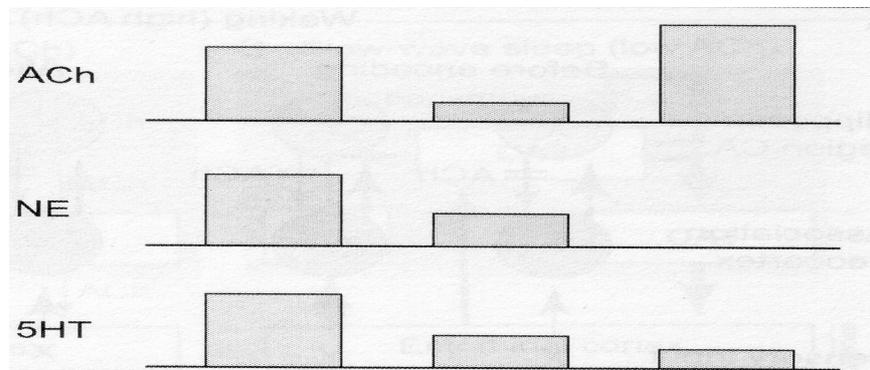


Abb.4: Schematische Darstellung der Neurotransmitter in den einzelnen Schlafstadien. NE und 5-HT weisen im Schlaf deutlich niedrigere Niveaus als im Wachzustand auf. ACh zeigt dagegen lediglich im SWS verminderte Aktivität, im REM-Schlaf ist die Aktivität dem Wachzustand vergleichbar. ACh: Acetylcholin, NE: Noradrenalin, 5HT: Serotonin (nach Hasselmo, 1999).

Sowohl die Sekretion als auch die Aktivität von Hormonen und Neurotransmittern zeigt charakteristische Schwankungen, die mit dem Wachzustand, SWS und REM-Schlaf korrelieren. In den vergangenen Jahren zeigten mehrere Studien einen deutlich modulierenden Einfluss von Hormonen und Neurotransmittern auf die Gedächtniskonsolidierung im Schlaf und die Schlafarchitektur (Kapitel 1.4).

Die Neurotransmitter Noradrenalin (NE) und Acetylcholin tragen zur Enkodierung und Konsolidierung von neu erlernten Gedächtnisinhalten bei (Kobayashi und Yasoshima, 2001; Sara et al., 1994; Hasselmo und Bower, 1993). Vermittelt über die basolaterale Amygdala modulieren sie einerseits die Gedächtnisfunktion anderer Hirnregionen, wie z.B. des Hippokampus. Andererseits wirken NA und ACh unspezifisch auf Erregungsniveau und Aufmerksamkeit und spezifisch über eine Erleichterung von plastischen Vorgängen, u.a. an hippokampalen NMDA-Synapsen (McGaugh und Roozendaal, 2002; Gu, 2002; Harley, 1991). Nach Southwick et al. (2002) hängt der Lernerfolg bei emotionalen Ereignissen

nissen direkt von der NoradrenalinKonzentration ab, unabhängig davon ob diese artifiziell erzielt wurde oder durch das emotional beeinträchtigende Ereignis.

Allgemeine Wirkungen von ACh als Neurotransmitter, wie z.B. die Erregungsübertragung an der neuromuskulären Endplatte sind bekannt, die Wirkung manipulativer ACh-Unterdrückung im Schlaf und im Wachzustand sollen hier als Hintergrund für die durchgeführten Untersuchungen beschrieben werden.

1.6 Gedächtnis, Schlaf und ACh

Der exzitatorische Neurotransmitter Acetylcholin (ACh) ist an den Prozessen des Hippokampus-abhängigen deklarativen Gedächtnisses beteiligt und stellt ein großes neuropharmakologisches Potenzial für die Behandlung von Demenzerkrankungen dar, wie bei der Alzheimererkrankung (Scarpini, Scheltens und Feldman, 2003). Ganz allgemein hat eine erhöhte ACh-Aktivität vor dem Lernen einen positiven Einfluss auf das Gedächtnis. Dagegen scheint die Gedächtniskonsolidierung nach dem Lernen von einer niedrigen ACh-Aktivität zu profitieren (siehe Abbildung 5). Im Tiefschlaf ist der ACh-Spiegel im Hippokampus physiologischerweise erniedrigt. Dies ist auch die Schlafphase, in der auch der größte Teil der deklarativen Gedächtniskonsolidierung abläuft (Hasselmo, 1999).

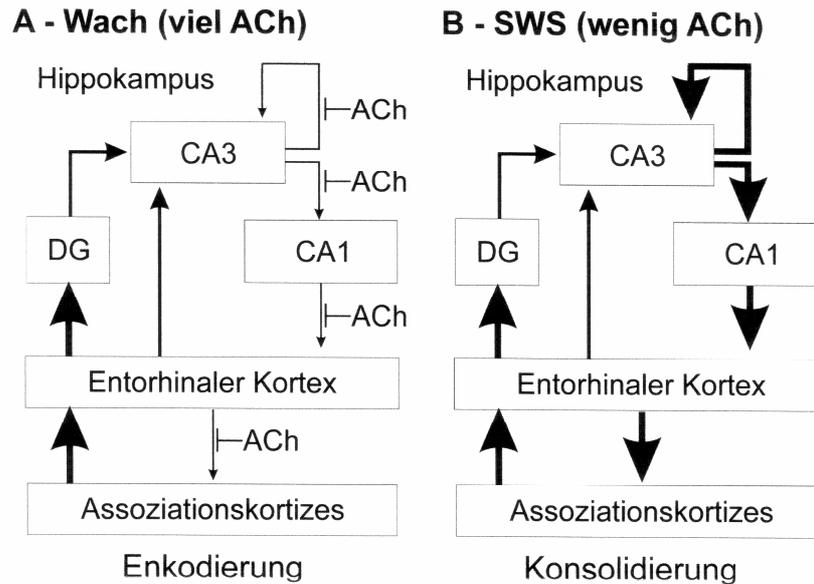


Abb.5: Die Wirkung von ACh auf hippocampale Feedback-Synapsen. A. Während des Wachzustandes sorgen die hohen ACh-Spiegel für eine Hemmung der intrahippokampalen und hippocamponeokortikalen Feedback-Synapsen. B. Im SWS fällt diese Hemmung auf Grund der niedrigen ACh-Spiegel weg. Es kann zu einem Replay gelernter Muster und zum Informationstransfer in den Neokortex kommen.(Hasselmo, 1999)

Ein spezifisches Modell von Hasselmo (1999) besagt, dass das zentralnervöse cholinerge Transmitterniveau die Richtung des Informationstrfers zwischen Hippokampus und Neokortex bestimmt und somit zwischen Einspeicherung neuer Informationen und Konsolidierung umschaltet. Acetylcholin kann Feedback-Synapsen innerhalb des Hippokampus, sowie Synapsen hippocampaler Neurone im Kortex hemmen (Hasselmo und Bower, 1993). Daraus ergibt sich, dass ein hoher ACh-Spiegel zu einer Hemmung des intrahippokampalen Replays und des hippocampo-neokortikalen Informationstrfers führt. Ein niedriger ACh-Spiegel (der im SWS auftritt) bewirkt eine Entthemmung der Feedback-Synapsen und erlaubt Replay und Informationstrfer vom Hippokampus zu kortikalen Arealen (Gais, 2004).

Dieses Modell der Schlaf-Gedächtniskonsolidierung wurde in einer Studie von Gais (2004) auf den Menschen übertragen, um in einem ähnlichen Studiendesign die Abhängigkeit der Konsolidierung von ACh im Schlaf zu überprüfen. Das Studiendesign war folgendes:

Die Probanden lernten Wortpaare und führten das Spiegelzeichnenexperiment am Abend zuvor durch. Nach einem 3h Schlafintervall oder Wachintervall in denen Physostigmin oder Placeboinfusion verabreicht wurden, erfolgte die Abfrage. Wie vermutet, führte die Erhöhung der ACh-Aktivität im Tiefschlaf durch Gabe von Physostigmin zu einem hemmenden Einfluss auf die deklarative Gedächtniskonsolidierung (Exp.: Wortpaarlernen) (Gais und Born, 2004). Nach dem Schlaf der ersten NH verbesserte sich die Gedächtnisleistung nach Placebogabe deutlich (siehe Abb.6), während sich die Probanden nach Physostigmingabe kaum verbesserten. Beim Spiegelzeichnenexperiment unterschieden sich die Lerngeschwindigkeit und die Verbesserung durch den Schlaf im Vergleich zu den beiden Ausgangsbedingungen nicht.

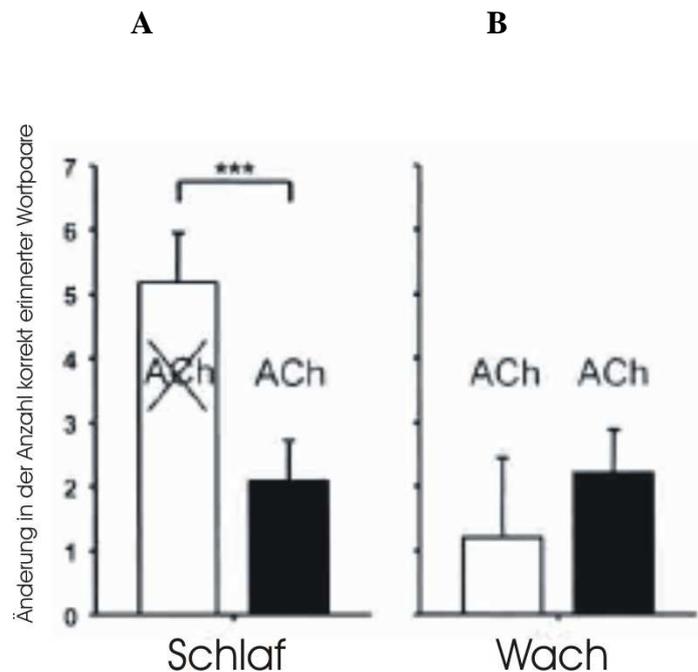


Abb.6: Gedächtnisleistung nach Placebo- und Physostigmingabe im Schlaf- und im Wachzustand. Die Gedächtniskonsolidierung wird hier als Veränderung der Leistung zwischen Lernen und Abrufsitzung dargestellt (A,B). Wie erwartet, erinnerten sich die Probanden unter Placebogabe (weiße Säulen) nach dem Lernen der ersten Nachthälfte an deutlich mehr Wortpaare als nach der Wachbedingung ($p < 0,001$). Die Gabe von Physostigmin (schwarze Säule) verhinderte diese schlafabhängige Gedächtniskonsolidierung vollständig ($p < 0,001$). Im Wachzustand hatte Physostigmin keine Wirkung auf die Gedächtniskonsolidierung ($p > 0,40$) (aus Gais, 2004).

Ein niedriger cholinerges Tonus während der Tiefschlafphase ist für die Wiedergabe von neuen Erinnerungen im Hippokampus und Langzeitspeicherung im Neokortikalen Netzwerk wichtig (Gais and Born, 2004), da durch Physostigmin die ACh-Aktivität erhöht wurde und sich darauf das Wortpaarlernen um $12,2 \pm 2,8$ % verschlechterte.

Auf das non-deklarative Gedächtnis scheint ein niedriger ACh-Tonus keinen Effekt zu haben (Experiment des Spiegelzeichnen).

Die beschriebene Studie konnte zeigen, dass eine erniedrigte ACh-Aktivität für die Konsolidierung förderlich ist, da eine erhöhte Aktivität die deklarative Gedächtniskonsolidierung negativ beeinflusst. In der im Folgenden beschriebenen Studie von Rasch et al. (2006) wird

die cholinerge Aktivität im Wachzustand gesenkt. Dazu wird das normalerweise hohe Neurotransmitterlevel von ACh, 30 Min nach einem morgendlichen Lernintervall, gesenkt. Die Probanden erhalten den muskarinergen Antagonisten Scopolamin in der Dosierung von 4 µg/kg KG und den nikotinergen Antagonisten Mecamylamin durch 5 mg oral in Tablettenform. Im Vergleich mit Placebo zeigte die kombinierte muskarinerge und nikotinerge Blockade eine (= niedrige ACh-Aktivität) signifikante Verbesserung der deklarativen Gedächtniskonsolidierung zehn Stunden später. Die Ergebnisse des Wortpaarlernens zeigten, dass die Probanden mit der Medikamentengabe bei der Abfrage im Vergleich zu den Probanden der Placebogabe bessere Leistungen erreichten. Verabreichte man dagegen die beiden Pharmaka separat, zeigte sich weder ein Einfluss auf die deklarative Gedächtniskonsolidierung, noch auf die Konsolidierung des prozeduralen Gedächtnisses. Das ergänzende Experiment bestätigte die Ergebnisse, da mit identischer Substanzdosierung in einer Doppelblind-Studie im Cross-Over Design durch separate Blockade entweder der nikotinergen oder der muskarinergen Rezeptoren alleine keine Wirkung erzielten. Die dargestellte Studie legt die Vermutung nahe, dass ACh als eine Art Schalter fungiert, um von der Lernphase zur Konsolidierungsphase zu wechseln (Rasch et al., 2006).

Es wird vermutet, dass der Wechsel von erhöhter cholinergischer Aktivität während des Wachzustandes zu erniedrigter Aktivität während des SWS, im Zentralnervensystem die deklarative Gedächtniskonsolidierung -während einer Phase ohne Gedächtniskodierung- optimiert.

Die direkten Vorläuferstudien der vorliegenden Arbeit (Rasch et al., 2006; Gais et al., 2004) ließen eine positive Wirkung einer niedrigen ACh-Aktivität auf die deklarative Gedächtnisbildung, im Tiefschlaf vermuten. Ein ähnlich positiver Effekt konnten Rasch et al. (2006) durch eine medikamenteninduzierte cholinerge Rezeptorblockade im Wachzustand erreichen.

Allerdings ist die Interpretation der positiven Wirkung der cholinergen Blockade im Wachzustand auf das Gedächtnis in der Studie von Rasch et al. (2006) problematisch. Wie beschrieben, verminderte die Blockade von cholinergen Rezeptoren in dieser Studie (Rasch, 2006) das Erlernen von neuen Informationen. Es könnte sein, dass alleine durch die Medikamentenwirkung eine verringerte Aufnahme von neuen Informationen (= verminderte Interferenz) nach der Lernphase, die positive Wirkung auf die Gedächtnisbildung begünstigte. Es ist bekannt, dass verringerte Interferenz nach dem Lernen die Gedächtniskonsolidierung fördert (Wixted, 2004).

In der vorliegenden Arbeit soll nun versucht werden, die Wirkung einer cholinergen Blockade nach dem Lernen auf die Gedächtnisbildung unabhängig von dem Faktor Interferenz zu untersuchen. Um das Maß an Interferenz trotz cholinergischer Blockade konstant zu halten, soll die cholinerge Blockade während des Schlafs erfolgen, allerdings in einer Phase, die normalerweise nicht förderlich auf die deklarative Gedächtnisbildung wirkt und durch einen höheren ACh-Level geprägt ist. Dies entspricht der zweiten Nachthälfte.

1.7 Fragestellung und Hypothese

Die der Studie zu Grunde liegende Annahme besagt, dass eine niedrige Aktivität des zentralnervösen Neurotransmitters Acetylcholin im Tiefschlaf nach der Lernphase für die deklarative Gedächtniskonsolidierung förderlich ist. Im REM- Schlaf ist die ACh-Aktivität erhöht, ohne positiven Einfluss auf die deklarative Gedächtnisbildung. In unserem Versuchsdesign wird durch eine cholinerge Rezeptorblockade in der REM-Schlaf-reichen zweiten Nachthälfte eine ähnlich niedrige ACh-Aktivität wie im SWS erreicht, mit dem Ziel, die deklarative Gedächtniskonsolidierung auch in der REM-Schlaf-reichen zweiten Nachthälfte zu verbessern. Non-deklarative Gedächtnisinhalte sollten dagegen keinen positiven Gedächtniseffekt durch die experimentelle Manipulation zeigen. Da per definitionem im Schlaf keine (externe) Interferenz auftritt, können die erwarteten Effekte der cholinerge Blockade auf das Gedächtnis nicht durch eine verminderte Interferenz erklärt werden.

2. Material und Methoden

2.1 Probandenkollektiv

Als Probandenkollektiv nahmen insgesamt 12 männliche Probanden teil. Ein Proband musste ausgeschlossen werden, da er nicht geschlafen hatte. Einschlusskriterien für die Teilnahme an der Studie waren: ein männliches Geschlecht, ein Alter zwischen 20 und 26 Jahren (Mittelwert: 22,91 Jahre), um altersbedingte Gedächtnis- und Schlafveränderungen auszuschließen und ein normaler Body Mass Index (BMI) (Mittelwert 23,73 kg/m²).

Ausschlusskriterien waren bekannte psychiatrische, neurologische, kardiovaskuläre, pulmonale, endokrinologische oder gastroenterologische Erkrankungen, des weiteren Schlafstörungen in der Anamnese, Drogenabusus, Rauchen und psychiatrische Erkrankungen bei Verwandten ersten Grades sowie regelmäßige Medikamenteneinnahme. In den letzten 8 Wochen vorher durfte nicht an Blutspenden, Schichtdienst oder anderen Versuchen teilgenommen werden. Auch Probanden, die schon einmal an Studien mit gleichen oder ähnlichen Gedächtnistests teilgenommen hatten, wurden ausgeschlossen. Alle Probanden waren normalsichtig oder korrigiert normalsichtig und erlernten Deutsch als Muttersprache.

Das Studienprotokoll wurde von der Ethikkommission der Universität zu Lübeck genehmigt (Aktenzeichen: 03-053 Sitzung am 27.05.2003; akzeptiert am 25.11.2003). Alle Probanden erteilten nach Aufklärung über die Risiken und Nebenwirkungen vor ihrer Teilnahme ihr schriftliches Einverständnis.

Die Versuchsteilnehmer wurden allgemeinmedizinisch untersucht, um akute und chronische Erkrankungen auszuschließen (kardiovaskuläre, endokrine, metabolische und andere Störungen). Dies beinhaltete eine ausführliche Anamnese, eine körperliche Untersuchung und eine EKG-Diagnostik.

An den Versuchstagen wurden die Probanden angewiesen zur normalen Zeit aufzustehen, keinen Mittagsschlaf zu halten und den ganzen Tag keine alkoholischen- oder koffeinhaltigen Getränke zu sich nehmen.

2.2 Versuchsdesign und experimenteller Ablauf

Das Experiment wurde als placebokontrollierte, randomisierte, Doppelblind-Studie mit Cross-Over Design durchgeführt. Jeder Proband nahm an zwei Versuchsnächten mit mindestens zweiwöchigem Abstand teil, um Gewöhnungseffekte zu minimieren, das Medikament abzubauen und eine Ischämie zu verhindern.

Der Schlaf in der ersten Nacht wird durch die ungewohnte Umgebung und die Elektroden zur polysomnographischen Ableitung oft beeinträchtigt. Deswegen verbrachten die Probanden eine Eingewöhnungsnacht unter Versuchsbedingungen im Schlaflabor.

In den Versuchsnächten wurde entweder Scopolamin (intravenös mit einer Dosierung von 0,02 mg/kg Körpergewicht, gelöst in 10ml NaCl-Lösung, mit einer Geschwindigkeit von 30,0ml/h) in Kombination mit 5 mg Mecamylamin (oral) gegeben, oder Placebo intravenös (10 ml NaCl-Lösung) mit Placebo oral (Magnesiumsterolat und Laktosemonohydrat) verabreicht. Die Abfolge der Applikation erfolgte randomisiert.

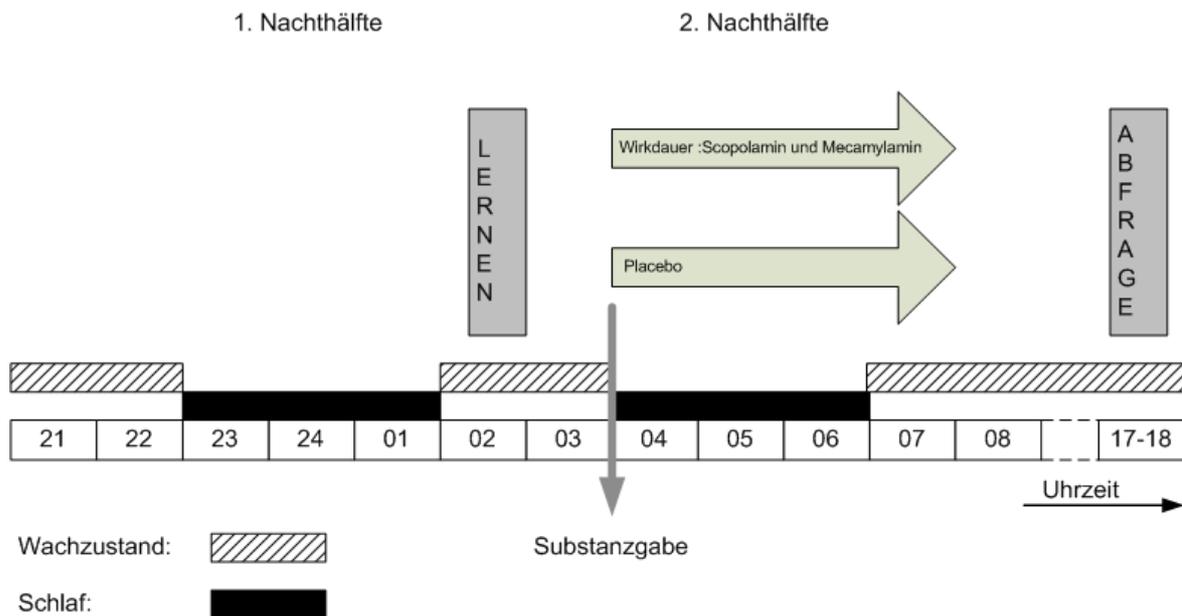


Abb.7: Schematisches Ablaufschema der Versuchsnächte

Die Probanden trafen gegen 20:00 Uhr im Institut für Neuroendokrinologie ein. Blutdruck, Puls, Befindlichkeit und Reaktionsfähigkeit wurden bestimmt. Den Probanden wurde eine Venenverweilkanüle (Optiva2, G18, Johnson + Johnson Medical, Brüssel, Belgien) in den Unterarm gelegt und fixiert. Anschließend wurden den Probanden Elektroden für die standardisierte polysomnographische Schlafabteilung angeklebt. Nach Messung des Kopfumfanges über Nasion und Inion, wurden mit Hilfe eines Easy-Cap-EEG-Systems Elektroden für ein 21- Kanal-EEG (modifiziertes 10-20- System) mit Referenzelektrode an der Nasenwurzel und zwei zusätzlichen EEG-Elektroden über den Mastoiden befestigt. Die Steckplätze auf der Kopfhaut für die EEG-Elektroden wurden vorher mittels Alkohol (Cutasept® der Firma Bode Chemie, Hamburg) desinfiziert und dann mit einem abrasiven Elektrodengel (Natriumchlorid, Lapis pumicis, Traganth, Glycerin, Kaliumhydrogentartarat und Phenol liquidum 0,2% in wässriger Lösung, Theodor Körner Apotheke, Graz, Österreich) angeraut. Das Gel wurde danach mit einer Spritze in die Elektroden gefüllt, so dass

schließlich eine leitende Verbindung mit möglichst geringem Widerstand ($<10\text{k}\Omega$) zwischen Kopfhaut und Elektrode bestand. Die Erdung erfolgte über eine weitere Elektrode auf der Stirn. Außerdem wurden am superioren und inferioren Orbitarand zwei Elektroden zur Aufzeichnung des Elektrookulogramms befestigt. Über dem Foramen mandibulare sinister und dexter wurden die letzten beiden Elektroden angebracht. Eine EC2-Elektroden-Creme® (Firma Grass, Warwick, Rhode Island, USA) und die Kleberinge fixierten die Elektroden auf der Haut nach Anrauhung mit abrasivem Elektrodengel. Um 22:30 Uhr wurde das Licht ausgeschaltet. Die Probanden schliefen die erste Nachthälfte. Durchschnittlicher Einschlafzeitpunkt war 23:00 Uhr. Mit Hilfe eines automatischen Blutdruckmessgerätes (Boso-Medicus, Bosch & Sohn GmbH, Jungingen, Germany) fanden stündlich Blutdruck- und Pulskontrollen statt. Der Proband wurde nach drei Stunden Schlaf geweckt, Befindlichkeits- und Reaktionsteste wurden durchgeführt. Anschließend erfolgte die Durchführung der Lernteste (Paar-assoziiertes Lernen und Walker-Test) und abschließend erneut die Befindlichkeits- und Reaktionstestung. Nach Absolvierung der Lernteste ging der Proband um ca. 04:00 Uhr wieder zu Bett. Der Proband erhielt das Medikament Mecamylamin oder Placebo in Tablettenform. Um 04:30 Uhr ging das Licht aus und der Proband schlief im schallgeschützten Raum. Darauf folgte die Gabe von Scopolamin oder Placebo mittels Perfusor. Um die blutdrucksenkende Wirkung von Scopolamin zu überwachen, wurden anfänglich in viertelstündigen, später in halbstündlichen Abständen Blutdruck und Puls gemessen. Während des gesamten Versuchs erfolgte zusätzlich die vitale Überwachung des Probanden durch eine Kamera mit Übertragung ins Nachbarzimmer. Nach der zweiten Nachthälfte (erneuten drei Stunden Schlaf) wurde der Proband geweckt und Blutdruck, Puls, Befindlichkeit und Reaktionsvermögen gemessen. Elektroden wurden vom Probanden entfernt und die Venenverweilkanüle gezogen. Der Blutdruck wurde zur Überprüfung der Vitalfunktionen gemessen und bei normalen Werten wurde der Proband vorerst entlassen.

Unter der Berücksichtigung der Medikamentenhalbwertszeit erfolgte nach einem zeitlichen Mindestabstand von 12 Stunden die Abfrage des erlernten Wortpaar-Assoziationstests und Walker-Tests. Während diesem Zeitabstand durften die Probanden nicht schlafen. Kontrolliert wurde mit einer bewegungsaufzeichnenden Uhr (Aktiwatch aus Cambridge, Neurotechnologie). Vor und nach der Abfrage wurde der Befindlichkeitsfragebogen ausgefüllt und die motorische Reaktionsfähigkeit erneut getestet. Zum letzten Mal wurde Blut abgenommen und es erfolgte eine Blutdruck- und Pulsmessung zur Überprüfung auf Normalwerte.

Am Ende des letzten Versuchstages wurde den Probanden ein Fragebogen vorgelegt, indem sie ihre Einschätzung zur Versuchshypothese und dem Tag der Medikamentengabe aufschreiben konnten. Außerdem wurde die Probandenmotivation am ersten Tag im Vergleich zum zweiten Tag abgefragt.

2.3 Polysomnographie

Verschiedene Schlafstadien wurden polysomnographisch abgeleitet und nach A.Rechtschaffen und A.Kales (1968) ausgewertet. Die Ableitung erfolgt digital. Die Elektrodenwiderstände durften $5k\Omega$ zu Beginn der Ableitung nicht überschreiten.

2.4 Blutentnahme

Den Probanden wurde über einen 2m langen Perfusorschlauch am Dreiwegehahn (Discifix®, Braun, Melsungen) aus dem Nebenraum Blut abgenommen. Vor jeder Blutentnahme wurden zunächst 10 ml Blut abgenommen und verworfen.

Die Kanüle diente der Substanzapplikation von Scopolamin und der stündlichen Blutentnahme. Nach jeder Blutentnahme lief eine Infusion mit isotoner Kochsalzlösung (NaCl 0,9% der Firma Berlin-Chemie, Berlin), um eine Thrombosierung des Katheters zu verhindern (ca. 60 ml/h). Die zugeführte Gesamtmenge war über den Zeitraum der Versuchsnacht auf maximal 500 ml begrenzt.

2.5 Hormonmessung und Spiegelbestimmung im Plasma

Das stündlich abgenommenen Blut wurde sofort auf Eis gelagert und so bald wie möglich bei 4°C zentrifugiert. Das Serum wurde bei -20°C unter standardisierten Bedingungen (Immulate, DPC Biermann, Bad Nauheim, Germany) eingefroren. Die Konzentration von ACTH und Kortisol wurde mittels kommerzieller Festphasen-, Chemilumineszenz-, Immunometrischer Assay-Methode bestimmt. Die Blutproben eines Probanden wurden in einem Assay-Koeffizienten bestimmt.

2.6 Substanzapplikation

Scopolamin (Scopolamin cooper® 0,5mg/2ml) wurde mit der Dosierung von 0,25 mg/kg in 50 ml 0,9 % NaCl-Lösung über den Perfusor gleichmäßig 30,0 ml/h verabreicht. Mecamylamin wurde in Tablettenform (5 mg) gegeben und für Placebo wurden 50ml 0,9 % NaCl-Lösung infundiert. Mit der Substanzgabe wurde 30 Min. nach dem Durchlauf der Lernexperimente begonnen, sobald der Proband im Bett lag. Die Medikamentendosis und Applikationsweise erfolgte in Anlehnung an die Vorläuferstudie von Rasch et al. (2006). Die Applikation erfolgte über eine Venenverweilkanüle (18 G) in eine Cubitalvene.

Scopolamin:

Scopolamin wirkt über die Blockade von Muskarinrezeptoren in den Vestibulariskernen. Scopolamin wirkt als Parasympatholytikum anticholinerg auf den Kreislauf; es hemmt kompetitiv die Effekte von Acetylcholin an muskarinartigen cholinergen Neuronen (postganglionär), was zu einem Abfall von Blutdruck und Puls führen kann. Scopolamin ist eine tertiäre Stickstoffverbindung, die leicht durch die Blut-Hirn-Schranke durchdringen kann. Die Plasmahalbwertszeit von Scopolamin beträgt $4,5 \pm 1,7$ h (Putcha, Cintron, Tsui, Vanderploeg und Kramer 1989). Scopolamin ist in mehr als 100 pharmazeutischen Präparaten enthalten (Greenblatt und Shader 1973) und hemmt unter anderem die Fähigkeit, neue Informationen zu speichern, hat aber nur geringen Einfluss beim Abruf gespeicherter Informationen (Peterson, 1977). Das bestwirkende Antidot ist Physostigmin (2 oder 3mg subkutan alle 2 Stunden (Safer und Allen, 1971). Aus Sicherheitsgründen wurden daher mittels Blutdruckmanschette die Herzfrequenz und der Blutdruck kontinuierlich überwacht.

Nebenwirkungen von Scopolamin:

Häufig treten Obstipation, vermindertes Schwitzen, Trockenheit von Mund, Nase, Hals oder Haut auf. Gelegentlich können Probleme bei der Miktion, Mydriasis, Dysphagien, Somnolenz, Cephalgien, Photosensibilität, Amnesie, Nausea und Schlafschwierigkeiten vorkommen. In seltenen Fällen führt Scopolamin zu Verwirrung, Schwindel, Ohnmachtsanfällen, Augenschmerzen und Hautausschlag.

Mecamylamin:

Mecamylamin gehört zur Gruppe der Antihypertensiva und wird oral in Tablettenform (Inversine ®, Mecamylamine HCl, 2,5mg) verabreicht. Die Plasmahalbwertszeit von Mecamylamin beträgt $10,1 \pm 2h$ (Young, Shytle, Sanberg und George 2001). Unter der Berücksichtigung der Medikamentenhalbwertszeit erfolgt die Abfrage der Lernexperimente nach einem zeitlichen Mindestabstand von 12 Stunden. Mecamylamin wirkt als Antihypertensivum, es hemmt zentral die nikotinergen Ganglien und ist Plazenta- und Blut- Hirn-Schranken-gängig.

Nebenwirkungen von Mecamylamin:

Häufig führt Mecamylamin zu Schwindel, Obstipation und Somnolenz. Gelegentlich treten Probleme bei der Miktion, verschwommenes Sehen, Libidoverlust, Mundtrockenheit, Pupillenvergrößerung, Appetitverlust, Nausea und Schwäche auf. Selten kommt es zu Blähungen, Verwirrung, Erregung, schwerer Obstipation, Krampfanfällen, Depression, Apnoe, Tremor und unkontrollierten Bewegungen.

2.7 Gedächtnistests

Von jedem Test existierten 2 Versionen, um eine Übertragung des Lerneffektes zwischen den Versuchsnächten zu minimieren. Die Reihenfolge der Aufgaben war zwischen den Probanden randomisiert, für jeden Probanden jedoch konstant.

Je eine Version jedes Gedächtnistests findet sich im Anhang. Zu jedem Test wurden standardisierte Anweisungen gegeben.

2.7.1 Deklarativer Gedächtnistest: Wortpaar- Assoziationstest

Die paarassoziierte Wortliste (PAL) ist eine etablierte Methode zur Testung des deklarativen Gedächtnisses (Plihal und Born, 1997). Wir verwendeten eine leicht modifizierte Form. Die PAL bestand aus zwei Versionen mit jeweils 40 Wortpaaren deutscher Substantive mit semantisch verwandten Wörtern (z.B. Uhr - Kirche).

Stimulus- und Assoziationsworte der Liste waren in Länge, emotionaler Besetzung, Bedeutung und Konkretheit aufeinander abgestimmt. Die Wortpaare wurden einzeln für jeweils fünf Sekunden auf einem Monitor präsentiert; unterbrochen von 100 ms Trennungsintervallen. Die Reihenfolge wurde bei wiederholten Versuchen randomisiert, um seriellem Lernen vorzubeugen. Unmittelbar auf die Präsentation erfolgte eine erste Abfrage mit ebenfalls randomisierter Wortfolge, bei der die Probanden das Stimuluswort präsentiert bekamen und das passende Assoziationswort nennen mussten. Nach der Antwort bzw. wenn innerhalb einer Minute keine Antwort gegeben werden konnte, wurde das korrekte Assoziationswort für eine Sekunde präsentiert, gefolgt von der Darbietung des nächsten Stimuluswortes. Die Liste wurde vor der Schlafphase so lange abgefragt, bis die Probanden ein Minimum von 24 Wortpaaren (60%) korrekt wiedergaben. Die abhängige Variable war der Anteil der erinnerten Wörter nach dem Schlaf, relativ zur Anzahl der erinnerten Wortpaare während des Lernens.

2.7.2 Prozeduraler Gedächtnistest: Erlernen einer Fingersequenz

Der prozedurale Gedächtnistest ist ein motorischer Reaktionstest (Walker, Brakefield, Hobsten, und Stickgold, 2003), wobei eine von zwei fünfstelligen Zahlenfolgen (4-1-3-2-4 und 4-2-3-1-4) 30 Sekunden lang so oft und schnell wie möglich und möglichst ohne Fehler mit der nicht dominanten Hand mehrmals hintereinander einzugeben war. Voran ging

eine Übungszahl die fünf Mal wiederholt wurde. Es gab insgesamt 12 Durchläufe von 30 Sek., zwischendurch 30 Sek. Pause. Die Zahlensequenz wurde durchgehend auf dem Bildschirm angezeigt, um den Einfluss von Gedächtnisprozessen während der Aufgaben auf ein Minimum zu beschränken. Bei jedem 30 Sek. Durchlauf wurden Geschwindigkeit (Anzahl der beendeten Sequenzen) und Fehlerzahl (Anzahl der Fehler pro Zahl der beendeten Sequenzen) gemessen. Nach jedem Block wurde ein Zwischenstand über die Anzahl der beendeten Sequenzen und die Fehlerzahl angegeben. Der Durchschnittswert der letzten drei Durchläufe wurde zur Beurteilung der Lernleistung gewertet. Der gesamte Versuch fand in einem ungestörten, abgedunkelten Raum statt. Die abhängige Variable war die prozentuale Verbesserung während der Abfrage im Verhältnis zum Lernen.

2.7.3 Reaktionszeittest

Der Reaktionszeittest diente der Beurteilung physiologischer und psychologischer Symptome der cholinergen Blockade. Die Reaktionszeit wurde standardisiert beurteilt (Little, Johnson, Minichiello, Weingarten und Sunderland, 1998). Gefordert wurde mit der dominanten Hand das genaue und schnellstmögliche Drücken einer Taste, wenn ein großer roter Punkt auf dem Bildschirm erschien (Durchmesser: 11 cm). Anschließend wurde die Zeit, die man zum reagieren brauchte, in hunderstel Sekunden angezeigt. In 40 Fällen wurde der Blick auf ein Kreuz fixiert, das für jeweils 500-1000 ms in der Mitte des weißen Bildschirms erschien. Darauf folgte 35-mal eine rote Scheibe, aber in 5 Fällen blieb der Bildschirm unerwartet weiß. Der ganze Versuch fand am Notebook statt (jeweils vor und nach dem Schlafen, sowie zum Abfragezeitpunkt).

2.8 Fragebogen zum subjektiven Empfinden der Schlafqualität

Der Befindlichkeitsbogen (MDBF-Kurzform A, siehe Anhang Abb.14) wurde in Form einer Selbstbeurteilungsskala angelegt und selbstständig jeweils sechsmal während einer Versuchsnacht ausgefüllt. Die Probanden hatten 12 Adjektive, die sie auf einer Skala von 1-5 (Bedeutung von 1= Sehr zutreffend bis 5= überhaupt nicht zutreffend) bewerten sollten. Die 12 Adjektive wurden drei Empfindungsgruppen zugeordnet (Zufriedenheit / Unzufriedenheit, Wachheit / Müdigkeit, Konzentrationsfähigkeit / Unkonzentriertheit), mit Werten zwischen 4 und 20. Die Auswertung erfolgte standardisiert nach der Methode von Steyer, Schwenkmezger, Notz und Eid (1994, siehe Anhang). Zur Vollständigkeit wurde der Proband außerdem aufgefordert, ungewöhnliche Symptome/Gefühle anzugeben.

2.9 Statistische Datenauswertung

Die statistische Datenauswertung erfolgte durch messwiederholte ANOVA (Analysis of Variance, F-Test) mit einem zweistufigen Faktor „Medikament vs. Placebo“ für die Performanzverbesserung in der deklarativen und non-deklarativen Gedächtnisaufgabe. Hypothesenrelevant ist die Wechselwirkung: Die Performanzverbesserung sollte in der deklarativen Aufgabe bei Gabe der Medikamente höher ausfallen als in der Placebobedingung, während sich in der non-deklarativen Aufgabe kein Unterschied zeigen sollte. Alle statistischen Berechnungen erfolgten unter Verwendung von SPSS (Statistical Product and Service Solutions) für Windows, Version 12.0®.

Als statistisch signifikant wurde ein p-Wert von 0,05 festgelegt.

3. Ergebnisse

Der Einfluss der cholinergen Blockade auf Blutdruck und Schlafstadien sind ein deutlicher Hinweis für die Wirkung des Medikaments. In der ersten Nachthälfte verlaufen die systolischen und diastolischen Werte annähernd gleich. Ab der Medikamentengabe sinken sowohl systolische als auch diastolische Blutdruckwerte. Gefährdende Kreislaufwerte (systolisch unter 90 und/oder diastolisch unter 50) werden zu keiner Zeit erreicht (siehe Abbildung 8).

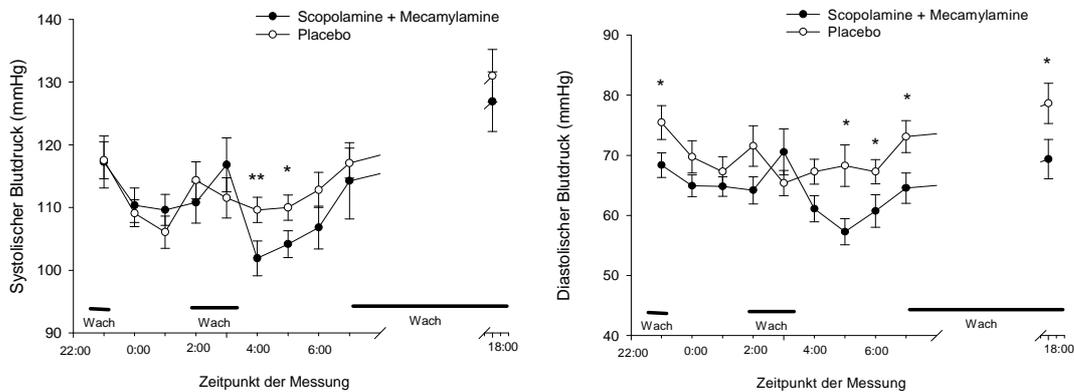


Abb.8: Systolischer und diastolischer Blutdruckverlauf des Experiments unter Placebo und Scopolamin-/Mecamylamingabe. Die beiden Bedingungen unterscheiden sich signifikant ab dem Zeitpunkt der Medikamentengabe (schwarzer Balken).

Die Schlafdaten zeigen, dass sich die erste Nachthälfte zwischen Placebo und Scopolamin/ Mecamylamin nicht signifikant unterscheidet und einen normalen Verlauf zeigt.

Die zweite NH ergibt $182,95\text{Min} \pm 21,39$ totale Schlafenszeit bei Mecamylamin- und Scopolamingabe und $174,3\text{Min} \pm 34,45$, $p=0,86$, n.s. nach Placebogabe, sie unterscheidet sich signifikant in ihren Schlafstadien (siehe Tabelle1). In der zweiten NH wird deutlich mehr Stadium 2 in der Medikamentennacht erreicht ($66\% \pm 3,4$ versus $54,4\% \pm 2,7$ Placebo;

p=0,03). Während der Medikamentenbedingung wird der REM-Schlaf signifikant vermindert ($7,1\% \pm 1,6$ versus Placebo mit $21,7\% \pm 3,2$; p=0,01). Die REM-latency der zweiten NH beträgt bei den Medikamenten $108,95 \text{ Min} \pm 14,60$ und beim Placebo $60,1 \pm 12,07$; p=0,04.

1. Nachthälfte				
Schlafstadium in %	Placebo	Scop + Mec	t	P
W	$6,21 \pm 3,2$	$7,73 \pm 3,46$	0,32	0,75
S1	$7,54 \pm 0,75$	$10,24 \pm 1,81$	1,67	0,13
S2	$53,1 \pm 1,94$	$51,21 \pm 3,85$	-0,48	0,64
SWS	$24,41 \pm 2,62$	$22,35 \pm 2,26$	-0,58	0,58
REM	$8,48 \pm 2,06$	$7,91 \pm 1,55$	-0,46	0,66
TST in min	$174,3 \pm 10,9$	$182,95 \pm 6,76$	0,66	0,53

2. Nachthälfte				
Schlafstadium in %	Placebo	Scop + Mec	t	P
W	$3,79 \pm 1,43$	$2,68 \pm 0,94$	-0,65	0,53
S1	$9,99 \pm 1,47$	$9,87 \pm 1,41$	-0,06	0,95
S2	$54,43 \pm 2,71$	$65,97 \pm 3,39$	2,6	0,03
SWS	$9,78 \pm 2,81$	$13,70 \pm 4,15$	0,78	0,46
REM	$21,72 \pm 3,15$	$7,15 \pm 1,64$	-4,23	0,002
TST in min	$177,60 \pm 7,65$	$179,5 \pm 9,02$	0,17	0,87

Tab1.: Anteil der einzelnen Schlafstadien an der Gesamtschlafdauer der ersten und zweiten Nachthälfte

Gedächtnistests:

Trotz des veränderten Schlafprofils kommt es nicht zu einer Verbesserung des Wortpaar-Assoziationstests. Während der Lernepisode ist vor der Substanzgabe kein Unterschied zu erkennen. Bei der Abfrage sind die Probandenleistungen nahezu identisch (Placebo $25,00 \pm 0,88$ Wortpaare vs. Medikament $25,00 \pm 0,93$ Wortpaare; $p < 0,05$). Im Durchschnitt werden $90,95 \pm 2,51\%$ bei der Placebobedingung versus $91,13 \pm 3,38\%$ in der Medikamentenbedingung ($p > 0,90$ n.s.) beim Wortpaarlernen von den Probanden korrekt gelernt.

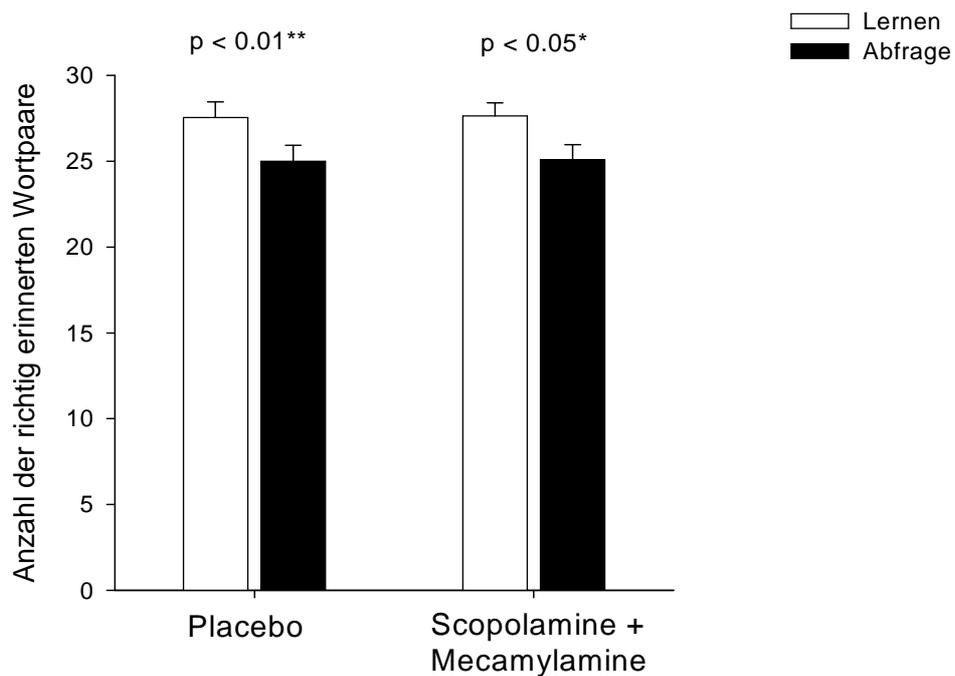


Abb. 8: Grafische Darstellung der Ergebnisse des Wortpaar-Assoziationstest (PAL)

Die motorische Fingersequenz (Walkertest) zur Überprüfung des prozeduralen Gedächtnis zeigt keine Verbesserung.

Die Probanden sind in beiden Versuchsnächten nahezu gleichstark beim Lernen ($p < 0,5$).

Die Abfrage nach Placebo ist 17% schneller als die Abfrage nach Scopolamin- und Mecamylamingabe, die nur 9% erreicht ($p < 0,5$).

In der Versuchsnacht bleibt die Fehlerrate von $10,54 \pm 2,07$ auf $9,22 \pm 1,72$ bei der Abfrage nahezu unverändert. In der Placebonacht verbessert sich die Fehlerrate von $12,87 \pm 2,65$ auf $9,53 \pm 2,17$ bei der Abfrage. Auch beim Geschwindigkeitsvergleich (Anzahl der Sequenzen) zeigen sich nur verbesserte Tendenzen in Richtung Placebo.

Walkertest		Placebo	Mec + Scop	F	p
<i>Geschwindigkeit (Anzahl der Sequenzen)</i>	Lernen	$17,21 \pm 2,30$	$16,61 \pm 1,87$	0,3481	0,5
	Abfrage	$19,79 \pm 2,46$	$17,61 \pm 1,62$	1,8225	0,2
<i>Fehlerrate (fehlerhafte Sequenzen in %)</i>	Lernen	$12,87 \pm 2,65$	$10,54 \pm 2,07$	53,29	0,4
	Abfrage	$9,53 \pm 2,17$	$9,22 \pm 1,72$	0,0121	0,9
	Differenz	$3,35 \pm 2,09$	$1,31 \pm 1,95$	0,375	0,55

Tab.2: Die Medikamentengabe zeigt keine signifikanten Unterschiede in der Reaktionsgeschwindigkeit und Fehlerrate. Die Differenz bei der Geschwindigkeit ist in Abb. 9 dargestellt.

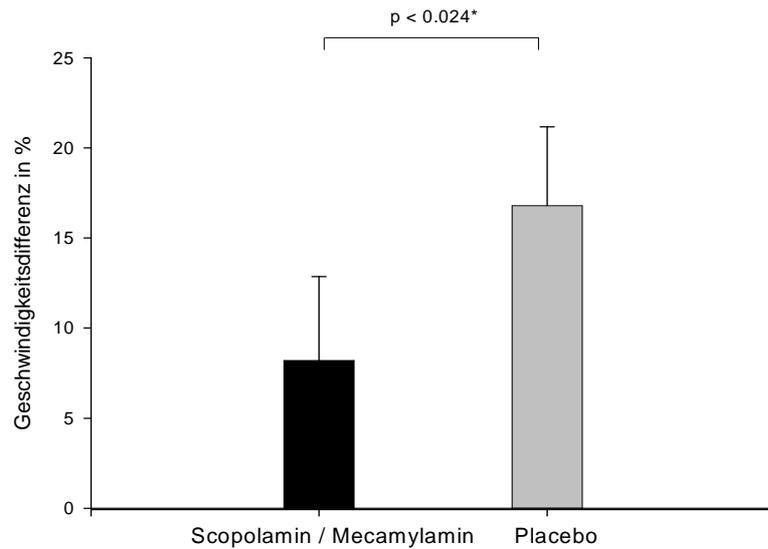


Abb. 9: Der Walkertest zeigt nur in der Differenz beim Parameter Geschwindigkeit, in der Medikamentenbedingung eine signifikante Geschwindigkeitszunahme.

Reaktionszeitexperiment

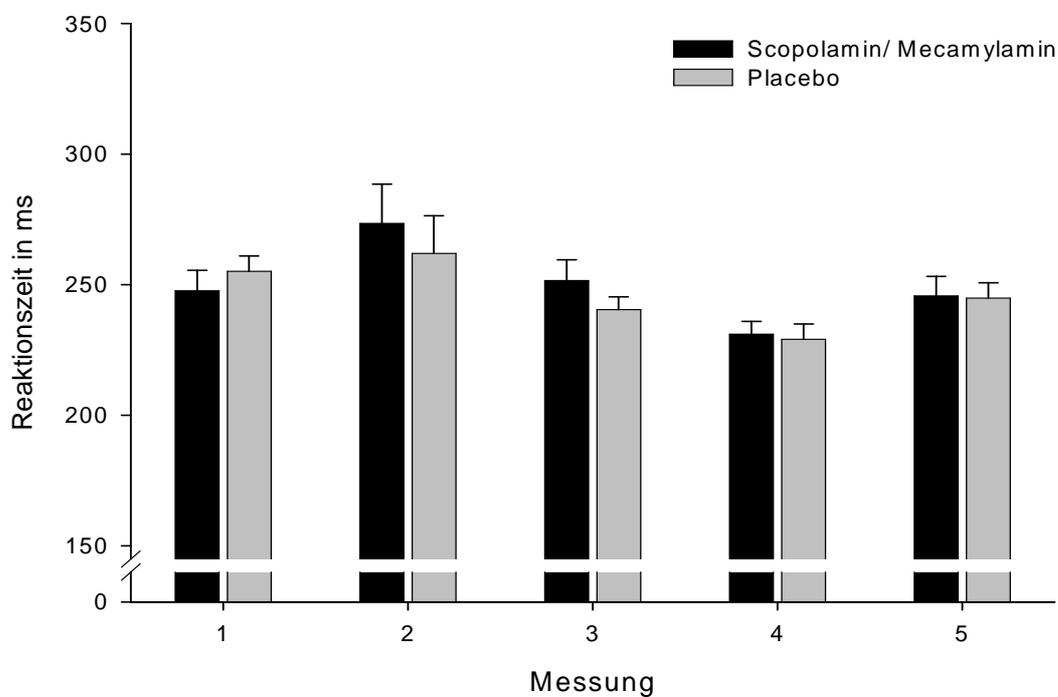


Abb.10: Das Reaktionsgeschwindigkeitexperiment ergibt keine signifikante Beeinflussung durch die Medikamentengabe ($p > 0,5$ für alle Vergleiche).

Die separaten Messungen der Reaktionszeit zeigen keine entscheidende Beeinflussung des Experiments (siehe Abb.10).

Die Blutwerte: ACTH, Glukose, Laktat Cortisol und Dopamin liegen im erwarteten Bereich, weisen aber keine signifikante Veränderung auf (alle $p > 0,20$). Nur bei der letzten Messung zum Zeitpunkt der Abfrage zeigt sich ein deutlich reduzierter Noradrenalinwert nach der cholinergen Blockade, im Vergleich zu Placebo (siehe Abbildung 11).

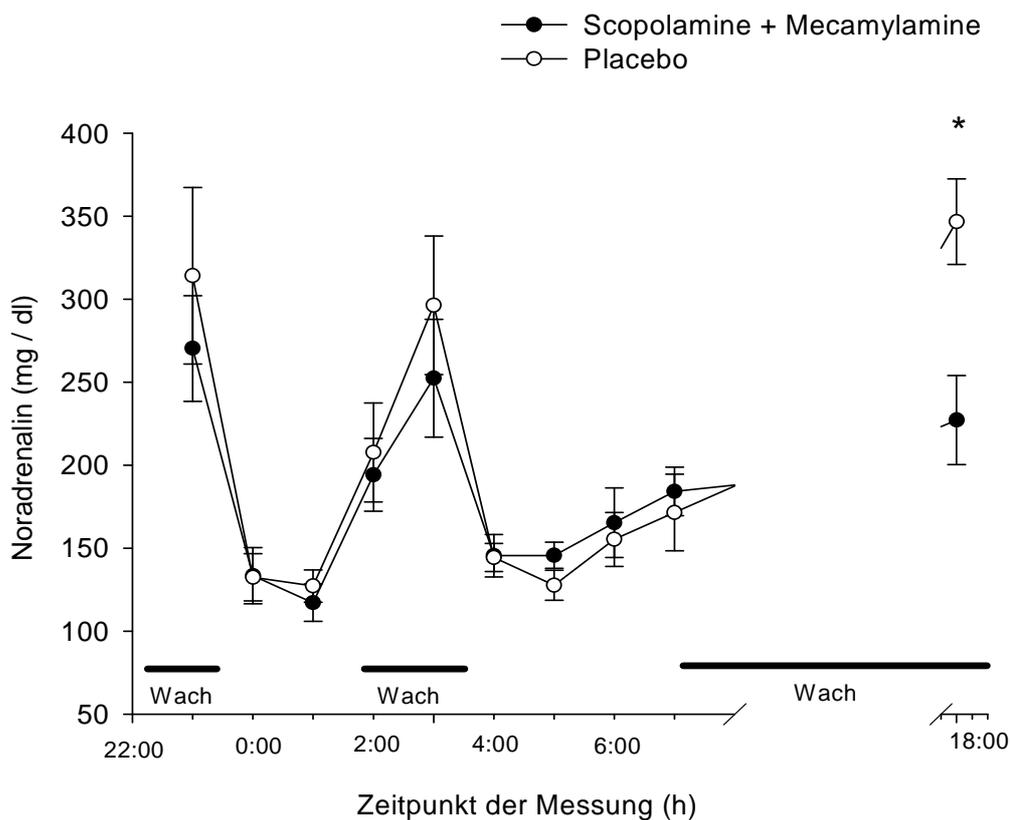


Abb.11: Darstellung der Noradrenalin-Konzentration (MW+-SEM) im Verlauf der Nacht unter Scopolamin/Mecamylamin (schwarz) und unter Placebo (weiß). Die Hormonkonzentrationen zeigen nur bei der letzten Messung einen signifikanten Unterschied zwischen den Bedingungen Scopolamin/Mecamylamin versus Placebo. Die restlichen abgenommenen Blutwerte dienen mehreren Folgestudien.

Interessanterweise konnten die Probanden nicht einschätzen, in welcher Nacht sie Scopolamin und Mecamylamin bzw. wann sie Placebo erhalten hatten. Die subjektive Einschätzung von Müdigkeit, Konzentration und eigenem Wohlbefinden wurde an beiden Versuchstagen vergleichbar bewertet und zeigte keine signifikanten Unterschiede. Die Schlafqualität wurde von den Probanden im Wesentlichen identisch bewertet.

In der vorliegenden Untersuchung zeigten Scopolamin und Mecamylamin eine gute Verträglichkeit.

4. Diskussion

Die Blockade der muskarinergen und nikotinergen cholinergen Rezeptoren in der zweiten Nachthälfte durch Scopolamin und Mecamylamin führte entgegen den Erwartungen nicht zu einer Verbesserung der deklarativen Gedächtnisbildung in dem Wortpaar-Assoziationstest. Dagegen wurde die prozedurale Gedächtnisbildung in dem Fingersequenztest durch die Medikamentengabe im Gegensatz zu Placebo verschlechtert. Die Wirksamkeit der cholinergen Blockade zeigte sich in einer für die medikamentöse Intervention typischen Absenkung des Blutdrucks und einer signifikanten Reduktion des REM-Schlafs. In der abendlichen Abrufphase waren dagegen die Stimmung und Reaktionszeit, sowie die Level von Kortisol und ACh nicht signifikant verschieden zwischen Medikamenten- und Placebobedingung. Eine Ausnahme bildete das Noradrenalin, das nach der cholinergen Blockade einen weitaus niedrigeren Wert während der Abfrage erreichte als nach der Placebonacht.

Der fehlende Effekt der cholinergen Blockade nach dem Lernen in der zweiten Nachthälfte auf die deklarative Gedächtnisbildung steht im Widerspruch zu dem Modell nach Hasselmo (1999), welches postuliert, dass ein niedriger cholinerges Tonus nach dem Lernen die Gedächtnisbildung fördert. Nach diesem Modell führen niedrige ACh-Level zu einer Desinhibition von Feedbackverbindungen, die den Informationstransfer von Gedächtnisinhalten aus hippocampalen in kortikale Areale begünstigt und so die Gedächtnisbildung fördert. Da eine Erhöhung des natürlicherweise im Tiefschlaf niedrigen ACh-Levels in der Studie von Gais et al. (2004) die deklarative Gedächtnisbildung störte, wäre zu erwarten gewesen, dass eine Erniedrigung des sonst hohen ACh-Levels in der zweiten Nachthälfte die Gedächtnisbildung fördert. Dies konnte in der vorliegenden Studie nicht bestätigt werden. Allerdings unterschieden sich die erste und zweite Nachthälfte neben dem cholinergen

Tonus auch in anderen wichtigen neuroendokrinen und elektrophysiologischen Parametern. So erreichten die zentralnervösen Level von Serotonin und Noradrenalin, sowie die Aktivität der noradrenergen und serotonergen Zentren (Raphe Kerne, Locus Coeruleus) besonders im REM Schlaf ein Minimum, während diese Neurotransmitter in der ersten Tiefschlaf-reichen Nachthälfte in einem relativ stärkeren Maße verfügbar sind. Es wäre deshalb denkbar, dass gleichzeitig zu einer cholinergen Blockade die Verfügbarkeit von Noradrenalin und Serotonin in der zweiten Nachthälfte angehoben werden müsste, um einen mit der ersten Nachthälfte vergleichbaren positiven Effekt auf die deklarative Gedächtnisbildung zu erzielen.

Die vorliegende Studie steht ebenfalls im Widerspruch zu der Studie von Rasch et al. (2006), die durch Blockade cholinergischer Rezeptoren nach dem Lernen, während des Wachzustands, eine Verbesserung der deklarativen Gedächtnisbildung im Vergleich zu Placebo beobachten konnte. In dieser Studie wurden dieselben Dosen der Medikamente wie in der vorliegenden Studie verwendet, so dass ein Fehlen eines Effekts auf Grund einer zu niedrigen Dosis unwahrscheinlich ist. Eine alternative Erklärung für die Verbesserung der deklarativen Gedächtnisbildung in der Studie von Rasch et al. (2006) besteht in der Reduktion von Interferenz durch die Medikation. Die Blockade von cholinergischen Rezeptoren während des Wachzustands verschlechtert die Aufnahme von neuem Wissen (Sherman et al., 2003). In der Studie von Rasch et al. (2006) konnten sich die Versuchspersonen weniger zweifelhafte Zahlen merken, wenn sie 60 min zuvor die Medikamente bekommen hatten. Eine Reduktion des Erwerbs neuer Information führt zu einer verringerten Störung der zuvor aufgenommenen Informationen, und kann so zu einer verbesserten Erinnerungsleistung führen. Auch andere pharmakologische Interventionen nach dem Lernen (Alkohol, Benzodiazepine etc.) führen durch eine Inhibition von neuem Lernen zu einer Verbesserung des deklarativen Gedächtnisses (siehe Wixted, 2004; zum Überblick). In der vorliegenden Studie bestand dagegen kein Unterschied in dem Ausmaß der Interferenz nach dem Lernen, da die

Versuchspersonen in beiden Bedingungen geschlafen haben. Da sich in dieser Studie kein Effekt der cholinergen Blockade nach dem Lernen auf die deklarative Gedächtnisbildung zeigte, liegt es nahe, den positiven Effekt der Blockade im Wachzustand auf eine Reduktion der Interferenz zurückzuführen. Allerdings sind im Wachzustand die Neurotransmitter Noradrenalin und Serotonin, die möglicherweise entscheidend für die Wirksamkeit eines niedrigen ACh-Levels auf die Gedächtnisbildung sind, ebenfalls stärker verfügbar als in die zweiten Nachthälfte dominierenden REM-Schlaf.

Manipulationen des cholinergen Levels nach dem Lernen hatten in den vorhergehenden Studien keinen Effekt auf die prozedurale Gedächtnisbildung (Rasch et al., 2006; Gais und Born, 2004). Die cholinerge Blockade in der zweiten Nachthälfte führte dagegen in der vorliegenden Studie zu einer Verschlechterung der prozeduralen Gedächtnisbildung. Eine mögliche Erklärung für diesen Effekt könnte die Verringerung des REM-Schlafanteils durch die Medikation geben. Prozedurale Gedächtnisbildung profitierte in Studien von Plihal und Born (1997, 1999) besonders von der zweiten, REM-Schlaf-reichen Nachthälfte, und das Ausmaß der motorischen Gedächtnisbildung korrelierte positiv mit dem REM-Schlaf Anteil in einer Studie von Fischer et al. (2002). Studien zur funktionellen Bildgebung zeigen, dass die Netzwerke, die bereits während des motorischen Lernens aktiv waren, besonders im REM-Schlaf reaktiviert werden (Maquet et al., 2001). Insofern könnte eine Reduktion des REM-Schlafs eine Verschlechterung der prozeduralen Gedächtnisbildung bewirkt haben. Für diese Interpretation spricht, dass auch in der vorliegenden Studie ein positiver Zusammenhang zwischen dem REM-Schlafanteil und der Erinnerungsleistung im Gedächtnistest bestand. Allerdings war diese Korrelation nicht statistisch bedeutsam.

Eine andere mögliche Erklärung ist, dass ein hohes cholinerges Niveau in der REM-Schlaf-reichen zweiten Nachthälfte eine besondere Rolle für die Gedächtnisbildung spielt. In einer Studie von Hornung et al (2006) führte eine Anhebung des REM-Schlafanteils per se nicht zu einer Verbesserung der prozeduralen Gedächtnisbildung. Dagegen bewirkte eine Anhebung des cholinergen Tonus durch einen ACh-Esteraseinhibitor neben einer Erhöhung des REM-Schlafanteils auch eine verbesserte Leistung in einem späteren motorischen Gedächtnistest. Die Erinnerung in einem deklarativen Gedächtnistest (Wortpaarlernen) war von dieser Manipulation unbeeinflusst. Zusammen mit den Ergebnissen der vorliegenden Arbeit scheinen diese Befunde darauf hinzuweisen, dass das hohe cholinerge Niveau in der zweiten Nachthälfte kritisch für die prozedurale, aber nicht für die deklarative Gedächtnisbildung ist.

Neben dem REM-Schlaf wurden allerdings in anderen Studien auch das Schlafstadium 2 mit der Konsolidierung von motorischem Lernen in Verbindung gebracht (Smith and MacNeill, 1994; Walker et al., 2002). In der vorliegenden Studie nimmt der Anteil des Stadiums 2 unter cholinenger Blockade allerdings signifikant zu und es kommt gleichzeitig zu einer Verschlechterung des motorischen Gedächtnisses. Die Annahme einer förderlichen Rolle des Schlafstadiums 2 auf die motorische Gedächtnisbildung steht mit diesem Befund nicht im Einklang. Allerdings wird nicht speziell das letzte Schlafviertel betrachtet sondern die zweite Nachthälfte und der Einfluss der Schlafspindeln außer Acht gelassen.

Die Kontrollvariablen für das Versuchsdesign sind der Stimmungstest und das Reaktionszeitexperiment. Bei den Stimmungs- und Motivationstestungen zeigten sich keine Unterschiede zwischen den Versuchstagen. Die Reaktionszeit zeigte bei separaten Messungen keine Auffälligkeiten. Die subjektive Schlafqualität wurde in beiden Versuchsbedingungen annähernd gleich bewertet, obwohl nach der cholinergen Blockade weniger REM-Schlaf

als in der Placebobedingung nachgewiesen wurde (siehe Abbildung 8). Bei den Blutparametern ergaben sich keine Unterschiede zwischen Medikamentenbedingung und Placebo für die Parameter ACTH, Glukose, Laktat, Kortisol und Dopamin. Dies ist besonders wichtig im Bezug auf Kortisol, da eine Erhöhung des Kortisolspiegels nach dem Lernen in der ersten Nachthälfte die Gedächtnisbildung in früheren Studien verschlechterte (Plihal und Born, 1999). Da die cholinerge Blockade keine messbaren Effekte auf den Kortisolspiegel hatte, ist das Fehlen der Verbesserung der deklarativen Gedächtnisbildung nicht durch eine Wirkung des Kortisols zu erklären. Da die Blutparameter auch während der am Abend erfolgten Abfrage vergleichbar waren, ist ein Effekt von Kortisol auf die Abfrageleistung ebenfalls unwahrscheinlich (Metaanalyse von Wolf et al., 2005). Eine Ausnahme bildet der Wert für Noradrenalin während der Abfrage, der nach cholinerg Blockade signifikant erniedrigt war (Abbildung 11). Da Noradrenalin im Plasma prinzipiell als Marker für die zentralnervöse, noradrenerge Aktivität herangezogen werden kann (Rasch et al., 2007), ist es wahrscheinlich, dass während der Abfrage nach der nächtlichen cholinergen Blockade auch auf zentralnervöser Ebene eine reduzierte noradrenerge Aktivität vorliegt. In Tierstudien führte sowohl die pharmakologische als auch die elektrische Stimulierung noradrenerger Neurone im Locus Coeruleus zu einer Verbesserung der Abfrageleistung und diese Verbesserung wurde durch Blockade der beta-adrenergen Neurone verhindert (Sara, 2000). Es ist deshalb möglich, dass eine erniedrigte noradrenerge Aktivität während der Abfrage zu einer Verschlechterung der Erinnerungsleistung geführt hat. Dies ist insofern ein Problem, als dass diese Verschlechterung der Abfrageleistung, entgegen der erwarteten Verbesserung der deklarativen Gedächtniskonsolidierung, durch die cholinerge Blockade den erwarteten Effekt verdeckt haben könnte. Auch für das prozedurale Gedächtnis ist nicht auszuschließen, dass nicht die Konsolidierung, sondern ebenfalls die Abfrage durch das erniedrigte Noradrenalin verschlechtert wurde. Ein zusätzliches Problem ist, dass der noradrenerge Level wahrscheinlich auch während des Tages von der cholin-

gen Blockade beeinflusst gewesen sein könnte. Für diesen Zeitraum allerdings lagen keine Messungen vor. In zukünftigen Studien sollte deshalb der Einfluss der cholinergen Blockade auf die noradrenerge Aktivität stärker und enger kontrolliert werden. Zusätzlich wäre es zu empfehlen, den Abfragezeitpunkt erst später zu realisieren (nach einer weiteren Nacht), um Unterschiede in Noradrenalinlevels während der Abfrage zu vermeiden.

Im Übrigen wäre es wichtig, einen weiteren Test während der Abfragephase mitzuerheben, der nur die Fähigkeit zur Abfrage aus dem Gedächtnis separat testet, um mögliche Einflüsse der pharmakologischen Intervention auf die Abfrageleistung an sich besser ausschließen zu können.

Unter den Medikamentenwirkungen war die Gesamtschlafenszeit geringfügig verkürzt (siehe Abbildung 5), was einen negativen Effekt auf die Compliance und Konzentration der Probanden vermuten ließe. Im subjektiven Schlafqualitätsbogen konnte jedoch kein Unterschied in Wachheit, Ausgeglichenheit und Stimmung der beiden Versuchsbedingungen festgestellt werden. Allerdings wäre es auch hier ratsam, die Abfrage erst nach einer weiteren Erholungsnacht durchzuführen.

Zusammenfassend zeigt sich in der vorliegenden Studie kein Einfluss der cholinergen Blockade in der zweiten Nachthälfte auf die deklarative Gedächtnisbildung, während die prozedurale Gedächtnisbildung durch die Intervention verschlechtert wurde. Weitere Studien sind notwendig, um die Rolle des ACh-Levels auf Prozesse der Gedächtniskonsolidierung im Schlaf genauer zu spezifizieren.

5. Zusammenfassung

Die Schlafforschung unterteilt den Schlaf in zwei Nachthälften. Vorangegangene Studien zeigten, dass sowohl der Tiefschlaf (SWS) der ersten Nachthälfte, als auch eine in dieser Phase niedrige Acetylcholinaktivität die deklarative Gedächtniskonsolidierung fördern. In der REM-Schlaf-reichen zweiten Nachthälfte wird vor allem die prozedurale Gedächtnisbildung gefördert; im Gegensatz zum SWS werden hier hohe ACh-Spiegel gemessen. In Wachstudien konnte eine fördernde Wirkung auf das deklarative Gedächtnis nachgewiesen werden, wenn durch eine Rezeptorblockade die ACh-Wirkung medikamentös erniedrigt wurde. Ziel der vorliegenden Arbeit war, durch medikamentöse-Blockade der ACh-Wirkung in der zweiten Nachthälfte, eine dem SWS ähnliche Neurotransmitter-Aktivität zu erreichen. Unter der Vorstellung, auch im REM-Schlaf die deklarative Gedächtniskonsolidierung zu verbessern und gleichzeitig die Auswirkung der reduzierten ACh-Wirkung auf das prozedurale Gedächtnis zu untersuchen.

Elf junge gesunde männliche Probanden absolvierten in einer placebokontrollierten, doppelblinden, randomisierten Studie zwischen den beiden Nachthälften deklarative und prozedurale Gedächtnistests. Zu Beginn der zweiten Nachthälfte wurden die anticholinerg wirkenden Medikamente Mecamylamin (nikotinerger Rezeptorantagonist) und Scopolamin (muskarinerger Rezeptorantagonist) verabreicht. Entgegen unserer Annahme führte eine gehemmte ACh-Wirkung zu keiner Verbesserung der deklarativen Gedächtniskonsolidierung. Die non-deklarative Gedächtnisbildung wurde sogar verschlechtert. Interessanterweise zeigte die Medikamentengruppe einen Abfall von Noradrenalin zum Zeitpunkt der Abfrage. Durch verminderte ACh-Aktivität wurde der REM-Schlafanteil gesenkt und das Schlafstadium 2 signifikant erhöht. Aus den Untersuchungsergebnissen schließen wir, dass die alleinige Betrachtung des Neurotransmitters Acetylcholin bezüglich der Wirkung auf die Gedächtniskonsolidierung der zweiten Nachthälfte unzureichend ist. Vielmehr müssen in ergänzenden Studien weitere Neurotransmitter -insbesondere Noradrenalin- in ihren Auswirkungen und Wirkzusammenhängen auf das deklarative und prozedurale Gedächtnis untersucht werden.

6. Literaturverzeichnis

- Aserinsky, E. und Kleitman, N. (1953): Regularly occurring periods of eye motility, and concomitant phenomena, during sleep. *Science*, 118, 273-274.
- Azcoitia, I., Perez-Martin, M., Salazar, V., Castillo, C., Ariznavarreta, C., Garcia-Segura, L.M. und Tresguerres, J.A. (2005): Growth hormone prevents neuronal loss in the aged rat hippocampus. *Neurobiol. Aging*, 26, 697-703.
- Barrett, T.R. und Ehstrand, B.R. (1972): Effect of Sleep on Memory:III. Controlling for Time-Of-Day effects. *J. Exp. Psychol.*, 96(2), 321-327.
- Berger, R.J. und Phillips, N.H. (1995): Energy conservation and sleep. *Behav Brain Res*, 69 (1-2), 65-73.
- Bierbaumer, N., und Schmidt, R.F. (1997): Lernen und Gedächtnis in: Physiologie des Menschen. R.F. Schmidt, G. Thews. *Springer Verlag, Berlin*, 154-166.
- Bierwolf, C., Struve, K., Marshall, L., Born, J. und Fehm, H.L. (1997): Slow wave sleep drives inhibition of pituitary-adrenal secretion in humans. *J. Neuroendocrinol.*, 9, 479-484.
- Bliss, T.V. und Collingridge, G.L. (1993): A synaptic model of memory: long-term potentiation in the hippocampus. *Nature*, 36, 31-39.
- Bliss, T.V.P. und Lomo, T. (1973): Long-lasting potentiation of synaptic transmission in the dentate area of the anaesthetized rabbit following stimulation of the perforant path. *Journal of Physiology*, 232, 331-356.
- Borbely, A.A. (1984): Das Geheimnis des Schlafs: Neue Wege und Erkenntnisse der Forschung. Deutsche Verlags-Anstalt, Stuttgart.
- Born, J. und Fehm, H.L. (1998): Hypothalamus-pituitary-adrenal activity during human sleep: a coordinating role for the limbic hippocampal system. *Exp. Clin. Endocrinol. Diabetes*, 106, 153-163.
- Born, J. und Fehm, H.L. (2000): The neuroendocrine recovery function of sleep. *Noise Health*, 2, 25-38.
- Born, J., Kern, W., Bieber, K., Fehm-Wolsdorf, G., Schiebe, M. und Fehm, H.L. (1986): Nighttime plasma cortisol secretion is associated with specific sleep stages. *Biol. Psychiatry*, 21, 1415-1424.
- Born, J., Muth, S. und Fehm, H.L. (1988): The significance of sleep onset and slow wave sleep for nocturnal release of growth hormone (GH) and cortisol. *Psychoneuroendocrinology*, 13, 233-243.
- Cipolli, C. (1995): Sleep, dreams and memory: an overview. *Sleep Res.*, 4, 2-9.

- Cohen, N.J. und Squire, L.R. (1980): Preserved learning and retention of pattern-analyzing skill in amnesia: dissociation of knowing how and knowing that. *Science*, 210, 207-210.
- Craik, F.I. and Lockhart, R.S. (1972): Levels of processing: a framework for memory research. *Journal of Verbal Learning & Verbal Behavior*, 11, 671-684.
- Dujardin, K., Guerrien, A. und Leconte, P. (1990): Sleep, brain action and cognition. *Physiol. Behav.*, 47, 1271-1278.
- Fischer, S., Hallschmid, M., Elsner, A.L. und Born, J. (2002): Sleep forms memory for finger skills. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 99, 11987-11991.
- Fischer, S., Nitschke, M.F., Melchert, U.H., Erdmann, C. und Born, J. (2006): Motor Memory Consolidation in Sleep Shapes More Effective Neuronal Representations *J. Neurosci.*, 25, 11248-11255.
- Flood, J.F. und Cherkin, A. (1986): Scopolamine effects on memory retention in mice: a model of dementia. *Behav. Neural. Biol.*, 45, 169-184.
- Foster, H. H. (1901): The necessity for new standpoints in sleep theories. *Am J. Psycho.*, 12, 145-177.
- Fowler, M.J., Sullivan, M.J., und Ekstrand, B.R. (1973): Sleep and memory. *Science*, 179, 302-304.
- Gais, S. und Born, J. (2004a): Declarative memory consolidation: Mechanisms acting during human sleep. *Learn. Mem.*, 11, 679-685.
- Gais, S. und Born, J. (2004b): Low acetylcholin during slow-wave sleep is critical for declarative memory consolidation. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 101, 2140-2144.
- Gillberg, M. und Akerstedt, T. (1982): Body temperature and sleep at different times of day. *Sleep*, 5, 378-388.
- Greenblatt, D.J. und Shader, R.I. (1973): Anticholinergics. *New Engl. J. Med.*, 288, 1215-1219.
- Gronfier, C., Chapot, F., Weibel, L., Jouny, C., Piquard, F. und Brandenberger, G. (1998): Pulsatile cortisol secretion and EEG delta waves are controlled by two independent but synchronized generators. *Am. J. Physiol.*, 275, E94-100.
- Gu, Q. (2002): Neuromodulatory transmitter systems in the cortex and their role in cortical plasticity. *Neuroscience*, 111, 815-835.

- Harley, C. (1991): Noradrenergic and locus coeruleus modulation of the perforant pathway-evoked potential in rat dentate gyrus supports a role for the locus coeruleus in attentional and memorial processes. *Prog. Brain. Res.*, 88, 307-321.
- Hasselmo, M.E. (1999): Neuromodulation: acetylcholine and memory consolidation. *Trends Cogn. Sci.*, 3, 351-359
- Hasselmo, M.E. und Bower, J.M. (1993): Acetylcholine and memory. *Trends Neurosci.*, 16, 218-222.
- Hasselmo, M. E. und McGaughy, J. (2004): High acetylcholin levels set circuit dynamic for attention and encoding and low acetylcholin levels set dynamics for consolidation. *Prog. Brain. Res.*, 145, 207-231.
- Hebb, D.O. (1949): *The Organization of Behavior*. Wiley, New York.
- Heine, R. (1914): Über Wiedererkennen und rückwirkende Hemmung. *Z. Psychol.*, 68, 161-236.
- Hobson, J.A., McCarley, R.W. und Wyzinski, P.W. (1975): Sleep cycle oscillation: reciprocal discharge by two brainstem neuronal groups. *Science*, 189, 55-58.
- Hobson, J.A., Pace-Schott, E.F. und Stickgold, R. (2000): Dreaming and the brain: toward a cognitive neuroscience of conscious states. *Behav. Brain, Sci.*, 23, 793-842.
- Horne, J. (1988): *Why we sleep: The function of sleep in human and other mammals*. Oxford University Press, Oxford, England.
- Hornung, O.P., Regen, F., Schredl, M., Heuser, I., und Danker-Hopfe, H. (2006): Manipulating REM sleep in older adults by selective REM sleep deprivation and physiological as well as pharmacological REM sleep augmentation methods. *Experimental Neurology*, 197, 486-494.
- Jenkins, J. G. und Dallenbach, K. M. (1924): Obliviscence during sleep and waking. *Am. J. Psychol.*, 35, 605-612.
- Karni, A., Tanne, D., Rubenstein, B.S., Askenasy, J.J. und Sagi, D. (1994): Dependence on REM sleep of overnight improvement of a perceptual skill. *Science*, 265, 679-682.
- Kobayashi, K. und Yasoshima, Y. (2001): The Central Noradrenaline System and Memory Consolidation. *Neuroscientist*, 7(5), 371-376.
- Koella, W.P. (1988): *Die Physiologie des Schlafs. Eine Einführung*. Stuttgart: Fischer
- Lee, A.K. und Wilson, M.A. (2002): Memory of sequential experience in the hippocampus during slow wave sleep. *Neuron*, 36, 1183-1194.

- Little, J.T., Johnson, D.N., Michiello, M., Weingarten, M., und Sunderland, T. (1998): Combined nicotinic and muscarinic blockade in elderly normal volunteers: cognitive, behavioral, and physiologic responses. *Neuropsychopharmacology*, 19, 60-69.
- Malenka, R.C. und Nicoll, R.A. (1999): Long-Term Potentiation-- A Decade of Progress? *Science*, 285, 1870-1874.
- Marshall, L., Molle, M., Hallschmid, M., und Born, J. (2004): Transcranial direct current stimulation during sleep improves declarative memory. *J. Neurosci.*, 24, 9985-9992.
- Maquet, P. (2001): The role of sleep in learning and memory. *Science*, 294, 1048-1052.
- McCarley, R.W. und Hobson, J.A. (1975): Neuronal excitability modulation over the sleep cycle: a structural and mathematical model. *Science*, 189, 58-60.
- McClelland, J.L., McNaughton, B.L. und O'Reilly, R.C. (1995): 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.
- McGaugh, J.L. (2000): Memory – a century of consolidation. *Science*, 287, 248-251.
- McGaugh J.L.und Roozendaal, B. (2002): Role of adrenal stress hormones in forming lasting memories in the brain. *Curr. Opin. Neurobiol.*, 12(2), 205-210.
- Molle, M., Marshall, L., Gais, S. und Born, J. (2004): Learning increases human electroencephalographic coherence during subsequent slow sleep oscillations. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 101, 13963-13968.
- Nicolau, M.C., Akaarir, M. Gamundi, A., Gonzalez, J. und Rial, R.V. (2000): Why we sleep: the evolutionary pathway to the mammalian sleep. *Prog. Neurobiol.*, 62(4), 379-406.
- Oswald, I. (1980): Sleep as restorative process: human clues. *Prog. Brain Res.*, 53, 279-288.
- Pace-Schott, E. F. und Hobson, J.A. (2002): The neurobiology of sleep: genetics, cellular physiology and subcortical networks. *Nat. Rev. Neurosci.*, 3, 591-605.
- Payne, J.D. und Nadel, L. (2004): Sleep, dreams, and memory consolidation: The role of the stress hormone cortisol. *Learn. Mem.*, 11, 671-678.
- Peigneux, P., Laureys, S., Fuchs, S., Collette, F., Perrin, F., Reggers, J. et al. (2004): Are spatial memories strengthened in the human hippocampus during slow wave sleep? *Neuron*, 44, 535-545.

- Petersen, R.C. (1977): Scopolamin Induced Learning Failures in Man. *Psychopharmacology*, 52, 283-289.
- Plihal, W., und Born, J., (1997): Effects of early and late nocturnal sleep on declarative and procedural memory. *J. Cogn.Neurosci.*, 9, 534-547.
- Plihal, W. und Born, J. (1999a): Effects of early and late nocturnal sleep on priming and spatial memory. *Psychophysiology*, 36, 571-582.
- Plihal, W. und Born, J. (1999b): Memory consolidation in human sleep depends on inhibition of glucocorticoid release. *Neuroreport*, 10, 2741-2747.
- Putcha, L., Cintron, N.M., Tsui, J., Vanderploeg, J.M., und Kramer, W.G. (1989): Pharmacokinetics and oral bioavailability of scopolamin in normal subjects. *Pharm. Res.*, 6, 481-485.
- Rasch, R., Born, J.und Gais, S. (2006): Combined blockade of cholinergic receptors shifts the brain from stimulus encoding to memory consolidation, *Journal of Cognitive Neuroscience*, 18, 793-802.
- Rasch, B., Dodt, C., Mölle, M. und Born, J. (in press): Sleep Stage Specific Regulation of Plasma Catecholamine Concentration. *Psychoneuroendocrinology*.
- Rechtschaffen, A. und Kales, A. (1968): A manual of standardized terminology, techniques and scoring system for sleep stages of human subjects. Los Angeles: *Brain Information Service, University of California*.
- Ryan, T., Mlynczak, S., Erickson, T., Man, S.F. und Man, G.C. (1989): Oxygen consumption during sleep: influence of sleep stage and time of night. *Sleep*, 12, 201-210.
- Safer, D.J. und Allen, R.P. (1971): The central effects of scopolamin in man. *Biol. Psychiatry*, 3, 347-355.
- Sara, S.J. (2000): Retrieval and Reconsolidation: Toward a Neurobiology of Remembering. *Neurobiol. Learn. Mem.*, 7, 73-84.
- Scarpini, E., Scheltens, P., und Feldman, H. (2003): Treatment of Alzheimer`s disease: current status and new perspectives. *Lancet Neurol.*, 2, 539-547.
- Schneider-Rivas, S., Rivas-Arancibia, S., Vázquez-Pereyra, F., Vázquez-Sandoval, R. und Borgonio-Pérez, G. (1995): Modulation of long-term memory and extinction responses induced by growth hormone (GH) and growth hormone releasing hormone (GHRH) in rats. *Life Sciences*, 56, 22: 433-441.

- Schwartz, S., Maquet, P. und Frith, C. (2002): Neural correlates of perceptual learning: a functional MRI study of visual texture discrimination. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 99, 17137-17142.
- Shermann, S.J., Alireza, A., Hasselmo, M.E., Chantel, E.S. und Howard, M.W. (2003): Scopolamin Impairs Human Recognition Memory: Data and Modeling, *Behavioral Neurosci.*, 117, 3, 526-539.
- Smith, C. (1995): Sleep states and memory processes. *Behav. Brain Res.*, 69, 137-145.
- Smith, C. und MacNeill, C. (1994): Impaired motor memory for a pursuit rotor task following Stage 2 sleep loss in college students. *J. sleep Res.*, 3, 206-213.
- Smith, C. und Squire LR (2005): Declarative memory, awareness and transitive inference. *J. Neurosci.*, 44, 10138-46.
- Southwick, S.M., Davis, M., Horner, B., Cahill, L., Morgan, C.A. 3rd, Gold, P.E., Bremner, J., D. und Charney, D.C. (2002): Relationship of enhanced norepinephrine activity during memory consolidation to enhanced long-term memory in humans. *Am. J. Psychiatry*, 159 (8), 1420-1422.
- Squire, L.R. (1992): Memory and the hippocampus: a synthesis from finding with rats, monkeys and humans. *Psychol. Rev.*, 99, 195-231.
- Squire, L.R. (1998): Memory systems. *C.R. Acad. Sci. III*, 321, 153-156.
- Squire, L.R. und Zola-Morgan, S. (1991): The medial temporal lobe memory system. *Science*, 253, 1380-1386.
- Steyer, R., Schwenkmezger, P., Notz, P. und Eid, M., (1994): Theoretical analysis of a multidimensional mood questionnaire (MDBF). *Diagnostica*, 40, 320-328.
- Stickgold, R. (2005): Sleep-dependent memory consolidation. *Nature*, 437, 27: 1272-1278.
- Stickgold, R., Scott, L., Rittenhouse, C. und Hobson, J.A. (1999): Sleep-induced changes in associative memory. *J. Cogn. Neurosci.*, 11, 182-193.
- Stickgold, R., Whidbee, D., Schirmer, B., Patel, V. und Hobson, J.A. (2000): Visual discrimination task improvement: a multi-step process occurring during sleep. *J. Cogn. Neurosci.*, 12, 246-254.
- Sutherland, G. R. und McNaughton, B. (2000): Memory trace reaction in hippocampal and neocortical neuronal ensembles. *Curr. Opin. Neurobiol.*, 10, 180-186.
- Tilley, A.J. and Empson, J.A. (1978): REM sleep and memory consolidation. *Biol. Psychol.*, 6, 293-300.

- Ungerleider, L.G., Doyon, J. und Karin, A. (2002): Imaging brain plasticity during motor skill learning. *Neurobiol. Learn. Mem.*, 78, 553-564.
- Van Ormer, E.B. (1932): Retention after intervals of sleep and waking. *Archives of Psychology*, 21, 1-49.
- Van Cauter, E., Leproult, R., und Kupfer, D.J. (1996): Effects of gender and age on the levels and circadian rhythmicity of plasma cortisol. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 81, 2468-2473.
- Van Cauter, E., Leproult, R., und Plat, L. (2000): Age-related changes in slow wave sleep and REM sleep and relationship with growth hormone and cortisol levels in healthy men. *JAMA* 284, 861-868.
- Wagner, U., Gais, S., Haider, H., Verleger, R. und Born, J. (2004): Sleep inspires insight. *Nature*, 427, 352-355.
- Walker, M.P., Brakefield, T., Hobson, J.A. und Stickgold, R. (2003): Dissociable stages of human memory consolidation and reconsolidation. *Nature*, 425, 616-620.
- Walker, M.P., Brakefield, T., Morgen, A., Hobson, J.A. und Stickgold, R. (2002): Practice with Sleep Makes Perfect: Sleep-Dependent Motor Skill Learning. *Neuron*, Vol. 35, 205-211.
- Walker, M.P. und Stickgold, R. (2004): Sleep-dependent learning and memory consolidation. *Neuron* 44, 121-133.
- Walker, M.P., Stickgold, R., Alsop, D., Gaab, N. und Schlaug, G. (2005): Sleep-Dependent Motor Memory Plasticity in the Human Brain. *Neurosci.*, 133, 911-917.
- Webb, W.B. (1988): An objective behavioral model of sleep. *Sleep*, 11, 488-496.
- Weitzmann, E.D., Fukushima, D., Nogueire, C., Roffwarg, H., Gallagher, T.F. und Hellman, L. (1971): Twenty-four-hour pattern of the episodic secretion of cortisol in normal subjects. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 33, 14-22.
- Weitzman, E.D., Zimmerman, J.C., Czeisler, C.A. und Ronda, J. (1983): Cortisol secretion is inhibited during sleep in normal man. *J Clin Endocrinol Metab* 56: 352-358.
- Wilhite, S. C., und Payne, D. E. (1992): Learning and memory: The basis of behaviour. *Boston: Allen and Bacon.*
- Wixted, J.T. (2004): The Psychology and Neuroscience of Forgetting. *Annu. Rev. Psychol.*, 55, 235-269.

- Wolf, O. T., Fujiwara, E., Luwinski, G., Kirschbaum, C. und Markowitsch, H. J. (2005): No morning cortisol response in patients with severe global amnesia. *Psychoneuroendocrinology*, 30, 101–105.
- Yaroush, R., Sullivan, M.J., und Ekstrand B.R., (1971): Effect of sleep on memory. II. Differential effect of the first and second half of the night. *J. Exp. Psychol.*, 88, 361-366.
- Young, J.M., Shytle, R.D., Sanberg, P.R., und George, T.P. (2001): Mecamylamine: new therapeutic uses and toxicity/risk profile. *Clin. Ther.*, 23, 532-565.
- Zola–Morgan, S. und Squire, L.R. (1993): Neuroanatomy of memory. *Neurosci.*, 16, 547-563.

7. Anhang

Testbögen (PAL)

Version A:

Macht - Herrscher
Schmetterling -Blüte
Traum – Wirklichkeit
Sprache – Akustik
Prüfung – Misserfolg
Postkutsche – Pferd
Tier – Frosch
Anforderung - Schwierigkeit
Frage – Einwand
Gras – Vieh
Anstand – Sitte
Begrüßung – Freundlichkeit
Kritik – Zweifel
Freund – Vertrauen
Gnade- Barmherzigkeit
Verlust – Abnahme
Schicksal – Ironie
Berg – Hütte
Gespenst – Erscheinung
Fass – Keller
Ehe – Verlobung
Seegang – Dampfer
Disziplin – Gehorsam
Maler – Pianist
Auswertung – Ergebnis
Verschleierung – Kopftuch
Neffe – Grossmutter
Erlösung – Himmelreich
Zuwachs – Fortschritt
Blick – Perspektive
Dämmerung – Morgengrauen
Illusion – Wahrnehmung
Komödie – Drama
Uhr – Kirche
Bungalow – Siedlung
Härte – Kraft
Kriterium – Auswahl
Tal – Wiese
Haut – Blut
Geisel – Gefangener

Version B:

Anführer – Chef
Angebot - Markt
Gedicht - Liebe
Salat – Garten
Göttin - Gebet
Moor – Sumpf
Bettler – Unglück
Begabung – Vererbung
Stirn - Kinn
Angst – Schlange
Gruppe - Versammlung
Schüler - Dozent
Betrag – Wechsel
Ergänzung – Zusatz
Musiker – Akkordeon
Ziel – Richtung
Mönch – Nonne
Labyrinth – Suche
Laune – Humor
Aufgabe – Erledigung
Zimmer – Ecke
Diamant – Gold
Genuss – Zigarre
Besessenheit – Teufel
Himmel – Firmament
Dickicht – Wald
Nagel – Metall
Fahne – Eroberung
Erforschung – Patent
Glück – Zufall
Theorie – Auswahl
Polizist – Wache
Geschichte – Entwicklung
Diener – Haltung
Schlemmer – Leckerbissen
Klippe – Abgrund
Andeutung – Verdacht
Sauerstoff – Luft
Merkmal – Detail
Verrat – Treue

Befindlichkeitsbogen (MDBF)

MDBF

Code/ Name:

Datum: Alter: Jahre

Geschlecht: w m

Instruktion

Im folgenden finden Sie eine **Liste von Wörtern, die verschiedene Stimmungen beschreiben**.

Bitte gehen Sie die Wörter der Liste nacheinander durch und kreuzen Sie bei **jedem Wort** das Kästchen an, das die **augenblickliche** Stärke Ihrer Stimmung am besten beschreibt.

Ein Beispiel:

Im Moment fühle ich mich

	überhaupt nicht				sehr	
		1	2	3	4	5
wohl		<input type="radio"/>				

Angenommen, Sie würden sich momentan äußerst wohl fühlen, dann würden Sie den Kreis unter Ziffer 5 ankreuzen

Im Moment fühle ich mich

	überhaupt nicht				sehr	
		1	2	3	4	5
wohl		<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input checked="" type="radio"/>

Bitte beachten Sie dabei folgende Punkte:

- In der Liste sind mehrere Adjektive enthalten, die möglicherweise dieselbe oder eine ähnliche Stimmung beschreiben. Lassen Sie sich dadurch nicht verwirren, und **geben Sie Ihre Antwort bei jedem Adjektiv unabhängig davon, wie Sie bei einem anderen Adjektiv geantwortet haben**.
- Beurteilen Sie nur, wie Sie sich **augenblicklich** fühlen, nicht wie Sie sich im allgemeinen oder gelegentlich fühlen.
- Wenn Ihnen die Antwort schwerfallen sollte, geben Sie die Antwort, die am **ehesten** zutrifft.

Geben Sie bitte bei **jedem** Wort ein Urteil ab und lassen Sie keines der Wörter aus.

Ethikantrag



Universität zu Lübeck

Medizinische Fakultät - Der Vorsitzende der Ethikkommission

Dekanat der Medizinischen Universität zu Lübeck
Ratzeburger Allee 160, D-23538 Lübeck

Herrn
Prof. Dr. Born
Institut für Neuroendokrinologie

im Hause

Bearbeiter: Frau Erdmann
Telefon: (0451) 500- 4639
Fax: (0451) 500- 3026
email: erdmann@zuv.mu-luebeck.de

Datum: 25.11.2003
Aktenzeichen:
(immer angeben !) 03-053

Sitzung der Ethik-Kommission am 27. Mai 2003

Antragsteller: Herr Prof. Born

Titel: Wirkung einer kombinierten zentralnervösen muscaringeren und nicotineren cholinergen Blockade auf die Gedächtniskonsolidierung

Sehr geehrter Herr Prof. Born,

der Antrag wurde unter berufsethischen, medizinisch-wissenschaftlichen und berufsrechtlichen Gesichtspunkten geprüft.

Die Kommission hat keine Bedenken.

Bei Änderung des Studiendesigns sollte der Antrag erneut vorgelegt werden. Über alle schwerwiegenden oder unerwarteten und unerwünschten Ereignisse, die während der Studie auftreten, muß die Kommission umgehend benachrichtigt werden.

Nach Abschluß des Projektes bitte ich um Übersendung eines knappen Schlussberichtes (unter Angabe unseres Aktenzeichens), aus dem der Erfolg/Misserfolg der Studie sowie Angaben darüber, ob die Studie abgebrochen oder geändert bzw. ob Regressansprüche geltend gemacht wurden, ersichtlich sind.

Die ärztliche und juristische Verantwortung des Leiters der klinischen Prüfung und der an der Prüfung teilnehmenden Ärzte bleibt entsprechend der Beratungsfunktion der Ethikkommission durch unsere Stellungnahme unberührt.

Mit freundlichem Gruß und den besten Wünschen für den weiteren Verlauf Ihrer Forschung bin ich

Ihr

Prof. Dr. phil. Dietrich von Engelhardt
Vorsitzender

anwesende Kommissionsmitglieder:

Prof. Dr. D. von Engelhardt
(Geschichte der Medizin, Vorsitzender)
Prof. Dr. F. Hohagen
(Psychiatrie)
 Prof. Dr. Dominiak
(Pharmakologie)

Frau H. Müller
(Pflege)
 Prof. Dr. Dr. H.-H. Raspe
(Sozialmedizin)
 Herr Schneider
(Vors. Richter am Landgericht Lübeck)

Herr Prof. Dr. H. L. Fehm
(Medizinische Klinik I)
 Frau Prof. Dr. M. Schrader
(Plastische Chirurgie)
Herr Dr. Schultz
(Kinder- und Jugendmedizin)
Herr D. Stojan
(Präsident des Amtsgerichtes Lübeck)

8. Danksagung

Hiermit nutze ich die Möglichkeit, mich bei meinem Doktorvater Herrn Professor Dr. Jan Born für die Überlassung des Dissertationsthemas und die Bereitstellung der Räumlichkeiten, finanziellen Mittel und Materialien zu bedanken.

Besonderer Dank gilt meinem Betreuer Björn Rasch für die Anleitung und persönliche Unterstützung.

Anja Otterbein, Dr. Stephen Gais sowie allen Mitarbeiter der Forschergruppe ein herzliches Dankeschön.

Christiane Otten möchte ich für die Auswertung der Blutproben danken.

Professor Fehm und den Mitarbeitern der Medizinischen Klinik 1 sei für die medizinische Mitbetreuung gedankt.

Ein persönlicher Dank gilt meinen Eltern, die mir das Studium und die Dissertation durch ihre Unterstützung ermöglicht haben.

Meinem Freund Philipp Hüllemann möchte ich für die verständnisvolle Unterstützung besonders danken.

9. Lebenslauf

Name Julia Katharina Gabriele Lingscheidt
Geburtsdatum 25.05.1981
Geburtsort Berlin
Anschrift Körnerstr.9
23564 Lübeck
Nationalität Deutsch

Schulbildung

1988-1992 Bischöfliche Maria-Montessorie Grundschule in Krefeld
1992-2001 Bischöfliche Maria-Montessorie Gesamtschule in Krefeld
6/2001 Abitur, am 20.06.2001

Studium

2001-2003 Studium der Humanmedizin an der Albert Szent-Györgyi Universität
Szeged, Ungarn
2003-2008 Studium der Humanmedizin an der Universität zu Lübeck
2004-2006 Famulaturen in den Fachbereichen Innere und Psychotherapeutische Medi-
zin, Psychosomatik, Chirurgie, Unfallchirurgie, Dermatologie, Neuroendo-
krinologie, Psychiatrie und Neurologie
2006-2007 PJ- Chirurgie Universitätsklinik Galle, Sri Lanka (15.08.-10.10.2006)
Universitätsklinik Hangzhou, China (11.10.-13.12.2006)
PJ- Innere Medizin Sanaklinikum Lübeck (14.12.-01.04.2007)
PJ- Neurologie Klinikum Itzehoe (02.04.-31.07.2007)

Examina

06/2003 Vorklinisches Examen (Physikum)
12/2007 Staatsexamen

Dissertationsarbeit

2003-2005 Durchführung der Versuchs Nächte
2006-2007 Verfassung der Dissertation