

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

**Effekte der intranasalen Interleukin 6 Applikation auf die
Schlaf-assoziierte Gedächtniskonsolidierung beim Menschen**

Inauguraldissertation

zur

Erlangung der Doktorwürde
der Universität zu Lübeck

- Aus der Medizinischen Fakultät -

vorgelegt von
Victoria Ulrich
aus Berlin

Speyer 2011

1. Berichterstatter/Berichterstatterin: Prof. Dr. rer. medic. Lisa Marshall

2. Berichterstatter/Berichterstatterin: Prof. Dr. med. Cordula Stamme

Tag der mündlichen Prüfung: 17.01.2014

Zum Druck genehmigt. Lübeck, den 17.01.2014

- Promotionskommission der Sektion Medizin -

Inhaltsverzeichnis

Abkürzungsverzeichnis	5
1. Einleitung	6
1.1 Schlaf	6
Polysomnographie und Schlafphasen.	6
Schlaf und Immunsystem.	8
1.2 Gedächtnis	9
Einteilung.	10
Konsolidierung.	11
Gedächtnis und Schlaf.	12
Gedächtnis, Schlafstadien und EEG-Wellen.	13
Gedächtnis und Hormone.	15
1.3 Interleukin 6	16
Interleukin 6 molekular.	17
Interleukin 6 und Körpertemperatur.	17
Interleukin 6 und Schlaf.	18
Interleukin 6, neuronale Plastizität und Gedächtnis.	19
Intranasale Applikation von Interleukin 6.	19
1.4 Fragestellung und Hypothesen	20
1. Die intranasale IL-6-Gabe fördert die deklarative Gedächtniskonsolidierung.	20
2. Die intranasale IL-6-Gabe macht müde.	20
3. Die intranasale IL-6-Gabe führt zu einer Erhöhung der Körpertemperatur.	20
4. Periphere Effekte von IL-6 bleiben beim intranasalen Applikationsmodus aus.	20
2. Material und Methoden	21
2.1 Probanden	21
2.2 Interleukin 6	21
2.3 Versuchsdesign und Ablauf	22
2.4 Gedächtnistests und psychometrische Kontrolldaten	26
Texte.	26
Memoryspiel.	27
Fingersequenzaufgabe.	27
Wortflüssigkeitstest.	28
Stanford-Schläfrigkeits-Skala.	28

2.5 Blutuntersuchungen	29
2.6 Polysomnographie	29
2.7 Statistische Auswertung	30
3. Ergebnisse	31
3.1 Gedächtnistests	31
Texte.	31
Memoryspiel.	34
Fingersequenzaufgabe.	35
Wortflüssigkeitstest.	35
3.2 Schlaf	35
3.3 Schläfrigkeit	37
3.4 Körpertemperatur	38
3.5 Interleukin 6	39
3.6 C-reaktives Protein (CRP)	40
3.7 Cortisol	40
4. Diskussion	41
4.1 Diskussion der Ergebnisse	41
1. Die intranasale IL-6-Gabe fördert die deklarative Gedächtniskonsolidierung.	41
2. Die intranasale IL-6-Gabe macht müde.	47
3. Die intranasale IL-6-Gabe führt zu einer Erhöhung der Körpertemperatur.	48
4. Periphere Effekte von IL-6 bleiben beim intranasalen Applikationsmodus aus.	48
4.2. Allgemeine Diskussion	49
4.3 Diskussion der Methoden	51
5. Zusammenfassung	52
Literaturverzeichnis	53
Anhang	68
Genehmigung der Studie durch die Ethikkommission Lübeck	68
Abbildungen	69
Tabellen	69
Danksagung	70
Lebenslauf	71
Eidesstattliche Erklärung	72

Abkürzungsverzeichnis

EEG	Elektroenzephalogramm
EMG	Elektromyogramm
EOG	Elektrookulogramm
fMRT	funktionelle Magnetresonanztomographie
GH	Growth Hormone (Wachstumshormon)
HPA	Hypothalamic-pituitary-adrenocortical axis (Hypothalamus-Hypophysen-Nebennierenrinden-Achse)
IL-1	Interleukin 1
IL-6	Interleukin 6
IL-6R	Interleukin 6 Rezeptor
LTP	Long Term Potentiation
MW	Mittelwert
REM	rapid eye movement
S1-4	Schlafstadium 1-4
SEM	Standard error mean (Standardfehler)
sgp130	lösliches gp130
sIL-6R	soluble (löslicher) Interleukin 6 Rezeptor
SWA	Slow wave activity
SWS	Slow wave sleep (Tiefschlaf)
TNF- α	Tumornekrosefaktor α
W	Wach
ZNS	Zentrales Nervensystem

1. Einleitung

1.1 Schlaf

Schlaf ist ein regelmäßig wiederkehrender physiologischer Erholungszustand. Im Schlaf ruhen die äußerliche Aktivität und das Handeln. Obwohl es noch viele offene Fragen zum Thema „Was ist Schlaf?“ gibt, wurden von der Sleep Research Society vier allgemeine Kriterien zur Charakterisierung von Schlaf bei Mensch und Tier beschrieben: 1. Bewegungsarmut im Schlaf; 2. stereotype Schlafposition; 3. reduzierte Wahrnehmung äußerer Reize im Schlaf; 4. Reversibilität des Zustands Schlaf (<http://www.sleephomepages.org/sleepsyllabus/>). Schlaf wird begleitet und beeinflusst von neurohumoralen Veränderungen, das heißt Veränderungen in der Zusammensetzung des Blutes durch Konzentrationsänderungen seiner Bestandteile, gemeint sind hier vor allem Hormone, aber auch Immunzellen und Zytokine, und Änderungen auf neurophysiologischer Ebene.

Polysomnographie und Schlafphasen. Rechtschaffen und Kales stellten 1968 Kriterien für verschiedene Schlafstadien des Menschen in der Polysomnographie auf (Rechtschaffen und Kales 1968). In den Aufzeichnungen von Elektroenzephalogramm (EEG), Elektrookulogramm (EOG) und Elektromyogramm (EMG) müssen demnach bestimmte Konstellationen vorliegen, auf die im Weiteren genauer eingegangen wird, um phasengerecht einem 30 Sekunden langen Zeitabschnitt, einer Epoche, das entsprechende Schlafstadium zuzuteilen, auch scores genannt. Unterschieden wird zunächst zwischen REM- und non-REM-Schlaf.

Stadium 1 des non-REM-Schlafes ist das Einschlafstadium. Es lassen sich langsam rollende Augenbewegungen finden, bei einem im Gegensatz zum Wachzustand bereits erniedrigten Muskeltonus. Das EEG hat eine Frequenz von 2-7Hz, bei mittlerer Amplitude, die bis 75 μ V ansteigen kann und innerhalb von Vertexzacken sogar 200 μ V beträgt.



Schlafstadium 2 charakterisiert sich durch das Auftreten von Schlafspindeln und / oder K-Komplexen. Die Augen werden ruhiger, der Muskeltonus nimmt ab. Schlafspindeln sind sich wiederholende, über mindestens 0,5 sec präsenste, auf- und abschwingende Wellen mit einer Frequenz von circa 12-15 Hz und einer Amplitude von meist unter 50 μ V. K-Komplexe sind hochamplitudige (etwa 100 μ V) Graphoelemente mit einem steilen negativen und langsameren positiven Ausschlag von insgesamt mindestens 0,5 sec Dauer. Eines dieser Ereignisse muss mindestens alle 3 Minuten erscheinen, um die polysomnographische Aufzeichnung als Stadium 2 scores zu können. Beim Ausbleiben dieser Ereignisse und gleich bleibender Grundaktivität erfolgt wieder die Einteilung in Stadium 1.

Nimmt die Schlaftiefe zu, entstehen im EEG zunehmend Delta(δ)-Wellen. Diese haben nach Rechtschaffen und Kales eine Frequenz von weniger als 2Hz und ihre Amplitude muss mindestens 75 μ V betragen (Rechtschaffen und Kales 1968). Nehmen δ -Wellen 20% bis 50% der Zeit einer Epoche ein, entspricht diese dem Schlafstadium 3. Bei erkennbaren δ -Wellen in mehr als 50% des 30-Sekunden-Abschnittes wird dieser als Stadium 4 gescort. Die Stadien 3 und 4 werden als Tiefschlaf oder Slow-Wave-Sleep (SWS) zusammengefasst, klinisch als Stadium N3 bezeichnet (Iber et al. 2007) und in neueren Analysen häufig gemeinsam betrachtet (Rodenbeck et al. 2006). Der prozentuale Anteil von SWS überwiegt bei gesunden Personen in der ersten Nachthälfte.

Im REM Schlaf herrschen charakteristischerweise schnelle sakkadenartige Augenbewegungen vor, gepaart mit sonst komplett entspannten Skelettmuskeln und hochfrequentem (ab 4 Hz), niedrig-amplitudigem EEG. Die Körpertemperatur und der Energieverbrauch steigen leicht an. REM-Schlaf tritt im Abstand von ein bis zwei Stunden auf und dominiert mit längeren Phasen die zweite Nachthälfte. Das Aufwecken aus dem REM-Schlaf wird als eine stärkere Störung empfunden als das Erwecken aus Schlafstadien 1 oder 2.

Zusätzlich zu den eigentlichen Schlafstadien werden anhand des EMGs für kleinere auffällige Bewegungen Movement arousals und für größere Bewegungen, welche das Erkennen eines Schlafstadiums verhindern (> 15 sec anhaltend), Movement time angegeben. Während Movement Time für eine gesamte Epoche vergeben wird, bleibt beim Movement arousal das zu Grunde liegende Schlafstadium erhalten.

Abbildung 1: Schlafstadien und ihre Charakteristika nach Rechtschaffen und Kales

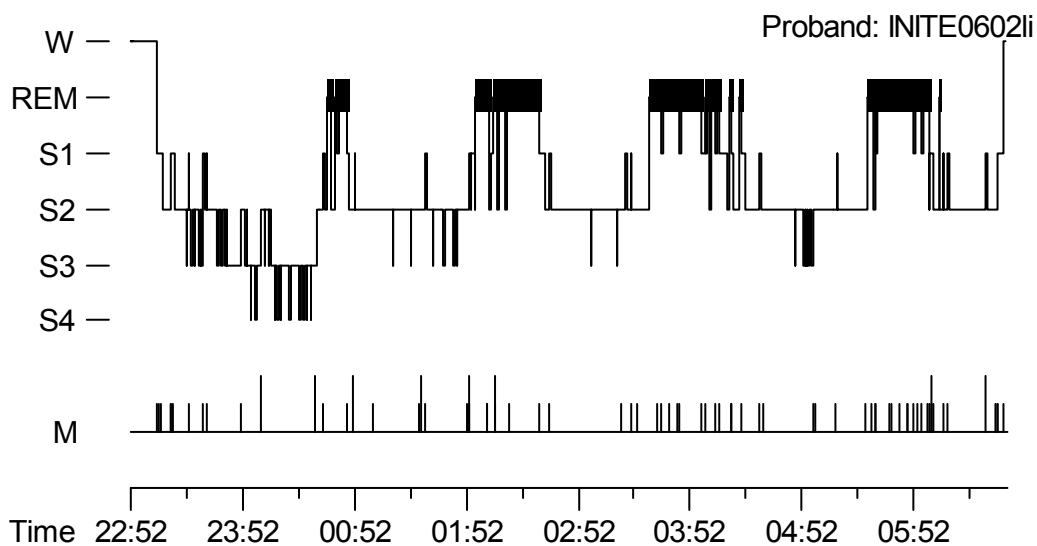
Schlafstadium	EEG		EOG 	EMG (Amplitude) 
	charakterist. Ereignisse	Frequenz		
Wach		8-13 Hz α -Aktivität	flach	hoch
S1	Vertexzacken	2-7 Hz, <50% α -Aktivität	50-75 μ V, und höher	weniger hoch mittel
S2	Schlafspindeln, K-Komplexe			mittel
S3	δ -Wellen 20-50%	~ 2 Hz	>75 μ V (δ)	mittel
S4	δ -Wellen > 50%	~ 2 Hz	>75 μ V (δ)	mittel
REM		gemischt, 2-7 Hz, α -Aktivität	niedrig	schnelle, sakkadenartige Augenbewegungen niedrig
MT	> 50% der Epoche Artefakt-überlagert			hoch

Elektroenzephalo-, Elektrookulo- und Elektromyogramm in Wachzustand, Schlafstadien 1–4, Rapid-eye-movement Schlaf und Movement time– nach den Kriterien von Rechtschaffen und Kales

In einer Arbeitsgruppe der Deutschen Gesellschaft für Schlafmedizin (DGSM) wurde 2004 eine Ergänzung zu den Scoring Kriterien von Rechtschaffen und Kales herausgegeben, in der vor allem auf die Betrachtung der relevanten Muster des EEGs, wie Alpha-, Theta- und Deltawellen, Schlafspindeln und K-Komplexe, hingewiesen wurde (Rodenbeck et al. 2006).

Die Schlafphasen wechseln zyklisch und ergeben in einem normalen Nachtverlauf typischerweise folgendes Bild.

Abbildung 2: Typisches Schlafprofil eines Probanden im Verlauf der Nacht



Auf der y-Achse sind die Phasen Wach, REM Schlaf, Schlafstadien 1-4 und Bewegung (Movement, M), bei letzterem bedeuten kurze vertikale Linien Movement arousal und lange Linien Movement time; auf der x-Achse die Uhrzeit dargestellt.

Schlaf und Immunsystem. Die Annahme ist weit verbreitet, dass Schlaf eine immunsupportive Funktion habe, obgleich wissenschaftlich erst in letzter Zeit zunehmend belegt (Besedovsky et al. 2012, Schuld et al. 2005, Krueger und Majde 1990). Schlafdeprivation führt zu einer Schwächung des Immunsystems (Besedovsky et al. 2012, Opp 2009, Bryant et al. 2004). Signalmoleküle des Immunsystems interagieren mit der Neurochemie des Gehirns und tragen so zur Schlafregulation bei. Die Veränderungen in der Schlafarchitektur während einer Entzündung könnten der Fiebergenerierung dienen (Imeri und Opp 2009). Schlaf beeinflusst das Immunsystem und vice versa. Die Kommunikation findet über Neurotransmitter, Hormone, Zytokine und das autonome Nervensystem statt (Besedovsky et al. 2012).

Als Beispiel für den Zusammenhang zwischen Schlaf und Immunsystem sei ein Experiment angeführt, in dem ein positiver Einfluss von Schlaf auf die Gedächtnisbildung des Immunsystems für die Antwort auf Hepatitis-A-Impfung überprüft wurde. Diese war nach einer durchwachten Nacht herabgesetzt, während nach normalem Schlaf auch im weiteren Verlauf höhere Antikörpertiter erzielt wurden (Lange et al. 2003).

Immunfunktionen unterliegen spezifischen zirkadianen Rhythmen. So war die Leukozytenzahl im Experiment von Born et al. nachts verringert, vermutlich Zeichen einer vermehrten Extravasation. Nach einer durchwachten Nacht blieben die Leukozytenzahlen auch tagsüber deprimiert. Betrachtet man die proinflammatorischen Zytokine TNF- α und IL-1, fiel eine nächtliche Verminderung ihrer Konzentration auf und eine stärkere Erhöhung am Tage nach Schlafdeprivation, umgekehrt verhielt sich das antiinflammatorische Interleukin 2 (Born et al. 1997).

TNF- α und IL-1 besitzen schon unter physiologischen Bedingungen Schlaf-modulierende Eigenschaften. Dieser Effekt der beiden im Blut vorkommenden Substanzen auf das Gehirn impliziert die Existenz einer neuro-humoralen Kommunikation (Krueger und Majde 2003).

Das C-reaktive Protein (CRP) ist ein unspezifischer Entzündungsparameter, dessen Expression in der Leber am stärksten durch Interleukin 6 (IL-6) angeregt wird. Eine zirkadiane Rhythmik der Konzentration des CRPs wurde in einer Studie von Rudnicka festgestellt (Rudnicka et al. 2007), in der eine Tageszeit-abhängige Variabilität von 34% des Zahlenwertes bestand mit einem Serumkonzentrations-Peak um 15h00. Weiterhin beeinflusste auch die Zeit bis zur Probenanalyse die CRP-Konzentration, jedoch noch bei vier Tagen Verzögerung in so minimalem Umfang, nämlich von einem Prozent, dass dieser zu vernachlässigen sei. Zirkadianen Veränderungen der CRP-Konzentration widersprechen mehrere andere Studien, die stabile Konzentrationen fanden (Meier-Ewert et al. 2001, Charuruks et al. 2005, Dimitrov et al. 2006). Ein Einfluss von CRP auf die Schlafdauer liegt nicht vor (Taheri et al. 2007). Ein direkter Eingriff von CRP in die Schlafregulation ist unbekannt.

1.2 Gedächtnis

Das Gedächtnis ist die Ablage für Erfahrenes und Gelerntes, sowie die Einheit ihrer Verarbeitung. Drei Prozesse gehören zur Gedächtnisbildung – die Enkodierung, die Konsolidierung und der Abruf. Es ist möglich, dass neue Inhalte bewusst, explizit oder unbewusst, implizit in das Gedächtnis gelangen, wo sie dann bestehen und erinnerbar sind, vorhanden, aber zunächst blockiert, oder unauffindbar bleiben oder gar komplett ausgelöscht werden.

Einteilung. Je nach Speicherdauer spricht man von Ultrakurzzeitgedächtnis, Kurzzeitgedächtnis und Langzeitgedächtnis. Um letzteres wird es im Weiteren ausschließlich gehen.

Beim Langzeitgedächtnis wird zwischen zwei Typen unterschieden, dem deklarativen und non-deklarativen (Squire und Zola 1996).

Das deklarative Gedächtnis umfasst episodische und semantische Inhalte, also Ereignisse und Fakten. Es ist Hippokampus abhängig, das heißt bei Resektion des Hippokampus oder seiner Verletzung ist das deklarative Gedächtnis beeinträchtigt oder funktionsunfähig. Typische Aufgaben, die das deklarative Gedächtnis beanspruchen, sind das Texte-Lernen, das Merken paarassoziierter Wortlisten oder Einprägen solcher Bilder. Im Tierversuch werden häufig Modelle zur räumlichen Orientierung (Kim und Frank 2009, Squire et al. 2004) verwendet.

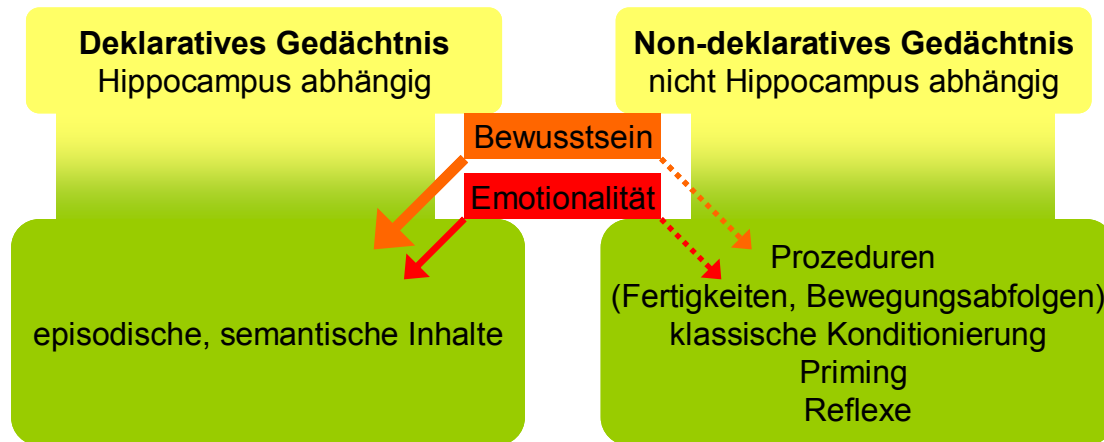
Das prozedurale Gedächtnis, Teil des non-deklarativen Gedächtnisses, beinhaltet Fertigkeiten, Aufgaben, die durch Übung perfektioniert werden, so beispielsweise Bewegungsabfolgen beim Tanzen, das Spiegelzeichnen von Figuren oder das Tippen von Zahlensequenzen. Die Prozessierung dessen im Gehirn ist nicht Hippokampus-abhängig. Die neuronale Bahn läuft stattdessen je nach Art der Aufgabe in den Neokortex, in das Striatum, das Cerebellum, in die Amygdala oder verbleibt als Reflexbahn. Das Lernen kann hierbei unbemerkt oder bewusst geschehen. Auch die klassische Konditionierung stellt einen Teil des non-deklarativen Gedächtnisses dar, ebenso wie das Priming, bei dem ein beliebiger Erstkontakt mit bestimmtem Material die Anwendung dessen im zweiten Schritt verbessert (Walker 2005).

Bezüglich des emotionalen Gedächtnisses ist zu bemerken, dass sowohl deklarative als auch non-deklarative Reize emotional gefärbt sein können, obgleich experimentell bisher nur deklarativ emotionale Aufgaben verwendet werden. Dennoch ist auch im prozeduralen Rahmen vorstellbar, dass eine trockene Schrittfolge neutraler im Gegensatz zu einem Tango ist oder aber Klavierspielen emotionaler belegt ist als Zahlenreihentippen. Emotionalität bewirkt in der Amygdala neuronale Aktivität (McGaugh 2004). In einem Versuch mit emotionalen und neutralen Filmen korreliert das Ausmaß der Amygdala-Aktivierung mit dem Erfolg beim Abruf der emotionalen, nicht jedoch neutralen Filme (Cahill et al. 1996), gleiches konnte für eine Bildererkennungsaufgabe gezeigt werden (Ritchey et al. 2008). Bei gefühlsbetonten Materialien ergibt sich generell eine bessere Lernleistung (Kensinger und Corkin 2003, Cahill und McGaugh 1998, McGaugh et al. 1996, Schürer-Necker 1994).

Bestehende Interaktionen zwischen dem deklarativen und prozeduralen Gedächtnissystem, sowie ein in beiden Typen möglicher emotionaler Einfluss, machen deutlich, dass die harte Einteilung in benannte Gedächtnistypen nicht ausreichend ist.

Alternativ wäre eine genauere Klassifizierung von Gedächtnisaufgaben nach ihrer individuellen Hirnrepräsentation denkbar (Diekelmann et al. 2009).

Abbildung 3: Typen des Langzeitgedächtnisses



Dargestellt ist eine Einteilung des Langzeitgedächtnisses in deklaratives und non-deklaratives Gedächtnis (modifiziert nach Squire und Zola 1996). Die Pfeile unterschiedlicher Stärke weisen auf den Einfluss von Bewusstsein und Emotionalität beim Erwerb solcher Gedächtnisinhalte hin.

Konsolidierung. Den Prozess der Festigung einer erlernten enkodierten Materie bezeichnet man als Konsolidierung, deren Resultat im Optimum eine fehlerfreie und schnelle Abrufbarkeit bedingt.

Im Rahmen des Zwei-Speicher-Modells (Hasselmo 1999) ist davon auszugehen, dass im temporären Gedächtnis auf Hippokampusebene die Verarbeitung vieler Stimuli stattfindet. Im Rahmen der Systemkonsolidierung werden einige dieser in ein anderes Netzwerk transferiert und im Neokortex dauerhaft abgelegt, während die anderen verfallen (McClelland et al. 1995).

Die neuronale Spur, die einer Information, einem Fakt beziehungsweise Reiz und Reizantwort entspricht, wird dabei durch wiederholte Reaktivierung und Vermehrung der Synapsen verstärkt. Unter Einbezug bereits vorhandenen Wissens oder Erfahrung, findet die Reorganisation statt und längerfristig die Integration (Payne und Nadel 2004). Alle Phänomene zusammen genommen erzeugen Plastizität - Wandel neuronaler Zusammenhänge durch Erfahrung, beginnend bei transienten Veränderungen und resultierend in der bleibenden Bildung neuer Verbindungen (Steriade und Timofeev 2003). Dabei greifen molekulare, zelluläre und systembezogene Mechanismen (Stickgold 2005). Auf zellulärem Niveau geschieht zum Beispiel die Genupregulation, welche die Proteinsynthese anstößt (Pace-Schott und Hobson 2002). Einige Mechanismen der Systemkonsolidierung, das heißt Übertragung in andere neuronale Netzwerke werden im Folgenden vorgestellt.

Gedächtnis und Schlaf. Schlaf stellt eine privilegierte Periode für die Konsolidierung von Gedächtnisinhalten dar, da im Vergleich zur Wachzeit weniger Interferenz besteht und womöglich ein besonderer Kontext gegeben ist, der die Plastizitätentstehung durch vermittelnde Phänomene des Schlafes fördert (Maquet 2001). Während des Wachens anderweitig aktivierte und genutzte Zellsysteme stehen im Schlaf der Gedächtnisbildung zur Verfügung. Die besonderen neurophysiologischen Gegebenheiten des Schlafes unterstützen den Prozess der Konsolidierung aktiv. Auch tagsüber kann gelernt werden, das Gedächtnis profitiert in vielen Fällen jedoch noch mehr vom Schlaf. Zur Stützung dieser Hypothesen einige Beispiele im Folgenden.

Gedächtnisverbesserung durch Schlaf. Die vorwiegend, wenn auch nicht rein deklarative Aufgabe des Lernens von Vokabellisten zeigte bessere Erfolgsraten bei der Vokabelabfrage, sofern in kürzerem Abstand nach dem Lernen Schlaf erfolgte, anstelle einer Nacht Schlafdeprivation beziehungsweise eines Tages in Wachheit, trotz entsprechendem Aufholschlafes beziehungsweise insgesamt etwa gleich langer Schlafperioden (Gais et al. 2006b). Beim Tippen einer Fingersequenz war auch über den Tag eine lineare Verbesserung im Abruf merklich, die prozedurale Aufgabe gewann durch Schlaf jedoch noch mehr, die beobachtete Steigerung war größer (Fischer et al. 2002, Walker et al. 2002). Emotionale Bilder wurden über Nacht eindeutig besser behalten als über Tag und ihre Konsolidierung profitierte sogar in stärkerem Maße vom Schlaf als bei neutralen Bildern (Hu et al. 2006).

Reaktivierung von Gedächtnisinhalten im Schlaf. In Abwesenheit neuer Stimuli werden die Erlebnisse aus der Wachphase im Schlaf reaktiviert, was sich in Studien mittels PET (Positronenemissionstomographie) und fMRT (funktionelle Magnetresonanztomographie) bestätigt. Nach einer deklarativen Aufgabe der räumlichen Orientierung war eine vermehrte Hippokampusaktivität im fMRT nach dem Lernen vor allem während des SWS zu beobachten, wobei die hippokampale Aktivität sogar mit der Verbesserung beim Abruf der Aufgabe am nächsten Tag korrelierte (Peigneux et al. 2004). Die Gehirnareale, die bei der Ausführung eines Serial-Reaction-Time-Tasks aus dem Bereich des motorischen Lernens involviert sind, zeigten in den REM-Anteilen des darauf folgenden Schlafes ebenso erhöhte Aktivität (Maquet et al. 2000).

Verbesserte Langzeitspeicherung von Gedächtnisinhalten durch Schlaf. Schlaf fördert die Langzeitspeicherung über Transfer und Transformation von Inhalten im Vergleich zu Wachheit. Die neokortikale Repräsentation einer deklarativen Erinnerung war nach 6 Monaten im fMRT stärker aktiviert, wurde diese vor einer Schlafperiode erworben, als vor Wachphasen (Gais et al. 2007). Beim motorischen Lernen geschah überdies eine Umbildung der Hirnrepräsentation der Aufgabe bereits ab wenigen Stunden nach ihrer ersten Ausführung (Karni et al. 1998, Shadmehr und Holcomb 1997). Der

größere Lernzugewinn war je bei der Abfrage nach dem Schlafen messbar (Walker et al. 2003). Auch für emotionale deklarative Aufgaben lies sich eine verbesserte Abrufbarkeit noch nach 6 Monaten feststellen, wurden sie vor einer Nacht mit Schlaf erworben anstatt vor einer schlafdeprivierten Nacht. Entsprechend fand sich im fMRT eine Aktivitätsverschiebung vom Hippokampus zu kortikalen Strukturen (Sterpenich et al. 2009). Jedoch bereits nach kürzeren Intervallen von 12h mit Schlaf bestand eine Veränderung der Plastizität nach emotional deklarativem Lernen, ein Zeichen für die schnelle Entwicklung und lange Dauer der Plastizität nach Schlaf (Payne und Kensinger 2011).

Gedächtnis, Schlafstadien und EEG-Wellen. In vielen Studien werden die Mechanismen der Gedächtnisbildung untersucht. Für einige Faktoren der hirnelektrischen Aktivität im Schlaf ist bereits ein Zusammenhang zur Konsolidierung bekannt.

Einfluss von Schlafstadien auf verschiedene Gedächtnistypen. Dem Tiefschlaf, mit Vorkommen vieler Delta-Wellen, der die erste Nachthälfte dominiert, wird eine Verbesserung des Abrufes von gelerntem deklarativem Material zugeschrieben (Peigneux et al. 2004, Plihal und Born 1997). Prozedurale Inhalte profitieren dagegen stärker vom Schlaf der zweiten Nachthälfte, der REM-reich ist (Born et al. 2006). Für die Verbesserung im Fingersequenztippen wurde eine Korrelation mit Schlafstadium 2 gefunden (Walker et al. 2002).

Einfluss spezifischer Wellen auf das Gedächtnis. Schlafspindeln entsprechen Entladungsmustern aus thalamischen und kortikothalamischen Netzwerken und stellen 0,5 bis 3 s dauernde Wellen einer Frequenz von 11-16 Hz dar. Sie sind die charakteristischen Elemente des Schlafstadiums 2, kommen jedoch auch im Tiefschlaf vor. Die sich funktionell und topographisch unterschiedlich verhaltenden langsameren und schnelleren Schlafspindeln sind von individuellen Faktoren wie Alter, zirkadianen Umständen und Pharmaka beeinflusst. Es wird ihnen unter anderem eine Rolle in der Prozessierung von Informationen zugesprochen und die Entwicklung neuronaler Plastizität nach dem Lernen steht in Beziehung zu ihrer Aktivität (De Gennaro und Ferrara 2003). Im Humanversuch ergab sich eine erhöhte Anzahl von Schlafspindeln nach Erlernen motorischer Fähigkeiten (Walker et al. 2002). Neben der Zunahme von S2 und größerer Spindelanzahl war auch die Spindeldichte nach motorischem Lernen gesteigert (Fogel und Smith 2006). Im Tierversuch mit Ratten war das Auftreten von Schlafspindeln nach Lernen und Abfrage einer Duft-Belohnungsaufgabe zur räumlichen Orientierung, die dem deklarativen Gedächtnis zugeordnet wird, häufiger (Eschenko et al. 2006). Parallel dazu wiederum im Humanexperiment konnten nach dem deklarativen Lernen von Namen links frontozentral vermehrt Schlafspindeln detektiert werden, ihre Zahl korrelierte sogar mit dem Abfrageergebnis. Dem war jedoch nicht so nach einer visuellen deklarativen

Aufgabe zum Gesichtererkennen. Hier korrelierte die non-REM-Schlaf-Zeit mit der morgendlichen Leistung (Clemens et al. 2005). Die Spindeldichte in S2 des Schlaf-EEGs war nach dem deklarativen Lernen erhöht und die Spindelaktivität im non-REM-Schlaf war assoziiert mit vorheriger Lernerfahrung. Demzufolge kann Lernen die Hirnaktivität im Schlaf modulieren und zur vermehrten Entstehung von Spindeln führen. Die Lernfähigkeit könnte sogar von der Spindeldichte beeinflusst sein. Schlafspindeln spielen eine Rolle in der Prozessierung von Lerninhalten, sie sind mit der Langzeitkonsolidierung von Gedächtnisinhalten gemeinsam aufzufinden (Gais et al. 2002). Auch die Spindel-Power stieg nach dem Lernen an. Zeitlich gesehen traten Spindeln mit dem positiven Anteil einer Slow-Oscillation auf. (Möller et al. 2004)

Slow-Oscillations sind langsame Wellen einer Frequenz von kleiner 1 Hz, die in Schlafstadium 3 und 4 vorkommen, mit einem negativen und positiven Anteil aus dem Neokortex (Steriade et al. 1993). Während des vorangehenden oberflächlichen Minusausschlages, Down-State, durch ein tief positives neokortikales Feldpotential, herrscht intrazelluläre Hyperpolarisation. Diese erschwert die Spindelentstehung, erhöht die Stille und führt zur Synchronisierung von Neuronenverbänden. Der oberflächenpositive Anteil, Up-State, der langsamen Welle entsteht durch eine weit verbreitete Depolarisation kortikaler Netzwerke mit vermehrten Spindelvorkommen aus dem Thalamus, die ein Zeichen des erhöhten Informationstransfers zwischen Hippokampus und Neokortex sind. Durch Lernen wurde eine stärkere Kohärenz der Slow-Oscillations beobachtet (Möller et al. 2004). Von außen durch ein elektrisches Feld im non-REM-Schlaf der ersten Nachthälfte wiederholte induzierte Slow-Oscillations erhöhten die Resultate bei der Abfrage von deklarativem Lernmaterial, dagegen nicht von prozeduralem. Unter der Stimulation erhöhte sich die Zeit in SWS kurzzeitig, die EEG-Power bei 0,5-1Hz (also im Bereich von Deltawellen) und 8-12Hz (Spindeln) erhöhte sich. Resonanz mit besserem Lernerfolg und vermehrter Eigenproduktion von Slow-Oscillations außerhalb der Stimulationsintervalle wurde dabei nur durch Anwendung mit einer Frequenz von 0,75Hz, nicht jedoch 5Hz erreicht. Die erzeugte Resonanz ergab sich in vorher bereits aktivierten Arealen, die dann persistierender stärkere synchrone Erregung zeigten. Somit müssen Slow-Oscillations eine kausale Rolle bei der Hippokampus-abhängigen Gedächtniskonsolidierung einnehmen und über Spindelgenerierung Plastizität vermitteln können. (Marshall et al. 2006).

Wurde ein Probanden nach dem Lernen darüber informiert, dass das Material abgefragt wird, war im Schlaf eine erhöhte Spindelanzahl und Slow Wave Activity (SWA) zu beobachten, die mit besseren Abfrageergebnissen in deklarativen und prozeduralen Tests (Wortpaare, Memoryspiel, Fingersequenztippen) nach dem Schlafen einherging (Wilhelm

et al. 2011). Erwartete der Proband keine Abfrage, kam es zu keinem gesteigerten Lernerfolg.

Table 1: Gedächtniseinteilung der im Versuch verwendeten Aufgaben

Gezeigt sind am Beispiel der im Versuch verwendeten Aufgaben der Gedächtnistyp bzw. die Subgruppe, ihre charakteristische Hirnrepräsentation, die vermeintlich assoziierte Schlafphase und hirnelektrischen Phänomene (vereinfacht nach Diekelmann et al. 2009).

Gedächtnistyp	Deklaratives Gedächtnis		Non-deklaratives Gedächtnis
	neutral	emotional	prozedural
Subgruppe	neutral	emotional	prozedural
Aufgaben	Memory Text neutral	Text emotional	Fingersequenztippen
Hirnrepräsentation	Hippocampus	Hippocampus Amygdala	u. a. Striatum, Cerebellum, Cortex
Schlafphase	Tiefschlaf Non-REM-Schlaf	später REM-reicher Schlaf	S2 später REM-reicher Schlaf
Hirnelektrische Phänomene	Slow-Oscillations Schlafspindeln		Schlafspindeln

Gedächtnis und Hormone. Die Leistung des Gedächtnisses ist abhängig von Hormonen, wie Cortisol, sowie vom Transmitterspiegel Acetylcholins und anderer, wie Serotonin und Noradrenalin. Auch Immunproteine beeinflussen das Gedächtnis (Payne et al. 2005).

Cortisol wirkte beim Menschen verschlechternd auf die freie Abfrage des deklarativen Gedächtnisses, im speziellen bei einer Cortisolserhöhung vor der Abfrage, nicht jedoch wenn Cortisol nur vor dem Lernen oder nach dem Lernen erhöht war (de Quervain et al. 2000). Währenddessen konnte im Tierversuch durch Gabe von Cortisol oder Agonisten am Glucocorticoidrezeptor eine Verbesserung der Gedächtnisleistung beobachtet werden, wobei diese dosisabhängig war und in Form einer umgekehrten U-Kurve in Beziehung zum Testergebnis stand. Weiterhin bedurfte es gleichzeitig adrenerger Mechanismen und der vermittelnden Rolle durch die Amygdala (Roozendaal 2000). Zu unterscheiden beim Einfluss der Glucocorticoide sind das emotionale vom neutralen Gedächtnis. Die Suppression Cortisols mittels des Syntheseinhibitors Metyrapon enthemmte die emotionale Konsolidierung im Schlaf, mit dem Erfolg eines deutlich verbesserten Abrufes für entsprechendes Textmaterial, wohingegen neutrale Texte bei Cortisol-suppression schlechter behalten wurden (Wagner et al. 2005, Plihal und Born 1999).

Die physiologische nächtliche Erhöhung von hypophysärem GH veränderte die schlafgebundene Gedächtniskonsolidierung nicht, da ihre Inhibition durch Somatostatin

keinen verändernden Effekte im Abruf einer prozeduralen und deklarativen Aufgabe zeigen konnte (Gais et al. 2006a).

Acetylcholin an muskarinergen und nikotinergen Rezeptoren war für die effektive Konsolidierung von motorischen Gedächtnisinhalten im späten, REM-reichen Schlaf erforderlich. Die kombinierte Blockade führte hier zur verminderten cholinergen Neurotransmission, welche wiederum Voraussetzung für die synaptische Konsolidierung wäre. Die prozedurale Aufgabe verbesserte sich somit über Nacht geringfügiger als unter normalen Bedingungen. Deklarative Aufgaben blieben ohne Veränderung (Rasch et al. 2009). Im SWS herrscht physiologisch ein niedriger cholinergischer Tonus. Wurde dieser angehoben, so wirkte sich dies mit einer Verschlechterung der Konsolidierung des deklarativen Gedächtnisses aus, die sonst fördernde Eigenschaft des SWS wurde damit aufgehoben (Gais und Born 2004). Tagsüber hingegen förderte die Acetylcholin-Blockade das Behalten der deklarativen Wortpaar-Assoziations-Aufgabe (Rasch et al. 2006).

1.3 Interleukin 6

Interleukin 6 wurde in den Jahren 1986/1987 von mehreren Gruppen als ein Protein identifiziert. Zuvor war es unter verschiedenen Namen als Einzelfaktor untersucht worden - darunter B-Zell stimulierender Faktor 2, Interferon- β_2 und Hepatozyten stimulierender Faktor (May et al. 1989, Van Snick 1990). Es handelt sich um ein pleiotropes Zytokin (Kishimoto et al. 1995), welches hauptsächlich von Monozyten, Makrophagen, Lymphozyten, Endothelzellen, Fibroblasten, Mastzellen, Astrozyten und Mikroglia produziert wird (Papanicolaou et al. 1998). Eine weitere Quelle für IL-6 stellt das Fettgewebe dar (Mohamed-Ali et al. 1997, Papanicolaou und Vgontzas 2000). Bei Muskelarbeit wurde auch die lokale Produktion im Skelettmuskel erfasst (Rosendal et al. 2005).

Im menschlichen Gehirn kommt IL-6 vor allem in Astrozyten, außerdem in endothelialen Zellen, Mikroglia und Neuronen vor, sein Rezeptor IL-6R ist in Astrozyten und endothelialen Zellen angereichert (Hampel et al. 2005). Im funktionellen Gewebe des Gehirns von Ratten, in Neuronen des Hippokampus, des Gyrus dentatus, des Striatums, des Hypothalamus, im olfaktorischen System, Hirnstamm, Neokortex und im Cerebellum wurde IL-6 und IL-6R mRNA nachgewiesen (Gadient und Otten 1994, Schöbitz et al. 1994).

Physiologisch tritt IL-6 in geringer Konzentration auf. Dabei zeigen die Serumspiegel eine zirkadiane Rhythmik mit erhöhten abendlichen und nächtlichen Werten (Vgontzas et al. 2005, Sothorn et al. 1995), entgegengesetzt der Cortisolzirkadianik. Unter pathologischen Bedingungen steigen die Serumspiegel von IL-6 an, so bei Infektion, Entzündung, auch chronisch entzündlichen Krankheiten, Autoimmunerkrankungen, bei

einigen Karzinomen, bei Trauma, Stress und im Alter (Kishimoto 2006, Papanicolaou et al. 1998).

Die Funktionen von IL-6 sind sehr vielfältig. Seine Wirkung entfaltet es lokal, auto- und parakrin, sowie systemisch, endokrin. Es reguliert die Lymphozytendifferenzierung, führt zur Myelopoese, regt Hepatozyten zur Expression Akuter-Phase-Proteine an, führt im Muskel zu Katabolismus, trägt zentral zur Fieberentwicklung und dem sogenannten Krankheitsverhalten bei und beeinflusst die Produktion einiger Hormone, vor allem die Aktivierung der HPA, also Hypothalamus-Hypophysen-Nebennierenrinden-Achse (Hopkins 2007, Bluthe et al. 2000, Papanicolaou et al. 1998, Chai et al. 1996).

Erhöhte IL-6-Konzentrationen im ZNS finden sich bei Infektion, neurodegenerativen Erkrankungen, Ischämie, epileptischen Anfällen, Trauma und Depression (Juttler et al. 2002). Im Nervensystem kann IL-6 neurotrophische und neurotoxische Effekte haben, wobei chronisch hohe IL-6-Level zu schwerer Beeinträchtigung der normalen ZNS-Funktion führen. Es ist anzunehmen, dass IL-6 Dosis-abhängig physiologischen oder pathologischen Einfluss ausübt (Gruol und Nelson 1997). Es wirkt regulatorisch auf die Neuronenhomöostase, Astroglionese und neuronale Differenzierung (Spooren et al. 2011).

Die IL-6-Bestimmung im Serum wird auch klinisch eingesetzt. IL-6 gilt mit seiner kurzen Halbwertszeit als besonders früher und sensibler Marker einer Neugeboreneninfektion und hat gemeinsam mit dem CRP diagnostischen Wert. (Doellner et al. 1998, Messer et al. 1996, Buck et al. 1994).

Interleukin 6 molekular. Interleukin 6 nutzt verschiedene Signaltransduktionswege. Sein Rezeptor IL-6R existiert an der Membranoberfläche von Zellen und in der im Plasma gelösten Form sIL-6R. Kommt IL-6 am IL-6R zur Bindung, dann führt dies über zwei gp130 Proteine zur intrazellulären Antwort, so bei Leukozyten und Hepatozyten (Scheller und Rose-John 2006). An Zellen ohne IL-6R kann der sIL-6R aus limitierter Proteolyse der Zellmembran oder aus Translation alternativ gesplicerter mRNA gemeinsam mit IL-6 als Agonist am gp130 Protein das so genannte Transsignaling auslösen (Scheller und Rose-John 2006). Die Konzentration von sIL-6R ist dabei 1000fach höher als die des IL-6 (Dimitrov et al. 2006). Allerdings werden auch IL-6-antagonistische Effekte des sIL-6R diskutiert (Knüpfer und Preiss 2008).

Die lösliche Form des gp130 Protein, sgp130, agiert als Inhibitor des IL-6/sIL-6R Komplexes und damit des Transsignaling ohne die zellgebundene Aktivität zu beeinflussen (Scheller und Rose-John 2006, Dimitrov et al. 2006).

Interleukin 6 und Körpertemperatur. Die Körpertemperatur wird durch Neurone im Nucleus preopticus des Hypothalamus gesteuert. Hier werden Soll- und Istwert verglichen und entsprechende Gegenregulationen initiiert. Von Fieber spricht man, wenn der Sollwert

der Körpertemperatur und die Körperkerntemperatur selbst erhöht sind. Pyrogene vermögen den thermoregulatorischen Setpoint hoch zu setzen. Einige Zytokine wirken als endogene Pyrogene. Prostaglandin E2 ist ein Vermittler in der Fieberantwort und bekannter Ansatzpunkt zur pharmakologischen Antipyrese. (Mackowiak 1998)

IL-6 agiert als wichtiges endogenes Pyrogen (Herrmann et al. 2003, Dinarello et al. 1991). IL-1 und Tumornekrosefaktor α (TNF- α) induzieren IL-6 und sind selbst schon in deutlich geringeren Konzentrationen als IL-6 pyrogen wirksam. Abhängig von der Anwesenheit von Interleukin 1 β stößt IL-6 die Synthese des fieberverursachenden Prostaglandins E2 an (Dinarello 2004). Durch intracerebroventrikuläre IL-6-Injektion bei Ratten wird deren Körpertemperatur angehoben (LeMay et al. 1990) und die Aktivität des Bewegungsapparates, sowie die aufgenommene Nahrungsmenge reduziert (Schöbitz et al. 1995). Die Menge der Interleukine 1 β und 6, die nach Infektion mit *Coxiella burnetii*, Eppstein-Barr-Virus oder Ross-River-Virus spontan aus Zellkultur von Monozyten des peripheren Blutes des Infizierten freigesetzt wurde, korrelierte mit dem selbst erfassten akuten Krankheitsverhaltens beim Menschen. Für IL-6 im Speziellen traf dies bei den Symptomen exzessive Müdigkeit, Konzentrationsschwäche, Kopf- und Gliederschmerzen, Depression und Anhedonie zu, eingeschränkt auch für Fieber bei den viralen Infektionen (Vollmer-Conna et al. 2004).

Interleukin 6 und Schlaf. Auf der Grundlage einer Vielzahl von Studien haben Krueger und Mitarbeiter folgende Kriterien für eine den Schlaf regulierende Substanz aufgestellt (Krueger et al. 2001): eine den Schlaf regulierende Substanz kann physiologischen Schlaf induzieren; die Substanz und ihre Rezeptoren kommen beim Tier vor; die Substanz oder ihre Rezeptoren ändern ihre Konzentrationen mit dem Schlaf-Wach-Zyklus; durch Verabreichung der Substanz kommt es zur Schlafinduktion; bei Substanz- oder Rezeptorinaktivierung kommt es zur Reduktion des spontanen Schlafes; nach Substanz- oder Rezeptorinaktivierung wirken somnogene Stimuli wie beispielsweise Schlafdeprivation oder Infektion weniger stark; es sind andere biologische Effekte von der Schlaf-vermittelnden Wirkung der Substanz abzugrenzen.

IL-6 weist eine zirkadiane Rhythmik auf (Dimitrov et al. 2006, Vgontzas et al. 2005, Sothorn et al. 1995). Zudem verhielt sich die Plasmakonzentration von sIL-6R sich proportional zur empfundenen Müdigkeit (Dimitrov et al. 2006). Bei mit Schläfrigkeit verbundenen Krankheiten, wie der Schlafkrankheit, dem Obstruktiven-Schlaf-Apnoe-Syndrom oder der Narkolepsie, ist IL-6 erhöht (Vgontzas et al. 2005). Auch bei Schlafdeprivation steigt es an (Vgontzas et al. 2005, Shearer et al. 2001). Durch subkutane IL-6-Gabe fühlen sich gesunde Studienteilnehmer schläfriger. Ihr Schlaf gestaltet sich derart um, dass bei SWS-Anstieg über die gesamte Nacht dieser in der ersten Nachthälfte zugunsten der zweiten Hälfte abnimmt. Es kommt, vermutlich als Folge

der unter IL-6 vermehrten Cortisolproduktion, zu einer Abnahme des REM-Schlafes, die vor allem den frühen Schlaf betrifft (Späth-Schwalbe et al. 1998).

Laut Dimitrov et al. war für die Schläfrigkeitsvermittlung das Transsignal zuständig. Der sIL-6R stieg spezifisch vor allem im Schlaf der zweiten Nachthälfte rasch an. Dies war durch Proteolyse verursacht. Aus der Translation alternativ gesplicerter mRNA, dem zweiten Ursprung von sIL-6R, entsprang erst 8-24h später ein geringeres Maß des löslichen Rezeptors (Dimitrov et al. 2006). Gemeinsam mit einem zirkadian erhöhten IL-6 ist also ein verstärktes Transsignal im späten Schlaf zu erwarten.

GH korrelierte umgekehrt mit sIL-6R. REM-Schlaf und sIL-6R verhielten sich proportional zueinander. SWS verhielt sich antiproportional zu sIL-6R (Dimitrov et al. 2006).

Interleukin 6, neuronale Plastizität und Gedächtnis. Im Experiment mit Ratten ist eine Wechselwirkung zwischen IL-6 und Langzeit Potenzierung (LTP), also der Synapsenstärkung durch Stimulation, nachgewiesen worden. Wirkt man der im Bereich der LTP erhöhten IL-6 Expression im Hippokampus durch Antagonisierung mit Antikörpern entgegen, verbessert sich das räumliche Gedächtnis. Die IL-6-Signalinhibition wirkt somit Gedächtnis-fördernd, IL-6 wirkt als negativ regulatorische Substanz auf die Konsolidierung. (Balschun et al. 2004)

Intranasale Applikation von Interleukin 6. Für verschiedene Stoffe wurde bereits nachgewiesen, dass sie nach intranasaler Applikation über ein Nasenspray ins zentrale Nervensystem diffundieren und im Liquor, jedoch nicht im Blut einen entsprechenden Anstieg in der Konzentration herbeiführen. Durch die Interzellulärspalten des olfaktorischen Epithels können Substanzen bis ins Gehirn gelangen. Eine andere Möglichkeit ist der axonale Transport über den Nervus olfactorius bis in seinen Bulbus und schließlich in den Liquorraum. Letztere Möglichkeit nimmt jedoch mehr Zeit in Anspruch und birgt erhöhte Proteolysegefahr. Molekülgröße, Molekulargewicht, Ionisation und Lipophilie der Substanz beeinflussen den Transport (Born et al. 2002).

Dass auch intranasal appliziertes IL-6 zentrale Effekte hat, geht aus Studien an Ratten hervor. Pharmakologisch induzierte epileptische Anfälle verliefen schwerwiegender nach Gabe von rekombinantem humanem IL-6, welches im Frontalhirn anreicherte (Kalueff et al. 2004). Auf induzierte Fieberkrämpfe wirkt intranasal gegebenes IL-6 hingegen vorbeugend und lindernd (Fukuda et al. 2007).

Obwohl das Glykoprotein IL-6 mit 184 Aminosäuren recht groß ist und mit 26kDa kein zu vernachlässigendes Molekulargewicht aufweist, gingen wir bei der Durchführung der Studie beim Menschen von einer vor allem zentralen IL-6-Aufnahme aus, bei weitgehend zu vernachlässigenden peripheren IL-6 Effekten.

1.4 Fragestellung und Hypothesen

In dieser Arbeit geht es um den Einfluss von intranasal appliziertem IL-6 auf die Gedächtniskonsolidierung im Schlaf. Es sollten die zentralen Effekte von IL-6 auf das prozedurale, deklarative neutrale und emotionale Gedächtnis untersucht werden und im Zusammenhang mit erhobenen polysomnographischen Daten, immunologischen und hormonellen Blutparametern interpretiert werden. Folgende Hypothesen werden aufgestellt:

1. Die intranasale IL-6-Gabe fördert die deklarative Gedächtniskonsolidierung.

Davon ausgehend, dass IL-6 die Menge an Tiefschlaf erhöht (siehe Einleitung Abschnitt „Interleukin 6 und Schlaf“) wird vermutet, dass die intranasale IL-6 Gabe zu einer Verbesserung der Konsolidierung des deklarativen Gedächtnisses führt.

Diese Hypothese leitet sich aus der Arbeit von Späth-Schwalbe et al. (1998) ab, die nach subkutaner IL-6-Administration einen erhöhten SWS Anteil im Schlaf gesunder Probanden herausstellte. Der weitere Zusammenhang zwischen Tiefschlaf beziehungsweise SWA und der deklarativen Gedächtniskonsolidierung wurde in zahlreichen Versuchen (zum Beispiel Born et al. 2006) gezeigt. (Siehe Einleitung Abschnitte „Gedächtnis und Schlaf“ und „Gedächtnis, Schlafstadien und EEG-Wellen“)

2. Die intranasale IL-6-Gabe macht müde.

Im Rahmen von Infektion und Krankheit ist IL-6 mit Müdigkeit und weiteren Verhaltensauffälligkeiten assoziiert (Vollmer-Conna et al. 2004). Gesunde Probanden fühlen sich nach subkutaner IL-6-Applikation schläfriger (Späth-Schwalbe et al. 1998). Auch Dimitrov et al. (2006) und Vgontzas et al. (2005) folgend erhöht IL-6 die Schläfrigkeit. (Siehe Einleitung Abschnitt „Interleukin 6 und Schlaf“)

3. Die intranasale IL-6-Gabe führt zu einer Erhöhung der Körpertemperatur.

Diese Annahme erschließt sich aus den Veröffentlichungen von Vollmer-Conna et al. (2004), Bluthe et al. (2000) und Chai et al. (1996), aus denen hervorgeht, dass IL-6 Krankheitsverhalten und in diesem Rahmen auch Fieber verursacht. IL-6 ist ein endogenes Pyrogen (Dinarello 2004, Herrmann et al. 2003, Schöbitz et al. 1995). (Siehe Einleitung Abschnitt „Interleukin 6 und Körpertemperatur“)

4. Periphere Effekte von IL-6 bleiben beim intranasalen Applikationsmodus aus.

Ausgehend von der für mehrere Stoffe bewiesenen Möglichkeit der Diffusion in das zentrale Nervensystem nach intranasaler Applikation (Born et al. 2002) ist selbiges für IL-6 zu erwarten. Konsekutiv wird es zu zentralnervösen Wirkungen des IL-6 im Gehirn kommen. Die Konzentration von IL-6 im Blut wird nicht oder nur geringfügig ansteigen. Demzufolge bleiben die peripheren immunologischen und hormonellen Antworten weitestgehend aus, im Speziellen ein relevanter CRP-Anstieg. (Siehe Einleitung Abschnitt „Intranasale Applikation von Interleukin 6“)

2. Material und Methoden

2.1 Probanden

Insgesamt nahmen 17 Probanden an der Studie teil. Ihre Rekrutierung erfolgte über öffentliche Aushänge. Um die hormonellen Schwankungen im weiblichen Zyklus als Störfaktor auszuschließen wurden nur Männer ausgewählt, die weiterhin Nichtraucher sein mussten, wegen Unerwünschtheit des andauernden Entzündungsreizes durch Zigarettenkonsum. Zur Minimierung von Risikofaktoren sollten sie im Alter von 20 bis 36 Jahren sein und keine relevanten Vorerkrankungen haben. Das Durchschnittsalter lag bei $25,4 \pm 1,1$ Jahren. Als Einschlusskriterium galt außerdem ein Body Mass Index im Normbereich, dessen Mittelwert bei den Probanden $22,3 \pm 0,4$ kg/m² ergab, bei einer Verteilung von 19,85 bis 25,17 kg/m². Es war von Bedeutung, dass die Teilnehmer mit einem regelmäßigen Schlaf-Wach-Rhythmus lebten und keine Medikamente einnahmen. Weiterhin wurden nur Kandidaten ausgewählt, die offensichtlich die gewählten Gedächtnistests bewältigen können würden (geringster Bildungsgrad Realschulabschluss und Ausbildung beziehungsweise Abitur) und mit der Muttersprache deutsch.

Diese Kriterien wurden im Rahmen einer Vorsorgeuntersuchung abgefragt, bei der auch Standardblutwerte (Blutbild, Elektrolyte, Glucose, Kreatinin, Harnsäure, Bilirubin gesamt und direkt, GOT, GPT, Gamma-GT, alkalische Phosphatase, LDH, Kreatinkinase, Kreatinkinase-MB, CRP, TSH) kontrolliert wurden. Dabei wurden die Probanden über den Ablauf der Studie informiert und mögliche Fragen geklärt. Vor Teilnahme an den Experimentalnächten war eine Probenacht zur Eingewöhnung im Schlaflabor obligat, bei der mit Venenverweilkatheter und EEG-Elektroden (inklusive EMG und EOG) geschlafen wurde. Die Probanden unterschrieben nach Aufklärung eine Einverständniserklärung und erhielten nach Abschluss der Versuche eine Aufwandsentschädigung.

Die Studie wurde von der Ethikkommission der Universität Lübeck genehmigt (siehe Anlage).

2.2 Interleukin 6

Das Nasenspray für die IL-6 Gabe wurde aus 0,8 mg rekombinantem humanem Interleukin 6 gelöst in 2 ml PBS (Phosphate Buffered Saline [L1825] <http://www.biochrom.de>) hergestellt. Die IL-6/PBS Lösung wurde am späten Nachmittag des Versuchstages ab 16h jeweils aufgetaut und in das Sprayfläschchen umpipettiert. Bei Placebogabe beinhaltete das Nasenspray nur Pufferlösung (Phosphate Buffered Saline [L1825] <http://www.biochrom.de>).

Das Zytokin wurde in Escherichia coli mittels rekombinanter DNA-Technik hergestellt und weitgehend gereinigt, so dass nur eine Restdosis Lipopolysaccharid verblieb. In

Bezug auf den Schlaf kann diese Dosis als irrelevant betrachtet werden. Die minimale Wirkkonzentration mit Tiefschlafsteigerung im Humanexperiment beträgt 0,2 ng/kg Körpergewicht (Mullington et al. 2000). Im IL-6 Sprayfläschchen befanden sich lediglich 2,5 ng LPS, entsprechend einer Dosis von 0,036 ng/kg Körpergewicht ausgehend von einem Durchschnittsgewicht von 70 kg.

Die Vorbereitung des Sprays nahmen die nicht Versuchs-durchführenden Betreuer der Studie vor.

2.3 Versuchsdesign und Ablauf

Es handelt sich um eine Doppelblindstudie mit zwei Versuchsnächten in einem Mindestabstand von drei Wochen. Eine Eingewöhnungsnacht ging der ersten Experimentalnacht voraus.

Die Abfolge der Nächte, also Substanz oder Placebogabe im ersten Versuch, sowie die Reihenfolge der Gedächtnistests in ihren Versionen wurden ausbalanciert, also derart variiert verteilt, dass weder die zeitliche Abfolge der Gedächtnistest noch die Reihenfolge der Versuchsnächte Einfluss auf die Ergebnisse haben können.

Zum Versuchstag wurden die Probanden durch einen Telefonanruf an ihre Teilnahme erinnert. Sie waren angehalten, morgens aufzustehen, nach dem Frühstück kein Koffein mehr zu sich zu nehmen und ab 12h30 nüchtern zu bleiben. Der Versuchsablauf ist schematisch in Abbildung 5 dargestellt. Nach Ankunft im Schlaflabor gegen 17h30 und Beziehen ihres Zimmers, nahmen sie ein Abendbrot standardisierten Umfangs ein. Nach dem Abendessen wurden die Elektroden für die polysomnographische und EEG-Aufzeichnung des Schlafes angebracht. Die genauere Methodik der polysomnographischen und EEG-Aufzeichnungen wird in der Inauguraldissertation von N. Jacob (2012) beschrieben.

Zu regelmäßigen Blutentnahmen wurde ein Venenverweilkatheter (BD Adsyte Pro grün 18GA 1,3mm x 45mm 97mL/min) in eine Vene des Unterarms gelegt und fixiert. Die erste Blutentnahme erfolgte zu diesem Zeitpunkt, um etwa 19h30. Bis vor Beginn der Sprayanwendung wurde der Katheter mit dem entsprechenden Mandrin (BD Adsyte Pro Obturator 18GA 45mm) verschlossen, anschließend durch langsame Infusion von isotoner Kochsalzlösung über eine Infusionsleitung (Infusionsleitung 15µm Filter 185cm 18ml, Alaris Products), Dreiwegehahn (Discofix®-3, Braun) und Druckleitung (Druckleitung 210cm ml/wbl. II., Angiokard) freigehalten.

Nach den Vorbereitungen erhielt der Proband das erste Mal eine Stanford-Schläfrigkeitsskala, ein Maß zur Selbsteinschätzung der Schläfrigkeit. Um etwa 19h45 begann die Lernphase der Gedächtnistests. Dabei mussten zwei Texte, einer neutral, der andere emotional, beim 5-minütigen Lesen genau gemerkt werden und nach dem Ausfüllen eines Bewertungsbogen möglichst wortgetreu aufgeschrieben werden. Am

Computer wurde ein Memoryspiel mit 15 Karten-Paaren bis zum Erreichen einer gegebenen Erfolgsquote durchgeführt. Eine Fingersequenzaufgabe nach Walker et al. (2002), bei der mit der nicht-dominanten Hand möglichst viele richtige Sequenzen pro Zeit am Computer einzutippen waren, erfolgte über einen Zeitraum von 12 Minuten. Nach einer ersten Temperaturmessung vor Substanzgabe und einer zweiten basalen Blutabnahme um 21h15 wurde das Nasenspray wie folgt angewendet: Alle 30 Sekunden inhalierte der Proband einen Hub des Nasensprühers von 0,1ml abwechselnd durch das rechte und linke Nasenloch. Die Lösung konnte so zerstäubt in das Cavum nasi eingebracht werden, wodurch eine bessere Resorption ermöglicht wurde. Nach Aufbrauchen der 2mL Flüssigkeit, circa 10 Minuten später um 21h30, begannen Blutentnahmen und Temperaturmessungen in 5-minütigen Intervallen für 50 Minuten bis 22h20. Die Temperaturmessungen übernahm der Proband selbst mit einem digitalen Thermometer sublingual. Alle 10 Minuten von 21h35 bis 22h15 füllte er zudem die Stanford-Schläfrigkeits-Skala aus. In der Pause zwischen 22h20 und 22h40 machte sich der Versuchsteilnehmer nachtfertig. Um 22h40 wie auch um 23h00 erfolgten nochmals Temperaturmessung, Blutentnahme und Ausfüllen der Stanford-Schläfrigkeits-Skala. Zwischen 22h40 und dem Ausschalten des Lichtes um 23h00 wurden die Elektroden für die Polysomnographie und die EEG Ableitung eingesteckt. Die Kopf-Elektroden wurden mit einem Netzband zusätzlich gesichert. Das Blutabnahmesystem wurde so umgestellt, dass ein weitgehend störungsfreies Abnehmen über die Schlauchverlängerung und Dreiwegehahn außerhalb des Schlafrumes möglich wurde. Gegen 23h00 wurde das Licht gelöscht und der Proband zum Schlafen verabschiedet.

Nachts erfolgten halbstündliche Blutabnahmen für Cortisol und IL-6 von 23h30 bis 6h30, wobei jede zweite (0h00, 1h00 etc.) auch der CRP und Glucose-Bestimmung diente. Das Blut wurde kühl gelagert, mit 4000 U/min bei 4 °C für 5 min zentrifugiert, pipettiert und bei -80 °C tiefgekühlt. Bei 5 Probanden, deren Daten in Nachversuchen erhoben wurden, fanden reduzierte Blutabnahmen statt, zwischen 23h00 und 6h00 in stündlichen Abständen. Das Abnahmesystem wurde jedoch mit isotoner Kochsalzlösung zu den regulären Intervallen gespült, um möglichst gleiche Bedingungen wie bei allen vorherigen Probanden zu erhalten. Auf die CRP und Glucosebestimmungen wurde hier gänzlich verzichtet.

Morgens um 6h30 wurde die Testperson geweckt, sofern sie sich nicht im REM-Schlaf oder Tief-Schlaf (Stadium 3 oder 4 non-REM Schlaf) befand. In diesem Falle wurde bis Erreichen von S1, S2 oder W im EEG spätestens bis 7h gewartet. Nach Ausfüllen des Fragebogens Stanford-Schläfrigkeits-Skala wurden die EEG-Elektroden vom EEG System ausgesteckt und das Blutabnahmesystem mobilisiert. Anschließend wurden die Elektroden entfernt. Nach zwei letzten Blutentnahmen 30 und 45 Minuten nach dem

Aufstehen (etwa 7h und 7h15) wurde der Venenverweilkatheter gezogen. Insgesamt wurden nicht mehr als 200ml Blut pro Versuchsnacht entnommen, deren Regeneration innerhalb von drei Wochen ausreichend erschien.

Etwa eine Stunde nach dem Wecken wurde die Abfragephase der Gedächtnistests begonnen. Diese erschienen in gleicher Reihenfolge wie die Tests zum Lernen am Abend. Die Texte des Vorabends mussten aufgeschrieben werden. Daraufhin sollten aus Wortpaaren das tatsächlich im Text auftauchende ausgewählt werden und die Begriffe in chronologischer Abfolge, wie im Ausgangstext, sortiert werden. Sowohl Memory, als auch die Fingersequenzaufgabe wurden abgefragt. Bei der Fingersequenzaufgabe kam eine Kontrollzahlenfolge einer anderen Version hinzu.

Ergänzt wurden die morgendlichen Abfragen durch den Regensburger Wortflüssigkeitstest zur Messung der Fähigkeit semantische Informationen aus dem Langzeitgedächtnis abzurufen. Zum Abschluss füllte der Proband ein letztes Mal die Stanford-Schläfrigkeitsskala aus und wurde verabschiedet.

Abbildung 4: Ablauf des Versuches

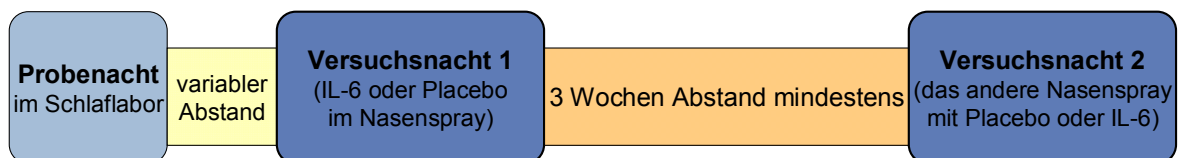
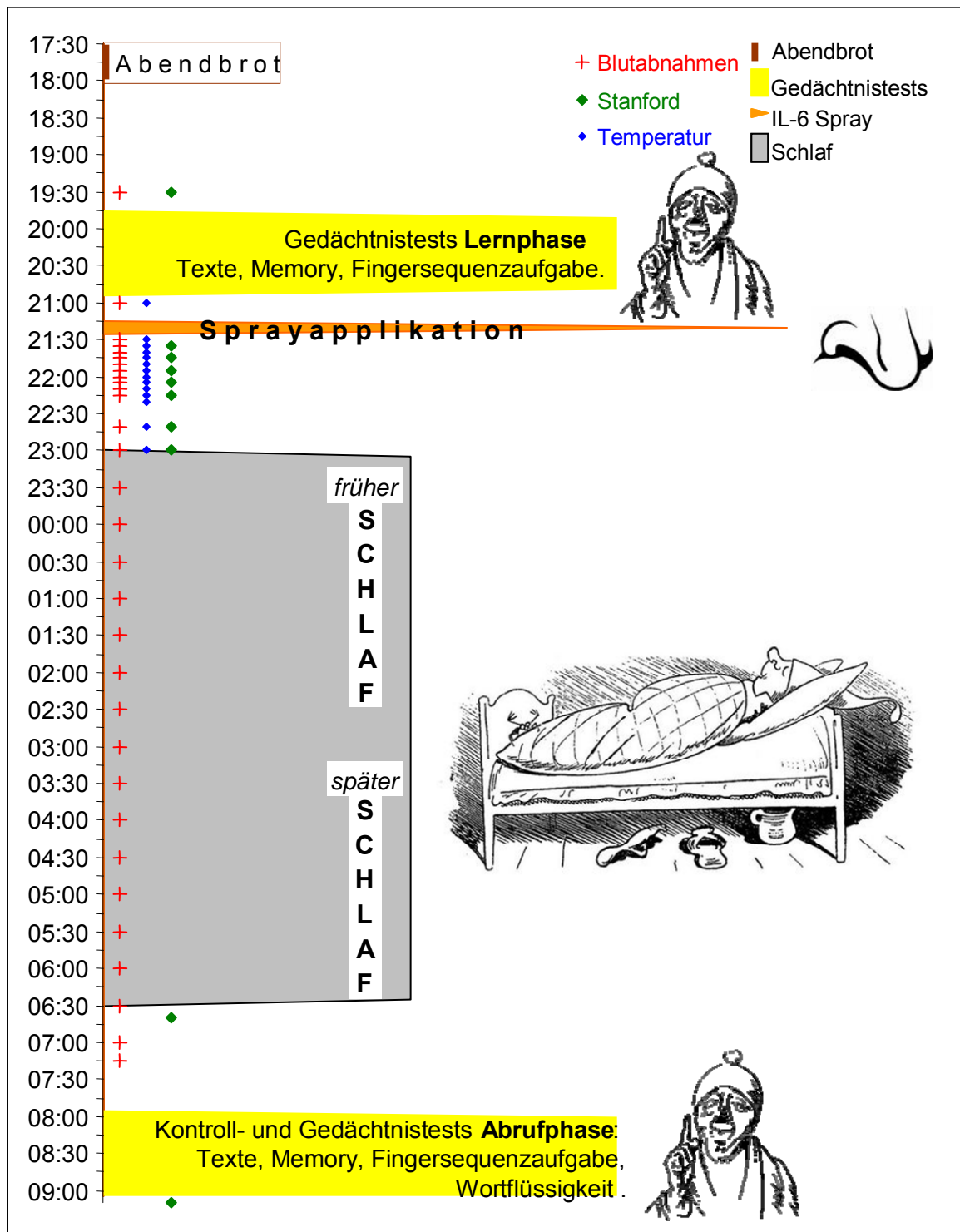


Abbildung 5: Ablauf einer Versuchsnacht auf einem Zeitstrahl



Links angegeben ist die Uhrzeit.

Gelb ■ - Gedächtnistests, Grau ■ - Schlaf, Orange ▲ - Sprayapplikation, Braun — - Abendbrot, Rot + - Blutabnahme, Blau • - Temperaturmessung, Grün ◆ - Stanford Schläfrigkeitsskala

2.4 Gedächtnistests und psychometrische Kontrolldaten

Texte. Zum Vergleich des emotionalen und neutralen deklarativen, Hippokampus-abhängigen Gedächtnisses wurden vier standardisierte deutsche Texte verwendet. Davon waren zwei Versionen eines neutralen und zwei eines emotionalen Textes (Schürer-Necker 1994) vorhanden. Bei etwa gleicher Länge (202 - 205 Wörter) zählten in der Auswertung die kennzeichnenden Inhaltswörter, wobei auch Wortstamm-enthaltende andere Begriffe gezählt wurden.

Im neutralen Text „Bronze“ mit 78 Inhaltswörtern wird die Herstellung einer Bronzeskulptur geschildert. Die andere neutrale Version „Mode“ handelt von einer Modenshow und kommt auf 112 Inhaltswörter. „Kindermord“, ein emotionaler Text, beschreibt detailliert die grausamen Tötungsdelikte des Protagonisten. Er enthält 94 Inhaltswörter, gegenüber 95 im emotionalen Text „Querschnittslähmung“, in dem ein paraplektischer Mann von seinen Gefühlen, Problemen und Ängsten sexueller Natur erzählt.

Die Reihenfolge der Textpräsentation bei einer Sitzung (Beginn mit emotionalem oder neutralem Text), sowie die Auswahl der Version (Bronze und Querschnitt oder Mode und Kindermord) für die erste und zweite Versuchsnacht waren für die Probanden ausbalanciert.

Die konkrete Anweisung zum 5-minütigen Textlernen vom Blatt beinhaltet den Hinweis, sich zur folgenden Abfrage alles so detailreich und wortgenau, wie möglich, einzuprägen. Zur Prüfung des Ausgangsenkodierungsniveaus des Textes wird der Proband gebeten, den Text nun möglichst wörtlich auf einem Blatt Papier wiederzugeben. Dem ist keine Zeitbegrenzung gesetzt. Das Lesen und Lernen, dann Bewerten und Aufschreiben des zweiten Textes folgt daraufhin.

Aufgrund der unterschiedlichen Anzahl von Inhaltswörtern pro Text wurde in der Auswertung der prozentuale Anteil der wiedergegebenen Inhaltswörter zur Gesamtzahl der Inhaltswörter im jeweiligen Text berechnet.

Die morgendliche Abfrage der Texte, die am Abend gelesen wurden, gestaltet sich ähnlich. Zuerst sollen beide Texte ohne vorgegebene Reihenfolge niedergeschrieben werden, wieder ohne zeitlichen Druck. Durch diesen freien Abruf wird die Leistung des Behaltens als Maß der Gedächtniskonsolidierung erfasst.

Im Wiedererkennungsteil der Textaufgabe bekommt der Teilnehmer eine Liste mit 12 Wortpaaren aus Synonymen, von denen er das tatsächlich im Text vorkommende markieren soll. Ein Index für das Wort-Wiedererkennungsgedächtnis wird berechnet aus der Summe korrekt erkannter Wörter.

Der zweite Teil dieser Aufgabe besteht darin, die Wörter in der Reihenfolge des Handlungsablaufes im Text zu ordnen. Der Abruf der zeitlichen Reihenfolge wird in einer

Abweichungsskala widergespiegelt. Die Skalenwerte werden angegeben als Betrag der Differenzen zwischen der erinnerten sequentiellen Position und der tatsächlichen Position des Inhaltswortes in der Geschichte.

Zur subjektiven Textbewertung bekommen die Versuchspersonen direkt nach lesen des neutralen beziehungsweise emotionalen Textes einen Bewertungsbogen. Auf einer 7-Punkte Skala (-3 bis +3) sind die Dimensionen unverständlich/verständlich, interessant/uninteressant, schwierig/leicht, neutral/emotional, bekannt/unbekannt, harmlos/erschreckend, wichtig/unwichtig, anschaulich/abstrakt, amüsant/ernst, langweilig/erregend, vertraut/unvertraut, positiv/negativ zur Wahl gegeben.

Memoryspiel. Bei der Prozessierung dieser zweidimensionalen Objektlokalisierungsaufgabe des deklarativen Gedächtnisses sind Anteile des medialen Temporallappens, mit Hippokampus, parahippokampalem Kortex und angrenzenden Kortex involviert (Sommer et al. 2005). In einem 5x6 Karten großen Feld befinden sich 15 Kartenpaare mit bunten Bildern von Tieren und alltäglichen Objekten. Während des Spiels sind sie „zugedeckt“ mit grauer Oberfläche zu sehen. Es gibt 2 Versionen des Spiels mit unterschiedlichen Bildmotiven und anderer Kartenverteilung, die über die Versuchspersonen ausbalanciert wurden.

In einer anfänglichen Präsentation wurden die Paare gezeigt, erst 1 Sekunde die erste Karte, dann 1 Sekunde die zweite und schließlich für 3 Sekunden das Paar. Nach 3-sekündiger Pause erschien das nächste Paar in gesagter Form, bis alle Karten einmal gezeigt waren. Eine Wiederholung dieser Präsentation erfolgte in geänderter Abfolge der Paare.

Zu einer durch den Computer aufgedeckten Karte muss vom Probanden die Position des entsprechenden Gegenstückes mit der Maus gewählt werden. Gleich, ob der falsche oder richtige Ort gewählt wurde, ist für 2 Sekunden die richtige Karte nochmals an ihrem Platz zu sehen, um ein erneutes Lernen zu ermöglichen. Die aufgedeckten und errateten Karten werden nach jedem Zug erneut zugedeckt, also durch eine graue Oberfläche ersetzt, womit die Ratewahrscheinlichkeit in jedem Durchlauf konstant bleibt. Beim Erreichen 60% richtiger Paare ist das Abbruchkriterium des Lerndurchlaufes erfüllt.

Am Morgen fand die gleiche Abfrageprozedur statt.

Als Ergebnis zählt die Anzahl der korrekt gewählten Paare.

Fingersequenzaufgabe. Bei diesem Test des prozeduralen Gedächtnisses wird der Teilnehmer gebeten mit seiner nicht-dominanten Hand eine Zahlenfolge von 1 bis 4 mit 5 Stellen abzutippen (4 - 1 - 3 - 2 - 4 oder 4 - 2 - 3 - 1 - 4), die auf dem Computerbildschirm erscheint (Walker et al. 2002). Dabei bleiben die Finger auf den Tasten 1 bis 4 der Tastatur liegen. Es gilt in 30 Sekunden so viele richtige Zahlenfolgen einzutippen, wie möglich. Beim abendlichen Lernen werden 12 Durchläufe mit derselben Sequenz, jeweils

mit 30-sekündiger Unterbrechung, geübt. Morgens gibt es nur 4 Durchläufe. Dabei werden die Zahlen immer dauerhaft auf dem Bildschirm eingeblendet. Die durch den Probanden eingetippten Zahlen, sein Feedback, bleiben ungezeigt, als Ersatz erscheint jeweils ein Stern, um den Fortschritt innerhalb der Reihe anzugeben. Neben der Abfrage der am Vorabend geübten Zahlenfolge schließt sich morgens eine Kontrolle mit anderer Version und 4 Durchläufen an.

Als Ergebnis wird der Durchschnitt der aus den letzten 3 Durchläufen des Tests in 30 Sekunden komplett richtig getippten Folgen, morgens wie abends, gezählt.

Wortflüssigkeitstest. Der Regensburger Wortflüssigkeitstest dient als allgemeine Kontrolle der Gedächtnisfunktion am Morgen, um eventuelle der gesamten Abfrage zugrunde liegende Unterschiede zwischen den Bedingungen aufzudecken. Der Test aus dem Englischen Original (Christensen und Guilford 1958) auf Deutsch übersetzt fordert den Probanden auf, so viele Wörter, wie ihm einfallen mit dem Anfangsbuchstaben M oder P aufzuschreiben. Eigennamen, Städtenamen, Wortstammwiederholungen (zum Beispiel Mara, Marcus, Madrid, München, Morddrohung, Mordwaffe) werden nicht beziehungsweise der Wortstamm nur einmalig gezählt. Hierfür sind zwei Minuten gegeben.

Im zweiten Teil sollen alle Hobbys oder Berufe in zwei Minuten niedergeschrieben werden. Wieder werden Wortstammwiederholungen nur einmalig gewertet (zum Beispiel Hundezüchter, Pferdezüchter).

Die Punktevergabe erfolgt pro geschriebenem gültigen Wort.

Stanford-Schläfrigkeitsskala. Auf der 8-stufigen Bewertungsskala (1 bis 8) schätzt der gesunde Befragte seine Schläfrigkeit ein. Die Stanford-Schläfrigkeitsskala hat sich als nützliches Instrument zur Evaluation der Schläfrigkeit erwiesen und ist das am häufigsten eingesetzte subjektive Verfahren zu deren Erfassung. Dabei liegt eine gute Sensitivität zur Aufdeckung der Schläfrigkeit vor, die bei Schlafdeprivation noch steigt (Curcio et al. 2001).

Der Fragebogen gibt dem Leser Einstufungen zwischen aktiv, sehr wach (Punktwert 1) über träge (4 Punkte) und schläfrig (6 Punkte) bis schlafend (8 Punkte) zur Auswahl. Um 19h30, nach den Versuchsvorbereitungen, jedoch noch vor Beginn der eigentlichen Experimente hatte die Versuchsperson ihre Schläfrigkeit einzuschätzen. Dies wurde in 10-minütigen Intervallen zwischen 21h35 und 22h15, sowie um 22h40 und um 23h wiederholt. Direkt nach dem Wecken und zum Ende des Versuchs gegen 9h füllte der Proband den Fragebogen erneut aus.

So konnte der Verlauf der Schläfrigkeit abends und morgens in 10 Werten festgehalten werden.

2.5 Blutuntersuchungen

Nach jeder Blutabnahme wurden die Monovetten kühl bei 4°C zwischengelagert. Die Proben für CRP als Heparinplasma (S-Monovette 2,6mL LH) und Glucose als Fluoridplasma (S-Monovette 2,6mL FE) wurden bis zum Versand an das Zentrallabor, wo ihre Prozessierung stattfand, am Ende der Versuchsnacht bei 4°C aufbewahrt.

Die Kalium-EDTA- (S-Monovette 2,7mL K3E) und Plasmaröhrchen (S-Monovette 2,6mL Z-Gel) aus allen Abnahmen kamen jeweils zur Zentrifugation über 5 Minuten mit 4000 Umdrehungen. Nach Abpipettieren der Überstände in Eppendorfmonovetten lagerten die Proben bis zu ihrer Bearbeitung tiefgekühlt bei -80°C. Cortisol im Serum wurde mit Immunolite (mittlere minimale Nachweisgrenze 0.2 µg/dl, intra- und interassay Variationskoeffizienten <10%; DPC Biermann GmbH, Bad Nauheim, Germany, www.dpc-biermann.de), die IL-6-Plasmakonzentrationen mit dem standardisiertem Enzym-Immuno-Assay gemessen (mittlere minimale Nachweisgrenze 0.16 pg/ml, intra- und interassay Variationskoeffizienten <9.6%; <http://www.rndsystems.com>). Aus 8 zufällig ausgewählten Versuchen erfolgte die Bestimmung der sIL-6R-Plasmakonzentration zu den Abnahmezeitpunkten 1h00 und 5h00 mit dem Ziel vorangegangene Ergebnisse zu überprüfen, denen zu Folge der späte Schlaf mit einer Erhöhung dieser einhergeht, nicht jedoch der frühe Schlaf (Dimitrov et al. 2006). Die sIL-6R-Plasmakonzentrationen wurden per ELISA (mittlere minimale Nachweisgrenze 6.5 pg/ml, intra- und interassay Variationskoeffizienten: <3.6%; <http://www.rndsystems.com>) ermittelt. Die CRP-Bestimmung erfolgte mit einem Latex Immunoassay (mittlere minimale Nachweisgrenze 0.1 mg/L, intra- und interassay Variationskoeffizienten <3.6%; www.sentinel diagnostics.com).

2.6 Polysomnographie

Die Polysomnographische Aufzeichnung erfolgte nach den Kriterien von Rechtschaffen und Kales (Rechtschaffen und Kales 1968), sowie Rodenbeck et al. (Rodenbeck et al. 2006). In der Vorbereitung für das EEG wurden nach dem 10-20-System (Jasper 1958) links und rechts Zentral gesinterte Silber/Silberchloridelektroden angebracht. Die Referenzelektrode befand sich am Nasenrücken, die Erdelektrode in Stirnmitte (Fpz). Es wurden ein submentales Elektromyogramm, sowie ein horizontales und vertikales Elektrokulogramm aufgezeichnet. Hinzu kam noch ein einfaches EKG, über zwei zentral angebrachte Brustwandelektroden abgeleitet, was zur einfachen Störungskontrolle diente.

Niedrige Übergangswiderstände wurden durch Entfetten der Hautoberfläche mit Desinfektionsmittel und Verwendung einer leitenden Peeling-Paste (everi - Conductive and Abrasive Paste, spes medica) erreicht. An der Kopfhaut wurde eine adhäsive Elektrodenpaste verwendet (Genuine Grass EC2 Electrode Cream, Grass Technologies).

Für die Gesichtselektroden und das EKG kam eine Ableitcreme (Conductive Electrode Cream, Med-Tek/Synapse) und Elektrodenkleberinge zur Anwendung. Die Übergangswiderstände waren vor Versuchsbeginn so gering wie 5 k Ω .

Die hirnelektrischen Signale wurden mit dem 32-Kanal-Elektroenzephalograph (Nihon Kohden, Japan) verstärkt und die analogen Signale digitalisiert (CED 1401, Cambridge Electronic Design Ltd. UK).

Das EEG, EOG und EMG wurden off-line nach den Kriterien von Rechtschaffen und Kales (1968) durch erfahrenes Personal ohne Kenntnis der Versuchsbedingung in 30 Sekunden Intervallen gescort. Für jede Nacht wurde die in S1 bis S4 des non-REM Schlafes, im REM-Schlaf, und in Wachheit verbrachte Zeit, sowie die Gesamtschlafzeit und die Schlafphasen ermittelt. Der Slow-Wave-Sleep fasst die Schlafphasen 3 und 4 zusammen.

Details der polysomnographischen Aufzeichnung und EEG-Datenanalyse werden in der Inauguraldissertation von N. Jacob (2012) beschrieben. Infolge technischer Probleme bei der Aufzeichnung konnte nur bei 14 Probanden die EEGs ausgewertet werden.

2.7 Statistische Auswertung

Dem Vergleich der Ergebnisse unter IL-6 und Placebo diente die Varianzanalyse (ANOVA) mit den Inner-Subjekt-Effekten Bedingung (Placebo/IL-6) und wo angebracht auch dem Faktor Zeit (Abends/Morgens) oder Texttyp (Emotional/Neutral). Signifikante Interaktionen wurden mittels dem paarweisen t-Test spezifiziert. Das Behalten der Gedächtnisinhalte, die Konsolidierungsleistung, wurde mit der multivariaten Kovarianzanalyse (MANCOVA) berechnet, wobei die Abrufleistung als abhängige Variable definiert wurde und die Werte der entsprechenden Lernsituation als Kovariate.

Bei limitierter Blutabnahmemenge pro Proband konnten nicht alle Parameter für jeden Teilnehmer ausgewertet werden. Die Untergruppe zur Hormonbestimmung wurde mit 12 Probanden festgelegt.

Alle Werte wurden als Mittelwerte (MW) \pm Standardfehler (SEM) dargestellt. Als Signifikanzniveau war $p < 0,05$ festgelegt. Bei Mehrfachvergleichen wurde ein korrigiertes α -Fehler-Niveau verwendet, wie in den Ergebnissen entsprechend angegeben.

3. Ergebnisse

3.1 Gedächtnistests

Texte. Die Textaufgabe ist in drei Subtests unterteilt, die einzeln ausgewertet wurden: Der freie Abruf der Texte, die Wiedererkennung von Inhaltswörtern aus Synonymen und die chronologische Sortierung vorkommender Inhaltswörter (die Reihenfolge).

Der freie Abruf ergibt das Enkodierungsniveau und die Behaltensleistung des Textes. Gemessen wird die Anzahl der Inhaltswörter in der schriftlichen Rekapitulation der Texte am Abend und am Morgen. Zum Vergleich werden die Prozent der richtigen Inhaltswörter an der Gesamtzahl der Inhaltswörter im Text ermittelt. Zunächst ist festzustellen, dass der emotionale Text unabhängig von der Versuchsbedingung (IL-6 oder Placebo) besser behalten wurde als der neutrale Text. Bei Enkodierung wurden $45,1 \pm 2,4\%$ der emotionalen Inhaltswörter aufgeschrieben versus $26,4 \pm 1,7\%$ der neutralen Inhaltswörter ($t(16)=13,34$, $p < 0,001$). Diese Differenz bestand auch nach der Nacht mit emotional $41,3 \pm 2,4\%$ versus $22,2 \pm 1,7\%$ neutral ($t(16)=14,18$, $p < 0,001$; $F[1,16]=4,592$, $p < 0,05$ für die Interaktion Bedingung x Texttyp). Auch bei Betrachtung der Placebobedingung allein, um mögliche Effekte von IL-6 auszuschließen, die die allgemeine Schlussfolgerung bezüglich emotionalen versus neutralen Lernens beeinflussen könnten, trifft zu, dass der emotionale Inhalt besser konsolidiert wurde. Bei der Enkodierung wurden $42,5 \pm 3,3\%$ versus $26,3 \pm 1,8\%$ emotionale versus neutrale Inhaltswörter wiedergegeben ($t(16)=5,99$, $p < 0,001$), und am Morgen waren es $37,4 \pm 2,7\%$ beziehungsweise $22,0 \pm 1,7\%$ ($t(16)=8,01$, $p < 0,001$).

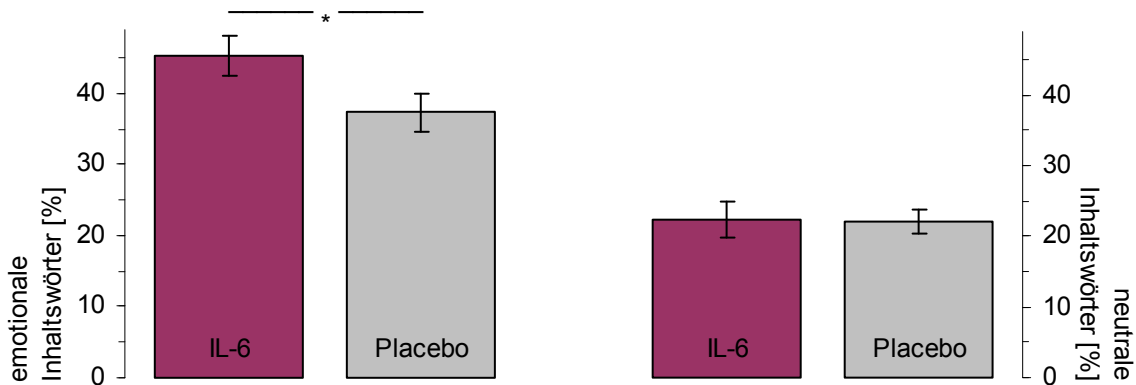
Nach der Enkodierung abends bestand zwischen der IL-6 und Placebo Bedingung kein signifikanter Unterschied im prozentualen Anteil wiedergegebener Inhaltswörter, weder für den emotionalen Text ($47,8 \pm 2,5\%$ vs. $42,5 \pm 3,3\%$, $t(16)=-1,65$, $p > 0,11$) noch für den neutralen ($26,5 \pm 2,5\%$ vs. $26,3 \pm 1,8\%$, $t(16)=0,094$, $p > 0,9$).

Vergleicht man die Testergebnisse vor und nach der Nacht, so ist eine signifikante Änderung, nämlich Abnahme, der richtig notierten Inhaltswörter festzustellen, sowohl für den emotionalen Text ($p = 0,001$ in der Placebo-Nacht und $p = 0,033$ in der IL-6 Nacht), als auch für den neutralen Text ($p = 0,001$ in der Placebo-Nacht und $p < 0,001$ in der IL-6 Nacht).

Aufgrund des starken Unterschieds in der Retention beider Texttypen wurde die Wirkung von IL-6 für emotional und neutral getrennt untersucht. Bei den emotionalen Texten hatte IL-6 einen signifikanten Effekt auf die Abrufleistung: unter IL-6 wurden weniger Inhaltswörter vergessen ($2,6 \pm 1$ Wörter) als unter Placebo ($4,9 \pm 1,1$ Wörter) – siehe Abbildung 6 ($F[1,15]=5,74$, $p = 0,03$ mit der abendlichen Lernleistung als Kovariate). Auf

die schlafassoziierte Gedächtniskonsolidierung der neutralen Texte hatte IL-6 keinen Einfluss ($F[1,15]=0,80$, $p > 0,8$). Unter IL-6 bzw. Placebo wurden $4,7 \pm 0,9$ bzw. $3,6 \pm 0,9$ Wörter vergessen.

Abbildung 6: Ergebnisse des freien Textabrufs am Morgen



Dargestellt sind die Prozent der richtig niedergeschriebenen Inhaltswörter beim morgendlichen Abruf, links für den emotionalen, rechts für den neutralen Text. Der signifikante Unterschied ist durch * markiert, $p < 0,05$.

Die Wiedererkennung von Inhaltswörtern folgte im Anschluss. Der Proband musste sich bei zwölf Synonymen für das tatsächlich im Text erschienene entscheiden. Für jede korrekte Wahl wurde ein Punkt vergeben. Die Auswertung ist in Tabelle 2 dargestellt. Es wurden mehr Wörter aus den emotionalen als aus den neutralen Texten wiedererkannt ($p < 0,05$, $F[1,16]=7,448$ für die Interaktion Bedingung x Texttyp). Obwohl die intranasale IL-6 Gabe keine signifikanten Effekte auf die Wiedererkennung ausübte, tendierten die Probanden dazu, bei den neutralen Texten nach IL-6 weniger richtige Wörter auszuwählen.

Tabelle 2: Ergebnisse der Text Wiedererkennungsaufgabe am Morgen

Erkennen von Inhaltswörtern aus emotionalem und neutralem Text

Texte Wiedererkennung (deklarativ)	IL-6	Placebo	t-Wert
	Mittelwert ± Standardfehler	Mittelwert ± Standardfehler	t(16)
Anzahl erkannter Wörter emotionaler Text	$8,7 \pm 0,4$	$8,6 \pm 0,4$	0,20
Anzahl erkannter Wörter neutraler Text	$7,4 \pm 0,3$	$8,4 \pm 0,3$	-1,94

Die Reihenfolge der Inhaltswörter wurde im nächsten Schritt vom Teilnehmer durch Sortierung der Inhaltswörter oder ihrer Synonyme aus der Wortpaarliste vorgeschlagen. Ihre Bewertung geschah folgendermaßen: Punkte wurden für den Abstand zwischen der zugewiesenen Stelle zur tatsächlichen chronologischen Position des Wortes berechnet und anschließend die Summe ermittelt. Somit bedeutet eine geringere Punktzahl ein besseres Resultat in dieser Aufgabe. Es ist zu erkennen, dass unter IL-6 eine bessere chronologische Sortierung der Begriffe in den emotionalen Text erfolgte als unter Placebo, ohne dass es signifikant war ($p > 0,2$). Unabhängig von der Bedingung wurde bei den emotionalen Texten die Reihenfolge der Inhaltswörter besser wiedergegeben ($F[1,16]=19,397$, $p < 0,001$). Für den neutralen Text bestand kein Unterschied in der Ordnung der Inhaltswörter zwischen den Bedingungen ($p > 0,74$).

Tabelle 3: Ergebnisse der Textaufgabe Reihenfolge am Morgen

Reihenfolge der Inhaltswörter aus emotionalem und neutralem Text.

Texte Reihenfolge (deklarativ)	IL-6 Mittelwert \pm Standardfehler	Placebo Mittelwert \pm Standardfehler	t-Wert t(16)
emotionaler Text	28,1 \pm 2,9	32,9 \pm 3,7	-1,2
neutraler Text	42,4 \pm 2,3	39,8 \pm 3,6	0,58

Die subjektive Textbewertung erfolgte jeweils direkt nach Lesen des Textes abends mithilfe von Eigenschaftswörtern auf einer 7-stufigen Skala von -3 bis 3. Die emotionalen Texte wurden im Vergleich zu den neutralen Texten als deutlich erschreckender beurteilt (vergleiche Tabelle 4). Ebenso bewerteten die Probanden sie als emotionaler, erregender, verständlicher, weniger schwierig, wichtiger, negativer und ernster, wobei in all diesen Charakteristika $p \leq 0,001$ erreicht wurde. Des Weiteren wurde der emotionale Text als anschaulicher und interessanter eingestuft, hierbei galt $p < 0,01$. Bezüglich der Bekanntheit unterschieden sich emotionale und neutrale Vorlagen nicht. Die Bewertung der emotionalen und neutralen Texte war unabhängig von der Versuchsbedingung (IL-6 oder Placebo), zumal die Sprayapplikation ohnehin erst danach stattfand.

Table 4: Subjective Text Evaluations of Emotional and Neutral Texts in Comparison

Mittelwert ± Standardfehler für IL-6 und Placebo gemeinsam betrachtet.

Das Maximum der Skala von +3 ist dem ersten Adjektiv zugeordnet, das Minimum -3 dem zweiten,

* $p < 0,0045$ (nach Bonferroni-Korrektur für Mehrfachtestung).

Subjektive Textbewertung	emotional	neutral	z-Wert
	Mittelwert ± Standardfehler	Mittelwert ± Standardfehler	
verständlich / unverständlich	1,8 ± 0,2	-1,0 ± 0,3	-3,53 *
interessant / uninteressant	0,4 ± 0,3	-1,6 ± 0,3	-2,66
schwierig / leicht	-0,4 ± 0,3	1,4 ± 0,3	-3,53 *
emotional / neutral	1,6 ± 0,2	-2,2 ± 0,3	-3,63 *
erschreckend / harmlos	2,3 ± 0,1	-2,2 ± 0,3	-3,63 *
wichtig / unwichtig	0,3 ± 0,3	-1,9 ± 0,2	-3,34 *
anschaulich / abstrakt	1,3 ± 0,3	-0,5 ± 0,3	-2,90 *
ernst / amüsant	1,9 ± 0,2	0,5 ± 0,2	-2,99 *
erregend / langweilig	0,4 ± 0,2	-2,3 ± 0,2	-3,58 *
bekannt / unbekannt	-1,4 ± 0,3	-1,5 ± 0,3	-0,78
positiv / negativ	-2,0 ± 0,2	-0,3 ± 0,2	-3,33 *

Memoryspiel. Das Erreichen des Abbruchkriteriums von 60%, also 9 richtig aufgedeckten Kartenpaaren von 15 geschah unter beiden Konditionen nach 3,4 Durchläufen. Die Anzahl richtig gewählter Paare vor IL-6- oder Placebo-Gabe war beim Lerndurchlauf gleich. Im Abruf am Morgen wählten die Teilnehmer nach IL-6-Einwirkung etwas mehr Objektlokalisationen korrekt aus als unter Placeboeinwirkung (6,9±3,5% versus 11,1±2,8% Verlust an richtigen gewählten Kartenpaaren). Es wurde kein signifikanter Effekt auf die Konsolidierung nachgewiesen ($F[1,15]=1,01$, $p > 0,33$ mit der abendlichen Lernleistung als Kovariate).

Table 5: Results of the Memory Game

Memoryspiel (deklarativ)	IL-6	Placebo
	Mittelwert ± Standardfehler	Mittelwert ± Standardfehler
Anzahl Durchläufe bis Erreichen des Abbruchkriteriums	3,4 ± 0,9	3,4 ± 0,4
richtig aufgedeckte Karten [%] abends	69,9 ± 2,4	69,3 ± 2,4
richtig aufgedeckte Karten [%] morgens	63,0 ± 2,4	58,2 ± 4,0

Fingersequenzaufgabe. Das Enkodierungsniveau beim Sequenztippen war annähernd gleich für die beiden Bedingungen. Wie erwartet wurden beim morgendlichen Abruf mehr Sequenzen korrekt getippt als am Abend zuvor ($1,7 \pm 0,5$ Sequenzen, $F[1,16]=14,00$, $p < 0,01$, für den Hauptfaktor Zeit). Obwohl dieser Zugewinn nach IL-6 Applikation im Mittel etwas geringer ausfiel, hat die IL-6 Gabe keinen signifikanten Effekt auf die Leistungs-Differenz am Morgen im Vergleich zum Abend ($F[1,15]=0,39$, $p > 0,54$, mit der abendlichen Leistung als Kovariate).

Table 6: Ergebnisse der Fingersequenzaufgabe

Sequenztippen (prozedural)	IL-6 Mittelwert \pm Standardfehler	Placebo Mittelwert \pm Standardfehler
Anzahl korrekt getippter Sequenzen pro 30s Abend	16,5 \pm 1,2	15,8 \pm 1,1
Anzahl korrekt getippter Sequenzen pro 30s Morgen	17,8 \pm 1,2	18,0 \pm 1,4

Wortflüssigkeitstest. Beim Regensburger Wortflüssigkeitstest, dem Kontrolltest der Gedächtnisfunktion für die gesamte morgendliche Abrufsituation wurden keine signifikanten Unterschiede für die Konditionen IL-6 versus Placebo nachgewiesen ($t(16)= -0,98$, $p > 0,34$). Die Probanden konnten am Morgen durchschnittlich $31,6 \pm 9,9$ Wörter aufschreiben (IL-6 $30,7 \pm 2,5$, Placebo $32,5 \pm 2,2$).

3.2 Schlaf

Die Ergebnisse der polysomnographischen Auswertung sind in Tabelle 7 dargestellt. Eine ausführliche Auswertung fand in der Inauguraldissertation von N. Jacob (2012) statt. Hier folgt eine Zusammenfassung der für die Gedächtnisleistung relevantesten Ergebnisse.

Weder die Zeit bis zum Einschlafen, die Gesamt-Schlafzeit, noch die Schlafphasen für SWS und REM Schlaf unterschieden sich zwischen den Bedingungen. Auch wurde kein signifikanter Unterschied im prozentualen Anteil der in den einzelnen Schlafstadien verbrachten Zeit über die gesamte Nacht betrachtet gefunden (stets $p > 0,1$). Der Anteil an Wachheit in Minuten war jedoch unter IL-6 niedriger ($z=-2,35$, $p > 0,2$).

Da frühere Studien auf die Bedeutung von REM reichem Schlaf in der zweiten Nachthälfte für das Behalten von emotionalen Texten hinweisen (Wagner et al. 2001), wurde speziell der prozentuale Anteil von REM Schlaf und SWS in der 2. Nachthälfte untersucht. In der zweiten Nachthälfte war die in SWS verbrachte Zeit durch IL-6

verlängert mit $6,8 \pm 1,6$ % versus $3,3 \pm 0,8$ % ($z = -1,98$, $p < 0,05$), Der Anteil an REM Schlaf in der zweiten Nachthälfte unterschied sich nicht signifikant (IL-6 $28,7 \pm 2,4$ % vs. Placebo $29,3 \pm 2,4$ %; $p > 0,8$).

Durch IL-6 resultierte auch eine um $1,57 \pm 0,8$ % erhöhte Schlafeffizienz gegenüber Placebo ($99,1 \pm 0,3$ % versus $97,6 \pm 0,9$ %, $z = -2,353$, $p < 0,02$).

Die EEG-Power Analyse brachte hervor, dass IL-6 zu einer signifikanten Steigerung der SWA (0,5 – 4 Hz) am frontozentralen Ableitort (Fz) in der späten Nacht führte. Dabei betrug die Differenz von IL-6 und Placebo $+3.51 \pm 1,19 \mu V^2$ ($p < 0,01$). In der frühen Nacht konnte kein Unterschied gefunden werden. Die Spindelaktivität (8-12 Hz und 12-16 Hz) unterschied sich in beiden Konditionen allerdings nicht. Ergebnisse der EEG-Leistung finden sich ausführlich in der Inauguraldissertation von N. Jacob (2012).

Tabelle 7: Polysomnographische Daten

Oben sind die absoluten Werte in Minuten für die Zeit im Bett, des Schlafes, die Dauer bis zum Einschlafen, zur ersten Tiefschlafphase und REM Schlafphase angegeben.

Unten ist der prozentuale Anteil eines Schlafstadiums zur Schlafzeit aufgeführt.

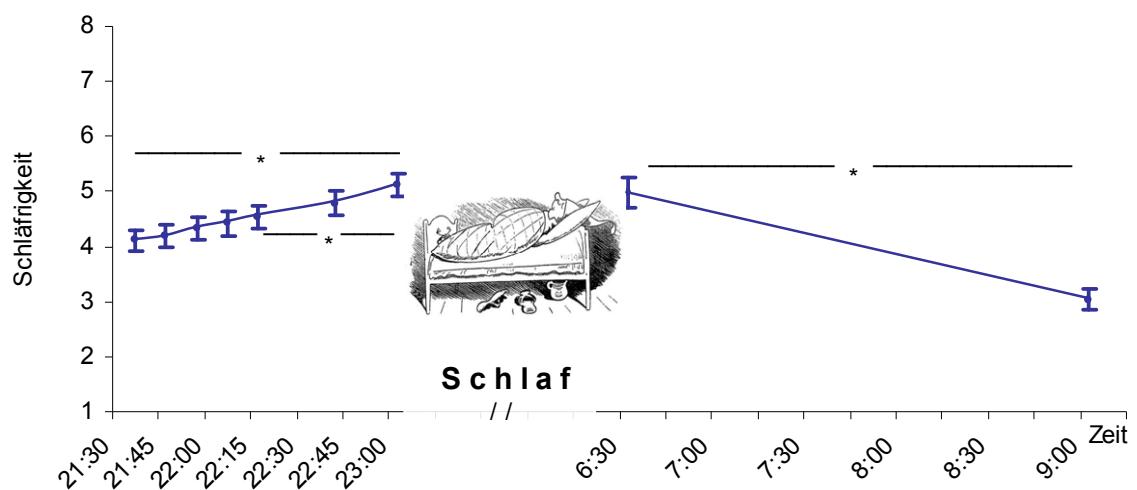
Polysomnographie	IL-6	Placebo
	Mittelwert \pm Standardfehler	Mittelwert \pm Standardfehler
Bettzeit [min]	$458,4 \pm 2,5$	$462,1 \pm 2,9$
Schlafzeit [min]	$440,0 \pm 5,7$	$442,6 \pm 4,5$
Einschlaflatenz [min]	$18,4 \pm 5,5$	$19,5 \pm 5,8$
SWS-Latenz [min]	$28,2 \pm 10,8$	$24,4 \pm 8,1$
REM-Latenz [min]	$109,6 \pm 12,4$	$92,8 \pm 5,3$
Prozentualer Anteil der in den einzelnen Schlafstadien verbrachten Zeit		
Wach [%]	$0,7 \pm 0,3$	$2,0 \pm 0,9$
Schlafstadium 1 [%]	$12,6 \pm 2,7$	$12,6 \pm 2,9$
Schlafstadium 2 [%]	$51,8 \pm 2,0$	$52,0 \pm 1,9$
SWS [%]	$14,7 \pm 1,7$	$12,9 \pm 1,8$
REM Schlaf [%]	$19,7 \pm 1,4$	$20,0 \pm 1,7$

3.3 Schläfrigkeit

Es ergaben sich keine Unterschiede in der empfundenen Müdigkeit zwischen den beiden Experimentalnächten bei Bewertung mit der Stanford-Schläfrigkeits-Skala von 1 bis 8, wobei 1 sehr wach und 8 schlafend bedeutet. Im Versuch mit IL-6-Gabe kreuzten die Probanden im Durchschnitt $4,3 \pm 0,2$ an, während sie im Versuch mit Placebo $4,5 \pm 0,2$ angaben ($F[8,128]=0,98$, $p > 0,4$ für die Interaktion Bedingung x Zeit).

In Abbildung 7 sind die gemittelten Werte für IL-6 und Placebo gemeinsam dargestellt. Zu sehen ist, dass die subjektive Müdigkeit in beiden Bedingungen für den ganzen Abend ab IL-6 Gabe, das heißt zwischen 21h35 und 23h00, sowie ab 45 min nach IL-6 Gabe zwischen 22h15 und 23h00 zunimmt und am Morgen (zwischen 6h30 und 9h00) signifikant abgenommen hat (Haupteffekt Zeit ganzer Abend $F[1,16]=26,52$; zwischen 22h15 und 23h00 $F[1,16]=18,39$; beziehungsweise am Morgen $F[1,16]=62,34$, stets $p \leq 0,001$).

Abbildung 7: Verlauf der Schläfrigkeit auf der Stanford-Sleepiness-Scale



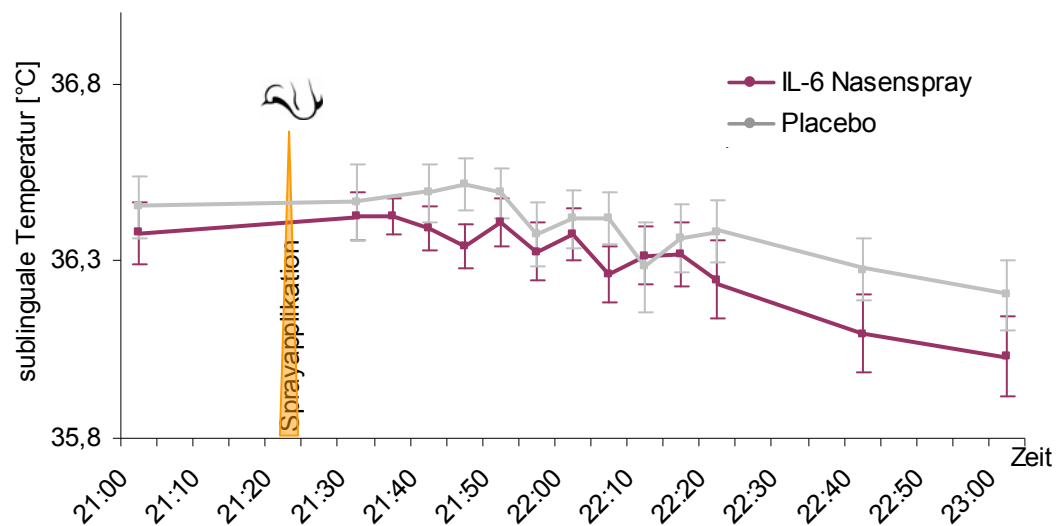
Mittelwerte \pm Standardfehler für IL-6 und Placebo gemeinsam betrachtet.

Signifikante Effekte, wie im Text berichtet, sind durch * markiert.

3.4 Körpertemperatur

Die Körpertemperatur wurde weder durch IL-6 noch über die Messzeit signifikant verändert. Die Teilnehmer maßen im Mittel $36,31\text{ °C} \pm 0,07\text{ °C}$ sublingual unter IL-6-Einwirkung versus $36,18\text{ °C} \pm 0,27\text{ °C}$ bei Placebo-Bedingung (Haupteffekt Zeit $F[1,16]=0,93$, $p > 0,5$; Interaktion Bedingung x Zeit $F[13,208]=1,00$, $p > 0,3$).

Abbildung 8: Verlauf der Körpertemperatur



Auf der y-Achse ist die sublinguale Temperatur in ° C dargestellt, auf der x-Achse die Uhrzeit.

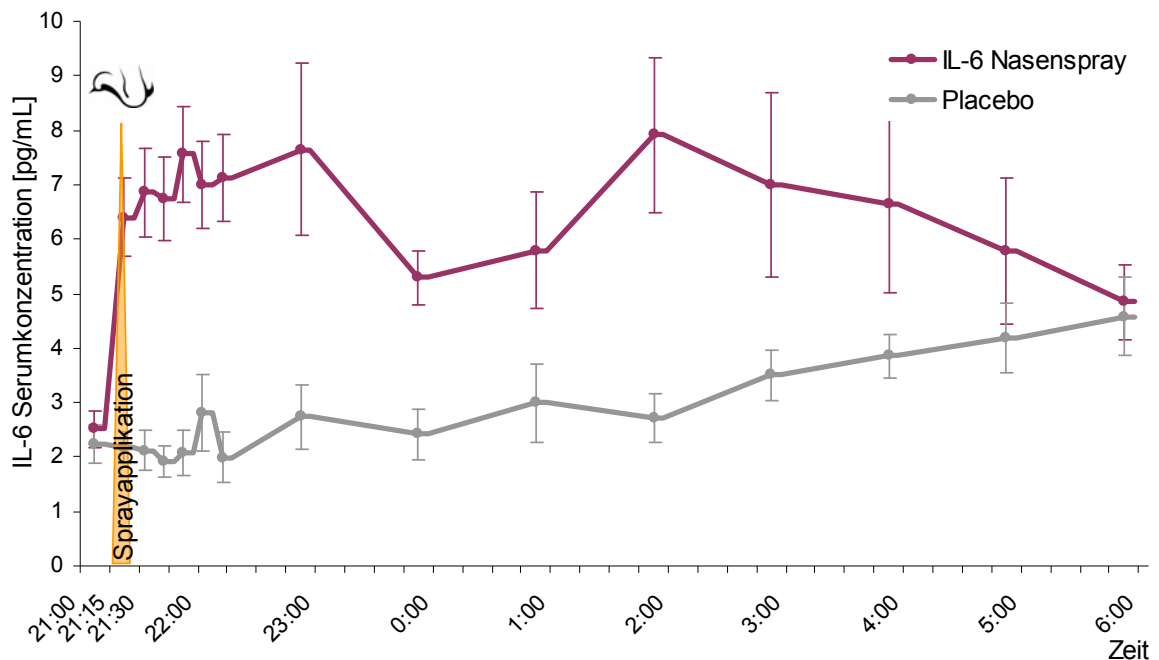
3.5 Interleukin 6

Die IL-6 Applikation führte zu einem signifikanten Anstieg der IL-6 Konzentration im Serum ($F[14,154]=3,34$, $p < 0,02$ für IL-6/Placebo für die gesamte Nacht, 23h – 6h). Dies war vor allem in der frühen Nacht zu beobachten. Post hoc t-Tests zeigten, dass sich in der ersten Nachthälfte (23h bis 2h) die IL-6 Konzentrationen im Serum signifikant unterschieden (IL-6 $6,7 \pm 0,8$ pg/mL, Placebo $2,7 \pm 0,4$ pg/mL, $t(11)=3,86$, $p < 0,01$), während sich die Blutwerte in der zweiten Nachthälfte (3h bis 6h) nicht mehr signifikant unterschieden (IL-6 $6,1 \pm 1,1$ pg/mL, Placebo $4,0 \pm 0,4$ pg/mL, $t(11)=1,78$, $p > 0,1$). Insbesondere am Morgen um 6h kurz vor dem Abruf lag kein signifikanter Unterschied im IL-6-Blutwert zwischen Placebo und Verum-Spray Kondition vor ($t(11)=0,244$, $p > 0,8$).

Das Ausmaß des IL-6-Anstiegs korrelierte nicht mit dem Ergebnis der Textabfrage für den emotionalen Text eines jeden Probanden, nach IL-6 versus Placebo (Pearsons Korrelationsanalyse $r < 0,34$, $p > 0,27$).

Bezüglich des löslichen IL-6 Rezeptors (sIL-6R) konnten während des späten Schlafes tendenziell höhere Konzentrationen gefunden werden als im frühen Schlaf (1h00: $35,93 \pm 3,63$ ng/mL versus 5h00: $38,67 \pm 4,15$ ng/mL, $p < 0,05$, einseitig).

Abbildung 9: Verlauf der Plasma IL-6 Konzentration

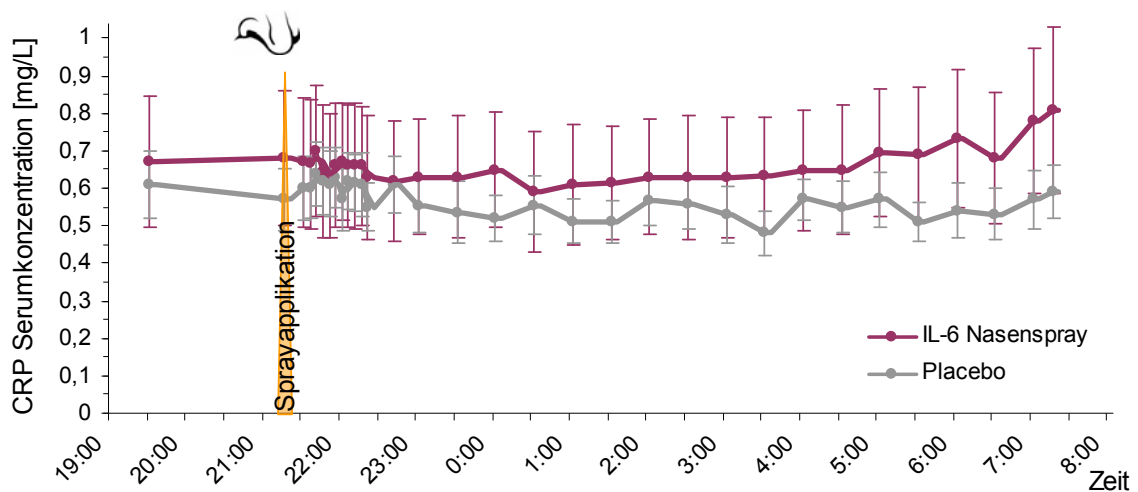


Plasma IL-6 Konzentrationen \pm Standardfehler [pg/mL] nach Sprayapplikation (Δ Pfeil).

3.6 C-reaktives Protein (CRP)

Ohne Signifikanz blieb der geringe Unterschied im CRP von $0,65 \text{ mg/L} \pm 0,16 \text{ mg/L}$ nach IL-6 im Nasenspray versus $0,57 \text{ mg/L} \pm 0,07 \text{ mg/L}$ nach Placebo (Mittelwert je über die gesamte Nacht), $F[31,279]=1,769$, $p > 0,14$ für die Interaktion Bedingung x Zeit. Auch bei genauerer Betrachtung und nach Baseline-Normierung zeigte sich zu keinem Zeitpunkt ein signifikanter Effekt durch IL-6 (siehe Abbildung 10). Aus technischen Gründen wurden in die Analyse nur 10, anstelle von 12 Probanden, wie bei den anderen Blutwertbestimmungen, einbezogen.

Abbildung 10: Verlauf der CRP Konzentration



CRP Serumkonzentrationen \pm Standardfehler [mg/L] nach Sprayapplikation (Δ Pfeil).

3.7 Cortisol

Während die IL-6-Gabe Cortisol im Blut leicht erhöhte ($6,49 \text{ } \mu\text{g/dl} \pm 0,88 \text{ } \mu\text{g/dl}$ versus $5,47 \text{ } \mu\text{g/dl} \pm 0,88 \text{ } \mu\text{g/dl}$) konnte für diese Differenz keine Signifikanz festgestellt werden ($p > 0,2$ für die Interaktion Bedingung x Zeit).

Genauere Angaben hierzu sind der Inauguraldissertation von N. Jacob (2012) zu entnehmen.

4. Diskussion

4.1 Diskussion der Ergebnisse

Ansatz der Studie war, durch intranasale IL-6 Gabe zentralnervöse Wirkungen des Zytokins zu induzieren. Hauptsächliches Ziel der Untersuchungen war es, Erkenntnisse über die Auswirkungen auf die schlaf-abhängige Gedächtniskonsolidierung von neutralen deklarativen und emotionalen deklarativen Inhalten, sowie motorischen Fertigkeiten zu erlangen. Begleitend wurden Daten zur Schläfrigkeit erhoben und Blutbestimmungen IL-6, sIL-6R, CRP und Cortisol vorgenommen und die Körpertemperatur erfasst. Die Experimente wurden in doppelblindem, Placebo-kontrolliertem Cross-over-Design durchgeführt.

1. Die intranasale IL-6-Gabe fördert die deklarative Gedächtniskonsolidierung.

Die Resultate vorangegangener Studien zur Gedächtniswirkung von IL-6 sind widersprüchlich. Hauptsächlich wird IL-6 mit einer Verschlechterung des Gedächtnisses in Verbindung gebracht. Antagonisierung von IL-6 durch Antikörper steigerte die Erinnerungs-fördernde Wirkung von LTP bei Ratten (Balschun et al. 2004). Im Vergleich zum Wildtyp lernten IL-6-Knockout-Mäuse schneller und erzielten bessere Ergebnisse bei einer Aufgabe zur räumlichen Orientierung (Braidia et al. 2004). Sie zeigten nicht die durch Lipopolysaccharid verursachten Gedächtniseinbußen (Sparkman et al. 2006). Hingegen verhalf endogenes IL-6 Wildtypmäusen zu besserer Objekterkennung, ihre IL-6-Knockout-Altersgenossen wiesen diesbezüglich Defizite auf (Hryniewicz et al. 2007). Die absolute Abwesenheit von IL-6 führte zu einer schlechteren Gedächtnisleistung, so bei IL-6-Knockout-Mäusen, die auch stressanfälliger und weniger entdeckungsfreudig waren (Baier et al. 2009). Inwiefern bei diesen Experimenten mit Knockout Tieren physiologische Zustände imitiert werden ist fraglich, womit die Übertragbarkeit der Aussagen auf den Alltag und den Menschen anzuzweifeln ist.

Auf lange Sicht ist die chronische IL-6-Erhöhung beim mittelalten und alten Menschen mit dem Risiko verminderter kognitiver Funktion assoziiert (30 - 54 Jahre bei Marsland et al. 2006, 70 - 79 Jahre bei Weaver et al. 2002). Andererseits wurden höhere IL-6-Spiegel bei Menschen, die sich einer Operation unterzogen, als ein möglicher Faktor für die Milderung der postchirurgischen Gedächtnisverschlechterung interpretiert (Shapira-Lichter et al. 2008).

In dieser Studie fand sich durch intranasale IL-6 Applikation die Konsolidierung von prozeduralen Aufgaben unverändert und das deklarative Gedächtnis in seinen neutralen Anteilen unbeeinflusst. Allein das Erinnern von emotionalen Texten war signifikant gesteigert.

In Hypothese 1 wurde postuliert, dass die intranasale IL-6 Gabe zu einer Verbesserung der Konsolidierung des deklarativen Gedächtnisses führt, welches auf einer Erhöhung der Menge an Tiefschlaf basieren sollte. Die Ergebnisse zeigen, dass die erste Hypothese in ihrer Vollständigkeit abgelehnt werden muss. Allein die Konsolidierung des deklarativen Gedächtnisses mit emotionalem Inhalt wurde durch die intranasale IL-6 Gabe im Vergleich zu Placebo verbessert.

Wie in der Einleitung beschrieben wird bei der Verarbeitung emotionaler Inhalte der Amygdala eine wichtige Rolle zugeschrieben, während für die Konsolidierung von deklarativen Gedächtnisinhalten hippokampale Aktivität beziehungsweise neokortikale-hippokampale Interaktionen relevant sind (siehe Einleitung Abschnitt „1.2 Gedächtnis“, Walker 2009, McGaugh 2004). Weiterhin belegen viele Studien, dass schlaf-abhängige deklarative Gedächtniskonsolidierung von SWS gefördert wird (siehe Übersichtsarbeit Diekelmann und Born 2010). Zur Rolle der Amygdala bei der emotionalen Gedächtniskonsolidierung nehmen Paré et al. Stellung. Die Amygdala könnte mittels eigener elektrophysiologischer Rhythmen das Zusammenspiel von temporärem und dauerhaftem Speicher modifizieren und je nach subjektiver Bewertung der betreffenden Informationen deren Weiterleitung beeinflussen; oder aber sie ist gar das Zentrum, welches eben diese Bewertung vornimmt (Pare et al. 2002). Sie ist auch daher in diesem Experiment interessant, als dass sie anatomisch in räumlicher Nähe zum Bulbus olfactorius liegt und damit über den intranasalen Weg gut erreicht werden könnte.

In der vorliegenden Studie werden die Polysomnographie und die Powerspektralanalyse des EEGs herangezogen, um die beschriebenen Gedächtniseffekte von IL-6 zu erklären. Hiernach ist zunächst SWS in der zweiten Nachthälfte zu nennen. Dieser ist im Gegensatz zur Placebogabe nach IL-6 signifikant erhöht, was konform mit den Ergebnissen einer Studie von Späth-Schwalbe et al. (1998) mit subkutaner IL-6 Gabe ist. Die Zeit im Tiefschlaf ist in der zweiten Nachthälfte nahezu doppelt so lang wie in der Placebonacht. Prozentual auf die gesamte Nacht bezogen macht dies allerdings nur einen Unterschied von knapp 2% im Anteil des SWS an der Gesamtschlafzeit aus. Die Befunde der Polysomnographie-Daten werden auch in der signifikant erhöhten SWA in der zweiten Nachthälfte nach IL-6 widergespiegelt. Für die anderen Schlafstadien und Zeitintervalle ergaben sich keine signifikanten Differenzen, ebenso wenig für die anderen Leistungsspektren (siehe auch Inauguraldissertation von N. Jacob 2012).

Wie einleitend beschrieben (Abschnitt 1.2) sind zentralnervöse Prozesse inklusive der Slow waves, die in SWS ablaufen, für die deklarative Gedächtniskonsolidierung relevant. Viele Studien untersuchen die Bedeutung von SWS in einem experimentellen „Split-Night“ Design, wonach SWS-reicher Schlaf in der ersten Nachthälfte mit REM-Schlaf-reichem Schlaf in der zweiten Nachthälfte verglichen wird. In der vorliegenden Studie hat IL-6 nur

SWS in der zweiten Nachthälfte modifiziert. Es scheint also, dass, zumindest betreffs der Wirkung von IL-6, für die Konsolidierung von emotionalen deklarativen Inhalten Schlaf in der zweiten Nachthälfte relevant ist. Die Bedeutung von Schlaf in der zweiten Nachthälfte für die Konsolidierung von deklarativem Gedächtnis mit emotionalem Inhalt haben bereits Studien von Wagner et al. (Wagner et al. 2001) gezeigt. Neu an der vorliegenden Studie ist, dass die Relevanz der späten SWA in den Vordergrund rückt, während in der Vergangenheit die späte Nacht oft mit der Bedeutung des REM-Schlafes gleichgesetzt wurde.

Nishida et al. konnten einen Vorteil beim Errinnern von emotionalen Gedächtnisinhalten durch 90 Minuten Tag-Schlaf herausstellen. Die Verbesserung des emotionalen Gedächtnisses trat gemeinsam mit kürzerer REM-Latenz und längerer REM-Dauer, sowie gesteigerter Aktivität im Theta-Band auf. Für diesen Zusammenhang herrschte Proportionalität (Nishida et al. 2009). In den hirnelektrischen Analysen nach IL-6 waren weder REM-Schlaf Latenz verkürzt noch REM-Schlaf Dauer erhöht und es lag auch keine vermehrte Theta-Aktivität vor.

Der konsolidierende Einfluss des späten Schlafes ist in dieser Studie also nicht durch dessen REM-Anteil zu erklären, da dieser unverändert blieb. Dass REM-Schlaf bei der Festigung emotionaler Gedächtnisinhalte überhaupt eine Rolle spielt, wird mit der hier durchgeführten Studie auch nicht widerlegt. Die Wirkung von IL-6 in dieser Studie scheint jedoch über die Erhöhung von SWS und SWA in der zweiten Nachthälfte vermittelt zu sein. Es ist nicht auszuschließen, dass eine veränderte Interaktion zwischen REM-Schlaf und SWS, für die gedächtnisfördernde Wirkung ursächlich war.

Zwei grundlegend verschiedene Theorien der Konsolidierungs-fördernden Wirkung des Schlafes müssen hier genannt sein. Zum einen könnte jeder spezifische Gedächtnistyp von einer Schlafphase abhängig sein, in der speziell er gefestigt würde – der Dichotomie entsprechend und aus Split-Night-Design-Studien begründet: das deklarative Gedächtnis abhängig von SWS-reichem Schlaf der ersten Nachthälfte, das prozedurale von REM-Schlaf-reichem Schlaf der zweiten Nachthälfte. Oder aber für die erfolgreiche Konsolidierung ist die Abfolge der Schlafstadien und das sequentielle Ablaufen verschiedener Prozesse, auch das Zusammenspiel von SWS und REM-Schlaf, notwendig (Rauchs et al. 2005, Ambrosini und Giuditta 2001, Giuditta et al. 1995).

Von gesteigertem REM-Schlaf nach IL-6 hätte eventuell auch eine Verbesserung des Sequenztippens erwartet werden können, da vielfach REM-Schlaf die prozedurale Konsolidierung erleichtert (Fischer et al. 2002, Maquet et al. 2000). Das neutrale deklarative Gedächtnis, das mit dem Memoryspiel und den neutralen Texten geprüft wurde, blieb ebenso unbeeinflusst durch IL-6. Änderungen des Tiefschlafes der frühen

Nacht und des Spindelvorkommens hätten potentiell Wirkung auf diese Aufgaben zeigen können (Born et al. 2006).

Der späte Schlaf geht mit einem erhöhtem Transsignaling einher, bei dem IL-6 und sIL-6R am membranständigen gp130 binden – dieser Signalweg wird für die schlafvermittelnde Wirkung von IL-6 verantwortlich gemacht (Dimitrov et al. 2006). Auch in dieser Studie konnte in der späten Nacht eine höhere sIL-6R Konzentration im Plasma nachgewiesen werden als im frühen Schlaf. In einem Versuch mit einem Transsignaling-Mimetikum Hyper-IL-6, welches zur Nacht intracerebroventrikulär bei Ratten verabreicht wurde, kam es zum Anstieg des REM-Schlafanteils in der Nacht, während non-REM-Schlaf unbeeinflusst blieb (May et al. 2009). Auch auf molekularer Ebene deutet dies auf einen Wirkzeitraum von IL-6 während der späten Nacht hin.

Laut Hamamm (2001) liegen für das emotionale Gedächtnis spezifische neuronale und hormonale Mechanismen vor, die emotionale Stimuli verstärken, aber nicht auf neutrale Stimuli wirken. Die Amygdala fungiert als Koordinator der Prozesse in der emotionalen Gedächtnisbildung. Durch Freisetzung von Stresshormonen, die mit der Amygdala interagieren, wird bei emotionaler Erregung das Gedächtnis beeinflusst (Hamamm 2012). Auch in weiteren Studien zum emotionalen Gedächtnis wurden schlaf-assoziierte humorale Faktoren identifiziert, die die Testergebnisse modulieren können. Besonders relevant ist die Gedächtniswirkung Cortisols, da IL-6 seine Synthese direkt und mittels Stimulation der Hypothalamus-Hypophysen-Nebennierenrinden Achse zu induzieren vermag (Bethin et al. 2000, Späth-Schwalbe et al. 1998, Salas et al. 1990). Jedoch ist eine Vereinheitlichung der Cortisoleffekte schwierig und es liegen gegensätzliche Ergebnisse vor. Glucocorticoide beeinflussen das Gedächtnis in Abhängigkeit der Dosis, der Tageszeit und des Moments im Lernprozess (vor dem Lernen oder bei der Abfrage) ihrer Verabreichung (Het et al. 2005), Erhöhte Cortisolspiegel während der Enkodierung führten zu Verbesserung der Behaltensleistung emotionaler versus neutraler Bilder (Buchanan und Lovallo 2001). Widersprüchlich dazu vermochte Metyrapone, ein Cortisolsynthesehemmer, Cortisol vor allem in der zweiten Nachthälfte zu senken, was mit einer Abnahme des SWS einherging, die neutrale deklarative Konsolidierung beeinträchtigte und vor allem das emotionale Gedächtnis stärkte (Wagner et al. 2005). In einer anderen Untersuchung wurde Metyrapone zum Zeitpunkt der Enkodierung, also vor der Lernphase appliziert. Dies bewirkte eine Abnahme, aber nicht komplette Suppression von Cortisol, und resultierte in einem negativen Effekt auf das Langzeitgedächtnis für neutrale und emotionale deklarative Inhalte. Das Enkodierungsniveau wurde dabei nicht beeinflusst (Maheu et al. 2004). Mifepriston, Antagonist am Glucocorticoidrezeptor und Antigestagen führte zu Verbesserung der Abfrage von neutralen und emotionalen Bildern. Die selektive Antagonisierung des stärker Cortisol affinen Mineralocorticoidrezeptors mit

Spironolacton führte zur Verschlechterung von neutral und stärker noch emotional deklarativen Inhalten (Rimmele et al. 2013).

In der vorliegenden Studie beeinflusste die intranasale IL-6 Gabe die Cortisolwerte in der Nacht und am Morgen allerdings nicht signifikant. So kann der systemische Cortisolspiegel eher nicht als Mediator der Wirkung auf das Gedächtnis in Frage kommen. Inwiefern die direkte Einwirkung auf den Hypothalamus lokal umschriebene Konzentrationsänderungen bedingten (Navarra et al 1991), kann hier jedoch nicht endgültig geklärt werden. Wären die nächtlichen Cortisolwerte durch IL-6 entscheidend größer, wäre laut Wagner et al. (2005) im Gegenteil eine schlechtere emotionale Konsolidierung zu erwarten gewesen. Damit bestünde über Cortisol sogar eine Rückkopplung, die die Enthemmung, also übermäßige Konsolidierung emotionaler Stimuli durch IL-6 relativieren könnte. Die Testergebnisse muss vielmehr ein eigener neuromodulatorischer Mechanismus von IL-6 hervorgerufen haben.

Eine andere Form der HPA-Achsen Aktivierung ist Stress. Bei der Abfrage von Gedächtnisinhalten führte kurz zuvor erlebter Stress im Gegensatz zu einer Kontrollbedingung zu besseren Ergebnissen der emotionalen deklarativen Tests, während neutrale deklarative und prozedurale Aufgaben unbeeinflusst blieben. Beta-adrenerge Blockade hob den Stresseffekt auf die emotionale Abfrage auf (Schwabe et al. 2009). Das bei Schwabe et al. festgestellte Ergebnis ähnelt dem in dieser Studie. Jedoch lag in dieser Studie beim Abruf kein unterschiedlicher Cortisolspiegel vor, der dies hätte erklären können. Denkbar wäre jedoch, dass lokal im ZNS moderat erhöhte Cortisolspiegel Gedächtnis-unterstützend gewirkt haben.

Eine entscheidende Rolle bei der Gedächtnisbildung für emotionale Inhalte spielt Noradrenalin. Es wird nach emotionaler Erregung freigesetzt und aktiviert prä- und postsynaptische Adrenozeptoren. Es wirkt modulierend auf die synaptische Plastizität mit dem Ergebnis lang anhaltende Erinnerungen zu kreieren (Tully und Bolshakov 2010). Yohimbin, das die zentrale noradrenerge Aktivität steigert, vor Enkodierung verabreicht, vermag die emotionale Gedächtnisbildung im Vergleich zu Placebo zu stärken; Metoprolol, welches zentral die adrenerge Aktivität blockieren kann, führt hingegen zu geringerer Langzeitspeicherung von emotionalen Inhalten (O'Carroll et al. 1999a). Die 80 mg hohe Dosis, nicht jedoch eine geringere von 40 mg, des Betablockers Propranolol verschlechterte sowohl die Enkodierung als auch Langzeitkonsolidierung der emotionalen Aufgabe, aber nicht der neutralen (Maheu et al. 2004). Ausschließlich peripher wirksame β -Blocker üben im Gegensatz zu solchen, die die Blut-Hirn-Schranke leicht passieren, keinen unterstützenden Einfluss auf die emotionale Gedächtniskonsolidierung aus (Van Stegeren et al. 1998). Die β -Blockade während der Abfrage führt zur Reduktion des Konsolidierungsvorteils von emotional deklarativen Inhalten, welche auch in Abwesenheit

der Medikation noch am Folgetag besteht (Kroes et al. 2010). Im Rahmen einer genetischen Variation im noradrenergen System kann eine Veränderung der Amygdala Aktivierung während emotionaler Gedächtnisbildung beobachtet werden. Bei starker Aktivität zur Enkodierung kommt es im Verlauf zu gesteigerter Konnektivität zwischen Insula und Amygdala und schließlich vermehrter Erinnerung (Rasch et al. 2009).

Es liegen auch Ergebnisse vor, die die adrenerg gesteuerte Gedächtnisverstärkung für emotionale Aufgaben in Frage stellen. Hier blieb eine Leistungssteigerung nach β -Blockern (O'Carroll et al. 1999b, Van Stegeren et al. 2002) und dem Noradrenalin Reuptake Inhibitor Reboxetin (Papps et al. 2002) aus.

Inwiefern adrenerge Mechanismen als Vermittler der IL-6 Wirkung in Frage kommen, bleibt durch diese Arbeit unbeantwortet. Die Bestimmung von Noradrenalin im Serum zur Einschätzung dessen wäre eine sinnvolle Erweiterung gewesen. Andererseits könnten auch nur lokale herrschende Konzentrationserhöhungen auslösend sein, so dass eine zentrale Messung im Liquor oder Gewebe wünschenswert wäre.

Adrenalin sowie Glucocorticoide wirken steigernd auf die Konsolidierung von emotionalen Erfahrungen, indem sie mit dem noradrenergen Transmittersystem der Amygdala, das durch Stress aktiviert wird, interagieren. In Abhängigkeit von der Phase der Gedächtnisbildung, in der die Wirkung eintritt, können hohe Konzentrationen der Stresshormone andererseits die Gedächtnisabfrage und das Arbeitsgedächtnis verschlechtern (de Quervain et al. 2009, Roozendaal et al. 2008).

Eine interessante Ergänzung der Studie könnte durch funktionelle Bildgebung (fMRT) im Schlaf erhalten werden. Sie würde dazu dienen, den Angriffspunkt von IL-6 im Gehirn besser zu identifizieren, vermutlich durch Nachweis von erhöhter Aktivität in der Amygdala nach IL-6 im Vergleich zu Placebo. Problematisch wäre allerdings die Messung des Schlafes in der zweiten Nachthälfte, da lange Schlafperioden im MRT nur sehr schwer zu realisieren sind. Einer anderen Studie gelang der Nachweis erhöhter Aktivität der rechten Amygdala beim Mann nach emotional negativen Filmen, während bei weiblichen Studienteilnehmern die linke Amygdala stärkeren Glucoseumsatz zeigte, was in beiden Fällen mit besserer Erinnerung einherging (Cahill et al. 2001). Denkbar wäre sogar eine veränderte Repräsentation nicht nur der emotionalen Aufgabe bei der Abfrage, sondern gar auch für das gesamte deklarative Gedächtnis und auch das prozedurale. Denn im Verhalten und damit im Testergebnis müssen noch keine Unterschiede sichtbar sein, wenn die Prozessierung und Repräsentation der Aufgaben schon verändert ist (Orban et al. 2006).

Die verwendeten emotionalen Texte fallen unter anderem durch Negativität auf, wie auch die Probanden bewerteten. Negative Stimuli können im Gegensatz zu positiven emotionalen Stimuli auch bei Schlafdeprivation erfolgreich konsolidiert werden, in dem sie

andere Netzwerke rekrutieren (Sterpenich et al. 2007). Umso aufschlussreicher wäre also eine Ergänzung per fMRT. Interessant wäre auch, wie positiv gefärbte emotionale Inhalte durch IL-6 in ihrer schlafgebundenen Konsolidierung beeinflusst werden - ein Aspekt, den diese Studie nicht erfasst. Vorstellbar wäre eine warnende Funktion von IL-6 in Gefahrensituationen, die die Erinnerung an negative Reize selektiv verstärkt. Dafür spricht eine Erhöhung von zentralem Liquor-IL-6 bei Patienten mit posttraumatischer Belastungsstörung verglichen mit gesunden Kontrollpersonen, bei gleichen peripheren Plasmakonzentrationen (Baker et al. 2001). Möglich ist aber auch ein breiterer Ansatz des Zytokins bei allen emotionalen Inhalten durch Wirkung auf die Amygdala.

Will man die zentralen Effekte von IL-6 mit seinen vielseitigen Wirkungen im gesamten Körper in Zusammenhang bringen, so gilt, dass IL-6 auf allen Ebenen Beitrag zur koordinierten Abwehr von Aggression leistet (Van Snick 1990).

2. Die intranasale IL-6-Gabe macht müde.

Anhand der Stanford-Schläfrigkeits-Skala wurde das Empfinden der Müdigkeit erfasst. Trotz Hinweisen, dass IL-6 diese steigere (Dimitrov et al. 2006, Vgontzas et al. 2005), sprechen die Daten gegen eine deutliche Müdigkeitszunahme bei intranasaler Applikation geringer IL-6-Dosen. Die Selbstevaluation durch die Probanden fiel weder für die Schläfrigkeit vor der Nachtruhe, noch danach unterschiedlich in der IL-6- oder Placebo-Kondition aus. Daher muss die zweite Hypothese abgelehnt werden.

Möglicherweise hätten höhere IL-6 Dosen in diesem Experiment Müdigkeit auslösen können. Da Schlafveränderungen auftraten, hätte man eventuell auch mit Veränderungen der Müdigkeit rechnen können, obwohl dieser subjektive Parameter womöglich weniger sensibel ist. Der verwendete Fragebogen stellt mit seiner 8-stufigen Einteilung ein eher grobes Maß dar. Für die Fragestellung ist er dennoch als geeignet anzusehen (Curcio et al. 2001).

Die Aussagen zu IL-6 in der Schlafregulation sind nicht ganz eindeutig. Einerseits wird ihm somnogene Potenz zugesprochen (Weschenfelder et al. 2012, Dimitrov et al. 2006, Kapsimalis et al. 2005, Vgontzas et al. 2005) und für alle Kriterien einer schlafregulierenden Substanz liegen Argumente vor (siehe Einleitung Abschnitt 1.3 „Interleukin 6 und Schlaf“). Dennoch hält Krueger die Einstufung von IL-6 als schlafregulierende Substanz, wie IL-1 und TNF- α es sind, für verfrüht (Krueger 2008). Denn auch gegenteilige Beobachtungen über schlechtere Schlafqualität bei höherem IL-6 liegen vor (Hong et al. 2005). Redwine et al. fanden ansteigende IL-6 Werte erst nach Schlafbeginn. Auch bei Schlafdeprivation stieg IL-6 nicht mit zunehmender Müdigkeit, sondern erst im Erholungsschlaf an. Sie schlagen vor, die Periodizität der IL-6 Ausschüttung sei durch Schlaf reguliert, nicht umgekehrt (Redwine et al. 2010).

3. Die intranasale IL-6-Gabe führt zu einer Erhöhung der Körpertemperatur.

Entgegen der Erwartung, dass IL-6 als endogenes Pyrogen Fieber erzeugt (Vollmer-Conna et al. 2004, Dinarello 2004, Herrmann et al. 2003), steigerte die IL-6-Gabe im Vergleich zu Placebo die Körpertemperatur nicht signifikant. Hypothese 3 wird abgelehnt.

Dies lässt insofern erstaunen, als dass im Tierversuch mit Ratten die Temperaturerhöhung schon bei geringerer IL-6-Dosis zu beobachten war, obwohl bei dieser geringen Dosis noch keine Veränderungen des Schlafes, wie in diesem Experiment beschrieben, zu registrieren waren (Hogan et al. 2003).

Dass der zentrale Effekt der Temperaturerhöhung ausblieb, kann verschiedene Erklärungen haben. Erstens, IL-6 wurde zu einem Zeitpunkt gegeben, wo die endogene Körpertemperatur herunterreguliert wird. Das heißt, dass jeglicher exogene Faktor der endogenen Steuerung entgegenwirken müsste. Obwohl unwahrscheinlicher, könnte zweitens die Wirkschwelle im entsprechenden Gewebe beziehungsweise an den entsprechenden Rezeptoren noch nicht erreicht gewesen sein. Drittens erfolgten die regelmäßigen Messungen der Temperatur zwischen 21h30 und 23h00, im direkten Anschluss an die IL-6-Applikation. Effekte waren mit gewisser Latenz zu erwarten, die im Resorptionsweg und der Wirkungsentfaltung begründet liegen. Nach intravenöser IL-6-Gabe bei Hasen kommt es nach 8 Minuten zum Fieberanstieg, das Maximum war nach 52 Minuten erreicht. Weniger verlässlich entstand Fieber nach intraventrikulärer Verabreichung bei Katzen; erst mit einer Verzögerung von etwa einer Stunde stieg die Körpertemperatur in febrile Bereiche und erreichte nach etwa 2 Stunden den Peak (Dinarello et al. 1991). Die geringe Dosis eines Nanogrammes intracerebroventrikulär verabreichten IL-6 führte bei Ratten sogar erst nach 12h zu einer leichten Körpertemperaturerhöhung von 0,5 °C, während höhere Dosen von 10 ng und 100 ng zu einem raschen 7 bis 9 Stunden anhaltendem Fieberanstieg führten (Schöbitz et al. 1995).

Ein eventueller späterer Temperaturanstieg als 1,5 Stunden nach Sprayanwendung könnte in unserem Experiment nur unbeobachtet stattgefunden haben.

4. Periphere Effekte von IL-6 bleiben beim intranasalen Applikationsmodus aus.

Der unmittelbar nach intranasaler Verabreichung erkennliche Anstieg von IL-6 im Blut deutet auf eine zumindest anteilige direkte Aufnahme der Substanz in das Kapillar- und Venenplexus-System der Nasenschleimhaut hin. Die Resorption von Wirkstoffen über die Nasenschleimhaut gewährleistet einen sehr schnellen Anstieg des Stoffes im Blut. Mit 30 Minuten oder mehr bis zum Erreichen des ersten Konzentrationsmaximums um 22h, ist die IL-6 Aufnahme hier eher langsamer. Aufgrund dessen und vor allem in Anbetracht der lang anhaltenden Konzentrationserhöhung bis in den frühen Morgen ist auch an einen späteren Übertritt von IL-6 aus dem Liquor in das Blut zu denken. Dabei erreichten die peripheren Werte trotz Verdopplung im Vergleich zu den Messungen nach Placebo-Gabe

insgesamt nur geringe Höhe und blieben im Rahmen des Normalen, kleiner 20 pg/mL. Lokal im Liquor können jedoch auch deutlich höhere Konzentrationen vorgelegen haben. Bei Adam et al. wird der Fall einer akuten Meningokokken Meningitis bei einem 3-jährigen Jungen beschrieben. Hier lag eine mehr als 100-fach erhöhte Liquorkonzentration von IL-6 verglichen mit der nur deutlich erhöhten Serumkonzentration vor. Dies weist darauf hin, dass das Zytokin nur anteilig die Bluthirnschranke passiert (Adam et al. 2004).

Auch für andere Substanzen ist bekannt, dass ihre Verteilung zentral betont ist, nach intranasaler Applikation. Das zentral wirksame Opioid-Analgetikum Morphin ist nach intranasaler Applikation bei Ratten im zentralen Nervensystem ebenso konzentriert, wie nach intravenöser Gabe, obwohl die systemische Serumkonzentration geringer ist (Westin et al. 2006). Auch Testosteron reichert nach intranasaler Gabe etwa zweimal stärker im ZNS an als nach intravenöser (Banks et al. 2009). Und die analgetische Wirkung von Morphin und Fentanyl ist stärker, wenn diese insbesondere auf das olfaktorische Epithel einwirken konnten, das höher und weiter hinten im Nasencavum liegt im Vergleich zu intraperitonealer Gabe oder Nasentropfen (Hoekman und Ho 2011).

Die Halbwertszeit von ungebundenem IL-6 liegt im Minutenbereich. Geht man von einer sofortigen und vollständigen Resorption des applizierten IL-6 aus dem Nasenspray aus, so müssten bei 0,8 mg in 6 L Blut $1,33 \times 10^{11}$ pg/mL vorliegen, eine Differenz von 10 Zehnerpotenzen zur tatsächlich gemessenen Serumkonzentration. Diese grob vereinfachende Berechnung ist zwar keinesfalls realistisch, jedoch legt sie nahe, dass im Versuch die Annahme der zentralen Aufnahme von IL-6 wahrscheinlicher ist, als die ausschließliche Resorption in das Gefäßsystem der Nasenschleimhaut.

Unter pathologischen Umständen, zum Beispiel bei Sepsis erreicht IL-6 mitunter maximale Konzentrationen bis 150.000 pg/mL (Hack et al. 1989). In klinischen Laboruntersuchungen gelten Werte unter 50 pg/mL als negativ. Die in dieser Studie gemessenen Konzentrationen lagen eindeutig darunter. Entsprechend blieben signifikante Effekte auf peripherer Ebene, wie ein möglicher CRP-Anstieg im Rahmen der Freisetzung Akuter-Phase-Proteine aus der Leber, aus. Da IL-6 die Synthese von CRP potent induziert (Kishimoto 2006, Castell et al. 1988), kann man CRP als Indikator der peripheren IL-6 Wirkung ansehen (Papanicolaou et al 1998). Auch die Cortisolkonzentration stieg nicht signifikant an.

Demnach wird die 4. Hypothese, dass periphere Effekte beim intranasalen Applikationsmodus ausbleiben, angenommen.

4.2. Allgemeine Diskussion

Wegen der klaren Wirkung von intranasal appliziertem IL-6 sowohl auf das emotionale Gedächtnis, als auch auf den Schlaf, ist davon auszugehen, dass die Substanz das Gehirn erreicht hat. Jedoch bleibt das Ausmaß der dortigen Konzentrationserhöhung

unbekannt und hätte allein durch IL-6-Bestimmung im Liquor geschätzt werden können, was im Rahmen dieses Versuches nicht durchführbar war. Hierzu könnte ergänzend eine Zusatzstudie, vergleichbar mit der von Born et al. (2002), Aufklärung bringen. Weiterhin ist anzunehmen, dass interindividuelle Unterschiede in der Aufnahme der Substanz bestehen. Diese liegen größtenteils in der nasalen Applikationsart begründet. Sowohl anatomische Faktoren als auch die Sprayanwendung können zu deutlichen Unterschieden in der Verteilung und Resorption führen (Djupešland 2013). Dem wurde versucht Rechnung zu tragen, in dem die Anwendung des Nasensprays korrekt erklärt und zu Beginn beaufsichtigt wurde. Dennoch blieben kleine Ungenauigkeiten bei der Quantifizierung der exakt dargebotenen Menge an IL-6, zumal im verwendeten Nasensprüher immer ein gewisser Rest Flüssigkeit verblieb.

In einem Versuch zur Zirkadianik der IL-6-Konzentration über 24h mit normalem Nachtschlaf im Vergleich zu Schlafentzug, der die Werte bezüglich ihrer Abnahmemethodik über einen Venenverweilkatheter oder per Nadel verglich, stellte sich heraus, dass unter schwierigeren Abnahmebedingungen wie nächtlich aus dem Venenverweilkatheter, erhöhte IL-6 Werte resultierten. Die lokale Zytokinproduktion wird demnach durch den Reiz des intravenösen Katheters angeregt und gesteigert. Während bei Abnahme über die Nadel kein Anstieg nach 24h zu verzeichnen war, nahm die IL-6-Konzentration bei den Entnahmen aus dem Venenverweilkatheter linear zu (Haack et al. 2002). Eine Korrektur und Anpassung der in dieser Studie erhobenen Werte nach oben genannter Beobachtung wurde nicht vorgenommen. Durch den Vergleich der Placebo- mit der IL-6-Kondition erübrigt sich dies andererseits, wenn man allein die Differenz zwischen beiden Bedingungen betrachtet, wie hier geschehen.

IL-6 wird eine Rolle in Gedächtnisprozessen und Mechanismen der synaptischen Plastizität zugesprochen (Braidă et al. 2004, Tancredi et al. 2000, D'Arcangelo et al. 2000, Li et al. 1997). In der Schmerzregulation unterdrückt es dosisabhängig die inhibitorische Neurotransmission, ebenso wie sein löslicher Rezeptor insgesamt pronozizeptiv wirkt (Kawasaki et al. 2008). Im Rattenhippocampus inhibiert IL-6 die LTP und die posttetanische Potenzierung (Tancredi et al. 2000). Es hat Bedeutung bei neurologischen Erkrankungen. Im Modell der Ketamin-induzierten Schizophrenie (Antagonisierung des Glutamat NMDA Rezeptors) übt IL-6 in mittelnder Funktion steigernden Einfluss auf die NADPH-Oxidase aus, wodurch vermehrt Sauerstoffradikale freigesetzt werden, mit dem Resultat der baldigen Dysfunktion einer Subgruppe von Interneuronen (Behrens et al. 2008). Es kann sowohl neuroprotektiv nach Verletzungen als auch degenerativ zum Beispiel bei Morbus Alzheimer und Morbus Parkinson agieren und ist auch in akuten und chronisch entzündlichen Prozessen des Nervensystems zu finden (Gadiant und Otten 1997).

In Abwesenheit pathologischer Zustände, also beim gesunden Menschen, sind die zentralen Wirkungen von IL-6 nicht hinreichend bekannt. Die hier durchgeführten Experimente sind die ersten Humanversuche mit intranasaler Verabreichung von IL-6 mit Fokus auf seine physiologischen zentralen Wirkungen. Die Ergebnisse sprechen für die Fähigkeit von IL-6 neuromodulatorisch zu wirken und Plastizität zu beeinflussen.

4.3 Diskussion der Methoden

In diesem Abschnitt werden einige kritische Bemerkungen zur Durchführung des Versuches dargelegt.

Obwohl bei den Probanden ein regelmäßiger Tag-Nacht-Rhythmus abgefragt wurde und sie auf die Vorbereitung des Versuches noch vor Ankunft im Schlaflabor aufmerksam gemacht wurden, ist nicht auszuschließen, dass unterschiedliche Tagesabläufe mit differentem Stressaufkommen auch den Schlaf und die Gedächtnisleistung im Versuch beeinflusst haben könnten. Ein ebenso nicht komplett vermeidbarer Störfaktor ist die Umgebung des Schlaflabors, welche zwar lärm- und lichtabgeschirmt ist, jedoch nie komplett identisch sein kann. Jedoch müsste das Cross-over-Design einige geringfügige Effekte ausgleichen.

Bei den Temperaturmessungen konnten äußere Faktoren, wie wechselnde Umgebungstemperatur, variierende Aktivität des Probanden und inkorrekte Messverfahren ebenso stören und zu Ungenauigkeiten führen, obgleich das Cross-Over-Design ihren Einfluss hätte minimieren müssen. Vergleichbarkeit wird in Abhängigkeit von der richtigen Positionierung des Thermometers in der hinteren Sublingualtasche erst durch Verwendung des selben Instruments erreicht (Erickson 1980). Die akzeptierte Messgenauigkeit digitaler Fieberthermometer beträgt meist $\pm 0,1^{\circ}\text{C}$, womit dezente Veränderungen unbemerkt bleiben. Präzisere Ergebnisse hätte eine rektale Temperatursonde mit Daueraufzeichnung erzielen können. Angesichts dessen, dass die Probanden diese präzisere Erhebung als unangenehm empfinden und weniger tolerieren, erschien die orale Messung ausreichend.

Die Probandenanzahl war leider beschränkt, da die verwendete Substanz IL-6 sehr teuer ist und nicht in beliebiger Menge zur Verfügung stand. Mit mehr Teilnehmern wäre die Streuung bei den Ergebnissen niedriger geworden.

5. Zusammenfassung

Die schlaf-assoziierte Gedächtniskonsolidierung stellt einen möglichen Aspekt zu der bisher ungelösten Frage nach dem genaueren Sinn und der Funktion von Schlaf dar.

Den zentralen Wirkungen von IL-6 auf die schlaf-assoziierte Gedächtnisbildung näher zu kommen, war das Ziel dieser Arbeit. Die Leistungen des neutralen deklarativen und des emotionalen deklarativen Gedächtnisses und des prozeduralen motorischen Gedächtnisses wurden an Hand geeigneter Aufgaben nach zentralnervös wirkender IL-6-versus Placebo-Gabe geprüft. IL-6 wurde vor dem Schlaf nach dem abendlichen Lernen der Gedächtnisinhalte in einem Spray intranasal appliziert. Die Abfolge von IL-6 versus Placebo bei den 17 Probanden war über ein Cross-over-Design ausbalanciert, ebenso wie die Reihenfolge der Gedächtnistests.

Durch intranasal appliziertes IL-6 kam es zu einer selektiven Verbesserung der emotionalen Gedächtniskonsolidierung über Nacht ($p < 0,03$). Das neutrale deklarative Gedächtnis und das prozedurale Gedächtnis blieben unbeeinflusst.

Die Verbesserung der deklarativen Gedächtniskonsolidierung ging einher mit einer erhöhten Menge an Slow-Wave-Sleep (SWS) in der zweiten Nachthälfte. In der späten Nacht findet vermehrt das IL-6-Transsignaling über den löslichen IL-6-Rezeptor und gp130 statt. Die zweite Nachthälfte ist damit Zeitpunkt der physiologisch relevanten IL-6-Aktivität. Die physiologische Wirkung von IL-6 könnte darin bestehen, dass es die funktional effektive Interaktion von Hippokampus und Amygdala stärkt, jeweils entscheidenden Strukturen für die deklarative beziehungsweise deklarativ emotionale Gedächtniskonsolidierung.

Die intranasale Applikation von IL-6 führte zu einer Verdopplung der peripheren Blutkonzentration des Zytokins, ohne die Grenzen für Normwerte zu überschreiten. Die beobachteten zentralen Wirkungen auf das Gedächtnis und den Schlaf belegen, dass die Substanz das Gehirn erreichte. Ohne Signifikanz blieben durch IL-6-Anwendung hervorgerufene Alterationen des CRP-Spiegels. Auch die Körpertemperatur und die empfundene Müdigkeit unterschieden sich in den zwei Versuchsbedingungen nicht.

In Ermangelung signifikanter peripherer Effekte und ohne einen möglichen Mediator gefunden zu haben, der indirekt die Ergebnisse erklären könnte, kann geschlossen werden, dass IL-6 über eigene neuromodulatorische Mechanismen verfügt. Die zweite Nachthälfte scheint dabei Zeit des Geschehens zu sein. In ihr war die slow wave activity (SWA) gesteigert. Ihr wird in der vorliegenden Studie die deklarative Gedächtniskonsolidierung mit emotionalem Inhalt zugeschrieben und sie geht mit gesteigertem Vorkommen des löslichen IL-6-Rezeptors einher, der das Transsignaling vermittelt.

Literaturverzeichnis

Adam D, Doerr HW, Link H, Lode H: Die Infektiologie. Berlin Heidelberg: Springer (2004)

Ambrosini MV, Giuditta A: Learning and sleep: the sequential hypothesis. *Sleep Med Rev* 5, 477-490 (2001)

Baier PC, May U, Scheller J, Rose-John S, Schifflholz T: Impaired hippocampus-dependent and-independent learning in IL-6 deficient mice. *Behav Brain Res.* 200, 192-196 (2009)

Baker DG, Ekhtor NN, Kasckow JW, Hill KK, Zoumakis E, Dashevsky BA, Chrousos GP, Geraciotti TD, Jr.: Plasma and cerebrospinal fluid interleukin-6 concentrations in posttraumatic stress disorder. *Neuroimmunomodulation.* 9, 209-217 (2001)

Balschun D, Wetzel W, Del Rey A, Pitossi F, Schneider H, Zuschratter W, Besedovsky HO: Interleukin-6: a cytokine to forget. *FASEB J.* 18, 1788-1790 (2004)

Banks WA, Morley JE, Niehoff ML, Mattern C: Delivery of testosterone to the brain by intranasal administration: comparison to intravenous testosterone. *J Drug Target* 17, 91-97 (2009)

Behrens MM, Ali SS, Dugan LL: Interleukin-6 mediates the increase in NADPH-oxidase in the ketamine model of schizophrenia. *J.Neurosci.* 28, 13957-13966 (2008)

Besedovsky L, Lange T, Born J: Sleep and immune function. *Pflugers Arch* 463(1), 121-137 (2012)

Bethin KE, Vogt SK, Muglia LJ: Interleukin-6 is an essential corticotropin-releasing hormone-independent stimulator of the adrenal axis during immune system activation. *PNAS* 97, 9317-9322 (2000)

Bluthe RM, Michaud B, Poli V, Dantzer R: Role of IL-6 in cytokine-induced sickness behavior: a study with IL-6 deficient mice. *Physiol Behav.* 70, 367-373 (2000)

Born J, Fehm HL: Hypothalamus-pituitary-adrenal activity during human sleep: a coordinating role for the limbic hippocampal system. *Exp.Clin Endocrinol.Diabetes* 106, 153-163 (1998)

-
- Born J, Lange T, Hansen K, Molle M, Fehm HL: Effects of sleep and circadian rhythm on human circulating immune cells. *J.Immunol* 158, 4454-4464 (1997)
- Born J, Lange T, Kern W, McGregor GP, Bickel U, Fehm HL: Sniffing neuropeptides: a transnasal approach to the human brain. *Nat.Neurosci.* 5, 514-516 (2002)
- Born J, Rasch B, Gais S: Sleep to remember. *Neuroscientist.* 12, 410-424 (2006)
- Born J, Späth-Schwalbe E, Schwakenhofer H, Kern W, Fehm HL: Influences of corticotropin-releasing hormone, adrenocorticotropin, and cortisol on sleep in normal man. *J.Clin.Endocrinol.Metab* 68, 904-911 (1989)
- Braida D, Sacerdote P, Panerai AE, Bianchi M, Aloisi AM, Iosue S, Sala M: Cognitive function in young and adult IL (interleukin)-6 deficient mice. *Behav.Brain Res.* 153, 423-429 (2004)
- 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)
- Buchanan TW, Lovallo WR: Enhanced memory for emotional material following stress-level cortisol treatment in humans. *Psychoneuroendocrinology* 26, 307-317 (2001)
- Buck C, Bundschu J, Gallati H, Bartmann P, Pohlandt F: Interleukin-6: a sensitive parameter for the early diagnosis of neonatal bacterial infection. *Pediatrics* 93, 54-58 (1994)
- Cahill L, Haier RJ, Fallon J, Alkire MT, Tang C, Keator D, Wu J, McGaugh JL: Amygdala activity at encoding correlated with long-term, free recall of emotional information. *Proc.Natl.Acad.Sci.U.S A* 93, 8016-8021 (1996)
- Cahill L, Haier RJ, White NS, Fallon J, Kilpatrick L, Lawrence C, Potkin SG, Alkire MT: Sex-related difference in amygdala activity during emotionally influenced memory storage. *Neurobiol.Learn.Mem.* 75, 1-9 (2001)
- Cahill L, McGaugh JL: Mechanisms of emotional arousal and lasting declarative memory. *Trends Neurosci.* 21, 294-299 (1998)
- Castell JV, Gómez-Lechón MJ, David M, Andus T, Geiger T, Trullenque R, Fabra R, Heinrich PC: Interleukin-6 is the major regulator of acute phase protein synthesis in adult human hepatocytes. *FEBS Lett* 232, 347-350 (1988)

-
- Chai Z, Gatti S, Toniatti C, Poli V, Bartfai T: Interleukin (IL)-6 gene expression in the central nervous system is necessary for fever response to lipopolysaccharide or IL-1 beta: a study on IL-6-deficient mice. *J.Exp.Med.* 183, 311-316 (1996)
- Charuruks N, Laohajinda B, Rujiwanitgun S, Chaiworaporn M: Reference value for C-reactive protein and its distribution pattern in thai adults. *Circ.J.* 69, 339-344 (2005)
- Christensen P, Guilford J: *Wordfluency, Form A.* CA: Sheridan Supply.Beverly Hills (1958)
- Clemens Z, Fabo D, Halasz P: Overnight verbal memory retention correlates with the number of sleep spindles. *Neuroscience* 132, 529-535 (2005)
- Curcio G, Casagrande M, Bertini M: Sleepiness: evaluating and quantifying methods. *Int.J.Psychophysiol.* 41, 251-263 (2001)
- D'Arcangelo G, Tancredi V, Onofri F, D'Antuono M, Giovedi S, Benfenati F: Interleukin-6 inhibits neurotransmitter release and the spread of excitation in the rat cerebral cortex. *Eur.J.Neurosci.* 12, 1241-1252 (2000)
- De Gennaro L, Ferrara M: Sleep spindles: an overview. *Sleep Med.Rev.* 7, 423-440 (2003)
- de Quervain DJ, Aerni A, Schelling G, Roozendaal B: Glucocorticoids and the regulation of memory in health and disease. *Front Neuroendocrinol.* 30, 358-370 (2009)
- de Quervain DJ, Roozendaal B, Nitsch RM, McGaugh JL, Hock C: Acute cortisone administration impairs retrieval of long-term declarative memory in humans. *Nat.Neurosci.* 3, 313-314 (2000)
- Diekelmann S, Wilhelm I, Born J: The whats and whens of sleep-dependent memory consolidation. *Sleep Med.Rev.* 13, 309-321 (2009)
- Dinarello CA, Cannon JG, Mancilla J, Bishai I, Lees J, Coceani F: Interleukin-6 as an endogenous pyrogen: induction of prostaglandin E2 in brain but not in peripheral blood mononuclear cells. *Brain Res.* 562, 199-206 (1991)
- Dinarello CA: Infection, fever, and exogenous and endogenous pyrogens: some concepts have changed. *J.Endotoxin Res.* 10, 201-222 (2004)
- 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, 2174-2176 (2006)

Djupesland PG: Nasal drug delivery devices: characteristics and performance in a clinical perspective—a review. *Drug Deliv Transl Res.* 3, 42-62 (2013)

Doellner H, Arntzer KJ, Haereid PE, Aag S, Austgulen R: Interleukin-6 concentrations in neonates evaluated for sepsis. *J.Pediatr.* 132, 295-299 (1998)

Erickson R: Oral temperature differences in relation to thermometer and technique. *Nurs.Res.* 29, 157-164 (1980)

Eschenko O, Molle M, Born J, Sara SJ: Elevated sleep spindle density after learning or after retrieval in rats. *J.Neurosci.* 26, 12914-12920 (2006)

Fischer S, Hallschmid M, Elsner AL, Born J: Sleep forms memory for finger skills. *Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A* 99, 11987-11991 (2002)

Fogel SM, Smith CT: Learning-dependent changes in sleep spindles and Stage 2 sleep. *J.Sleep Res.* 15, 250-255 (2006)

Fukuda M, Morimoto T, Suzuki Y, Shinonaga C, Ishida Y: Interleukin-6 attenuates hyperthermia-induced seizures in developing rats. *Brain Dev.* 29, 644-648 (2007)

Gadient RA, Otten U: Identification of interleukin-6 (IL-6)-expressing neurons in the cerebellum and hippocampus of normal adult rats. *Neurosci Lett.* 182, 243-246 (1994)

Gadient RA, Otten UH: Interleukin-6 (IL-6)—a molecule with both beneficial and destructive potentials. *Prog.Neurobiol.* 52, 379-390 (1997)

Gais S, Albouy G, Boly M, Dang-Vu TT, Darsaud A, Desseilles M, Rauchs G, Schabus M, Sterpenich V, Vandewalle G, Maquet P, Peigneux P: Sleep transforms the cerebral trace of declarative memories. *Proc.Natl.Acad.Sci.U.S A* 104, 18778-18783 (2007)

Gais S, Born J: Low acetylcholine during slow-wave sleep is critical for declarative memory consolidation. *Proc.Natl.Acad.Sci.U.S A* 101, 2140-2144 (2004)

Gais S, Hulleman P, Hallschmid M, Born J: Sleep-dependent surges in growth hormone do not contribute to sleep-dependent memory consolidation. *Psychoneuroendocrinology* 31, 786-791 (2006a)

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

Gais S, Molle M, Helms K, Born J: Learning-dependent increases in sleep spindle density. *J.Neurosci.* 22, 6830-6834 (2002)

Giuditta A, Ambrosini MV, Montagnese P, Mandile P, Cotugno M, Grassi Zucconi G, Vescia S: The sequential hypothesis of the function of sleep. *Behav.Brain.Res.* 69, 157-166 (1995)

Gruol DL, Nelson TE: Physiological and pathological roles of interleukin-6 in the central nervous system. *Molecular Neurobiology* 15, 307-339 (1997)

Haack M, Kraus T, Schuld A, Dalal M, Koethe D, Pollmacher T: Diurnal variations of interleukin-6 plasma levels are confounded by blood drawing procedures. *Psychoneuroendocrinology* 27, 921-931 (2002)

Hack CE, De Groot ER, Felt-Bersma RJ, Nuijens JH, Strack Van Schijndel RJ, Eerenberg-Belmer AJ, Thijs LG, Aarden LA: Increased plasma levels of interleukin-6 in sepsis. *Blood* 74, 1704-1710 (1989)

Hamamm S: Cognitive and neural mechanisms of emotional memory. *Trends Cogn Sci* 5, 394-400 (2001)

Hampel H, Haslinger A, Scheloske M, Padberg F, Fischer P, Unger J, Teipel SJ, Neumann M, Rosenberg C, Oshida R, Hulette C, Pongratz D, Ewers M, Kretschmar HA, Moller HJ: Pattern of interleukin-6 receptor complex immunoreactivity between cortical regions of rapid autopsy normal and Alzheimer's disease brain. *Eur.Arch.Psychiatry Clin.Neurosci.* 255, 269-278 (2005)

Hasselmo ME: Neuromodulation: acetylcholine and memory consolidation. *Trends Cogn Sci.* 3, 351-359 (1999)

Herrmann O, Tarabin V, Suzuki S, Attigah N, Coserea I, Schneider A, Vogel J, Prinz S, Schwab S, Monyer H, Brombacher F, Schwaninger M: Regulation of body temperature and neuroprotection by endogenous interleukin-6 in cerebral ischemia. *J.Cereb.Blood Flow Metab.* 23, 406-415 (2003)

Het S, Ramlow G, Wolf OT: A meta-analytic review of the effects of acute cortisol administration on human memory. *Psychoneuroendocrinology* 30, 771-784 (2005)

Hoekman JD, Ho R: Enhanced Analgesic Responses After Preferential Delivery of Morphine and Fentanyl to the Olfactory Epithelium in Rats. *Anesth Analg.* 113, 641-651 (2011)

-
- Hogan D, Morrow JD, Smith EM, Opp MR: Interleukin-6 alters sleep of rats. *J.Neuroimmunol.* 137, 59-66 (2003)
- Hong S, Mills PJ, Loreda JS, Adler KA, Dimsdale JE: The association between interleukin-6, sleep, and demographic characteristics. *Brain Behav Immun.* 19, 165-172 (2005)
- Howren MB, Lamkin DM, Suls J: Associations of depression with C-reactive protein, IL-1, and IL-6: a meta-analysis. *Psychosom.Med.* 71, 171-186 (2009)
- Hryniewicz A, Bialuk I, Kaminski KA, Winnicka MM: Impairment of recognition memory in interleukin-6 knock-out mice. *Eur.J.Pharmacol.* 577, 219-220 (2007)
- Hu P, Stylos-Allan M, Walker MP: Sleep facilitates consolidation of emotional declarative memory. *Psychol.Sci.* 17, 891-898 (2006)
- Iber C, Ancoli-Israel S, Chesson AL, Quan SF: The AASM manual for the scoring of sleep and associated events: Rules, terminology and technical specifications. Westchester, III: American Academy of Sleep Medicine (2007)
- Imeri L, Opp MR: How (and why) the immune system makes us sleep. *Nat.Rev.Neurosci.* 10, 199-210 (2009)
- Jacob NM: Über den Beitrag von Interleukin-6 auf die langsam oszillierende hirnelektrische Aktivität im Schlaf. *Med. Diss. Lübeck* (2012)
- Jasper HH: The ten twenty electrode system of the International Federation. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* 10, 370-375 (1958)
- Juttler E, Tarabin V, Schwaninger M: Interleukin-6 (IL-6): a possible neuromodulator induced by neuronal activity. *Neuroscientist.* 8, 268-275 (2002)
- Kalueff AV, Lehtimäki KA, Ylinen A, Honkaniemi J, Peltola J: Intranasal administration of human IL-6 increases the severity of chemically induced seizures in rats. *Neurosci.Lett.* 365, 106-110 (2004)
- Kapsimalis F, Richardson G, Opp MR, Kryger M: Cytokines and normal sleep. *Curr Opin Pulm Med* 11, 481-484 (2005)
- Karni A, Meyer G, Rey-Hipolito C, Jezard P, Adams MM, Turner R, Ungerleider LG: The acquisition of skilled motor performance: fast and slow experience-driven changes in primary motor cortex. *Proc.Natl.Acad.Sci.U.S A* 95, 861-868 (1998)

Kawasaki Y, Zhang L, Cheng JK, Ji RR: Cytokine mechanisms of central sensitization: distinct and overlapping role of interleukin-1beta, interleukin-6, and tumor necrosis factor-alpha in regulating synaptic and neuronal activity in the superficial spinal cord. *J.Neurosci.* 28, 5189-5194 (2008)

Kensinger EA, Corkin S: Memory enhancement for emotional words: Are emotional words more vividly remembered than neutral words? *Memory&Cognition* 31, 1169-1180 (2003)

Kim SM, Frank LM: Hippocampal lesions impair rapid learning of a continuous spatial alternation task. *PLoS One* 4, e5494 (2009)

Kishimoto T, Akira S, Narazaki M, Taga T: Interleukin-6 family of cytokines and gp130. *Blood* 86, 1243-1254 (1995)

Kishimoto T: Interleukin-6: discovery of a pleiotropic cytokine. *Arthritis Res.Ther.* 8, 2-7 (2006)

Knüpfner H, Preiss R: sIL-6R: more than an agonist? *Immunol Cell Biol.* 86, 87-91 (2008)

Kroes M, Strange B, Dolan R: β -Adrenergic Blockade during Memory Retrieval in Humans Evokes a Sustained Reduction of Declarative Emotional Memory Enhancement. *J Neurosci* 30, 3959-3963 (2010)

Krueger JM: The role of cytokines in sleep regulation. *Curr Pharm Des* 14, 3408-3416 (2008)

Krueger JM, Majde JA: Sleep as a host defense: its regulation by microbial products and cytokines. *Clin.Immunol.Immunopathol.* 57, 188-199 (1990)

Krueger JM, Majde JA: Humoral links between sleep and the immune system: research issues. *Ann.N.Y.Acad.Sci.* 992, 9-20 (2003)

Krueger JM, Obal FJ, Fang J, Kubota T, Taishi P: The role of cytokines in physiological sleep regulation. *Ann.N.Y.Acad.Sci.* 933, 211-221 (2001)

Lange T, Perras B, Fehm HL, Born J: Sleep enhances the human antibody response to hepatitis A vaccination. *Psychosom.Med.* 65, 831-835 (2003)

LeMay LG, Vander AJ, Kluger MJ: Role of interleukin 6 in fever in rats. *Am J Physiol.* 258, 798-803 (1990)

Li AJ, Katafuchi T, Oda S, Hori T, Oomura Y: Interleukin-6 inhibits long-term potentiation in rat hippocampal slices. *Brain Res.* 748, 30-38 (1997)

Mackowiak PA: Concepts of fever. *Arch Intern Med.* 158, 1870-1880 (1998)

Maheu FS, Joobar R, Beaulieu S, Lupien SJ: Differential effects of adrenergic and corticosteroid hormonal systems on human short- and long-term declarative memory for emotionally arousing material. *Behav. Neurosci.* 118, 420-428 (2004)

Maquet P: The role of sleep in learning and memory. *Science* 294, 1048-1052 (2001)

Maquet P, Laureys S, Peigneux P, Fuchs S, Petiau C, Phillips C, Aerts J, Del Fiore G, Degueldre C, Meulemans T, Luxen A, Franck G, Van der LM, Smith C, Cleeremans A: Experience-dependent changes in cerebral activation during human REM sleep. *Nat. Neurosci.* 3, 831-836 (2000)

Marshall L, Helgadottir H, Molle M, Born J: Boosting slow oscillations during sleep potentiates memory. *Nature* 444, 610-613 (2006)

Marshall L, Molle M, Boschen G, Steiger A, Fehm HL, Born J: Greater efficacy of episodic than continuous growth hormone-releasing hormone (GHRH) administration in promoting slow-wave sleep (SWS). *J. Clin. Endocrinol. Metab* 81, 1009-1013 (1996)

Marsland AL, Petersen KL, Sathanoori R, Muldoon MF, Neumann SA, Ryan C, Flory JD, Manuck SB: Interleukin-6 covaries inversely with cognitive performance among middle-aged community volunteers. *Psychosom. Med.* 68, 895-903 (2006)

May LT, Santhanam U, Tatter SB, Ghrayeb J, Sehgal PB: Multiple forms of human Interleukin-6. Phosphoglycoproteins secreted by many different tissues. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 557, 114-119 (1989)

May U, Schiffelholz T, Baier PC, Krueger JM, Rose-John S, Scheller J: IL-6-trans-signalling increases rapid-eye-movement sleep in rats. *Eur. J. Pharmacol.* 613, 141-145 (2009)

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

McGaugh JL: The amygdala modulates the consolidation of memories of emotionally arousing experiences. *Annu. Rev. Neurosci.* 27, 1-28 (2004)

-
- McGaugh JL, Cahill L, Roozendaal B: Involvement of the amygdala in memory storage: interaction with other brain systems. *Proc.Natl.Acad.Sci.U.S A* 93, 13508-13514 (1996)
- Meier-Ewert HK, Ridker PM, Rifai N, Price N, Dinges DF, Mullington JM: Absence of diurnal variation of C-reactive protein concentrations in healthy human subjects. *Clin.Chem.* 47, 426-430 (2001)
- Messer J, Eyer D, Donato L, Gallati H, Mattis J, Simeoni U: Evaluation of interleukin-6 and soluble receptors of tumor necrosis factor for early diagnosis of neonatal infection. *J.Pediatr.* 129, 574-580 (1996)
- Mohamed-Ali V, Goodrick S, Rawesh A, Katz DR, Miles JM, Yudkin JS, Klein S, Coppack SW: Subcutaneous adipose tissue releases interleukin-6, but not tumor necrosis factor- α , in vivo. *J.Clin.Endocrinol.Metab.* 82, 4196-4200 (1997)
- Molle M, Marshall L, Gais S, Born J: Learning increases human electroencephalographic coherence during subsequent slow sleep oscillations. *Proc.Natl.Acad.Sci.U.S A* 101, 13963-13968 (2004)
- Mullington J, Korth C, Hermann DM, Orth A, Galanos C, Holsboer F, Pollmacher T: Dose-dependent effects of endotoxin on human sleep. *Am.J.Physiol Regul.Integr.Comp Physiol* 278, R947-R955 (2000)
- Navarra P, Tsagarakis F, Faria MS, Rees LH, Besser GM, Grossmann AB: Interleukins-1 and -6 stimulate the release of corticotropin-releasing-hormone-41 from rat hypothalamus in vitro via the eicosanoid cyclooxygenase pathway. *Endocrinology* 128, 37-44 (1991)
- Nishida M, Pearsall J, Buckner RL, Walker MP: REM sleep, prefrontal theta, and the consolidation of human emotional memory. *Cereb.Cortex* 19, 1158-1166 (2009)
- O'Carroll RE, Drysdale E, Cahill L, Shajahan P, Ebmeier KP: Stimulaiton of the noradrenergic system enhances and blockade reduces memory for emotional material in man. *Psychol Med.* 29, 1083-1088 (1999a)
- O'Carroll RE, Drysdale E, Cahill L, Shajahan P, Ebmeier KP: Memory for emotional material: a comparison of central versus peripheral beta blockade. *Psychopharmacology* 13, 32-39 (1999b)
- Opp MR: Sleeping to fuel the immune system: mammalian sleep and resistance to parasites. *BMC Evol.Biol.* 9, 8- (2009)

-
- Orban P, Rauchs G, Balteau E, Degueldre C, Luxen A, Maquet P, Peigneux P: Sleep after spatial learning promotes covert reorganization of brain activity. *Proc.Natl.Acad.Sci.U.S A* 103, 7124-7129 (2006)
- Pace-Schott EF, Hobson JA: The neurobiology of sleep: Genetics, cellular physiology and subcortical networks. *Nat.Rev.Neurosci.* 3, 591-605 (2002)
- Papanicolaou DA, Wilder RL, Manolagas SC, Chrousos GP: The pathophysiologic roles of interleukin-6 in human disease. *Ann.Intern.Med.* 128, 127-137 (1998)
- Papanicolaou DA, Vgontzas AN: Interleukin-6: the endocrine cytokine. *J.Clin.Endocrinol.Metab.* 85, 1331-1333 (2000)
- Papps BP, Shajahn PM, Ebmeier KP, O'Carroll RE: The effect of noradrenergic re-uptake inhibition on memory encoding in man. *Psychopharmacology* 159, 311-318 (2002)
- Pare D, Collins DR, Pelletier JG: Amygdala oscillations and the consolidation of emotional memories. *Trends Cogn Sci.* 6, 306-314 (2002)
- Payne JD, Britton WB, Bootzin RR, Nadel L: Commentary/Walker: A refined model of sleep and the time course of memory formation. *Beyond acetylcholine: Next steps for sleep and memory research.* *Behav.Brain Sci.* 28, 77-77 (2005)
- Payne JD, Nadel L: Sleep, dreams, and memory consolidation: the role of the stress hormone cortisol. *Learn.Mem.* 11, 671-678 (2004)
- Payne JD, Kensinger EA: Sleep leads to changes in the emotional memory trace: Evidence from fMRI. *J.Cog.Neurosci.* 23, 1285-1297 (2011)
- Peigneux P, Laureys S, Fuchs S, Collette F, Perrin F, Reggers J, Phillips C, Degueldre C, Del Fiore G, Aerts J, Luxen A, Maquet P: Are spatial memories strengthened in the human hippocampus during slow wave sleep? *Neuron* 44, 535-545 (2004)
- Plihal W, Born J: Effects of early and late nocturnal sleep on declarative and procedural memory. *J.Cogn.Neurosci.* 9, 534-547 (1997)
- Plihal W, Born J: Memory consolidation in human sleep depends on inhibition of glucocorticoid release. *Neuroreport* 10, 2741-2747 (1999)
- Rasch B, Gais S, Born J: Impaired Off-Line Consolidation of Motor Memories After Combined Blockade of Cholinergic Receptors During REM Sleep-Rich Sleep. *Neuropsychopharmacology* 34, 1843-1853 (2009)

Rasch B, Spalek K, Buholzer S, Luechinger R, Boesiger P, Papassotiropoulos A, de Quervain DJ: A genetic variation of the noradrenergic system is related to differential amygdala activation during encoding of emotional memories. *PNAS* 106, 19191-19196 (2009)

Rasch BH, Born J, Gais S: Combined blockade of cholinergic receptors shifts the brain from stimulus encoding to memory consolidation. *J.Cogn Neurosci.* 18, 793-802 (2006)

Rauchs G, Desgranges B, Foret J, Eustache F: The relationships between memory systems and sleep stages. *J.Sleep Res.* 14, 123-140 (2005)

Rechtschaffen A, Kales A: A Manual of Standardized Terminology, Techniques and Scoring System for Sleep of Human Subjects. United States Government Printing Office, Washington, DC (1968)

Redwine L, Hauger RL, Gillin C, Irwin M: Effects of Sleep and Sleep Deprivation on Interleukin-6, Growth Hormone, Cortisol and Melatonin Levels in Humans. *J Clin Endocrinol Metab* 85, 3597-3603. (2000)

Rimmele U, Besedovsky L, Lange T, Born J: Blocking mineralocorticoid receptors impairs, blocking glucocorticoid receptors enhances memory retrieval in humans. *Neuropsychopharmacology* 38, 884-894 (2012)

Ritchey M, Dolcos F, Cabeza R: Role of amygdala connectivity in the persistence of emotional memories over time: an event-related fMRI investigation. *Cereb Cortex* 18, 2494-2504 (2008)

Rodenbeck A, Binder R, Geisler P, Danker-Hopfe H, Lund R, Raschke F, Weeß HG, Schulz H: A Review of Sleep EEG Patterns. Part I: A Compilation of Amended Rules for Their Visual Recognition according to Rechtschaffen and Kales. *Somnologie* 10, 159-175 (2006)

Rooyendaal B: 1999 Curt P. Richter award. Glucocorticoids and the regulation of memory consolidation. *Psychoneuroendocrinology* 25, 213-238 (2000)

Rooyendaal B, Barsegyan A, Lee S: Adrenal stress hormones, amygdala activation, and memory for emotionally arousing experiences. *Prog.Brain Res.* 167, 79-97 (2008)

Rosendal L, Sogaard K, Kjaer M, Sjogaard G, Langberg H, Kristiansen J: Increase in interstitial interleukin-6 of human skeletal muscle with repetitive low-force exercise. *J.Appl.Physiol* 98, 477-481 (2005)

Salas MA, Evans SW, Levell MJ, Whicher JT: Interleukin-6 and ACTH act synergistically to stimulate the release of corticosterone from adrenal gland cells. *Clin exp Immunol* 79, 470-473 (1990)

Scheller J, Rose-John S: Interleukin-6 and its receptor: from bench to bedside. *Med.Microbiol.Immunol.* 195, 173-183 (2006)

Schöbitz B, De Kloet ER, Holsboer F: Gene expression and function of interleukin 1, interleukin 6 and tumor necrosis factor in the brain. *Prog Neurobiol* 44, 397-432 (1994)

Schöbitz B, Pezeshki G, Pohl T, Hemmann U, Heinrich PC, Holsboer F, Reul JM: Soluble interleukin-6 (IL-6) receptor augments central effects of IL-6 in vivo. *Faseb J.* 9, 659-664 (1995)

Schuld A, Haack M, Hinze-Selch D, Mullington J, Pollmacher T: [Experimental studies on the interaction between sleep and the immune system in humans]. *Psychother Psychosom Med Psychol* 55, 29-35 (2005)

Schürer-Necker E: Gedächtnis und Emotion: Zum Einfluss von Emotion auf das Behalten von Texten. Weinheim: Beltz, Psychologie Verlags Union (1994)

Schwabe L, Romer S, Richter S, Dockendorf S, Bilak B, Schachinger H: Stress effects on declarative memory retrieval are blocked by a beta-adrenoceptor antagonist in humans. *Psychoneuroendocrinology* 34, 446-454 (2009)

Shadmehr R, Holcomb HH: Neural correlates of motor memory consolidation. *Science* 277, 821-825 (1997)

Shapira-Lichter I, Beilin B, Ofek K, Bessler H, Gruberger M, Shavit Y, Seror D, Grinevich G, Posner E, Reichenberg A, Soreq H, Yirmiya R: Cytokines and cholinergic signals co-modulate surgical stress-induced changes in mood and memory. *Brain Behav.Immun.* 22, 388-398 (2008)

Shearer WT, Reuben JM, Mullington JM, Price NJ, Lee BN, Smith BO, Szuba MP, Van Dongen HP, Dinges DF: Soluble TNF-alpha receptor 1 and IL-6 plasma levels in humans subjected to the sleep deprivation model of space flight. *J.Allergy Clin.Immunol.* 107, 165-170 (2001)

Sleep syllabus: <http://www.sleephomepages.org/sleepsyllabus/a.html> (Tag des Zugriffs 25.04.2011)

Sommer T, Rose M, Glascher J, Wolbers T, Buchel C: Dissociable contributions within the medial temporal lobe to encoding of object-location associations. *Learn.Mem.* 12, 343-351 (2005)

Sothorn RB, Roitman-Johnson B, Kanabrocki EL, Yager JG, Fuerstenberg RK, Weatherbee JA, Young MR, Nemchausky BM, Scheving LE: Circadian characteristics of circulating interleukin-6 in men. *J Allergy Clin Immunol.* 95, 1029-1035 (1995)

Sparkman NL, Buchanan JB, Heyen JR, Chen J, Beverly JL, Johnson RW: Interleukin-6 facilitates lipopolysaccharide-induced disruption in working memory and expression of other proinflammatory cytokines in hippocampal neuronal cell layers. *J.Neurosci.* 26, 10709-10716 (2006)

Späth-Schwalbe E, Hansen K, Schmidt F, Schrezenmeier H, Marshall L, Burger K, Fehm HL, Born J: Acute effects of recombinant human interleukin-6 on endocrine and central nervous sleep functions in healthy men. *J.Clin.Endocrinol.Metab* 83, 1573-1579 (1998)

Spooren A, Krzysztof K, Laureys G, Clinckers R, De Keyser J Haegeman G, Gerlo S: Interleukin-6, a mental cytokine. *Brain Res Rev [Epub ahead of print]* 2011

Squire LR, Zola SM: Structure and function of declarative and non-declarative memory systems. *Proc.Natl.Acad.Sci. U.S.A.* 93, 13515-13522 (1996)

Squire LR, Stark CE, Clark RE: The medial temporal lobe. *Annu.Rev.Neurosci.* 27, 279-306 (2004)

Steriade M, Nunez A, Amzica F: A novel slow (< 1 Hz) oscillation of neocortical neurons in vivo: depolarizing and hyperpolarizing components. *J.Neurosci.* 13, 3252-3265 (1993)

Steriade M, Timofeev I: Neuronal plasticity in thalamocortical networks during sleep and waking oscillations. *Neuron* 37, 563-576 (2003)

Sterpenich V, Albouy G, Boly M, Vandewalle G, Darsaud A, Balteau E, Dang-Vu TT, Deseilles M, D'Argembeau A, Gais S, Rauchs G, Schabus M, Degueldre C, Luxen A, Collette F, Maquet P: Sleep-related hippocampo-cortical interplay during emotional memory recollection. *PLoS Biol.* 5, e282- (2007)

Sterpenich V, Albouy G, Darsaud A, Schmidt C, Vandewalle G, Dang Vu TT, Deseille M, Phillips C, Degueldre E, Balteau E, Collette F, Luxen A, Maquet P: Sleep promotes the neural reorganization of remote emotional memory. *J.Neurosci.* 29, 5143-5152 (2009)

Stickgold R: Sleep-dependent memory consolidation. *Nature* 437, 1272-1278 (2005)

-
- Taheri S, Austin D, Lin L, Nieto FJ, Young T, Mignot E: Correlates of serum C-reactive protein (CRP)--no association with sleep duration or sleep disordered breathing. *Sleep* 30, 991-996 (2007)
- Tancredi V, D'Antuono M, Cafe C, Giovedi S, Bue MC, D'Arcangelo G, Onofri F, Benfenati F: The inhibitory effects of interleukin-6 on synaptic plasticity in the rat hippocampus are associated with an inhibition of mitogen-activated protein kinase ERK. *J.Neurochem.* 75, 634-643 (2000)
- Tully K, Bolshakov VY: Emotional enhancement of memory: how norepinephrine enables synaptic plasticity. *Mol Brain* 3, 15 (2010)
- Van Snick J: Interleukin-6: an overview. *Annu.Rev.Immunol.* 8, 253-278 (1990)
- Van Stegeren AH, Everaerd W, Cahill L, McGaugh JL, Gooren LJ: Memory for emotional events: differential effects of centrally versus peripherally acting beta-blocking agents. *Psychopharmacology* 138, 305-310 (1998)
- Van Stegeren AH, Everaerd W, Gooren LJ: The effect of beta-adrenergic blockade after encoding on memory of an emotional event. *Psychopharmacology* 163, 202-212 (2002)
- Vgontzas AN, Bixler EO, Lin HM, Prolo P, Trakada G, Chrousos GP: IL-6 and its circadian secretion in humans. *Neuroimmunomodulation* 12, 131-140 (2005)
- Vollmer-Conna U, Fazou C, Cameron B, Li H, Brennan C, Luck L, Davenport T, Wakefield D, Hickie I, Lloyd A: Production of pro-inflammatory cytokines correlates with the symptoms of acute sickness behaviour in humans. *Psychol Med* 34, 1289-1297 (2004)
- Wagner U, Degirmenci M, Drosopoulos S, Perras B, Born J: Effects of cortisol suppression on sleep-associated consolidation of neutral and emotional memory. *Biol.Psychiatry* 58, 885-893 (2005)
- Wagner U, Gais S, Born J: Emotional memory formation is enhanced across sleep intervals with high amounts of rapid eye movement sleep. *Learn.Mem.* 8, 112-119 (2001)
- Walker MP: A refined model of sleep and the time course of memory formation. *Behav Brain Sci* 28, 51-64 (2005)
- Walker MP: The role of slow wave sleep in memory processing. *J Clin Sleep Med* 5, S20-26 (2009)

Walker MP, Brakefield T, Morgan A, Hobson JA, Stickgold R: Practice with sleep makes perfect: sleep-dependent motor skill learning. *Neuron* 35, 205-211 (2002)

Walker MP, Brakefield T, Seidman J, Morgan A, Hobson JA, Stickgold R: Sleep and the time course of motor skill learning. *Learn.Mem.* 10, 275-284 (2003)

Weaver JD, Huang MH, Albert M, Harris T, Rowe JW, Seeman TE: Interleukin-6 and risk of cognitive decline: MacArthur studies of successful aging. *Neurology* 59, 371-378 (2002)

Weschenfelder J, Sander C, Kluge M, Kirkby KC, Himmerich H: The influence of cytokines on wakefulness regulation: clinical relevance, mechanisms and methodological problems. *Psychiatria Danubina* 24, 112-126 (2012)

Westin UE, Boström E, Gråsjö J, Hammarlund-Udenaes M, Björk E: Direct nose-to-brain transfer of morphine after nasal administration to rats. *Pharm Res.* 23, 565-572 (2006)

Wilhelm I, Diekelmann S, Molzow I, Ayoub A, Mölle M, Born J: Sleep selectively enhances memory expected to be of future relevance. *J Neurosci.* 31, 1563-1569 (2011)

Anhang

Genehmigung der Studie durch die Ethikkommission Lübeck



Universität zu Lübeck

Medizinische Fakultät - Der Vorsitzende der Ethikkommission

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

Herrn
Dipl. oec. troph. Benedict
Institut für Neuroendokrinologie

im Hause

nachrichtlich:
Herrn Prof. Dr. Born
Direktor des Institutes für Neuroendokrinologie

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

Datum: 16.02.06
Aktenzeichen:
(immer angeben !) 06-008

Sitzung der Ethik-Kommission am 08. Februar 2006

Antragsteller: Herr Benedict / Herr Prof. Born

Titel: Modulation der schlafabhängigen Gedächtnisverarbeitung durch intranasal verabreichtes Interleukin-6

Sehr geehrter Herr Benedict,

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

Die Kommission hat nach der Berücksichtigung folgender **Hinweise** keine Bedenken: Die Nennung der Aufwandsentschädigung im Antrag unter Punkt 3.7 von 80,00 € und im Aushang von 100,00 € ist anzupassen. Aus welchem Grunde werden Frauen ausgeschlossen? Die Kommission empfiehlt den Abschluß einer Wegeversicherung. In der Aufklärung sind die Zweckbindung, die Vernichtung, die Aufbewahrung und der Datenschutz des Biomaterials zu nennen. Die aktuelle Versicherungsformel muß in die Aufklärung eingebracht werden und zwar wie folgt: "Im Falle einer Schädigung haftet das Universitätsklinikum Schleswig-Holstein nach den allgemeinen gesetzlichen Haftungsgrundsätzen".

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

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

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

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

Ihr

Prof. Dr. med. Lucas Wessel
Stellv. Vorsitzender

anwesende Kommissionsmitglieder:

Prof. Dr. Dr. H.-H. Raspe
(Sozialmedizin, Vorsitzender der EK)
Prof. Dr. F. Hohagen
(Psychiatrie)
Prof. Dr. Dominiak
(Pharmakologie)

Frau H. Müller
(Pflege)
Prof. Wessel
(Kinderchirurgie, Stellv. Vorsitzender der EK)
Herr Dr. Fieber
(Richter am Landgericht Lübeck)
Prof. Schwinger
(Humangenetik)

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

Abbildungen

Abbildung 1: Schlafstadien und ihre Charakteristika nach Rechtschaffen und Kales	7
Abbildung 2: Typisches Schlafprofil eines Probanden im Verlauf der Nacht	8
Abbildung 3: Typen des Langzeitgedächtnisses	11
Abbildung 4: Ablauf des Versuches	24
Abbildung 5: Ablauf einer Versuchsnacht auf einem Zeitstrahl	25
Abbildung 6: Ergebnisse des freien Textabrufs am Morgen	32
Abbildung 7: Verlauf der Schläfrigkeit auf der Stanford-Sleepiness-Scale	37
Abbildung 8: Verlauf der Körpertemperatur	38
Abbildung 9: Verlauf der Plasma IL-6 Konzentration	39
Abbildung 10: CRP Konzentration	40

Tabellen

Tabelle 1: Gedächtniseinteilung der im Versuch verwendeten Aufgaben	15
Tabelle 2: Ergebnisse der Text Wiedererkennungsaufgabe am Morgen	32
Tabelle 3: Ergebnisse der Textaufgabe Reihenfolge am Morgen	33
Tabelle 4: Subjektive Textbewertungen der emotionalen & neutralen Texte im Vergleich	34
Tabelle 5: Ergebnisse des Memoryspiels	34
Tabelle 6: Ergebnisse der Fingersequenzaufgabe	35
Tabelle 7: Polysomnographische Daten	36

Danksagung

Allen Beteiligten danke ich.

Herrn Prof. Dr. Jan Born für die Möglichkeit der Promotion an seinem Institut.

Frau Prof. Dr. Lisa Marshall für die Überlassung des Themas, die Anleitung und Hilfe von Anfang bis Ende.

Herrn Dr. Christian Benedict für die Betreuung.

Dem gesamten Institut für Neuroendokrinologie für die Unterstützung.

Allen Probanden für Ihre Teilnahme.

Meiner Mitdotorandin Nora Jacob für die freundschaftliche und schöne Zusammenarbeit.

Meiner Familie für alles.

Lebenslauf

Angaben zur Person

Name: Victoria Ulrich

Geburtsdatum und -ort: 6. Mai 1983, Berlin



Ausbildung

09/93 – 06/02 Gutenbergschule Wiesbaden

7. Juni 2002 Abitur

10/02 - 03/09 Studium der Humanmedizin an der Universität zu Lübeck

25. August 2004 Physikum

09/06 – 06/07 Erasmus an der Universidad de Murcia, Spanien

2. Dezember 2008 Staatsexamen

Promotion

Thema: „Effekte der intranasalen Interleukin 6 Applikation auf die schlafassoziierte Gedächtniskonsolidierung beim Menschen“

Institut: Neuroendokrinologie, Universität zu Lübeck, Prof. Dr. Jan Born

Doktormutter: Prof. Dr. Lisa Marshall

Betreuung: Dr. Christian Benedict

Experimente: 04/07 - 08/07, Nachversuche 12/08 - 01/09

Praktika, Erfahrungen

20.8.-14.10.07 PJ Chirurgie, Ospedale Regionale Bellinzona e Valli, Schweiz

15.10.-9.12.07 PJ Chirurgie, Hospital Universitario de los Andes, Mérida, Venezuela

10.12.07-30.3.08 PJ Pädiatrie, Hospital Universitario de los Andes, Mérida, Venezuela

31.3.-18.6.08 PJ Innere Medizin, Sana Klinik Eutin

1.7.09 – 31.12.10 Assistenzärztin Pädiatrie, Diakonissen-Stiftungs-Krankenhaus Speyer

1.1.11 – 30.6.11 Fremdjahr, Assistenzärztin Gynäkologie und Geburtshilfe, Diakonissen-Stiftungs-Krankenhaus Speyer

1.7.11 – 30.9.12 Assistenzärztin Pädiatrie / Neonatologie, Diakonissen-Stiftungs-Krankenhaus Speyer

Eidesstattliche Erklärung

Hiermit versichere ich, dass ich die vorliegende Dissertation ohne fremde Hilfe angefertigt habe und keine anderen als die in der Arbeit genannten personellen, technischen und sachlichen Hilfen oder Hilfsmittel benutzt habe.

Ein Zulassungsantrag habe ich weder vorher noch gleichzeitig andernorts gestellt oder die Dissertation vorgelegt.

Ich habe mich keinem anderen Promotionsverfahren unterzogen.