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

# Einfluss des Schlafes auf den Impferfolg nach Hepatitis-A-Impfung

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

vorgelegt von
Demet Efe
aus Lübeck

Lübeck 2012

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

2. Berichterstatter: Priv.-Doz. Dr. med. Michael Müller-Steinhardt

Tag der mündlichen Prüfung: 11.04.2013

Zum Druck genehmigt. Lübeck, den 11.04.2013

-Promotionskommission der Sektion Medizin-

*Meiner lieben Familie*

# *Inhaltsverzeichnis*


| | | |
|---|---|---|
| ***1.*** | ***Einleitung und Fragestellung*** | ***6*** |
| 1.1 | Schlaf | 7 |
| 1.1.1 | Schlafstadien | 8 |
| 1.2 | Immunsystem | 9 |
| 1.2.1 | Unspezifisches Abwehrsystem | 10 |
| 1.2.2 | Spezifisches Abwehrsystem | 10 |
| 1.2.3 | Zelluläre Immunität | 11 |
| 1.3 | Impfung | 14 |
| 1.4 | Hepatitis A | 15 |
| 1.5 | Studien zu Impfung und Schlaf | 15 |
| 1.6 | Fragestellung | 18 |
| ***2.*** | ***Material und Methoden*** | ***19*** |
| 2.1 | Probanden | 19 |
| 2.2 | Versuchsablauf | 20 |
| 2.3 | Aufzeichnung des Schlafes | 23 |
| 2.4 | Laborparameter | 24 |
| 2.4.1 | Durchflusszytometrie | 24 |
| 2.5 | Statistische Analyse | 25 |
| ***3.*** | ***Ergebnisse*** | ***26*** |
| 3.1 | Schlaf | 26 |
| 3.2 | Befindlichkeit nach den Impfungen | 27 |
| 3.3 | Laboranalysen | 27 |
| 3.3.1 | Hormone | 28 |
| 3.3.2 | HAV-spezifische T-Helferzellen | 29 |
| 3.3.2.1 | Schlaf steigert die HAV-spezifische T-Helferzellantwort | 29 |
| 3.3.2.2 | Schlaf und Zytokine | 31 |
| 3.3.2.3 | Tiefschlaf prognostiziert die HAV-spezifische T-Helferzellantwort | 33 |
| 3.3.2.4 | Hormonelles Milieu und HAV-spezifische T-Helferzellantwort | 34 |
| 3.3.3 | HAV-spezifische Antikörper | 35 |
| ***4.*** | ***Diskussion*** | ***38*** |
| 4.1 | Bedeutung des Schlafes | 39 |
| 4.1.1 | Hormone | 39 |
| 4.1.2 | HAV-spezifische T-Helferzellen und Antikörper | 41 |
| 4.1.3 | Schlaf als Adjuvanz | 43 |
| 4.2 | Schlaf und immunologisches Gedächtnis | 43 |

4.3 Klinische Bedeutung 44
4.4 Fragen und Antworten, Kritik und Ausblick 46

***5. Zusammenfassung 49***

5.1 Abkürzungstabelle 50

***6. Literaturverzeichnis 51***

***7. Anhang 59***
7.1 Fragebogen vor Impfung und Blutentnahme 59
7.2 Fragebogen zur Impfreaktion 60
7.3 Fragebogen zur Befindlichkeit (MDBF-Kurzform A) 62
7.4 Fragebogen zur Schlafqualität (SF-A-R) 63
7.5 Fragebogen Stanford Schläfrigkeitsskala 66
7.6 Statistik Ergebnisse 67

***8. Danksagung und Lebenslauf*** 69

# *1. Einleitung und Fragestellung*

„In vernünftigem Maße sind beide gut, das Wachen und das Schlafen“, sagte bereits Hippokrates. Dass dies eine Lebensweisheit und für unsere Gesundheit von wichtiger Bedeutung ist, wird jedem im Alltag bewusst. Die körperlichen Abwehrkräfte stehen unter anderem im Einklang mit der Dauer und Qualität des Schlafes. Jeder hat schon einmal erfahren, in welcher Weise das Schlafbedürfnis selbst bei einer leichten Erkältung steigt. Es scheint also einen wichtigen Zusammenhang zwischen der Funktion des Immunsystems und dem Schlaf zu geben. Wie funktioniert dies eigentlich? Was passiert denn eigentlich im Schlaf? Welche Vorgänge sind für die oben beschriebenen Effekte von Bedeutung?

Um diese Abläufe und Zusammenhänge besser zu verstehen, führten wir eine humanexperimentelle Studie durch, die uns die Effekte des Schlafes im Vergleich zum Schlafentzug auf das Immunsystem näher bringen soll. Hierzu untersuchten wir den Einfluss des Schlafes auf den Impferfolg nach einer Hepatitis-A-Impfung.

Bekannt ist, dass während des Schlafes die Gedächtnisbildung konsolidiert wird (Diekelmann und Born, 2010). Interessant ist es, in der vorliegenden Studie zu untersuchen, ob es während des Schlafes auch zu einer Gedächtnisbildung des Immunsystems kommt.

## *1.1 Schlaf*

Das Schlafen ist ein nach der Steuerung eines inneren Zeitgebers ablaufender Vorgang; es ist ein spezieller zirkadianer Rhythmus des Körpers (Aschoff und Wever, 1981).
Unter einem zirkadianen Rhythmus versteht man einen regelmäßig wiederkehrenden Ablauf, der sich in etwa (lat. *circa*) der Länge eines Tages (lat. *dies*) anpasst. Insbesondere die vegetativen Prozesse (z.B. Hormonausschüttung, Temperaturregelung) sowie Wachen und Schlafen unterliegen diesem zirkadianen Rhythmus. Die biologische Funktion dessen liegt in der Regeneration und Vorbereitung des Organismus auf Umweltbedingungen. Über den Hypothalamus, genauer den Nucleus suprachiasmaticus, wird der zirkadiane Rhythmus gesteuert. Über die Sinnesorgane erhält dieser Informationen über die Lichtverhältnisse und beeinflusst dementsprechend die hypophysäre Hormonsekretion und das vegetative Nervensystem (Ibata et al., 1999). Der Hypothalamus reguliert außerdem mit Hilfe der Raphekerne und des Locus coeruleus das Schlafverhalten.
Desweiteren hilft der Schlaf dem Körper, sich von der Wachphase zu erholen und die Eindrücke und Erlebnisse zentralnervös zu verarbeiten. Hierbei erfolgt auch die Konsolidierung, das heißt die Verfestigung von neuen Informationen im Gedächtnis. Dies wird durch Sekretion von Neurotransmittern und -hormonen wie zum Beispiel Acetylcholin, Noradrenalin, Serotonin oder Cortisol und bestimmte elektroenzephalographische Muster während des Tiefschlafes (SWS, slow wave sleep) und des REM-Schlafes (rapid eye movement) gewährleistet. Im Tiefschlaf wird so unter minimaler Acetylcholin-Aktivität die Reaktivierung und Umverteilung von hippocampusabhängigen Erinnerungen zum Neokortex koordiniert. Im REM-Schlaf könnte unter hoher Acetylcholin-Aktivität die anschließende Konsolidierung der Erinnerungen auf synaptischer Ebene im Kortex begünstigt werden (Born, 2010; Diekelmann und Born, 2010).
Signifikant sind die positiven Auswirkungen des Schlafes auf die Gedächtnisfunktion nach achtstündigem Nachtschlaf und nach einer Schlafdauer von ein bis zwei Stunden (Mednick et al., 2003; Tucker et al., 2006; Korman et al., 2007; Nishida und Walker, 2007). Bereits nach sechsminütigem Schlafen kann die Erinnerung verbessert werden (Lahl et al., 2008). Außerdem wirken Schlaf oder Schlafdeprivation auch über Hormonsekretion auf das Immunsystem. Zum anderen verändern Hormone aber auch

das Schlafverhalten. Zum Beispiel wird das Hormon Cortisol insbesondere morgens in der Zeit zwischen 0400 und 0800 Uhr freigesetzt und führt bei Gabe in niedrigen Konzentrationen zu vermehrtem Tiefschlaf und vermindertem REM-Schlaf (Lange, 2004).

### *1.1.1 Schlafstadien*

Mithilfe eines EEGs (Elektroenzephalogramms) können einzelne Schlafphasen abgegrenzt werden, die der gesunde Mensch während des Schlafes durchläuft (s. Abb. 1):

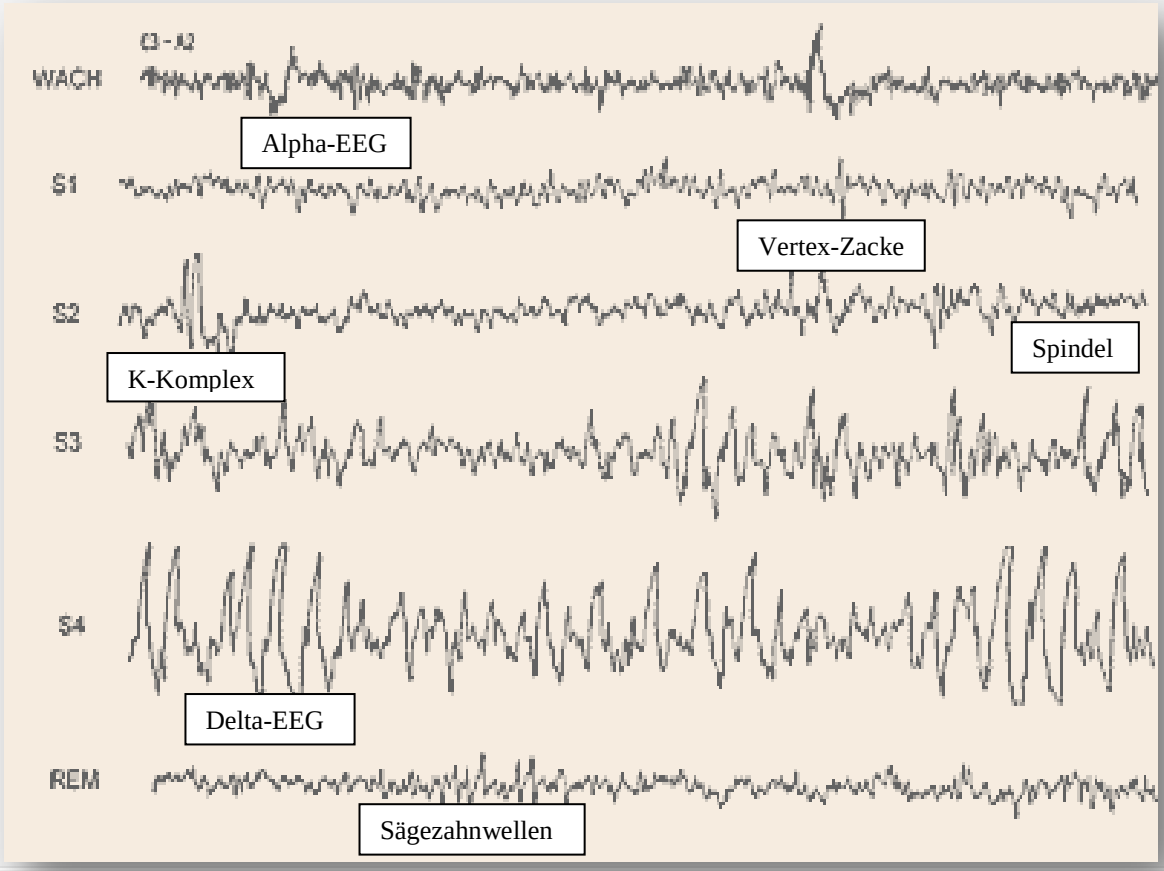


Abb. 1: Schlafstadienübersicht (aus: Rechtschaffen, Kales)

Das Stadium des entspannten Wachseins ist durch α-Wellen gekennzeichnet. Beim Schlafstadium 1 (S1), dem Übergang vom Einschlafen zum leichten Schlaf, finden sich im EEG ϑ-Wellen (4 bis 7 Hz) und Vertex-Zacken, die hohen, scharfen Zacken.

Hochfrequente ϑ -Wellen finden sich im Stadium 2 (S2), dem Stadium des leichten Schlafes. Es finden sich ebenso Schlafspindeln (als Ausdruck synchroner synaptischer Aktivität) und K-Komplexe.
Stadium 3 und 4 werden zusammen als Tiefschlaf bezeichnet. Charakteristisch sind die langsamen δ-Wellen (< 4 Hz), weshalb der Tiefschlaf auch SWS-Schlaf oder slow wave sleep genannt wird. Das Vorherrschen der δ-Wellen wird auch als slow wave activity (SWA) bezeichnet.
Alle Schlafstadien werden bei einem gesunden Schlaf drei- bis fünfmal pro Nacht durchlaufen, wobei die Schlaftiefe zum Morgen hin abnimmt. Im SWS-Schlaf wird das Wachstumshormon GH ausgeschüttet. Zugleich wird die Freisetzung der Stresshormone ACTH und Cortisol unterdrückt.
Etwa alle eineinhalb Stunden treten Schlafphasen auf, die wegen der charakteristischen schnellen Augenbewegungen REM-Phasen (rapid eye movement) heißen. Das EEG ist nun desynchronisiert, es treten β-Wellen in den Vordergrund. Während des REM-Schlafs ist der Proband beinahe genauso schwer zu wecken wie in der Tiefschlafphase; das EEG hingegen zeigt Charakteristika eines Wach- oder Einschlaf-EEGs. Daher spricht man auch von einem paradoxen oder desynchronisierten Schlaf.

## *1.2 Das Immunsystem*

Man unterscheidet das spezifische von dem unspezifischen Immun- bzw. Abwehrsystem. Die unspezifische Abwehr dient der allgemeinen Verteidigung gegen eine Vielzahl von Krankheitserregern. Die spezifische dagegen erkennt selektiv die Oberflächenstruktur von Erregern und kann dadurch spezifischer reagieren. Sie verfügt zudem über ein physiologisches Gedächtnis. Ein besonderes Phänomen der Natur ist dabei der Nestschutz bei Neugeborenen. Dabei handelt es sich um von der Mutter auf das Kind übertragene Antikörper. Bei körperlich reifen Neugeborenen werden vor der Geburt mütterliche IgG-Antikörper über die Plazenta auf das Kind übertragen und bewirken für dieses einen gewissen Schutz. Im Verlauf der nächsten vier Monate in etwa kommt es zum Abbau der mütterlichen Antikörper, und das Kind beginnt selbst Antikörper gegen die Abwehr von Krankheitserregern zu entwickeln. Der sogenannte

enterale Nestschutz entsteht bei gestillten Kindern durch die Übertragung von IgA-Antikörpern aus dem Kolostrum und der Muttermilch.

### *1.2.1 Unspezifisches Abwehrsystem*

Hauptträger der unspezifischen zellulären Abwehr sind Granulozyten und Makrophagen (Monozyten). Beide gehören zu der Gruppe der Leukozyten. Die humoralen (Antikörper vermittelten) Anteile des unspezifischen Abwehrsystems werden durch Komplementsystem, Lysozym und C-reaktives Protein bestimmt. Die Leukozyten stammen (wie die Erythro- und Thrombozyten) von pluripotenten hämatopoetischen Stammzellen des Knochenmarks ab. Zwischen 25 und 40% der Leukozyten sind Lymphozyten. Sie haben ihren Ursprungsort ebenso im Knochenmark, ihre Reifung in den sekundären lymphatischen Organen (Lymphknoten, Tonsillen, Peyer-Plaques, Appendix, Milz, Thymus) und auch im Knochenmark selbst. Diese sind überwiegend für die spezifische Abwehr verantwortlich. Dieser größere Anteil der Lymphozyten wird nach der Oberflächenstruktur und Funktion in T- und B-Lymphozyten unterteilt.
B-Lymphozyten (B-Zellen) bilden Antikörper. Die T-Lymphozyten dienen der Steuerung dieser Antikörpersynthese sowie der direkten zellulären Immunabwehr.
Eine Subpopulation der Lymphozyten wird jedoch zum unspezifischen Abwehrsystem gerechnet, da sie nicht wie die T- oder B-Lymphozyten über antigenspezifische Rezeptoren verfügen. Diese Zellen werden als NK-Zellen, natürliche Killerzellen, bezeichnet und greifen vorwiegend Tumorzellen oder mit Viren infizierte Zellen an ohne auf die Hilfe von Antikörpern angewiesen zu sein.

### *1.2.2 Spezifisches Abwehrsystem*

Bei der spezifischen Immunreaktion werden Antikörper gegen die Oberflächenstruktur von Fremdstoffen, den sogenannten Antigenen, gebildet. Der Antikörper kann mit dem Antigen ein Antikörper-Antigen-Komplex bilden, das somit wiederum unschädlich gemacht werden kann. Bei erneutem Kontakt mit einem bekannten Antigen reagiert das Immunsystem durch die Wiedererkennung stärker und rascher als beim Primärkontakt. Immunität kann demnach durch Kontakt mit Antigenen erworben werden. Deshalb werden die meisten sogenannten Kinderkrankheiten im Leben nur einmal

durchgemacht. Bei einem zweiten Kontakt mit dem Krankheitserreger verhindert das immunologische Gedächtnis eine Zweitinfektion.
Als immun wird ein Organismus bezeichnet, der in der Lage ist, mit einem Antigen ohne pathologische Reaktion fertig zu werden.

### *1.2.3 Zelluläre Immunität*

Die T-Lymphozyten sind die Träger der zellulären Immunität. Sie tragen auf ihrer Oberfläche einen Antigenrezeptor und erkennen die Antigene erst, nachdem diese von Makrophagen verarbeitet und ihnen präsentiert werden. Deshalb werden die Makrophagen auch als antigenpräsentierende Zellen (APC) bezeichnet. Einige dieser T-Zellen persistieren im Körper und fungieren bei erneutem Kontakt mit dem Antigen noch Jahre später als T-Helfer-Gedächtniszellen für die sekundäre Immunantwort.
Nach ihrer Funktion können drei Gruppen von T-Zellen unterschieden werden:
Die zytotoxischen $T_c$-Lymphozyten erkennen körperfremde Antigene, die ihnen von Makrophagen präsentiert werden. Die wichtigste Aufgabe dieser $T_c$-Zellen ist die Elimination von viral infizierten Zellen. Sie tragen das Oberflächenprotein CD8 (Cluster of Differentiation).
Die T-Helferzellen unterstützen jeweils die zellvermittelte ($T_{H1}$-Zellen) und die humorale ($T_{H2}$-Zellen) Immunantwort. Das von ihnen exprimierte Oberflächenprotein ist CD4. Durch diese Oberflächenproteine ist es den T-Lymphozyten möglich, ihre Zielzelle zu erkennen.
T-Suppressorzellen sind in der Lage die Immunantwort gegen Antigene zu unterdrücken. Es folgt eine Immuntoleranz durch Hemmung der Aktivität von T- und B-Zellen. Dadurch kann eine überschießende Immunantwort gegen Fremdantigene verhindert werden.

Die B-Lymphozyten hingegen sind für die humorale (Antikörper vermittelte) spezifische Abwehr verantwortlich. Dabei exprimieren B-Zellen den von ihnen produzierten Antikörper auf der Zelloberfläche als Antigenrezeptor. Wenn ein passendes Antigen an diesen Antigenrezeptor bindet, werden Antigen und Rezeptor zusammen in die B-Zelle aufgenommen, wodurch diese zur Reifung und Proliferation

stimuliert wird. Ein Teil dieser antigenstimulierten B-Zellen wandelt sich zu Plasmazellen um, die für die weitere Produktion von Antikörpern verantwortlich sind. Auch bei den B-Zellen wandelt sich ein Teil der stimulierten Zellen nach Antigenkontakt in Gedächtniszellen um.

Charakteristische Oberflächenstrukturen von Zellen können auch antigen wirksam sein; diese Oberflächenstrukturen werden als Histokompatibilitätsantigene bezeichnet und werden durch einen speziellen Genkomplex kodiert, den major histocompatibility complex, und daher auch als MHC-Antigene, beim Menschen auch als HLA-System (human leucocyte antigens), bezeichnet. Wichtig für das Immunsystem sind die Klassen MHC-I und -II. MHC-II finden sich vorwiegend auf der Oberfläche von Phagozyten und B-Lymphozyten. Zur Antigen-Präsentation nehmen die Makrophagen das Antigen zunächst über Phagozytose auf und zerlegen es in Peptidfragmente. Diese Peptidfragmente gelangen zusammen mit den MHC-II-Antigenen an die Zelloberfläche der Makrophagen. Hierdurch werden die T-Helferzellen aktiviert. Antigene, die in Verbindung mit einem MHC-I-Antigen präsentiert werden, werden wiederum von den zytotoxischen $T_c$-Lymphozyten erkannt und unschädlich gemacht.

Eine weitere wichtige Gruppe der zellulären Immunität bilden die Zytokine. In Tabelle 1 sind die wichtigsten Zytokine und ihre Funktionen dargestellt. Zytokine sind Peptidhormone, die die Aktivierung, Proliferation und Differenzierung von Zellen regulieren. Von großer Bedeutung für immunologische Prozesse sind hierbei die Interferone und Interleukine. Interferone veranlassen Zellen Proteine zu bilden, die sie gegen virale Infektionen widerstandsfähiger machen. Die Interferone IFN-α/-β/-ɤ werden von Leukozyten (insbesondere von Monozyten und Makrophagen) gebildet und haben eine immunstimulierende, vor allem antivirale und antitumorale Wirkung. Daher werden sie auch als Arzneistoffe eingesetzt, insbesondere zur Behandlung der durch Viren ausgelösten chronischen Hepatitis. Interleukine (*inter*, lat., zwischen; *leukos*, lat., weiß) vermitteln die Kommunikation der Leukozyten untereinander, um so koordiniert Krankheitserreger oder auch Tumorzellen zu bekämpfen.
Die Zytokine sind über ihre Rezeptoren auch an der Regulation zentralnervöser Vorgänge beteiligt und können die Sekretion von Neurotransmittern, die zum Beispiel

ein Müdigkeits- oder Wachheitsgefühl hervorrufen, veranlassen oder unterdrücken (Lange, 2004).

Tabelle 1: Zytokine und ihre Wirkungen (modifiziert nach Lange, 2004)

| Zytokin | Herkunft | Funktion |
|---|---|---|
| IFN-γ | TH1-Lymphozyten,<br>zytotoxische T-Lymphozyten,<br>natürliche Killerzellen | Aktivierung von Makrophagen, natürlichen Killerzellen,<br>Proliferation und Differenzierung von TH1-Lymphozyten,<br>Inhibition von TH2-Lymphozyten,<br>Stimulation der MHC-I- und -II-Expression,<br>antiviral<br>proinflammatorisch |
| TNF-α | Makrophagen,<br>B-Lymphozyten,<br>T-Lymphozyten,<br>natürliche Killerzellen | Stimulation von Makrophagen, Endothelzellen,<br>Mobilisierung von Dendritischen Zellen,<br>Apoptoseinduktion,<br>Induktion von Fieber,<br>Erhöhung der Gefäßpermeabilität,<br>Anorexie<br>Proinflammatorisch |
| IL-2 | aktivierte T-Lymphozyten | Proliferation und Differenzierung von B-, TH1-, TH2-Lymphozyten, natürlichen Killerzellen<br>Proinflammatorisch |
| IL-4 | TH2-Lymphozyten,<br>Makrophagen | Inhibition von TH1-Lymphozyten,<br>Stimulation von B-Lymphozyten |
| IL-10 | TH2-Lymphozyten,<br>Makrophagen | Inhibition von Makrophagen, TH1-, TH2-Lymphozyten<br>Antiinflammatorisch |
| IL-12 | antigenpräsentierende Zellen,<br>natürliche Killerzellen,<br>CD4+-T-Lymphozyten | Proliferation und Differenzierung von TH1-Lymphozyten,<br>Stimulation von natürlichen Killerzellen<br>Proinflammatorisch |

Legende:
CD cluster of differentiation (Unterscheidungsgruppen)
IFN-γ Interferon γ

IL Interleukin
MHC major histocompatibility complex (Haupthistokompatibilitätskomplex)
TH T-Helferzelle
TNF-α Tumornekrosefaktor α

## *1.3 Impfung*

In Europa war es der englische Landarzt Edward Jenner, der im 18. Jahrhundert beobachtete, dass Kuhmelker gegenüber den Pocken auffallenderweise immun waren. Er „vakzinierte“ (*vacca*, lat., die Kuh) Impflinge, indem er Bläscheninhalt von Pockenerkrankten in die Haut der Impflinge inokulierte. Als Probe aufs Exempel inokulierte er dann sechs Wochen später diesen Impflingen Pockensekret, welches sie überlebten. Somit setzte Jenner einen Meilenstein in der systematischen Bekämpfung von Infektionskrankheiten durch präventative Immunisierung.

Es gibt unterschiedliche Formen einer Immunisierung. Zu unterscheiden ist die aktive von der passiven. Die aktive Immunisierung beruht auf dem Prinzip der erworbenen Immunität. Bei einer Impfung wird dem Organismus eine geringe, unschädliche Menge eines Antigens appliziert. Dabei sind die Antigene so verändert, dass sie den Organismus nicht mehr schädigen können (es werden zum Beispiel in ihrer Virulenz abgeschwächte Mikroorganismen verwendet). Somit wird eine Primärreaktion hervorgerufen, wodurch Gedächtniszellen gebildet werden, sodass es bei erneutem Kontakt mit jenem Erreger zu einer schnelleren und stärkeren Immunantwort kommt. Genauer gesagt werden die Antigene durch antigenpräsentierende Zellen zunächst aufgenommen. Dann bilden die antigenpräsentierenden Zellen mit T-Helferzellen in den lymphatischen Organen wie Lymphknoten und Milz eine sogenannte immunologische Synapse. Diese ist für den Transfer von Antigeninformation in den Langzeitspeicher von antigenspezifischen T- und B-Lymphozyten zuständig (Lanzavecchia und Sallusto, 2000; Steinman, 2004; Pulendran und Ahmed, 2006). Diese gebildeten immunologischen Gedächtniszellen tragen dann bei einem erneuten Kontakt mit dem obigen Antigen zu einer Beschleunigung der Immunreaktion bei.

Im Unterschied dazu wird bei der passiven Immunisierung ein Antiserum zugeführt, das bereits die Antikörper gegen das jeweilige Antigen enthält, sodass der Organismus diese

nicht selbst bilden muss. Dabei handelt es sich weitestgehend um Antikörperpräparate vom Immunglobulin G (IgG), die entweder vom Menschen (homolog) oder vom Tier (heterolog) stammen. Diese Art der Immunisierung führt zu einer schnelleren Immunität, die jedoch nicht bleibend ist, da keine Gedächtniszellen gebildet werden.

## *1.4 Hepatitis A*

Die Hepatitis A ist eine akute virale Infektionskrankheit, die im Gegensatz zur Hepatitis B vorwiegend direkt von Mensch zu Mensch durch fäkal-orale Schmierinfektion oder indirekt über kontaminierte Nahrungsmittel (kontaminiertes Obst, Meeresfrüchte u.a.) übertragen wird. Das Hepatitis-A-Virus (HAV) gehört zu den Picorna-Viren und lässt sich problemlos in Zellkulturen züchten. Nach oraler Aufnahme vermehren sich die Viren im Gastrointestinaltrakt und schließlich in den Hepatozyten. Je nach Ausmaß der Leberzellschädigung kommt es nach einer Inkubationszeit von zwei bis sechs Wochen zu den Symptomen Übelkeit und Erbrechen, Abdominalschmerzen und Ikterus. Eine kausale Therapie der Hepatitis A ist nicht möglich, sie kann lediglich symptomatisch behandelt werden. Umso wichtiger ist daher bei Reisen in Endemiegebiete (wie Osteuropa, Afrika, Asien, Süd- und Mittelamerika) oder Tätigkeit in Kliniken oder anderen Gesundheitseinrichtungen eine aktive Immunisierung. Schon zwei Wochen nach der ersten HAV-Impfung zeigen die Impflinge eine nahezu 100%ige Serokonversion (anti-HAV-IgG). Die nach sechs Monaten folgende Booster-Impfung führt zur Konsolidierung des Impfschutzes. Nach Impfempfehlungen der Ständigen Impfkommission (STIKO) am Robert-Koch-Institut (Stand: September 2011) handelt es sich bei der HAV-Impfung um eine Indikationsimpfung bei Reisen in Endemiegebiete oder eine beruflich bedingte Indikationsimpfung. Die Grundimmunisierung und Auffrischimpfung erfolgt nach Angaben des Herstellers in der Regel alle zehn Jahre.

## *1.5 Studien zu Impfung und Schlaf*

Im Jahre 1989 untersuchten Brown et al. in einer Studie die Immunantwort auf das Influenza-Virus im Respirationstrakt nach Schlafdeprivation bei Mäusen. Hierzu immunisierten sie die Mäuse mit dem Influenza-Virus im Abstand von einer Woche zweimal oral und eine Woche später intranasal. Einige dieser Mäuse wurden dann

unmittelbar nach Antigenexposition für sieben Stunden wach gehalten. Jedoch war das Ergebnis bei beiden Gruppen ähnlich, unabhängig vom Schlaf. Es gab bei beiden keinen Unterschied bei der Viruselimination. Das Fazit war daher, dass die Schlafdeprivation anscheinend keinen direkten Einfluss auf die virale Replikation hat, der Schlaf hingegen aber für die optimale Funktion des immunologischen Gedächtnisses eine Rolle spielt (Brown et al., 1989).

Etwa zehn Jahre später führten Renegar et al. eine ähnliche Studie durch. Immunisierte Mäuse wurden einem Virus (gegenüber welchem sie immun waren) ausgesetzt und wurden anschließend sieben Stunden lang wach gehalten. Das Ergebnis war eine IgG-Suppression im Serum, sodass man annahm, die Schlafdeprivation sei ein Beschleuniger des influenzaspezifischen Antikörperkatabolismus. Anschließend wurden den Mäusen monoklonale influenzaspezifische IgG-Antikörper zugeführt. Danach wurden die Mäuse einer einmaligen neunstündigen oder einer neun- und am Folgetag sechsstündigen Schlafdeprivation ausgesetzt. Erstaunlicherweise konnten hierbei signifikant erhöhte IgG-Konzentrationen in den ersten zwei Tagen nach zweimaliger Schlafdeprivation ($p = 0.02$) nachgewiesen werden. Die einmalige Schlafdeprivation hingegen hatte lediglich geringe Auswirkungen auf den IgG-Katabolismus. Somit widerspricht diese Studie der Annahme, dass durch Schlafdeprivation der vorhandene Antikörpertiter im Serum von Mäusen durch die Beschleunigung des Antikörperkatabolismus gesenkt werden kann (Renegar et al., 1998a). In dieser genannten Studie untersuchten Renegar et al. also die Immunantwort wenige Tage nach Antigenexposition und anschließender Schafdeprivation bei vorhandener Immunität.

Eine weitere Studie am Menschen untersuchte die Schlafdeprivation in Bezug auf den Erfolg von Influenzaimpfungen. Es nahmen 25 junge, gesunde Männern mit einem durchschnittlichen Alter von 23 Jahren an der Studie teil. Sie wurden in zwei Gruppen eingeteilt, von der eine Gruppe (elf Probanden) sechs Nächte nur zwischen 0100 und 0500 Uhr morgens und in den folgenden sieben Nächten jeweils zwölf Stunden zur Erholung schlafen durfte. Die Impfung wurde den Probanden nach der vierten vierstündigen Nacht zwischen 0900 und 1000 Uhr morgens verabreicht.

Die zweite Gruppe (14 Probanden) durfte ihren bisherigen normalen Schlaf-Wach-Rhythmus beibehalten und erhielt ihre Impfungen entsprechend der ersten Gruppe am Morgen. Innerhalb der so genannten Log-Phase, in der der Antikörpertiter logarithmisch

ansteigt, zeigte sich bei den schlafdeprivierten Probanden (erste Gruppe) bereits zehn Tage nach der Impfung ein um mehr als die Hälfte geringerer Antikörpertiter als bei der Kontrollgruppe, die ihren normalen Schlaf-Wach-Rhythmus beibehalten durfte. In der folgenden Titerbestimmung, die 21 bis 30 Tage nach der Impfung erfolgte und somit in die sogenannte Plateau-Phase fällt und in der sich der Antikörpertiter stabilisiert, ergab keine weitere Signifikanz für eine der beiden Gruppen. Mithilfe der Varianzanalyse konnte ein signifikanter Effekt der Schlafdauer auf den Antikörpertiter veranschaulicht werden ($p = 0.04$). Demnach konnte (trotz der folgenden längeren Erholungsphase) eine Beeinträchtigung der Antikörperantwort während der Log-Phase der Antikörpersynthese durch Schlafdeprivation nachgewiesen werden. Fazit ist, dass eine adäquate Schlafdauer auch für eine adäquate Immunisierung eine entscheidende Rolle spielt (McGlone und Arden, 1987; Spiegel et al., 2002).

In einer Studie aus dem Jahr 2003 konnten Lange et al. nachweisen, dass Schlaf die Antikörperantwort auf eine Hepatitis-A-Impfung fördern kann. Dafür wurden neun gesunde Männer und zehn gesunde Frauen (ohne vorangegangene Hepatitis-A-Infektion oder -Impfung), im Alter zwischen 20 und 35 Jahren, je zur Hälfte (randomisiert) zwei Gruppen zugeordnet, wovon die eine Gruppe in der Nacht nach der Impfung mit inaktiviertem Hepatitis-A-Virus (die um 0900 Uhr morgens erfolgte) einem regulären Schlaf-Wach-Rhythmus folgen und somit nachts ab 2100 schlafen durfte. Die andere Gruppe musste nachts wach bleiben und durfte sich nicht vor 2100 Uhr am folgenden Tag schlafen legen. Im Anschluss erfolgten bis 28 Tage nach der Impfung Blutentnahmen, um den Hepatitis-A-Virus-(HAV)-Antikörpertiter zu messen. Neben dem Antikörpertiter wurden auch weitere Hormone (wie zum Beispiel Cortisol, Prolaktin und GH) bestimmt.

Diejenigen Probanden, die nach der Impfung schlafen durften, hatten nach einer Zeit von vier Wochen einen beinahe doppelt so hohen HAV-Antikörpertiter ($p = 0.018$) als die Wachprobanden. Die Konzentrationen der immunstimulierenden Hormone GH und Prolaktin waren bei den Schlafprobanden ebenfalls erhöht ($p \leq 0.01$).

Die Konzentrationen von Noradrenalin und Adrenalin war bei den Schlafprobanden jedoch erniedrigt ($p \leq 0.02$). Bei den Leukozyten war die Differenz sehr gering. Als Fazit dieser Studie lässt sich somit sagen, dass der Schlaf die antigenspezifische

Immunabwehr nach Hepatitis-A-Impfung unterstützt, indem er den Anstieg des HAV-spezifischen Antikörpertiters beeinflusst. Es wird vermutet, dies werde durch ein verändertes Hormonmilieu in den sekundären lymphatischen Geweben ermöglicht, welches die Lymphozytenproliferation und -differenzierung und dadurch die Antikörpersynthese stimuliert haben könnte (Lange et al., 2003).

## *1.6 Fragestellung*

Auf der soeben dargestellten Studie von Lange et al. (2003) aufbauend soll in der vorliegenden Studie der Effekt repliziert und über einen längeren Zeitraum (bis Woche 52 nach erster Impfung) untersucht werden. Darüber hinausgehend sollen die zugrunde liegenden Mechanismen des Effekts untersucht werden, wie der Einfluss der Schlafstadien und des hormonellen Milieus.
Man könnte zusätzlich vermuten, dass es -wie bei der Gedächtnisbildung während des Schlafes (Diekelmann und Born, 2010)- zu einer Gedächtnisbildung des Immunsystems kommen könnte. Ein solcher Effekt müsste dann in den T-Helferzellen sichtbar sein.

Die vorliegende Studie möchte zeigen, dass durch Schlaf (im Gegensatz zur Schlafdeprivation) die Hepatitis-A-Impfung und die somit provozierte Immunantwort unterstützt werden, sodass der Schlaf die Bildung eines immunologischen Langzeitgedächtnisses gewährleistet, indem es die Bildung antigenspezifischer T-Helferzellen und Antikörper fördert.
Folgende Fragen sollen hierbei gestellt und behandelt werden:

*Welche Auswirkungen hat Schlaf bzw. Schlafentzug nach einer Hepatitis-A-Impfung auf immunologische Parameter wie Antikörper und T-Helferzellen?*

*Gibt es ein bestimmtes Schlafstadium, das für die Immunantwort von wichtiger Bedeutung ist?*

*Beeinflusst der Schlaf die Hormonsekretion?*

*Sind Hormone wiederum an Immunprozessen beteiligt?*

# 2. Material und Methoden

## 2.1 Probanden

An dieser Studie nahmen 27 junge, gesunde Männer im Alter zwischen 18 und 35 Jahren teil (Durchschnittsalter ± des jeweiligen Standardfehlers des Mittelwertes: 26.1 ± 0.7 Jahre, $p > 0.5$).

Die Probanden waren Nichtraucher, nahmen zur Zeit der Studie keine Medikamente ein und litten nicht unter Schlafstörungen bzw. führten keine Schichtarbeit aus. Mindestens sechs Wochen vor Beginn der Studie bestand ein regelmäßiger Schlaf-Wach-Rhythmus.

Durch eingehende Anamnese und ein Routinelabor konnten wir akute und chronische Erkrankungen, insbesondere Infektionen, Malignome und immunologische sowie zentralnervöse Störungen ausschließen.

Außerdem konnte ein naiver Immunstatus in Bezug auf das Hepatitis-A/B-Virus dokumentiert werden, sowohl anamnestisch (Impfausweis) als auch durch eine Laboranalyse.

Die Zuordnung zur Schlafbedingung (schlafen zwischen 2300 und 0630 Uhr) oder 24-stündigen Wachbedingung (wach bleiben bis 2000 Uhr des Folgetages) erfolgte randomisiert. Die Gruppen setzten sich aus n = 13 Schlaf- und n = 19 Wachprobanden zusammen. Einmal in diese Gruppe (Schlaf oder Wach) eingeteilt, wurde der Proband zu jeder der drei Versuchsnächte nach den Impfungen jeweils wieder der selben Bedingung zugeteilt, ohne dies jedoch vorab zu wissen bzw. sich darauf einstellen zu können. Die Probanden wurden erst um 2200 Uhr der Versuchsnacht informiert, welcher Bedingung sie ausgesetzt waren.

Alle Probanden verbrachten eine Eingewöhnungsnacht im Schlaflabor, in der wir ihnen wie in den folgenden Versuchsnächten eine Venenverweilkanüle legten und acht Elektroden für die polysomnographische Ableitung auf den Kopf positionierten.

Vor Versuchsbeginn wurden die Teilnehmer über das Ziel der Studie aufgeklärt und gaben ihr schriftliches Einverständnis.

Die Studie wurde von der Ethikkommission der Universität zu Lübeck mit dem Aktenzeichen 07-015 am 22.02.2007 genehmigt.

Drei Probanden konnten aus privaten Gründen nach der zweiten und zwei weitere nach der dritten Impfung nicht mehr an der Studie teilnehmen. Für eine (vorab nicht

geplante) Nachuntersuchung nach einem Jahr stellten sich 12 der Probanden zur Verfügung.

Weibliche Probanden durften an der Studie nicht teilnehmen, um den weiblichen Zyklus als möglichen Störfaktor auf die Immunantwort und den Hormonhaushalt zu umgehen.

## *2.2 Versuchsablauf*

Im Verlauf der Studie nahm jeder Proband an einer anamnestischen und laboranalytischen Voruntersuchung, einer Eingewöhnungsnacht und drei Impfungen gegen Hepatitis-A/B-Virus mit anschließenden Versuchsnächten und insgesamt dreizehn Blutabnahmeterminen über mehrere Wochen hinweg teil. Der zeitliche Ablauf wird in Abb. 2 veranschaulicht.

Die Impfungen fanden in den Wochen 0, 8 und 16 morgens statt, und am jeweiligen Abend folgte die Versuchsnacht. Die Blutentnahmen fanden unmittelbar vor, 1, 2 und 4 Wochen nach jeder Impfung und schließlich ein Jahr nach der ersten Impfung jeweils morgens um 0800 Uhr statt (das heißt in den Wochen 0, 1, 2, 4, 8, 9, 10, 12, 16, 17, 18, 20 und 52 nach der ersten Impfung).

Anhand der unmittelbar vor den Impfungen, 1, 2 und 4 Wochen nach jeder Impfung und 1 Jahr nach der ersten Impfung entnommenen Blutproben wurde die antigenspezifische T-Helferzellantwort bestimmt. Der Antikörpertiter wurde alle 4 Wochen und 1 Jahr nach der ersten Impfung gemessen. Während der Versuchsnächte erfolgten alle 1,5 Stunden insgesamt sieben Blutentnahmen, die der Hormonanalyse dienten.

Abb. 2: Zeitpunkte der Impfungen und Blutentnahmen

Als Impfstoff wurde Twinrix® (GlaxoSmithKline Biologicals, Rixensart, Belgien), wobei es sich um eine Kombination aus Hepatitis-A/B-Impfstoff handelt, intramuskulär in den M. deltoideus durch einen Arzt injiziert. Zu jeder Impfung mussten die Probanden mehrere Fragebögen ausfüllen. Befragt wurden sie über Schlafgewohnheiten, Stressoren, Störfaktoren und Infektionen.

So wurden die Probanden aus beiden Gruppen jeweils erstmalig im Februar oder März 2007 und zuletzt im Juni oder Juli 2007 geimpft. Die Blutentnahmen erfolgten jeweils um 0730 Uhr, die Impfung um 0800 Uhr. Vorher füllten die Probanden noch den „Fragebogen vor Impfung und Blutentnahme“ (Anhang 7.1) aus.

Je einen Tag vor und zwei Tage nach der Impfung mussten die Probanden auf Sport, körperliche Anstrengung und koffeinhaltige Getränke verzichten. Am Abend nach der Impfung mussten die Probanden ab 2000 Uhr nüchtern bleiben.

Um 2100 Uhr desselben Tages erschienen die Probanden dann wieder im Institut. Pro Versuchsnacht wurden immer ein Schlaf- und ein Wachproband parallel untersucht. Ihnen wurde zunächst ein Venenkatheter mit einer langsamen, kontinuierlichen 500ml Kochsalz-Infusion (NaCl 0.9%-Lösung) gelegt, um eine Blutkoagulation innerhalb des Venenkatheters zu verhindern. Als nächstes wurden zur polysomnographischen Ableitung die acht Elektroden am Kopf der Probanden positioniert (siehe Abb. 4).

Um 2230 Uhr mussten die Probanden aus der Gruppe mit der Schlafbedingung ins Bett gehen. Nun mussten in der Nacht die sieben Blutentnahmen erfolgen ohne den Probanden zu wecken. Hierzu gab es im Raum des Schlafprobanden einen winzigen Durchbruch in der Wand zum Flur, worüber mithilfe eines dünnen Verlängerungsschlauches zum intravenösen Katheter Blut entnommen werden konnte. Dies wurde in den meisten Fällen von den Probanden nicht bemerkt, sodass der Schlaf weitgehend ungestört blieb.

Der Wachproband musste in einem anderen Raum auf einer Liege halbsitzend die ganze Nacht wach bleiben. Hierzu durfte er Fernsehen, Lesen, Musik hören oder sich mit dem Versuchsleiter unterhalten.

Um 2245 Uhr bestimmten wir bei den Probanden die Vitalparameter Blutdruck, Puls und Temperatur. Dann mussten die Probanden noch die Fragebögen Stanford Schläfrigkeitsskala (Anhang 7.5) und den Fragebogen zur Befindlichkeit MDBF-Kurzform A (Anhang 7.3) ausfüllen. Der Fragebogen Stanford Schläfrigkeitsskala

diente dabei zur Einschätzung des jeweiligen Grades der Wachheit. Der Fragebogen MDBF-Kurzform A erfragt die aktuelle psychische Befindlichkeit.

Um 2300 Uhr erfolgte die erste nächtliche Blutentnahme bei beiden Probanden, und das Licht im Raum des Schlafprobanden wurde ausgeschaltet. Parallel wurden die einzelnen Schlafstadien polysomnographisch aufgezeichnet.

Zu festgelegten Zeitpunkten erfolgte während der Nacht jeweils die zweite Blutentnahme um 0030 Uhr, die dritte um 0200 Uhr, die vierte um 0330 Uhr, die fünfte um 0500 Uhr und die sechste Blutentnahme um 0630 Uhr. Die Blutproben wurden jeweils sofort nach der Entnahme zentrifugiert und in jeweils zehn dementsprechend beschriftete Eppendorfgefäße eingebracht, sortiert und für die spätere Laboranalyse bei -70 °C tiefgefroren gelagert.

Während der Nacht bekamen die Wachprobanden zweimal, und zwar nach der zweiten und der vierten Blutentnahme, eine kleine aus zehn Getreide-Kräckern bestehende Mahlzeit.

Morgens um 0645 Uhr wurden dann die Schlafprobanden geweckt. Um 0700 Uhr wurde dann schließlich die siebte Blutentnahme durchgeführt.

Es wurden erneut die Vitalparameter wie in der Nacht zuvor gemessen und anschließend erhielten die Probanden wieder die Fragebögen Stanford Schläfrigkeitsskala (Anhang 7.5), MDBF-Kurzform A (Anhang 7.3) und die Schlafprobanden zusätzlich den SF-A-R-Fragebogen (Anhang 7.4) zum sofortigen Ausfüllen. Letzterer beinhaltet Fragen bezüglich der derzeitigen Verfassung und der Schlafqualität des Probanden, um zu dokumentieren, dass sich alle Probanden während der Versuche in einem ähnlich ausgeglichenen Gemütszustand befinden.

Bevor die Probanden morgens um 0730 Uhr verabschiedet wurden, wurden ihnen Fragebögen zur Impfreaktion (Anhang 7.2), SF-A-R (Anhang 7.4) und ein Terminplan für die folgenden Impfungen und Blutentnahmen mitgegeben. Die Wachprobanden mussten nun bis 2000 Uhr desselben Tages wach bleiben. Mithilfe einer Actiwatch® (Cambridge Technology, Cambridge, UK) wurde die Aktivität der Probanden während der Wachperiode in den folgenden zwei Tagen nach der Impfung aufgezeichnet. Der Fragebogen zur Impfreaktion, der Fragen zu Aktivitäten, Stress, Körperkerntemperatur und anderen potenziellen Störfaktoren enthält, musste bis sieben Tage nach der Versuchsnacht ausgefüllt werden.

## *2.3 Aufzeichnung des Schlafes*

Die Aufzeichnung des Schlafes oder auch Polysomnographie erfolgte nach dem modifizierten Standardverfahren von Rechtschaffen und Kales aus dem Jahre 1968 mittels Silber-Silberchlorid-Elektroden (Rechtschaffen und Kales, 1968). Die Positionierung der Elektroden wird in Abbildung 3 dargestellt. Die Referenzelektrode wurde auf dem seitlichen Nasenrücken, die der unipolaren Ableitung dienenden zwei EEG-Elektroden wurden auf der Schädelkalotte (C3, C4) positioniert.

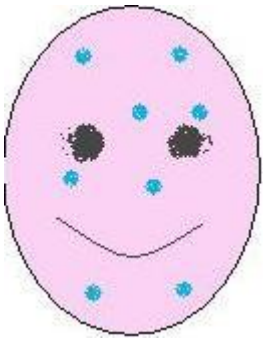

Abb. 3: Positionen der Elektroden

Außerdem wurde ein Elektrookulogramm (EOG) angelegt; die beiden Elektroden wurden diagonal zur Augenlinie positioniert. Ebenso wurde eine Elektromyographie (EMG) durchgeführt, wofür zwei elektromyographische Elektroden direkt unterhalb der Mundwinkel im Bereich des seitlichen M. orbicularis oris symmetrisch positioniert wurden. Die Elektromyographie zeichnet Bewegungsartefakte (MA = movement arousal) auf und kennzeichnet REM-Schlafphasen, während welcher eine sehr geringe Aktivität im EMG charakteristisch ist.

Zur Aufzeichnung und Illustration der elektrisch abgeleiteten Daten dienten neben einem Computer das Programm Brain Vision Recorder® der Firma Brain Products (Gilching, Deutschland) und der Verstärker Brain-Amps®. Die polysomnographische Aufzeichnung wurde nach den Kriterien von Rechtschaffen und Kales ausgewertet. Die Daten wurden in dem Programm Schlaf-Aus® (Gais, 2005) gespeichert. Eine Beispielabbildung zu den Schlafstadien wurde in der Einleitung (Abb. 1) dargestellt.

## *2.4 Laborparameter*

Wie bereits beschrieben wurden die HAV-antigenspezifischen Antikörpertiter, T-Zellen und Hormone bestimmt. Die Hormone GH, Prolaktin und Cortisol wurden im Serum durch ein Assay (Immulite, DPC-Biermann GmbH, Bad Nauheim, Deutschland) gemessen. Noradrenalin und Adrenalin wurden im Plasma mittels Hochleistungsflüssigkeitschromatographie (ChromSystems, München, Deutschland) bestimmt. Auffallenderweise waren die Hormonkonzentrationen für jeden Probanden über die drei Versuchsnächte hinweg stets stabil. Daher wurden die Daten zum Zweck weiterer Analysen über diese Nächte gemittelt. Die Sensitivität sieht wie folgt aus:

Cortisol: 0.2 $\mu$ g / dl; < 10 %

GH: 0.1 ng / ml; < 6.5 %

Prolaktin: 1.6 ng / ml; < 8.2 %

Adrenalin: 2.00 pg / ml; < 5.6 %

Noradrenalin: 6.03 pg / ml; < 6.1 %

Außerdem wurde den Probanden morgens für eine In-vitro-Stimulation der mononukleären Zellen des peripheren Blutes (peripheral blood mononuclear cells, PBMC) Blut entnommen. Durch die Durchflusszytometrie, die im folgenden Abschnitt genauer erläutert werden soll, konnte nach sechsstündiger Stimulation (durch Bestimmung des Aktivierungsmarkers CD40L) die Messung der antigenspezifischen T-Helferzellen in Prozent der Gesamtheit aller T-Helferzellen erfolgen.

### *2.4.1 Durchflusszytometrie*

Die Durchflusszytometrie und die FACS (fluorescence activated cell sorting) ermöglichen das Zählen von Zellen, die in einer hohen Geschwindigkeit in einem Flüssigkeitsstrom fließen. Je nach Färbung oder Struktur der Zellen werden unterschiedliche Effekte erzeugt, aus denen die Eigenschaften der jeweiligen Zelle abgeleitet werden können.

Das Prinzip beruht dabei auf der Emission von optischen Signalen, die von der Zelle ausgehen, wenn diese einen Laserstrahl passiert. Jede Zelle wird im Fluss einzeln durch den Messbereich eines Laserstrahls geführt. Dabei entsteht ein Streulicht oder

Fluoreszenzsignal, das von einem Detektor ausgewertet wird. Das Ergebnis sind quantitative Informationen über jede analysierte Zelle. Die Menge des gestreuten Lichts korreliert mit der Komplexizität und Größe der Zelle. So streuen zum Beispiel Granulozyten, die eine raue Oberfläche haben, deutlich mehr Licht als die T-Zellen. In der Klinik wird diese Methode unter anderem in der Hämatologie, Infektiologie und Immunologie eingesetzt.

## *2.5 Statistische Analyse*

Die statistische Analyse der Einflüsse des Schlafes gegenüber der Schlafdeprivation wurde mittels Varianzanalyse (ANOVA) durchgeführt. Der Gruppenfaktor hierbei ist ‘Schlaf/ Wach‘; der Wiederholungsmessfaktor ist ‘Zeit‘ (für die Immunantwort die Zeit Woche 0 bis 20, für die Hormone die Zeit 2300 bis 0700 Uhr).

Die Ergebnisse sind als Mittelwerte ± Standardfehler des jeweiligen Mittelwertes (mean ± standard error of mean, SEM) dargestellt.

Die Korrektur der Freiheitsgrade erfolgte nach dem Greenhouse-Geisser-Verfahren. Als Signifikanz-Niveau wurde $p \leq 0{,}05$ festgelegt.

Die Ergebnisse der statistischen Auswertung sind im Anhang unter 7.6 Statistik Ergebnisse in Form von Tabellen zusammengefasst.

# 3. Ergebnisse

## 3.1 Schlaf

Wie bereits weiter oben im Versuchsablauf beschrieben durften bzw. sollten unsere Schlafprobanden in den Versuchsnächten (nach morgendlicher Impfung) zwischen 2300 Uhr und 0630 Uhr möglichst gut durchschlafen. Um dies zu gewährleisten, waren vorweg Eingewöhnungsnächte unter ähnlichen Bedingungen erfolgt.

Die Schlafstadien wurden dann parallel polysomnographisch aufgezeichnet und von uns standardgemäß nach Rechtschaffen und Kales (1968) ausgewertet.

Die Auswertungen ergaben, dass die Schlafprobanden in den Versuchsnächten normal geschlafen hatten. Die Vitalparameter entsprachen ebenfalls der Norm.

Den Fragebogen zufolge wiesen die Wachprobanden wie zu erwarten eine größere Schläfrigkeit und eine schlechtere Stimmung ($p \leq 0.05$ für alle drei Impfungen) auf.

Die polysomnographischen Aufzeichnungen zeigten zwischen den drei Versuchsnächten der einzelnen Probanden keine signifikanten Unterschiede. Wie erwartet war in der ersten Nachthälfte der Tiefschlaf (Schlafstadium 3 und 4), und in der zweiten Nachthälfte der REM-Schlaf dominierend. Die Ergebnisse der polysomnographischen Aufzeichnungen sollen anhand folgender Tabelle 2 veranschaulicht werden.

Tabelle 2: Schlafparameter der Versuchsnächte

| | Nacht 1 | Nacht 2 | Nacht 3 |
|---|---|---|---|
| Wach | 52.7 ± 12.1 | 20.4 ± 6.1 | 20.9 ± 6.5 |
| Schlafstadium 1 | 32.1 ± 2.8 | 31.7 ± 3.1 | 23.8 ± 2.8 |
| Schlafstadium 2 | 221.1 ± 14.4 | 242.2 ± 9.1 | 228.7 ± 13.0 |
| Schlafstadium 3 | 43.6 ± 4.5 | 47.2 ± 4.8 | 48.9 ± 4.5 |
| Schlafstadium 4 | 14.6 ± 5.5 | 16.1 ± 5.9 | 10.7 ± 6.2 |

| | | | |
|---|---|---|---|
| SWS | 58.2 ± 6.8 | 63.3 ± 6.6 | 59.6 ± 8.7 |
| REM | 73.1 ± 3.7 | 84.5 ± 5.8 | 83.0 ± 9.6 |
| Gesamtschlaf | 440.2 ± 3.6 | 447.4 ± 5.0 | 420.2 ± 18.0 |
| SOL | 35.1 ± 4.0 | 25.8 ± 2.9 | 21.7 ± 5.11 |

Die Werte sind in Minuten als Mittelwert ± Standardfehler des Mittelwertes für die Versuchsnächte angegeben. Die Einschlaflatenz (SOL = sleep onset latency) wird ab 2300 Uhr gemessen.

Legende:
SWS slow wave sleep (Tiefschlaf)
REM rapid eye movement (schnelle Augenbewegungen)
SOL sleep onset latency (Einschlaflatenz)

## *3.2 Befindlichkeit nach den Impfungen*

Anhand der Fragebögen dokumentierten wir detailliert die Befindlichkeit der Probanden nach den Impfungen (Anhang 7.2). Alle Probanden vertrugen die Impfungen gut. Einzelne berichteten über leichte Nebenwirkungen, die bei jederlei Impfung auftreten können, wie zum Beispiel Schmerzen am Oberarm (entsprechend der Injektionsstelle) oder Müdigkeit. Die Müdigkeit war wie zu erwarten bei den Wachprobanden stärker ausgeprägt als bei den Schlafprobanden ($p = 0.02$). Die Probanden unterschieden sich laut Fragebögen auch nicht hinsichtlich der Aktivitäten oder möglicher Stressoren.

## *3.3 Laboranalysen*

Alle Ergebnisse wurden als Mittelwerte ± der jeweiligen Standardfehler des Mittelwertes ermittelt und dargestellt. Dabei wurde ein $p \leq 0.05$ als signifikant gewertet. Bei fehlenden Werten (weniger als 5 %) wurde bei den Hormonen durch lineare Interpolation und bei den T-Helferzellen und den Antikörpern durch das arithmetische Mittel der jeweiligen Bedingung ein Wert ermittelt.

### *3.3.1 Hormone*

Bei den nächtlich entnommenen Blutproben ermittelten wir unter anderem die Plasmaspiegel der Hormone GH, Prolaktin, Cortisol, Adrenalin (auch Epinephrin) und Noradrenalin (auch Norepinephrin) und beobachteten diesen im Vergleich der Wachperiode zur Schlafperiode. Dies soll anhand der Abbildung 5 präsentiert werden.

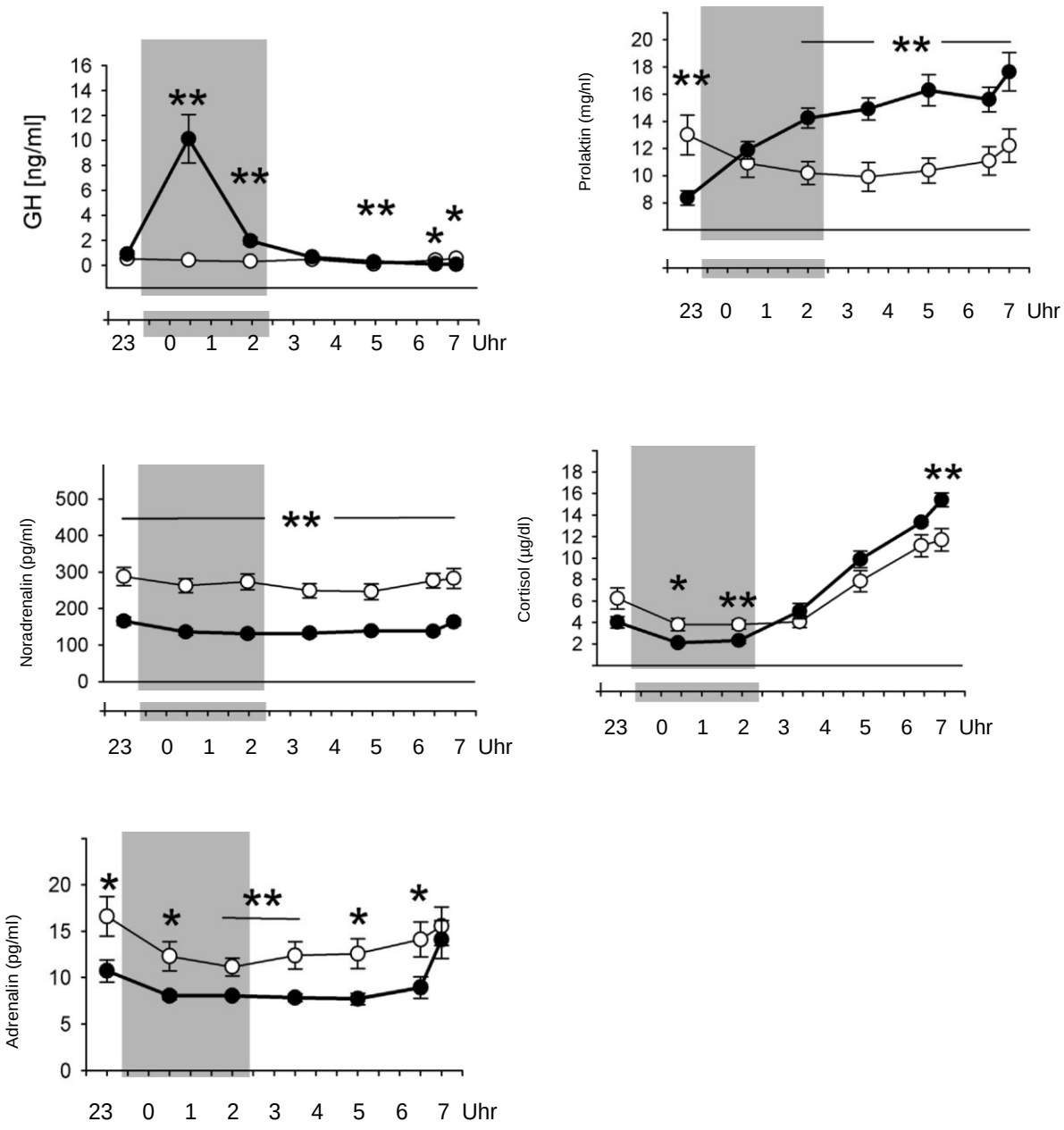


Abb. 5: Die Plasmaspiegel der Hormone

Dargestellt ist der Hormon-Plasmaspiegel in den Versuchsnächten (2300 Uhr bis 0700 Uhr, gemittelt über alle drei Versuchsnächte). Die Werte der Schlafprobanden sind durch schwarze, diejenigen der Wachprobanden durch weiße Punkte veranschaulicht. Der graue Balken kennzeichnet die beiden Blutentnahmen für die Hormonanalyse (um 0030 Uhr und 0200 Uhr), die in der durch Tiefschlaf dominierten Nachthälfte entnommen worden sind.
Die Werte sind als Mittelwerte ± der jeweiligen Standardfehler des Mittelwertes bei n = 26 Probanden angegeben.
* $p < 0.05$ für Vergleiche zwischen Schlaf- und Wachbedingung.
** $p < 0.01$ für Vergleiche zwischen Schlaf- und Wachbedingung.
Legende:
GH growth hormone (Wachstumshormon)

Wir können der Abbildung entnehmen, dass es wie erwartet zu einem deutlichen Anstieg des Plasmaspiegels von GH und Prolaktin ($p \leq 0.001$) kam. Vor allem während der Tiefschlafphasen war der Anstieg deutlich zu verzeichnen.

Ebenso zu erwarten war ein mit dem Tiefschlaf einhergehendes Sinken des Cortisolspiegels ($p \leq 0.02$). Dieser stieg dann physiologisch in den Morgenstunden wieder an ($p = 0.008$).

Bei Adrenalin ($p = 0.006$) und Noradrenalin ($p \leq 0.001$) kam es ebenfalls zu einem Sinken des Plasmaspiegels während des Schlafes.

## *3.3.2 HAV-spezifische T-Helferzellen*

### *3.3.2.1 Schlaf steigert die HAV-spezifische T-Helferzellantwort*

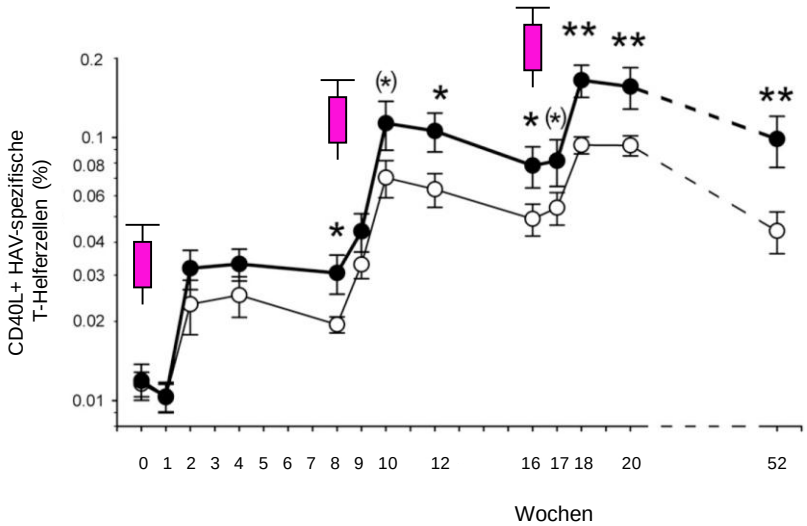


Abb. 6: Einfluss des Schlafes auf die HAV-spezifische T-Helferzell-Antwort

Die $CD40L^+$ HAV-spezifischen T-Helferzellen nach der Hepatitis-A-Impfung (in den Wochen 0, 8 und 16) sowohl bei den Schlafprobanden (gekennzeichnet durch schwarze Punkte) als auch bei den Wachprobanden (gekennzeichnet durch weiße Punkte).
Die Werte sind als Mittelwerte ± der jeweiligen Standardfehler des Mittelwertes bei n = 12-27 beider Gruppen angegeben.
** $p < 0,01$; * $p < 0,05$; (*) $p < 0,1$ für die Vergleiche zwischen Schlaf- und Wachprobanden.

Wie man der Abbildung 6 entnehmen kann, führte die Impfung zu einem starken Anstieg der $CD40L^+$ HAV-spezifischen T-Helferzellen, was bereits in Woche 2 nach der Impfung deutlich zu sehen war und sein Maximum zwischen Woche 2 und 4 nach der dritten Impfung erlangte.

Wesentlich dabei ist, dass es bei den Schlafprobanden zu einem deutlich höheren Anstieg der T-Helferzellen kam als bei den Wachprobanden.

Insgesamt (das heißt über den Zeitraum von Woche 0-52) stellten wir eine mehr als 2fach höhere Prozentzahl der antigenspezifischen T-Helferzellen bei den Schlafprobanden im Vergleich zu den Wachprobanden fest (0,123 ± 0,022 im Vergleich zu 0,060 ± 0,009% bei n = 12 Probanden; p = 0,001). Dieser Effekt des Schlafes wurde bereits in Woche 8 nach der ersten Impfung signifikant (0,031 ± 0,005 im Vergleich zu 0,019 ± 0,001% bei den Wachprobanden bei n = 27 Probanden; p = 0,04) und war besonders ausgeprägt nach der zweiten und dritten Impfung mit einem Maximum in den Wochen 18-20 (0,161 ± 0,024 im Vergleich zu 0,093 ± 0,007% bei n = 22 Probanden; p = 0,001).

Dieser Anstieg der HAV-spezifischen T-Helferzellen war ebenso persistent. Sogar ein Jahr nach der ersten Impfung beobachteten wir eine Verdopplung an HAV-spezifischen T-Helferzellen bei den Schlafprobanden (0,099 ± 0,022 im Vergleich zu 0,044 ± 0,008% bei n = 12 Probanden; p = 0,004).

### *3.3.2.2 Schlaf und Zytokine*

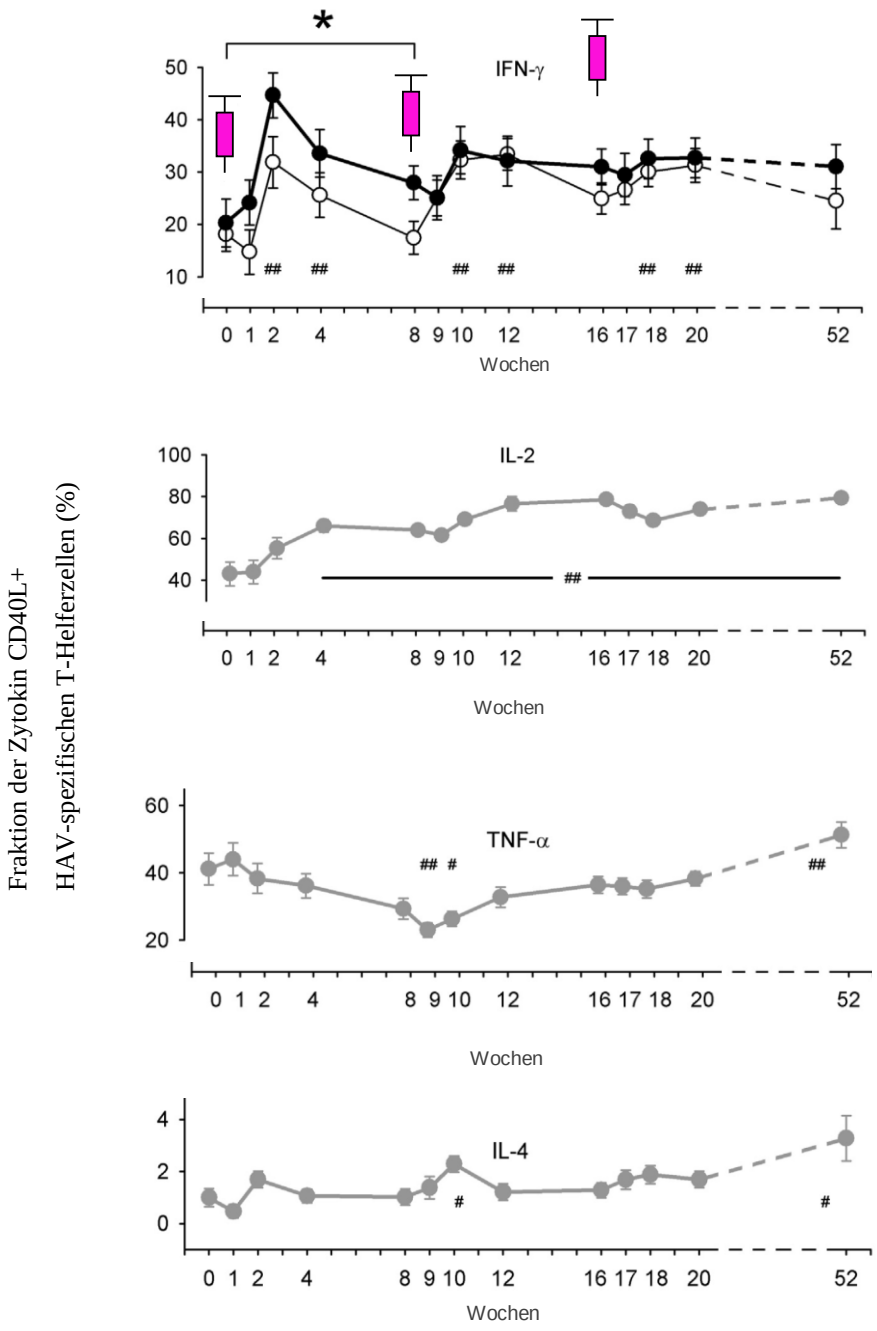


Abb. 7: Ausprägung der Zytokine

Für IFN-ɣ wurden die Daten für die Schlaf- (schwarze Punkte) und die Wachbedingung (weiße Punkte) jeweils separat aufgezeichnet. Für IL-2, TNF-α und IL-4 handelt es sich um einen Mittelwert aus beiden Bedingungen (graue Punkte), da diese nicht durch Schlaf beeinflusst wurden. Auffallend ist der Anstieg der INF- ɣ-Werte jeweils 2 Wochen nach jeder Impfung, mit

einem wesentlich höheren Anstieg nach der ersten Impfung (Woche 0-8) bei der Schlafbedingung als bei der Wachbedingung. Ebenfalls ist ein konstanter Anstieg bis zur Woche 52 nachzuweisen.
Bei den Daten handelt es sich um Mittelwerte ± Standardfehler der Mittelwerte bei n = 12-27 Probanden für beide Gruppen.
## $p < 0,01$, # $p < 0,05$ für die Vergleiche zu einzelnen Zeitpunkten.
* $p < 0,05$ für den Vergleich zwischen Schlaf- und Wachbedingung.

Legende:

| | |
|---|---|
| IFN-ɣ | Interferon-ɣ |
| IL-2 | Interleukin 2 |
| TNF-α | Tumornekrosefaktor-α |
| IL-4 | Interleukin-4 |

Neben dem Anstieg der antigenspezifischen T-Helferzellen nach der Impfung beobachteten wir auch den Aspekt der Zytokin-Freisetzung.

Wir stellten fest, dass die Impfung eine allgemeine Dominanz von proinflammatorischen Zytokinen hervorrief (IL-2 > IFN-ɣ ~ TNF-α >> IL-4), siehe Abbildung 7. Insbesondere kam es dabei bei dem Zytokin IFN-ɣ zu einem kurzweiligen, jedoch sehr hohen Anstieg der Werte in Woche 2 nach der ersten Impfung (38,0 ± 3,5 im Vergleich zu 19,2 ± 2,7% bei n = 27 Probanden; $p < 0,001$). Und zwar war interessanterweise hierbei der Anstieg bei der Schlafbedingung sehr viel mehr betont als bei der Wachbedingung (32,2 ± 2,6 im Vergleich zu 22,9 ± 3,1% bei n = 27 Probanden; $p = 0,03$). Ebenfalls war ein konstanter Anstieg bis hin zur Woche 52 nachzuweisen.

IL-2, TNF-α und IL-4 wurden durch den Schlaf nicht beeinflusst. Es kam bei dem IL-2 zu einem stufenweise zunehmenden Anstieg nach jeder Impfung, der in Woche 18-20 einen 2fach höheren Wert erreichte (71,2 ± 1,6 im Vergleich zu 43,0 ±5,7% bei n = 22 Probanden; $p < 0,001$). Bei den Zytokinen TNF-α und IL-4 beobachteten wir ebenfalls einen signifikanten Anstieg, wie man der obigen Abbildung entnehmen kann.

### *3.3.2.3 Tiefschlaf prognostiziert die HAV-spezifische T-Helferzellantwort*

Als nächstes untersuchten wir, welche Prozesse während des Schlafes für die erhöhte HAV-spezifische T-Helferzellantwort nach der Impfung von Bedeutung sind.

Hierfür analysierten wir, ob gewisse Schlafparameter diese Immunantwort prognostiziert hatten. Die Ergebnisse werden in Abbildung 8 veranschaulicht. Wir stellten die größte Korrelation zwischen der Tiefschlafperiode und der Anzahl an HAV-spezifischen T-Helferzellen in den Wochen 18-20 ($r = 0,74$; $p = 0,02$) nach erster sowie ein Jahr nach erster Impfung ($r = 0,90$; $p = 0,02$) fest. Gleicherweise war eine erhöhte slow wave activity (SWA) während der non-REM-Schlafperiode in den Wochen 18-20 ($r = 0,72$; $p = 0,03$) und ein Jahr nach der Impfung ($r = 0,94$; $p = 0,005$) ebenfalls mit einer erhöhten Anzahl an HAV-spezifischen T-Helferzellen assoziiert.

Diese Daten zeigen daher eine sehr deutlich vorhandene Assoziation zwischen der Immunantwort und der Tiefschlafperiode (SWS).

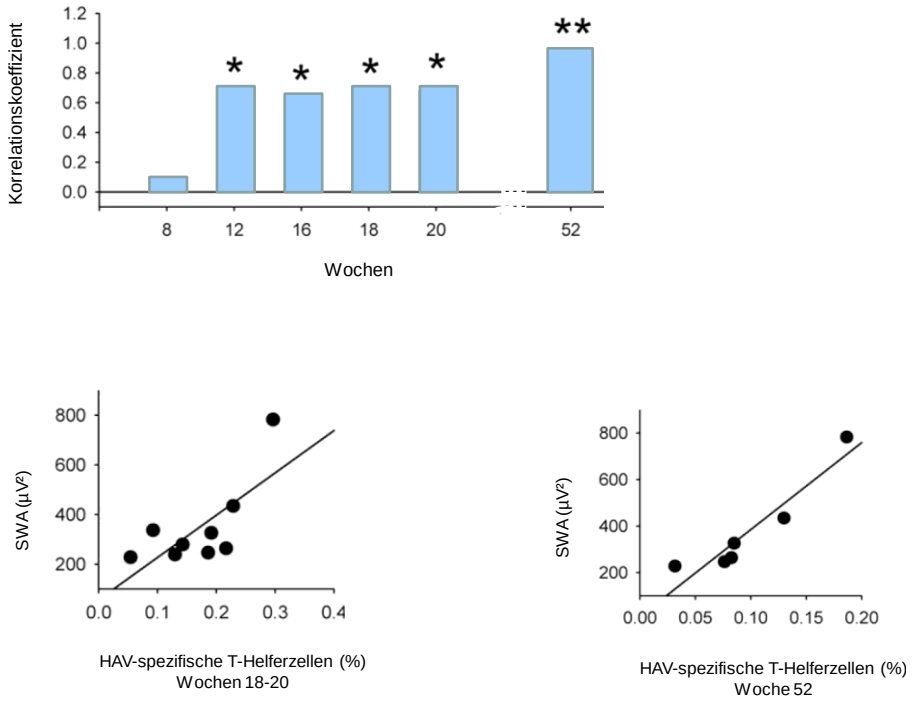


Abb. 8: Einfluss der SWA auf die HAV-spezifische T-Helferzellantwort

Dargestellt ist oben der Korrelationskoeffizient zwischen SWA (slow wave activity) und der Zahl an HAV-spezifischen T-Helferzellen in den Wochen 8, 12, 16, 18, 20 und 52.

Unten zu sehen ist die Korrelation zwischen der SWA und der Zahl an HAV-spezifischen Zellen für Schlafprobanden in den Wochen 18-20 (links) und 52 (rechts).

### *3.3.2.4 Hormonelles Milieu und die HAV-spezifische T-Helferzellantwort*

Abgesehen von direkten neuronalen Einflüssen auf das lymphatische Gewebe werden Interaktionen zwischen dem Gehirn und dem Immunsystem hauptsächlich via hormonelle Wege übermittelt. Immunstimulierende Hormone wie GH und Prolaktin sowie immunsuppressive wie Cortisol und die Katecholamine werden sehr stark durch den Schlaf reguliert, wie ja bereits oben festgestellt wurde.

Während der Versuchsnächten wurde alle 1,5 Stunden insgesamt sieben Mal Blut zur Hormonanalyse entnommen, um einen eventuellen Einfluss der Hormone auf die HAV-spezifische T-Helferzellantwort zu beurteilen. Die Ergebnisse sind in Abbildung 8.1 dargestellt.

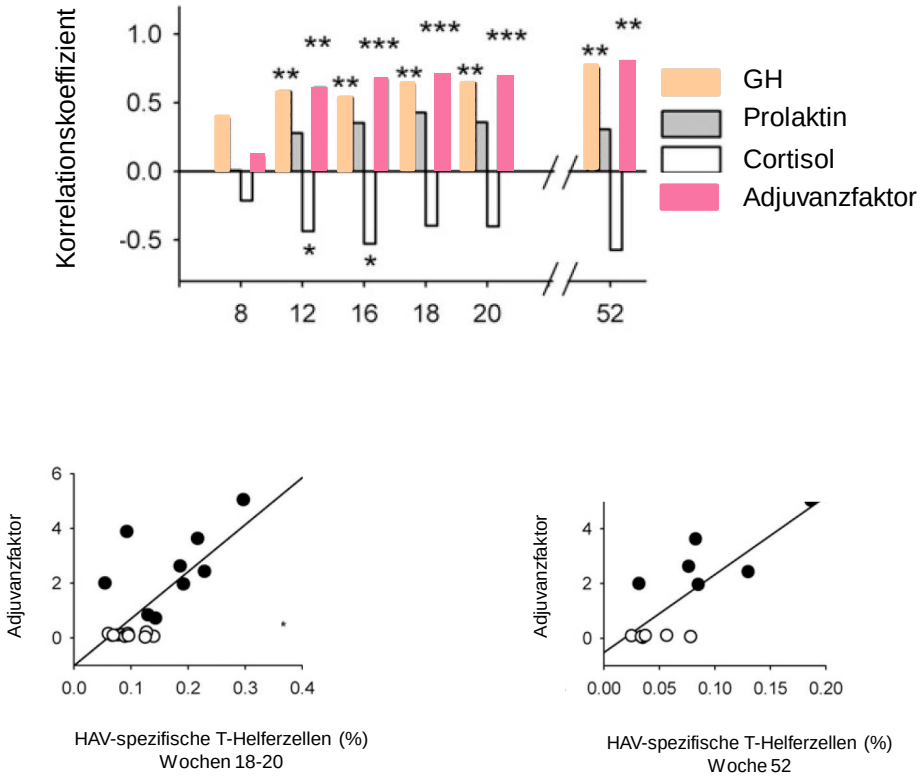


Abb. 8.1: Einfluss des Adjuvanz-Faktors auf die HAV-spezifische T-Helferzellantwort

Hier ist oben der Korrelationskoeffizient zwischen dem durchschnittlichen Spiegel an GH, Prolaktin und Cortisol während der Tiefschlafperiode (zwischen 0030 und 0200 Uhr) nach stattgefundener Impfung und der Zahl an HAV-spezifischen T-Helferzellen in den Wochen 8, 12, 16, 18, 20 und 52 zu sehen. Es ist eine sehr starke Korrelation des Adjuvanz-Faktors (GH x Prolaktin/ Cortisol), der den synergetischen Effekt der drei Hormone beschreibt, zu verzeichnen. Unten ist die Korrelation zwischen dem Adjuvanz-Faktor und der Zahl an HAV-spezifischen Zellen für Schlaf- (schwarze Punkte) und Wachprobanden (weiße Punkte) in den Wochen 18-20 (links) und 52 (rechts) zu sehen.
*** $p < 0,001$, ** $p < 0,01$, * $p < 0,05$

Wie bereits weiter oben beschrieben kam es insbesondere während des Tiefschlafes zu einem erhöhten Spiegel der Hormone GH und Prolaktin und einem deutlichen Sinken des Cortisolspiegels.

Wir fanden auch heraus, dass GH, Prolaktin und Cortisol im Tiefschlaf (zwischen 0030 und 0200 Uhr) signifikant zur Entwicklung der HAV-spezifischen T-Helferzellen beisteuerten. Der Einfluss dieser Hormone lässt sich am besten als „adjuvant factor“ oder Adjuvanz-Faktor beschreiben. Dieser Adjuvanz-Faktor fasst die durchschnittliche Hormonkonzentration während des Tiefschlafes (zwischen 0030 und 0200 Uhr) in den Nächten nach der Impfung zusammen und lässt sich als folgende Formel darstellen:

GH x Prolaktin/ Cortisol. Dieser Faktor zeigte Korrelationen wie $r = 0,71$ ($p < 0,001$) und $r = 0,80$ ($p = 0,002$) in den Wochen 18-20 und 52.

Diese Analysen lassen demnach vermuten, dass GH, Prolaktin und Cortisol synergistisch zu der von Schlaf abhängigen Immunantwort nach Impfung beitragen.

### *3.3.2 HAV-spezifische Antikörper*

Der Verlauf des HAV-spezifischen Antikörpertiters innerhalb des Versuchszeitraumes (bis zu einem Jahr nach Erstimpfung) wird anhand der Abbildung 9 dargestellt.

Die HAV-spezifischen Antikörper IgG1 und IgG3 stiegen in den Woche 12 und 20 ($p < 0,01$) deutlich an. Die HAV-spezifischen Antikörper IgG2 und IgG4 hingegen blieben unverändert. Analog zu der T-Helferzellantwort war der IgG1-Antikörpertiter bei den Schlafprobanden signifikant höher als bei den Wachprobanden in den Wochen 8-16 ($p < 0,05$).

Der Anstieg des HAV-Antikörpertiters folgte in Woche 12 korrelierend demjenigen der T-Helferzellen, der bereits in Woche 10 ($r = 0,69$, $n = 19$; $p < 0,01$) angestiegen war, was wiederum die Ansicht, dass T-Helferzellen die Produktion von IgG1-Antikörpern antreiben, bestätigt.

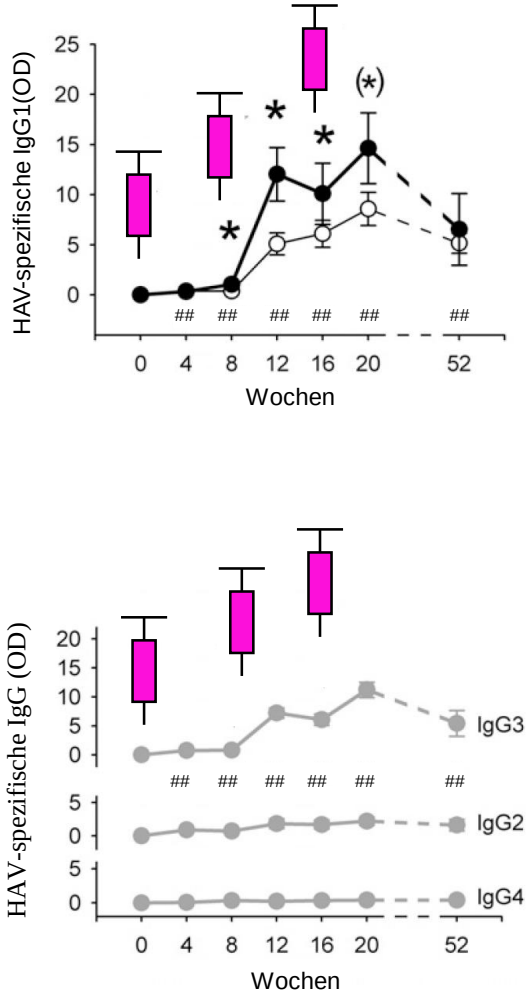


Abb. 9: HAV-spezifische Antikörper

Die HAV-spezifischen Antikörper (IgG1) waren zwischen den Wochen 8 und 16 signifikant höher bei den Schlafprobanden (gekennzeichnet durch schwarze Punkte) als bei den Wachprobanden (gekennzeichnet durch weiße Punkte).
* $p < 0,05$; (*) $p < 0,01$ für die Vergleiche zwischen der Wach- und Schlafbedingung.
IgG2, IgG3 und IgG4, die nicht durch den Schlaf beeinflusst sind, sind sowohl in der Schlaf- als auch in der Wachbedingung niedrig (gekennzeichnet durch graue Punkte).

# p < 0,05; ## p < 0,01
Eine signifikante Immunantwort nach Hepatitis-A-Impfung ist nur bei IgG1und IgG3 mit einem ersten Maximum in Woche 12 und einem zweiten in Woche 20 darzustellen.

Legende:
* p < 0.05 für Vergleiche zwischen Schlaf- und Wachbedingung.
# p < 0.01 für Vergleiche mit den Werten vor der ersten Impfung.
IgG Immunglobulin G
OD optische Dichte

# *4. Diskussion*

Unser Ziel war es, anhand dieser Studie zu zeigen, dass Schlaf die Immunantwort nach einer Impfung unterstützt und zur Bildung eines immunologischen Gedächtnisses beiträgt. Hierzu impften wir 27 junge, gesunde Männer gegen Hepatitis A insgesamt dreimal (in den Wochen 0, 8 und 16) morgens, und am jeweiligen Abend folgte die Versuchsnacht. Randomisiert wurden die Probanden in zwei Gruppen eingeteilt. Die eine Gruppe durfte in den drei Versuchsnächten schlafen (Schlafbedingung), die andere musste wach bleiben (Wachbedingung). Die Zuordnung zu einer Gruppe wurde über die gesamte Studie für jeden Probanden (ohne sein Wissen) einbehalten. Nachts und anschließend mehrere Wochen nach der ersten Impfung (in den Wochen 0, 1, 2, 4, 8, 9, 10, 12, 16, 17, 18, 20 und 52 nach der ersten Impfung) entnahmen wir den Probanden Blut, um den Antikörpertiter, die HAV-antigenspezifischen T-Helferzellen und den Hormonspiegel zu bestimmen.
Die Ergebnisse zeigten, dass es bei den Probanden aus der Schlafbedingung zu einer wesentlich stärkeren Immunantwort nach der Impfung kam als bei den Wachprobanden. Hier spielt der Tiefschlaf (slow wave sleep, SWS) mit seiner slow wave activity (SWA) eine entscheidende Rolle, indem er die Bildung von HAV-antigenspezifischen T-Helferzellen und Antikörpern unterstützt. Ebenso hatten die Hormone als sogenannter Adjuvanz-Faktor (GH x Prolaktin/ Cortisol) unter der Schlafbedingung einen wesentlichen Effekt auf die Immunantwort.

Diese neuen und bedeutenden Ergebnisse sollen im folgenden Abschnitt unter anderem erörtert werden.

## *4.1 Bedeutung des Schlafes*

2004 konnten Bryant et al. nachweisen, dass durch den Schlaf ein proinflammatorisches Milieu geschaffen wird, das die zelluläre Immunabwehr unterstützt.
In unserer Studie konnten wir erstmals zeigen, dass Schlaf, insbesondere der Tiefschlaf mit seiner slow wave activity (SWA), nach einer morgendlichen Hepatitis-A-Impfung mit dem hormonellen Milieu ein Adjuvanz schafft und dadurch eine Zunahme der HAV-spezifischen T-Helferzellen und des HAV-spezifischen Antikörpertiters bewirkt. Es besteht eine große Korrelation zwischen der Tiefschlafdauer und der Anzahl an HAV-spezifischen T-Helferzellen über den gesamten Untersuchungszeitraum.
Diese Assoziation zwischen der Immunantwort und der Tiefschlafperiode (SWS) ist von wichtiger Bedeutung. So könnte man in der Klinik oder in Praxen empfehlen nach einer Impfung einen adäquaten Schlafrhythmus einzuhalten. Andererseits könnte man aber auch vermuten, dass der Tiefschlaf möglicherweise eine wichtige Bedeutung für das Immunsytem im Allgemeinen hat.

### *4.1.1 Hormone*

Wie weiter oben bereits erwähnt ist bekannt, dass während des Schlafes zum großen Teil Hormone die Interaktion zwischen Gehirn und Immunsystem vermitteln (Steinman, 2004; Kin und Sanders, 2006), es aber auch direkte neuronale Einflüsse auf lymphatische Gewebe (Dracott und Smith, 1979a) gibt.
Ebenso ist bekannt, dass immunstimulierende Hormone wie GH und Prolaktin und immunsuppressive Hormone wie Cortisol, Adrenalin und Noradrenalin durch den Schlaf reguliert werden (Linkowski et al., 1998; Lorton et al., 2006; Lange et al., 2010).
Diese Hormone wiederum haben Einfluss auf die Interaktion zwischen antigenpräsentierenden Zellen (APC) und T-Helferzellen und somit auch auf die Immunantwort nach Impfung (Dracott und Smith, 1979b; Cross et al., 1989; Stephenson et al., 1991; Kin und Sanders, 2006).
Zur Hormonanalyse in unserer Studie entnahmen wir den Probanden in den Versuchsnächten nach der Impfung alle 1,5 Stunden insgesamt sieben Mal Blut.

Die Hormonspiegel des immunsuppressiven Cortisols zeigten keine große Differenz zwischen der Schlaf- und der Wachbedingung.
Bei den Wachprobanden kam es zu einem relativen Anstieg des Spiegels von Adrenalin und Noradrenalin; jedoch war dieser immer noch deutlich geringer als derjenige, der während der Wachheit am Tage gemessen wurde und weitaus geringer als in akuten Stresssituationen (Goldstein und Kopin, 2008).
Dies zeigt, dass die Immunantwort unter der Wachbedingung keinem akuten Stress unterlag und somit dadurch nicht negativ beeinflusst werden konnte.

Wir wissen außerdem, dass durch Tiefschlaf die Freisetzung der immunsupportiven Hormone GH und Prolaktin stimuliert und die der immunsuppressiven Hormone Cortisol, Adrenalin und Noradrenalin gehemmt wird (Linkowski et al., 1998; Lorton et al., 2006; Lange et al., 2010). Wir konnten für diese Hormone signifikante Unterschiede zwischen der Schlaf- und der Wachbedingung nachweisen. Dabei waren GH, Cortisol und Prolaktin die herausragenden Prädiktoren bei der T-Helferzellantwort. Sie lassen sich als Adjuvanzfaktor wie folgt darstellen: GH x Prolaktin/ Cortisol.

Diese Hormone haben Einfluss auf die Interaktion zwischen antigenpräsentierenden Zellen (APC) und T-Helferzellen und dadurch auch auf die Immunantwort nach einer Impfung (Dracott und Smith, 1979b; Cross et al., 1989; Stephenson et al., 1991; Kin und Sanders, 2006). Sie bewirken eine Verschiebung des Typ-1/Typ-2-Zytokingleichgewichtes zu einer erhöhten Aktivität der proinflammatorischen Typ-1-Zytokine (Interleukin 2, Interferon-ɣ und Tumornekrosefaktor-α), die im Gegensatz zu den antiinflammatorischen Typ-2-Zytokinen (Interleukin 4 und 10) zelluläre adaptive Immunantworten fördern (Dimitrov et al., 2004a; Lorton et al., 2006; Lange et al., 2010).

Außerdem erhöht Schlaf die Freisetzung von Interleukin 12, das wiederum zu einer gesteigerten Produktion von Typ-1-Zytokinen führt (Abbas et al., 1996; Matera und Mori, 2000; Stobie et al., 2000; Dimitrov et al., 2004b; Lange et al., 2006a; Dimitrov et al., 2007).

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass die Studie verdeutlicht, dass durch den Tiefschlaf ein besonderes hormonelles Milieu geschaffen wird, das als Adjuvanz die HAV-spezifische Immunantwort zu beeinflussen scheint. Dieses Milieu stimuliert die Produktion von proinflammatorischen Zytokinen, welche wiederum den Tiefschlaf fördernde Eigenschaften aufweisen. Dieses zeigt einen sich gegenseitig unterstützenden Progress, in dem einerseits durch Tiefschlaf die Freisetzung proinflammatorischer Zytokine induziert und andererseits durch proinflammatorische Zytokine zentralnervös der Tiefschlaf unterstützt werden (Pabst et al., 1999; Jiang et al., 2007; Imeri und Opp, 2009).

### *4.1.2 HAV-spezifische T-Helferzellen und Antikörper*

Im Ergebnisteil konnten wir veranschaulichen, dass der Anstieg des HAV-spezifischen Antikörpertiters in Woche 12 mit demjenigen der T-Helferzellen korrelierte, welcher bereits in Woche 10 angestiegen war. Dies wiederum bestätigt die Ansicht, dass T-Helferzellen die Produktion von IgG1-Antikörpern antreiben und das Ausmaß der T-Helferzellantwort gegebenenfalls unabhängig ist von der Antikörperantwort (Wiedermann et al., 2000). Auch weitere Studien konnten Differenzen zwischen der Antikörper- und der T-Helferzellantwort nach Influenzaimpfung nachweisen (Co, 2008).
Dies könnte somit dafür sprechen, dass die T-Helferzellantwort nach der Impfung wahrscheinlich adäquater und früher reagiert als der Antikörpertiter und bei erfolgter T-Helferzellantwort bereits ein Immunschutz besteht, ohne dass der Antikörpertiter schon nachweisbar ist.

Der Aufbau einer adaptiven Immunantwort, die in einem antigenspezifischen Gedächtnis resultiert, ist ein langsamer, aus mehreren Stufen bestehender Prozess, der mindestens einige Tage benötigt. Unser Ergebnis einer gesteigerten antigenspezifischen T-Helferzellantwort, unter der Bedingung, dass Schlaf innerhalb von 24 Stunden erfolgen konnte, zeigt einen Effekt, der zu einem frühen Zeitpunkt der Immunantwort stattfindet und sich wahrscheinlich auf der Ebene der Wechselwirkungen zwischen

antigenpräsentierenden Zellen (APC) und T-Helferzellen in lymphatischen Geweben abspielt (Sallusto et al., 2010; Coffmann et al., 2010).
Die HAV-spezifischen T-Helferzellen waren bereits nach der ersten Impfung durch Schlaf signifikant erhöht und bis zum Untersuchungsende (Woche 52) noch vorhanden, was folgern lässt, dass sie höchstwahrscheinlich auch noch längere Zeit darüber hinaus vorhanden sein werden. Unseren Ergebnissen zufolge lässt sich vermuten, dass der Tiefschlaf nach der Impfung und das mit ihm verbundene endokrine Milieu als Adjuvanz eine bedeutende Rolle für die T-Helferzellantwort spielt, zumal in dieser Studie der Tiefschlaf, vor allem durch SWA charakterisiert, als bedeutender Prädiktor für die HAV-spezifische T-Helferzellantwort fungiert.

Wir stellten fest, dass die Impfung eine allgemeine Dominanz von proinflammatorischen Zytokinen hervorrief (IL-2 > IFN-ɣ ~ TNF-α >> IL-4). Insbesondere kam es dabei bei dem Zytokin IFN-ɣ zu einem kurzweiligen, jedoch sehr hohen Anstieg der Werte in Woche 2 nach der ersten Impfung. Und zwar war interessanterweise hierbei der Anstieg bei der Schlafbedingung sehr viel stärker als bei der Wachbedingung.
Es kam auch bei dem IL-2 zu einem stufenweise zunehmenden Anstieg nach jeder Impfung, der in Woche 18-20 einen 2fach höheren Wert erreichte.
Somit hat der Schlaf nach der Impfung auf zwei Ebenen die Entwicklung der adaptiven T-Helferzellantwort unterstützt.
Zum einen fördert der Schlaf IFN-ɣ-abhängige Funktionen, nachdem es sehr früh (innerhalb von zwei Wochen) zu einem Anstieg INF-ɣ produzierender HAV-spezifischer T-Helferzellen kam.
Zum anderen führt der Schlaf zu einem Anstieg von IL-2 produzierenden HAV-spezifischen T-Helferzellen und fördert dadurch das Überleben der T-Helferzellen, welche die Bildung eines antigenspezifischen Gedächtnisses fördern (Seder et al., 2008; Stubbe et al., 2006).

### *4.1.3 Schlaf als Adjuvanz*

Wir fanden heraus, dass GH, Prolaktin und Cortisol im Sinne eines Adjuvanz im Tiefschlaf signifikant zur Entwicklung der HAV-spezifischen T-Helferzellen beisteuerten. Diese Analysen lassen demnach vermuten, dass GH, Prolaktin und Cortisol synergistisch zu der von Schlaf abhängigen Immunantwort nach Impfung beitragen. Der Adjuvanz-Faktor lautet: GH x Prolaktin/ Cortisol.
Bekannt ist, dass Adjuvanzen zelluläre Immunantworten unterstützen können (Pabst et al., 1999; Kornbluth und Stone, 2006; Seder et al., 2008), wie zum Beispiel GH und Prolaktin die Produktion von proinflammatorischen Zytokinen fördern. Dabei weist Prolaktin seine sensitivste Phase der Immunantwort in den ersten 24 Stunden nach Antigenkontakt im Rahmen einer Immunisierung auf (Cross et al., 1989). Unsere Versuchsnacht fällt genau in diese sensitive Phase des Prolaktins.

Die bisher untersuchten proinflammatorischen Zytokine und Adjuvanzen zeigen tiefschlaffördernde Eigenschaften, wohingegen antiinflammatorische Zytokine den Tiefschlaf hemmen (Pabst et al., 1999; Bryant et al., 2004; Jiang et al., 2007). Dies bestärkt die Annahme einer circa achtstündigen proinflammatorischen Signalkaskade, die die Aufrechterhaltung des Schlafes und der immunologischen und neuronalen Verarbeitung unterstützt (Brown et al., 1989).

## *4.2 Schlaf und immunologisches Gedächtnis*

Bereits bekannt ist, dass der Schlaf, insbesondere der Tiefschlaf (SWS), eine wichtige Rolle bei der Gedächtniskonsolidierung spielt. Hierzu wurden Studien durchgeführt, die zeigen, dass der Schlaf die Konsolidierung von Langzeiterinnerungen im zentralen Nervensystem fördert (Maquet, 2001; Stickgold, 2005; Diekelmann und Born, 2010). Dabei wird angenommen, dass die Bildung eines Langzeitgedächtnisses aus zwei Prozessen besteht; und zwar wird die aufgenommene Information zunächst in einem temporären Speicher kodiert und im zweiten Schritt durch Konsolidierung in einen Langzeitspeicher überführt (Marr, 1971; McClelland et al., 1995; Diekelmann und Born, 2010).

Daher war es unser Bestreben, herauszufinden, ob sich diese Prozesse der Gedächtnisbildung auch auf die immunologische Ebene im Sinne einer immunologischen Gedächtniszellbildung übertragen lassen können.

Nach einer Immunisierung kommt es bei adäquater Immunantwort zur Bildung antigenspezifischer T-Helferzellen und antikörperproduzierenden B-Zellen. Auch in unserer Studie kam es nach der Hepatitis-A-Impfung zu einem Anstieg der antigenspezifischen T-Helferzellen und antikörperproduzierenden B-Zellen. Diese Zellen sind Indikatoren für eine Langzeitspeicherung der Antigeninformation (Pulendran und Ahmed, 2006; Seder et al., 2008). Wir gehen von einer Schlüsselrolle des Tiefschlafes (SWS) beim Transfer von antigenspezifischer Information von antigenpräsentierenden Zellen (APC) auf antigenspezifische T-Helferzellen aus, was Gedächtnisbildung reflektiert. Diese Ergebnisse unterstützen unsere Annahme, dass der Schlaf nicht nur für das neurologische Gedächtnis eine entscheidende Rolle spielt, sondern auch für die Bildung eines immunologischen Gedächtnisses.

## *4.3 Klinische Bedeutung*

Diese Studie verdeutlicht, dass der Tiefschlaf die Immunantwort nach einer Impfung wesentlich unterstützt. Schlaf optimiert sozusagen den Impferfolg. Diese Ergebnisse sind für die Klinik von wichtiger Bedeutung. Demzufolge wäre es ratsam, den Patienten nach einer Impfung (ausgehend davon, dass sich das Ergebnis in gewissem Maße auch auf andere Impfungen übertragen ließe) zu empfehlen, einen adäquaten Schlaf-Wach-Rhythmus einzuhalten, ausreichend zu schlafen bzw. zu ruhen und den Körper nicht zu überanstrengen.

Impfungen spielen in der Medizin eine unverzichtbare Rolle, wodurch viele lebensgefährliche und kontagiöse Infektionskrankheiten verhindert oder gar ausgerottet werden konnten. Die Einführung der Impfung hat in den Ländern, in denen sie konsequent und flächendeckend eingesetzt wurde, zu einem erheblichen Rückgang der Mortalität und Letalität an Infektionskrankheiten geführt.

Zum Beispiel spricht man in Westeuropa, wo die Masern (Morbilli) so gut wie nicht mehr beobachtet werden, da fast jeder Säugling dagegen geimpft wird, von einer

Herdenimmunität, das heißt eine große Zahl an Menschen ist bereits durch frühzeitiges Impfen immun gegen die Masern. Dabei ist es noch nicht allzu lange her, dass Säuglinge, die durch Tröpfcheninfektion an den hochkontagiösen Masern erkrankten, an einer folgenden Komplikation wie einer Pneumonie oder Enzephalitis verstarben.
In Deutschland erstellt die Ständige Impfkommission (STIKO) die Impfempfehlungen. Diese Kommission setzt sich zusammen aus Ärzten, Krankenkassen und Gesundheitspolitikern und ist am Robert-Koch-Institut in Berlin angesiedelt.
Die aktuellen Impfempfehlungen für Säuglinge, Kinder, Jugendliche und Erwachsene sehen Impfungen gegen Masern, Mumps, Röteln, Pertussis, Poliomyelitis, Haemophilus influenza Typ b, Varizellen, Meningokokken, Diphterie, Tetanus, Hepatitis B und Pneumokokken vor.

Nun liegt die Vermutung nahe, dass der Schlaf nicht nur diejenige Immunantwort, die auf eine Impfung folgt, unterstützt, sondern auch positiven Einfluss auf das Immunsystem im Allgemeinen und insbesondere nach Antigenkontakt haben könnte. Dies würde die allgemein gültige Annahme, dass adäquater Schlaf bei Erkältungskrankheiten, aber auch jeglichen anderen Infektionskrankheiten, das Immunsystem fördert und zu einer schnelleren Genesung verhilft, unterstützen.
In den vergangenen Dekaden führte der moderne Lebensstil zu einer Verminderung des durchschnittlichen Schlafes pro Tag. Epidemiologische Studien zeigen, dass dies die Gesundheit negativ beeinflusst, möglicherweise durch die fehlende Unterstützung des Schlafes auf das Immunsystem (Cappuccio et al., 2010).

## *4.4 Fragen und Antworten, Kritik und Ausblick*

In der Einleitung sind die Fragen, die sich uns initial gestellt hatten, aufgeführt. Durch diese Studie konnten interessante Antworten auf diese Fragen gefunden werden, die ausführlich im Ergebnisteil und der Diskussion erläutert wurden. Hier soll eine kurze Zusammenfassung folgen:

*Welche Auswirkungen hat Schlaf bzw. Schlafentzug nach einer Hepatitis-A-Impfung auf immunologische Parameter wie Antikörper und T-Helferzellen?*

Der Tiefschlaf steigert die Bildung von HAV-antigenspezifischen T-Helferzellen und Antikörpern.

*Gibt es ein bestimmtes Schlafstadium, das für die Immunantwort von wichtiger Bedeutung ist?*

Der Tiefschlaf (slow wave sleep, SWS), charakterisiert durch slow wave activity (SWA), ist von wichtiger Bedeutung für die Immunantwort.

*Beeinflusst der Schlaf die Hormonsekretion? Sind Hormone wiederum an Immunprozessen beteiligt?*

Der Tiefschlaf fördert die Sekretion von GH und Prolaktin und hemmt die des immunsuppressiven Cortisols. Diese Hormone unterstützen wiederum als Adjuvanz die Immunantwort und können als Adjuvanz-Faktor dargestellt werden: GH x Prolaktin/ Cortisol.

Kritisierbar an dieser Studie ist die nur geringe Anzahl von n = 27 Probanden. Die Rekrutierung der Probanden gestaltete sich jedoch nicht sehr leicht, da wir dem hohen Anforderungsprofil der Studie folgend gesunde, nichtrauchende männliche Probanden im Alter zwischen 18-35 Jahren suchten, die noch nicht gegen Hepatitis A oder Hepatitis B geimpft worden waren.
Die Hepatitis-A-Impfung wird nach Empfehlungen der STIKO bei Reisen in Endemiegebiete bzw. bei Tätigkeit im Gesundheitswesen (wie zum Beispiel Kliniken)

als Indikationsimpfung empfohlen, sodass an unserer hauptsächlich aus Medizinstudenten bestehenden Universität zu Lübeck leider keine Probanden für diese Studie zu finden waren und anderweitig gesucht werden mussten.
Da die Hepatitis-B-Impfung im Impfkalender als Standardimpfung vorgesehen ist, war es schwierig, dagegen noch nicht immunisierte Probanden zu finden.
Hinzu kam, dass einige, der in Frage kommenden Probanden von der Studie ausgeschlossen werden mussten, da sie einen positiven Hepatitis-A/B-Titer aufwiesen, weil sie unwissend entweder eine Hepatitis-A/B-Infektion bereits durchlebt hatten oder bereits immunisiert worden waren.
Dennoch konnten auch mit einer nicht allzu hohen Zahl an Probanden signifikante Ergebnisse erzielt werden, sodass die Korrelation zwischen Tiefschlaf (SWS) und der Immunantwort deutlich nachweisbar war. Diese wären durch eine höhere Probandenzahl sicherlich umso deutlicher gewesen.

Außerdem nahmen an unserer Studie nur männliche Probanden teil, um den weiblichen Hormonzyklus als möglichen Störfaktor zu umgehen. Interessant wäre aber dennoch ein Vergleich mit weiblichen Probanden, um zu untersuchen, ob der Hormonzyklus als möglicher Stressor die Bildung von immunologischen Gedächtniszellen beeinflusst.

Desweiteren wäre es auch noch interessant andere Stressoren wie zum Beispiel körperliche Anstrengung zusätzlich in Betracht zu ziehen, um zu untersuchen, ob diese Art der Anstrengung die Bildung der immunologischen Zellen beeinflusst. Dies könnte beispielsweise durch einen Fahrradergometer oder ein Laufband erfolgen.

Weiterhin könnte man untersuchen, wie sich die Datenlage verändern würde, wenn wir für den einzelnen Probanden die Gruppenzugehörigkeit (Schlaf- oder Wachbedingung) nach jeder Impfung variiert hätten anstatt die Probanden je in einer festen Gruppe beizubehalten.
In diesem Zusammenhang könnte man sich auch die Frage stellen, ob möglicherweise die erste Nacht nach der ersten Impfung entscheidend ist für die immunologische Antwort.

Außerdem gibt es weitere Studien, die auf einen positiven Einfluss des Hormons Melatonin auf das Immunsystem hinweisen (Regodon et al., 2005). Dies wurde in unserer Studie nicht untersucht. Jedoch wurde in einer anderen, dem Aufbau unserer Studie sehr ähnelnden Untersuchung gezeigt, dass es keine Unterschiede im Melatoninhaushalt zwischen der Schlaf- und der Wachbedingung gab (Dimitrov et al., 2004b), sodass wir von keinem allzu großen Einfluss von Melatonin auf unsere Ergebnisse ausgehen.

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass sicherlich weitere Studien nötig sind, um den Einfluss von Schlaf auf das Immunsystem noch ausführlicher zu beleuchten und zu verstehen, dass uns diese Studie aber dennoch ein ganzes Stück weiter gebracht hat auf diesem weiten Weg.

# *5. Zusammenfassung*

Das Ziel dieser Studie war es, zu untersuchen, ob Schlaf die Immunantwort nach einer Impfung steigert und an der Bildung eines immunologischen Gedächtnisses beteiligt ist. Hierzu wurden 27 junge, gesunde Männer gegen Hepatitis A insgesamt dreimal (in den Wochen 0, 8 und 16) morgens geimpft, und am jeweiligen Abend folgte die Versuchsnacht. Randomisiert wurden die Probanden in zwei Gruppen eingeteilt. Die eine Gruppe durfte in den drei Versuchsnächten schlafen (Schlafbedingung), die andere musste wach bleiben (Wachbedingung). Die Zuordnung zu einer Gruppe wurde über die gesamte Studie für jeden Probanden (ohne sein Wissen) einbehalten. In den jeweiligen Versuchsnächten, unmittelbar vor, 1, 2 und 4 Wochen nach jeder Impfung und schließlich ein Jahr nach der ersten Impfung fanden die Blutentnahmen statt, um die HAV-antigenspezifischen T-Helferzellen, den Antikörpertiter und den Hormonspiegel zu bestimmen. Die antigenspezifische T-Helferzellantwort wurde anhand der unmittelbar vor den Impfungen, 1, 2 und 4 Wochen nach jeder Impfung und 1 Jahr nach der ersten Impfung entnommenen Blutproben bestimmt. Der Antikörpertiter wurde alle 4 Wochen und 1 Jahr nach der ersten Impfung gemessen und während der Versuchsnächte erfolgten alle 1,5 Stunden insgesamt sieben Blutentnahmen, die der Hormonanalyse dienten. Die Ergebnisse zeigten, dass es bei den Probanden aus der Schlafbedingung zu einer wesentlich stärkeren Immunantwort nach der Impfung kam als bei den Wachprobanden. Der Tiefschlaf (SWS), charakterisiert durch slow wave activity (SWA), ist dabei von essentieller Bedeutung auf die Immunantwort. Er steigert die Bildung von HAV-antigenspezifischen T-Helferzellen und Antikörpern. Ebenso fördert der Tiefschlaf die Sekretion von GH und Prolaktin und hemmt diejenige des immunsuppressiven Cortisols. Diese Hormone unterstützen wiederum als Adjuvanz die Immunantwort und können als Adjuvanz-Faktor veranschaulicht werden: GH x Prolaktin/ Cortisol. Somit ist eine deutliche Assoziation zwischen der Immunantwort und der Tiefschlafperiode (SWS) zu verzeichnen, was neue Hinweise auf eine bedeutsame Rolle von Schlaf, und Tiefschlaf im Besonderen, für die immunologische Gedächtnisbildung gibt. Darüber hinaus spielen diese neuen und bedeutenden Ergebnisse in der Klinik nicht nur für die Impfempfehlung eine Rolle, sondern könnten wahrscheinlich auch weiter gefasst werden auf die Bedeutung des Tiefschlafes für ein gesundes Immunsystem im Allgemeinen.

## *5.1 Abkürzungstabelle*

| | |
|---|---|
| ANOVA | analysis of variance (Varianzanalyse) |
| APC | antigen presenting cell (Antigen präsentierende Zelle) |
| CD | cluster of differentiation (Unterscheidungsgruppen) |
| CRP | C-reaktives Protein |
| EEG | Elektroenzephalogramm |
| ELISA | enzyme-linked immunosorbent assay (Enzymgekoppelter Immunadsorptionstest) |
| EMG | Elektromyogramm |
| EOG | Elektrookulogramm |
| FACS | fluorescence activated cell sorting (fluoreszenzaktivierte Zellsortierung) |
| GH | growth hormone (Wachstumshormon) |
| HAV | Hepatitis-A-Virus |
| IFN | Interferon |
| Ig | Immunglobulin |
| IL | Interleukin |
| MHC | major histocompatibility complex (Haupthistokompatibilitätskomplex) |
| OD | optische Dichte |
| PBMC | peripheral blood mononuclear cells (mononukleäre Zellen des peripheren Blutes) |
| REM | rapid eye movement (schnelle Augenbewegungen) |
| SEM | standard error of mean (Standardfehler des Mittelwertes) |
| SOL | sleep onset latency (Einschlaflatenz) |
| SWA | slow wave activity (Deltawellen-Aktivität) |
| SWS | slow wave sleep (Tiefschlaf) |
| TH | T-Helferzelle |
| TNF | Tumornekrosefaktor |

# *6. Literaturverzeichnis*


1. Abbas AK, Murphy KM, Sher A: Functional diversity of helper T lymphocytes. Nature 383, 787-793 (1996)
2. Aschoff J, Wever R: The circadian system of man. In: Aschoff J (Hrsg.): Handbook of behavioral neurobiology. Vol. 4: Biological Rhythm. New York, London: Pelum Press, 311-331 (1981)
3. Besedovsky HO, Del Rey A: Immune-neuroendocrine circuits: integrative role of cytokines. Front Neuroendocrinol 13(1):61-94 (1992)
4. Bierwolf C, Struve K, Marshall L, Born J, Fehm HL: Slow wave sleep drives inhibition of pituitary-adrenal secretion in humans. J Neuroendocrinol 9(6):479-84 (1997)
5. Born J: Slow-wave sleep and the consolidation of long-term memory. World J Biol Psychiatry 11 Suppl 1, 16-21 (2010)
6. Born J, Kern W, Bieber K, Fehm-Wolfsdorf G, Schiebe M, Fehm HL: Nighttime plasma cortisol secretion is associated with specific sleep stages. Biol Psychiatry 21(14):1415-1424 (1986)
7. Born J, Uthgenannt D, Dodt C, Nunninghoff D, Ringvolt E, Wagner T, Fehm HL: Cytokine production and lymphocyte subpopulations in aged humans. An assessment during nocturnal sleep. Mech Ageing Dev 84(2):113-126 (1995)
8. Brown R, Pang G, Husband AJ, King MG: Suppression of immunity to influenza virus infection in the respiratory tract following sleep disturbance. Reg Immunol 2, 321-325 (1989)
9. Bryant PA, Trinder J, Curtis N: Sick and tired: Does sleep have a vital role in the immune system? Nat Rev Immunol 4, 457-467 (2004)
10. Campanelli R, Palermo B, Garbelli S, Mantovani S, Lucchi P, Necker A, Lantelme E, Giachino C: Human CD8 co-receptor is strictly involved in MHCpeptide tetramer-TCR binding and T cell activation. Int Immunol 14(1):39-44 (2002)
11. Cappuccio FP, D'Elia L, Strazzullo P, Miller, MA: Sleep duration and all-cause mortality: a systematic review and meta-analysis of prospective studies. Sleep 33, 585-592 (2010)

12. Chattopadhyay PK, Yu J, Roederer M: A live-cell assay to detect antigenspecific CD4+ T cells with diverse cytokine profiles. Nat Med 11, 1113-1117 (2005)
13. Co MD: Discordance between antibody and T cell responses in recipients of trivalent inactivated influenza vaccine. Vaccine 26, 1990-1998 (2008)
14. Coffman RL, Sher A, Seder RA: Vaccine adjuvants: putting innate immunity to work. Immunity 33:451-463 (2010)
15. Cohen S, Doyle WJ, Alper CM, Janicki-Deverts D, Turner RB: Sleep Habits and Susceptibility to the Common Cold. Arch Intern Med 169, 62-67 (2009)
16. Cross RJ, Campbell JL, Roszman, TL: Potentiation of antibody responsiveness after the transplantation of a syngeneic pituitary gland. J Neuroimmunol 25, 29-35 (1989)
17. Diekelmann S, Born J: The memory function of sleep. Nat Rev Neurosci 11, 114-126 (2010)
18. Dimitrov S, Benedict C, Heutling D, Westermann J, Born J, Lange T: Cortisol and epinephrine control opposing circadian rhythms in Tcell subsets. Blood (2009a)
19. Dimitrov S, Lange T, Benedict C, Nowell MA, Jones SA, Scheller J, Rose-John S, Born J: Sleep enhances IL-6 trans-signaling in humans. Faseb J 20(12):2174-2176 (2006)
20. Dimitrov S, Lange T, Born J: Selective mobilization of cytotoxic leukocytes by epinephrine. J Immunol (2009b)
21. Dimitrov S, Lange T, Fehm HL, Born J: A regulatory role of prolactin, growth hormone, and corticosteroids for human T-cell production of cytokines. Brain Behav Immun 18, 368-374 (2004a)
22. Dimitrov S, Lange T, Nohroudi K, Born J: Number and function of circulating human antigen presenting cells regulated by sleep. Sleep 30, 401-411 (2007)
23. Dimitrov S, Lange T, Tieken S, Fehm HL, Born J: Sleep associated regulation of T helper 1/T helper 2 cytokine balance in humans. Brain Behav Immun 18, 341-348 (2004b)
24. Dopp JM, Wiegert NA, Moran JJ, Muller D, Weber S, Hayney MS: Humoral immune responses to influenza vaccination in patients with obstructive sleep apnea. Pharmacotherapy 27(11), 1483-1489 (2007)

25. Dracott BN, Smith CE: Hydrocortisone and the antibody response in mice. I. Correlations between serum cortisol levels and cell numbers in thymus, spleen, marrow and lymph nodes. Immunology 38, 429-435 (1979a)
26. Dracott BN, Smith CE: Hydrocortisone and the antibody response in mice. II. Correlations between serum and antibody and PFC in thymus, spleen, marrow and lymph nodes. Immunology 38, 437-443 (1979b)
27. Everson CA: Functional consequences of sustained sleep deprivation in the rat. Behav Brain Res 69(1-2):43-54 (1995)
28. Forrest BD, Pride MW, Dunning AJ, Capeding MR, Chotpitayasunondh T, Tam J S, Rappaport R, Eldridge JH, Gruber WC: Correlation of cellular immune responses with protection against culture-confirmed influenza virus in young children. Clin Vaccine Immunol 15, 1042-1053 (2008)
29. Frentsch M, Arbach O, Kirchhoff D, Moewes B, Worm M, Rothe M, Scheffold A, Thiel A: Direct access to CD4+ T cells specific for defined antigens according to CD154 expression. Nat Med 11, 1118-1124 (2005)
30. Gader AM: The effects of beta adrenergic blockade on the responses of leucocyte counts to intravenous epinephrine in man. Scand J Haematol 13(1):11-16 (1974)
31. Goldstein DS, Kopin IJ: Adrenomedullary, adrenocortical and sympathoneural responses to stressors: a meta-analysis. Endocr Regul 42, 111-119 (2008)
32. Heininger U: Impfratgeber. Impfempfehlungen für Kinder, Jugendliche und Erwachsene. Aufl. 2009, Uni-Med, Bremen (2009)
33. Herold G: Innere Medizin. Aufl. 2007, 470-484, Gerd Herold, Köln (2008)
34. Ibata Y, Okamura H, Tanaka M, Tamada Y, Hayashi S, Iijima N, Matsuda T, Munekawa K, Takamatsu T, Hisa Y, Shigeyoshi Y, Amaya F: Functional morphology of the suprachiasmatic nucleus. Front Neuroendocrinol 20(3):241-268 (1999)
35. Imeri L, Opp MR: How (and why) the immune system makes us sleep. Nat Rev Neurosci 10, 199-210 (2009)
36. Janeway C, Travers P, Walport M, Shlomchik M: Immunobiology: The Immune System in Health and Disease. Garland Science Publishing. New York (2004)
37. Jiang JG, Huang XJ, Chen J: Separation and purification of saponins from

Semen Ziziphus jujuba and their sedative and hypnotic effects. J Pharm Pharmacol 59, 1175-1180 (2007)

38. Kin NW, Sanders VM: It takes nerve to tell T and B cells what to do. J Leukoc Biol 79, 1093-1104 (2006)
39. Korman M, Doyon J, Doljansky J, Carrier J, Dagan Y, Karni A: Daytime sleep condenses the time course of motor memory consolidation. Nat Neurosci 10, 1206–1213 (2007)
40. Kornbluth RS, Stone GW: Immunostimulatory combinations: designing the next generation of vaccine adjuvants. J Leukoc Biol 80, 1084-1102 (2006)
41. Lahl, O., Wispel, C., Willigens, B. and Pietrowsky, R. An ultra short episode of sleep is sufficient to promote declarative memory performance. J. Sleep Res. 17, 3–10 (2008)
42. Lange T: Schlafeffekte auf Leukozyten und Zytokine des Menschen unter Berücksichtigung circadianer und endokriner Einflüsse. Med. Diss. Lübeck (2004)
43. Lange T, Dimitrov S, Born J: Effects of sleep and circadian rhythm on the human immune system. Ann NY Acad Sci 1193, 48-59 (2010)
44. Lange T, Dimitrov S, Fehm HL, Born J: Sleep-like concentrations of growth hormone and cortisol modulate type1 and type2 in-vitro cytokine production in human T cells. Int Immunopharmacol 6, 216-225 (2006a)
45. Lange T, Dimitrov S, Fehm HL, Westermann J, Born J: Shift of monocyte function toward cellular immunity during sleep. Arch Intern Med 166, 1695-1700 (2006b)
46. Lange T, Perras B, Fehm HL, Born J: Sleep enhances the human antibody response to hepatitis A vaccination. Psychosom Med 65, 831-835 (2003)
47. Lanzavecchia A, Sallusto F: Dynamics of T lymphocyte responses: intermediates, effectors and memory cells. Science 290, 92-97 (2000)
48. Linkowski P, Spiegel K, Kerkhofs M, L'Hermite-Balériaux M, Van Onderbergen A, Leproult R, Mendlewicz J, Van Cauter E: Genetic and environmental influences on prolactin secretion during wake and during sleep. Am J Physiol 274, E909-E919 (1998)
49. Loeper M, Crouzon O : L'action de l'adrenaline sur le sang. Arch Med Exp Anat Pathol 16:83–108 (1904)

50. Lorton D, Lubahn CL, Estus C, Millar BA, Carter JL, Wood CA, Bellinger DL: Bidirectional communication between the brain and the immune system: implications for physiological sleep and disorders with disrupted sleep. Neuroimmunomodulation 13, 357-374 (2006)
51. Maquet P: The role of sleep in learning and memory. Science 294, 1048-1052 (2001)
52. Marr D: Simple memory: a theory for archicortex. Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci 262, 23-81 (1971)
53. Marshall L, Helgadottir H, Molle M, Born J: Boosting slow oscillations during sleep potentiates memory. Nature 444, 610-613 (2006)
54. Matera L, Mori M: Cooperation of pituitary hormone prolactin with interleukin-2 and interleukin-12 on production of interferon-gamma by natural killer and T cells. Ann NY Acad Sci 917, 505-513 (2000)
55. McClelland JL, McNaughton, BL, O'Reilly RC: Why there are complementary learning systems in the hippocampus and neocortex: insights from the successes and failures of connectionist models of learning and memory. Psychol Rev 102, 419-457 (1995)
56. McGlone FB, Arden NH: Impact of influenza in geriatrics and action plan for prevention and treatment. American Journal of Medicine 82, 55-57 (1987)
57. Mednick S, Nakayama K, Stickgold R: Sleep-dependent learning: a nap is as good as a night. Nature Neurosci 6, 697–698 (2003)
58. Miller GE, Cohen S, Pressman S, Barkin A, Rabin BS, Treanor J: Psychological stress and antibody response to influenza vaccination: when is the critical period for stress, and how does it get inside the body? Psychosom Med 66, 215-223 (2004)
59. Nishida M, Walker MP: Daytime naps, motor memory consolidation and regionally specific sleep spindles. PLoS ONE 2, e341 (2007)
60. Nossal GJ: Host immunobiology and vaccine development. Lancet 350, 1316-131 (1997)
61. Pabst MJ, Beranova-Giorgianni S, Krueger JM: Effects of muramyl peptides on macrophages, monokines, and sleep. Neuroimmunomodulation 6, 261-283 (1999)

62. Petrovsky N: Towards a unified model of neuroendocrine-immune interaction Immunol Cell Biol 79(4):350-357 (2001)
63. Phillips AC, Gallagher S, Carroll D, Drayson, M: Preliminary evidence that morning vaccination is associated with an enhanced antibody response in men. Psychophysiology 45, 663-666 (2008)
64. Pickering M, O'Connor JJ: Pro-inflammatory cytokines and their effects in the dentate gyrus. Prog Brain Res 163, 339-354 (2007)
65. Pollmächer T, Lauer C: Physiologie von Schlaf und Schlafregulation. In: Berger M (Hrsg.): Handbuch des normalen und gestörten Schlafs. 1-44, Springer-Verlag, Berlin (1992)
66. Prinz PN: Age impairments in sleep, metabolic and immune functions. Exp Gerontol 39, 1739-1743 (2004)
67. Pulendran B, Ahmed R: Translating innate immunity into immunological memory: implications for vaccine development. Cell 124, 849-863 (2006)
68. Rechtschaffen A, Kales A: A Manual of Standardized Terminology, Techniques and Scoring System for Sleep of Human Subjects. United States Goverment Printing Office, Washington DC (1968)
69. Rechtschaffen A, Gilliland MA, Bergmann BM, Winter JB: Physiological correlates of prolonged sleep deprivation in rats. Science 221(4606):182-4 (1983)
70. Regodon S, Martin-Palomio P, Fernandez-Montesinos R, Herrera JL, Carrascosa-Salmoral MP, Piriz S, Vadillo S, Guerrero JM, Pozo D: The use of melatonin as a vaccine agent. Vaccine 23, 5321-5327 (2005)
71. Renegar KB, Floyd R, Krueger JM: Effect of sleep deprivation on serum influenza-specific IgG. Sleep 21, 19-24 (1998a)
72. Renegar KB, Floyd RA, Krueger JM: Effects of short-term sleep deprivation on murine immunity to influenza virus in young adult and senescent mice. Sleep 21, 241-248 (1998b)
73. Robert Koch Institut (Hrsg.): Empfehlungen der Ständigen Impfkommission (STIKO) am RKI. In: Robert Koch Institut: Epidemiologisches Bulletin Nr. 30, 276–298, Berlin (2011)

74. Rontgen P, Sablotzki A, Simm A, Silber RE, Czeslick E: Effect of catecholamines on intracellular cytokine synthesis in human monocytes. Eur Cytokine Netw 15, 14-23 (2004)
75. Rosenthal KS, Zimmerman, DH: Vaccines: all things considered. Clin Vaccine Immunol 13, 821-829 (2006)
76. Sallusto F, Lanzavecchia A, Araki K, Ahmed R: From vaccines to memory and back. Immunity 33, 451-463 (2010)
77. Seder RA, Darrah PA, Roederer M: T-cell quality in memory and protection: implications for vaccine design. Nat Rev Immunol 8, 247-258 (2008)
78. Spiegel K, Sheridan JF, Van Cauter E: Effect of sleep deprivation on response to immunization. JAMA 288, 1471-1472 (2002)
79. Steinman L: Elaborate interactions between the immune and nervous systems. Nat Immunol 5, 575-581 (2004)
80. Stephenson JR, Lee JM, Baile N, Shepherd AG, Melling J: Adjuvant effect of human growth hormone with an inactivated flavivirus vaccine. J Infect Dis 164, 188-191 (1991)
81. Steyer R, Schwenkmezger P, Notz P, Eid M: Theoretical analysis of a multidimensional mood questionnaire (MDBF). Diagnostica 1994, 320-328 (2009)
82. Stickgold R: Sleep-dependent memory consolidation. Nature 437, 1272-1278 (2005)
83. Stobie L, Gurunathan S, Prussin C, Sacks DL, Glaichenhaus N, Wu CY, Seder RA: The role of antigen and IL-12 in sustaining Th1 memory cells in vivo: IL-12 is required to maintain memory/effector Th1 cells sufficient to mediate protection to an infectious parasite challenge. Proc Natl Acad Sci USA 97:8427 (2000)
84. Stubbe M, Vanderheyde N, Goldman M, Marchant A: Antigen-specific central memory CD4+ T lymphocytes produce multiple cytokines and proliferate in vivo in humans. J Immunol 177, 8185-8190 (2006)
85. Toth LA, Tolley EA, Krueger JM: Sleep as a prognostic indicator during infectious disease in rabbits. Proc Soc Exp Biol Med 203, 179-192 (1993)
86. Trinchieri G: Interleukin-12 and the regulation of innate resistance and adaptive immunity. Nat Rev Immunol 3, 133-146 (2003)

87. Tripathi A, Sodhi A: Growth hormone-induced production of cytokines in murine peritoneal macrophages in vitro: role of JAK/STAT, PI3K, PKC and MAP kinases. Immunobiology 214(6):430-440 (2009)
88. Tucker MA, Hirota Y, Wamsley EJ, Lau H, Chaklader A, Fishbein W: A daytime nap containing solely non-REM sleep enhance declarative but not procedural memory. Neurobiol Learn Mem 86, 241–247 (2006)
89. Van der Wielen M, Van Damme P, Chlibek R, Smetana J, von Sonnenburg F: Hepatitis A/B vaccination of adults over 40 years old: comparison of three vaccine regimens and effect of influencing factors. Vaccine 24, 5509-5515 (2006)
90. Wiedermann U, Kundi M, Vollmann U, Kollaritsch H, Ebner C, Wiedermann G: Different HBs antibody versus lymphoproliferative responses after application of a monovalent (hepatitis B) or combined (hepatitis A + hepatitis B) vaccine. Int Arch Allergy Immunol 123, 349-353 (2000)
91. World Medical Association: Declaration of Helsinki - Ethical Principles for Medical Research Involving Human Subjects (1964) http://www.wma.net/en/30publications/10policies/b3/ (Tag des Zugriffs: 14.02.2012)

# *7. Anhang*

## *7.1 Fragebogen vor Impfung und Blutentnahme*

Fragebogen vor Impfung und Blutentnahme

- Code:
- Termin: O Impfung 1 O BP 1w O BP 2w O BP 4w
  O Impfung 2 O BP 9w O BP 10w O BP 12w
  O Impfung 3 O BP 17w O BP 18w O BP 20w
- Datum:

- Gesundheit heute?
- Gesundheit in der letzten Woche?
- Medikamente/Drogen heute?
- Medikamente/Drogen in der letzten Woche?
- Wann zum letzten Mal koffeinhaltige Getränke getrunken?
- Heute besonderen Stress gehabt?
- Wenn ja wann, wodurch?
- In der letzten Woche besonderen Stress gehabt?
- Wenn ja wann, wodurch?
- Körperliche Anstrengung heute?
- Wenn ja wann, wodurch?
- Körperliche Anstrengung in der letzten Woche?
- Wenn ja wann, wodurch?

- Zu welcher Uhrzeit letzte Nacht zum Schlafen ins Bett?
- Wann heute aufgestanden?
- Wieviel Stunden Schlaf letzte Nacht?
- Heute Schlaf tagsüber? Wenn ja, wann, wie viel?
- Besonderheiten seit dem letzten Termin (z.B. Krankheit, Prüfungen, starke körperliche Anstrengung, belastende persönliche Probleme etc.):

## *7.2 Fragebogen zur Impfreaktion*

**Symptom-Fragebogen** **Code:**

Bitte geben Sie an ob nach der Impfung bestimmte Symptome aufgetreten sind und bewerten Sie den Schweregrad jedes Symptoms anhand der folgenden Kriterien:

**Schmerzen (an der Einstichstelle):**
- **0:** Keine Schmerzen
- **1:** Schmerzen bei Berührung
- **2:** Schmerzen, wenn der Arm bewegt wird.
- **3:** Schmerzen, die normale Aktivität nicht zulassen.

**Größe:** Bitte den größten Durchmesser (in mm) messen.

**Sonstige lokale Symptome:**
- **1: Leicht:** Unerwünschtes Ereignis, das der Proband leicht tolerieren kann, das nur geringe Beschwerden verursacht und die Alltagsaktivitäten nicht beeinträchtigt.
- **2. Mittelschwer:** Unerwünschtes Ereignis, das so weit Beschwerden verursacht, dass das Alltagsleben beeinträchtigt ist.
- **3. Schwer:** Unerwünschtes Ereignis, das ein normales Alltagsleben nicht zulässt. (Bei Erwachsenen/Jugendlichen würde ein solches Ereignis z.B. dazu führen, dass der Proband nicht zur Arbeit/Schule gehen kann und eine therapeutische Abhilfemaßnahme erforderlich ist).

**Temperatur:** Bitte die Achseltemperatur jeden Abend um 21:00 Uhr messen und eintragen.

**Allgemeine Symptome:**
- **0:** Normal
- **1:** Leicht zu ertragen
- **2:** Beeinträchtigt normale Aktivitäten
- **3:** Verhindert normale Aktivitäten

**Sonstige Allgemeine Symptome:** siehe sonstige lokale Symptome

**Tag 0 = Impfung, Datum:** ☐☐ ☐☐ ☐☐☐☐

| Lokale Symptome | Tag 0 | Tag 1 | Tag 2 | Tag 3 | Tag 4 | Tag 5 | Tag 6 | Nach Tag 6 fortbestehend? | Letzter Tag der Symptome | Arztbesuch? |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **Schmerzen** → Schweregrad: | | | | | | | | ☐ Nein ☐ Ja → | | ☐ Nein ☐ Ja |
| **Rötung** → Größe (mm): | | | | | | | | ☐ Nein ☐ Ja → | | ☐ Nein ☐ Ja |
| **Schwellung** → Größe (mm): | | | | | | | | ☐ Nein ☐ Ja → | | ☐ Nein ☐ Ja |
| **Hautblutung** → Größe (mm): | | | | | | | | ☐ Nein ☐ Ja → | | ☐ Nein ☐ Ja |
| **Verhärtung** → Größe (mm): | | | | | | | | ☐ Nein ☐ Ja → | | ☐ Nein ☐ Ja |

**Sonstige lokale Symptome (in den 28 Tagen nach der Impfung)**

| Beschreibung – Bitte Seite(n) und genaue Stelle(n) angeben | Schwere-grad | Anfangsdatum | Enddatum oder Kästchen ankreuzen, wenn fortbestehend | Arztbesuch? |
|---|---|---|---|---|
| | | | ☐ | ☐ Nein ☐ Ja |
| | | | ☐ | ☐ Nein ☐ Ja |
| | | | ☐ | ☐ Nein ☐ Ja |
| | | | ☐ | ☐ Nein ☐ Ja |

| Allgemeine Symptome | Tag 0 | Tag 1 | Tag 2 | Tag 3 | Tag 4 | Tag 5 | Tag 6 | Nach Tag 6 fortbestehend? | Letzter Tag der Symptome | Arztbesuch? |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **Temperatur** → °C (xx,x) | , | , | , | , | , | , | , | ☐ Nein<br>☐ Ja → | | ☐ Nein<br>☐ Ja |
| **Müdigkeit** → Schweregrad | | | | | | | | ☐ Nein<br>☐ Ja → | | ☐ Nein<br>☐ Ja |
| **Kopfschmerzen** → Schweregrad | | | | | | | | ☐ Nein<br>☐ Ja → | | ☐ Nein<br>☐ Ja |
| **Muskelschmerzen** → Schweregrad | | | | | | | | ☐ Nein<br>☐ Ja → | | ☐ Nein<br>☐ Ja |
| **Gelenkschmerzen** → Schweregrad | | | | | | | | ☐ Nein<br>☐ Ja → | | ☐ Nein<br>☐ Ja |
| **Zittern/Frösteln** → Schweregrad | | | | | | | | ☐ Nein<br>☐ Ja → | | ☐ Nein<br>☐ Ja |
| **Vermehrtes Schwitzen** → Schweregrad | | | | | | | | ☐ Nein<br>☐ Ja → | | ☐ Nein<br>☐ Ja |
| **Magenprobleme/ Übelkeit** → Schweregrad | | | | | | | | ☐ Nein<br>☐ Ja → | | ☐ Nein<br>☐ Ja |

**Sonstige allgemeine Symptome (in den 28 Tagen nach der Impfung)**

| Beschreibung – Bitte genaue Angaben | Schwere-grad | Anfangsdatum | Enddatum oder Kästchen ankreuzen, wenn fortbestehend | Arztbesuch? |
|---|---|---|---|---|
| | | | ☐ | ☐ Nein<br>☐ Ja |
| | | | ☐ | ☐ Nein<br>☐ Ja |
| | | | ☐ | ☐ Nein<br>☐ Ja |
| | | | ☐ | ☐ Nein<br>☐ Ja |

**Medikamente - Bitte unten eintragen, wenn *seit der Impfung* Medikamente eingenommen wurden**

| Handels-/Freiname | Grund | Tagesdosis | Anfangsdatum | Enddatum oder Kästchen ankreuzen, wenn fortbestehend |
|---|---|---|---|---|
| | | | | ☐ |
| | | | | ☐ |
| | | | | ☐ |
| | | | | ☐ |

BITTE VERGESSEN SIE NICHT, DEN FRAGEBOGEN ZUR 3. BLUTENTNAHME (4 WOCHEN) NACH DER IMPFUNG MITZUBRINGEN.

### *7.3 Fragebogen zur Befindlichkeit (MDBF-Kurzform A)*

(deutsche Kurzversion; Steyer et al., 2009)

**MDBF-Kurzform A**

Datum und Uhrzeit

| Im Moment fühle ich mich | überhaupt nicht 1 | 2 | 3 | 4 | sehr 5 |
|---|---|---|---|---|---|
| 1. zufrieden | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ |
| 2. ausgeruht | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ |
| 3. ruhelos | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ |
| 4. schlecht | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ |
| 5. schlapp | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ |
| 6. gelassen | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ |
| 7. müde | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ |
| 8. gut | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ |
| 9. unruhig | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ |
| 10. munter | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ |
| 11. unwohl | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ |
| 12. entspannt | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ |
| | überhaupt nicht | | | | sehr |

## *7.4 Fragebogen zur Schlafqualität (SF-A-R)*

# Fragebogen zur Schlafqualität (SF-A-R)

Probandencode: _____ Datum: ___:___:___ Uhrzeit:___:___

Impfung: O 1 O 2 O 3

Licht aus: ___:___ Uhr Eingeschlafen: ___:___ Uhr Licht an/Aufgewacht: ___:___ Uhr

**Anleitung:**
Die folgenden Fragen beziehen sich darauf, wie Sie in der letzten Nacht geschlafen haben. Kreuzen Sie bitte die Antworten an, die für Sie am ehesten zutreffen. Gehen Sie bei der Beantwortung der Fragen zügig voran und lassen Sie keine Frage aus. Bitte sofort nach dem Aufwachen morgens ausfüllen!

**1.) Konnten Sie, nachdem Sie sich schlafen gelegt hatten, gleich einschlafen?**

| | |
|---|---|
| Ja. | |
| Nein, erst nach 10 min. | |
| Nein, erst nach 20 min. | |
| Nein, erst nach 40 min. | |
| Nein, erst nach 1 Stunde. | |
| Nein, erst nach mehr als 1 Stunde. | |
| Ich konnte überhaupt nicht schlafen. | |

1.a) Falls Nein, welches waren die Gründe? (Mehrfachnennungen möglich)

| | |
|---|---|
| Persönliche / berufliche Probleme | |
| Geräusche im Zimmer oder von draußen | |
| Beschäftigung mit Tagesereignissen | |
| Ungewohnte Schlafumgebung | |
| Sonstige: | |

**2.) In der Einschlafphase hat man hin und wieder plötzlich deutliche Bildeindrücke. War dies gestern Abend bei Ihnen so?**

| Nein | Bin nicht sicher | Ja, sehr deutlich |
|---|---|---|
| | | |

**3.) Hatten Sie während der Einschlafphase Muskelzuckungen in den Armen oder Beinen?**

| Nein | Leicht | Stark |
|---|---|---|
| | | |

# Fragebogen zur Schlafqualität (SF-A-R)

4.) Sind Sie gestern nach dem Einschlafen nachts wieder aufgewacht?

| Nein | 1x | 2x | 3x | >3x |
|---|---|---|---|---|
| | | | | |

4.a) Falls Ja, welches waren die Gründe? (Mehrfachnennungen möglich)

| | |
|---|---|
| Persönliche / berufliche Probleme | |
| Geräusche im Zimmer oder von draußen | |
| Ich musste zur Toilette | |
| Ich hatte schlecht geträumt | |
| Sonstige: | |

4.b) Falls Ja, wie lange waren Sie ungefähr wach? (Schätzen Sie bitte.)

| | | |
|---|---|---|
| 1. Aufwachen | Dauer (min): | |
| 2. Aufwachen | Dauer (min): | |
| 3. Aufwachen | Dauer (min): | |
| 4. Aufwachen | Dauer (min): | |

**5.) Können Sie sich erinnern, ob Sie heute Nacht geträumt haben?**

| | |
|---|---|
| Nein, ich kann mich nicht erinnern geträumt zu haben | |
| Ja, ich habe geträumt, kann mich aber nicht mehr an den Trauminhalt erinnern. | |
| Ja, ich habe geträumt und kann mich an den Trauminhalt erinnern. | |

5a.) Falls ja, welche Gefühle hatten Sie während des Träumens (Mehrfachnennungen möglich)

| Angenehm | Neutral | Unangenehm |
|---|---|---|
| | | |

5b) Falls ja, was war (grob) der Inhalt der Träume

_____

_____

_____

**6.) Haben Sie in der letzten Nacht geschwitzt?**

| Nein | Leicht | Stark |
|---|---|---|
| | | |

**7.) Haben Sie heute Morgen Kopfschmerzen?**

| Nein | Leicht | Stark |
|---|---|---|
| | | |

# Fragebogen zur Schlafqualität (SF-A-R)

8.) War der gestrige Tag für Sie anstrengend?

| Nein | Ein wenig | Sehr |
|---|---|---|
| | | |

**Anleitung:**

Auf dieser Seite finden Sie einige Wörter, mit denen Sie beschreiben können, wie Sie sich gestern Abend fühlten, wie Sie heute Nacht geschlafen haben und wie Sie sich heute Morgen fühlen. Kreuzen Sie hinter jedem Wort an, in welchem Ausmaß es für Sie zutrifft. Bitte antworten Sie zügig und lassen Sie keine Zeile aus!

**9.) Wie haben Sie letzte Nacht geschlafen?**

| | Sehr | Ziemlich | Mittel | Wenig | Nicht |
|---|---|---|---|---|---|
| a) gleichmäßig | | | | | |
| b) tief | | | | | |
| c) gut | | | | | |
| d) entspannt | | | | | |
| e) ungestört | | | | | |
| f) ruhig | | | | | |
| g) ausgiebig | | | | | |

**10.) Wie fühlten Sie sich gestern vor dem Schlafengehen?**

| | Sehr | Ziemlich | Mittel | Wenig | Nicht |
|---|---|---|---|---|---|
| a) sorglos | | | | | |
| b) erschöpft | | | | | |
| c) schlafbedürftig | | | | | |
| d) überfordert | | | | | |
| e) ausgeglichen | | | | | |
| f) ruhig | | | | | |
| g) müde | | | | | |
| h) entspannt | | | | | |

**11.) Wie fühlen Sie sich heute Morgen?**

| | Sehr | Ziemlich | Mittel | Wenig | Nicht |
|---|---|---|---|---|---|
| a) Ausgeglichen | | | | | |
| b) Dösig | | | | | |
| c) Tatkräftig | | | | | |
| d) munter | | | | | |
| e) frisch | | | | | |
| f) ausgeschlafen | | | | | |
| g) entspannt | | | | | |

### *7.5 Stanford Schläfrigkeitsskala*

**Stanford Schläfrigkeitsskala**

Code:

Datum:

Uhrzeit:

Dies ist ein kurzer Fragebogen, um zu erfassen wie munter Sie sich fühlen. Bitte schätzen Sie ein, wie Sie sich jetzt im Moment fühlen, indem Sie die jeweilige Zahl ankreuzen (es ist nur ein Kreuz möglich)!

| **Grad der Schläfrigkeit** | **Einschätzung** |
|---|---|
| Ich fühle mich aktiv, vital, aufmerksam und hellwach | 1 |
| Ich funktioniere sehr gut, aber nicht mit Spitzenleistung; ich kann mich konzentrieren | 2 |
| Ich bin wach, aber entspannt; ich kann reagieren, bin aber nicht voll aufmerksam | 3 |
| Ich bin etwas müde, fühle mich schlapp | 4 |
| Ich fühle mich müde und verlangsamt; habe keine Lust mehr wach zu bleiben | 5 |
| Ich fühle mich schläfrig, benebelt; kämpfe mit dem Schlaf; würde mich lieber hinlegen | 6 |
| Ich kann nicht länger gegen den Schlaf ankämpfen, werde bald einschlafen; habe traumähnliche Gedanken | 7 |
| Schlafen | X |

### *7.6 Statistik Ergebnisse*

**Hormone**

| | **Effekt 'Zeit'** | **Effekt 'Schlaf/Wach'** | **Interaktionseffekt 'Schlaf/Wach'** |
|---|---|---|---|
| Cortisol | F(6,144) = 104,22; p < 0,001 | F(1,24) = 0,59; p = 0,45 | F(6,144) = 7,23; p < 0,001 |
| Noradrenalin | F(6,144) = 3,86; p = 0,006 | F(1,24) = 32,81; p < 0,001 | F(6,144) = 0,76; p = 0,553 |
| Adrenalin | F(6,144) = 5,78; p = 0,001 | F(1,24) = 8,98; p = 0,006 | F(6,144) = 0,77; p = 0,527 |
| GH | F(6,144) = 27,06; p < 0,001 | F(1,24) = 34, 02; p < 0,001 | F(6,144) = 27,16; p < 0,001 |
| Prolaktin | F(6,144) = 12,04; p < 0,001 | F(1,24) = 5,87; p = 0,023 | F(6,144) = 21,35; p < 0,002 |

Der Faktor ‘Zeit‘ beinhaltet die 7 Hormonmessungen gemittelt über die drei Versuchsnächte. n = 26.

**HAV-spezifische**

**TH-Zellen**

| **Zeitraum** | **Effekt 'Zeit'** | **Effekt 'Schlaf/Wach'** | **Interaktionseffekt 'Schlaf/Wach' x 'Zeit** |
|---|---|---|---|
| Woche 0-20 (n = 22) | F(11,198) = 5,6; p = 0,002 | F(1,18) = 10,10; p = 0,005 | F(11,198) = 6,86; p = 0,001 |
| Woche 0 (n = 27) | | F(1,23) = 0,15; p = 0,704 | |
| Woche 1 (n = 27) | | F(1,23) = 0,6; p = 0,811 | |
| Woche 2 (n = 27) | | F(1,23) = 2,07; p = 0,164 | |
| Woche 4 (n = 27) | | F(1,23) = 1,43; p = 0,244 | |
| Woche 8 (n = 27) | | F(1,23) = 4,8; p = 0,039 | |
| Woche 9 (n = 24) | | F(1,20) = 1,82; p = 0,193 | |
| Woche 10 (n = 24) | | F(1,20) = 3,03; p = 0,097 | |
| Woche 12 (n = 24) | | F(1,20) = 5,07; p = 0,036 | |
| Woche 16 (n = 24) | | F(1,20) = 4,93; p = 0,038 | |
| Woche 17 (n = 23) | | F(1,19) = 3,2; p = 0,090 | |
| Woche 18 (n = 22) | | F(1,18) = 17,22; p = 0,001 | |
| Woche 20 (n = 22) | | F(1,18) = 10,82; p = 0,004 | |
| Woche 52 (n = 12) | | F(1,18) = 15,45; p = 0,004 | |
| Woche 18 und 20 (n = 22) | | F(1,18) = 15,25; p = 0,001 | |

Alter und Gewicht der Probanden wurden als Kovarianten berücksichtigt.

| **Antikörper**<br>**Zeitraum** | **Effekt 'Zeit'** | **Effekt 'Schlaf/Wach'** | **Interaktionseffekt**<br>**'Schlaf/Wach' x 'Zeit'** |
|---|---|---|---|
| **IgG1** | | | |
| Woche 0-20 (n = 19) | F(5,75) = 2,6; p = 0,110 | F(1,15) = 6,35; p = 0,024 | F(5,75) = 4,3; p = 0,037 |
| Woche 4 (n = 23) | | F(1,19) = 0,21; p = 0,655 | |
| Woche 8 (n = 23) | | F(1,19) = 6,1; p = 0,023 | |
| Woche 12 (n = 21) | | F(1,17) = 6,27; p = 0,023 | |
| Woche 16 (n = 20) | | F(1,16) = 6,15; p = 0,025 | |
| Woche 20 (n = 19) | | F(1,15) = 3,6; p = 0,077 | |
| Woche 52 (n = 10) | | F(1,15) = 0,32; p = 0,591 | |
| **IgG2** | | | |
| Woche 0-20 (n = 17) | F(5,65) = 0,93; p = 0,392 | F(1,13) = 0,88; p = 0,364 | F(5,65) = 0,87; p = 0,412 |
| **IgG4** | | | |
| Woche 0-20 (n = 17) | F(5,65) = 0,45; p = 0,650 | F(1,13) = 1,02; p = 0,330 | F(5,65) = 0,51; p = 0,614 |
| **IgG3** | | | |
| Woche 0-20 (n = 18) | F(5,70) = 2,05; p = 0,149 | F(1,14) = 0,36; p = 0,557 | F(5,70) = 0,14; p = 0,864 |

Alter und Gewicht der Probanden wurden als Kovarianten berücksichtigt.