

Aus dem Institut für Neurobiologie
der Universität zu Lübeck
Direktion: Prof. Dr. rer. nat. Henrik Oster

**Effekte des Glukokortikoid-Inhibitors Metyrapon
auf den zirkadianen Rhythmus des Nachtschlafes
und der Kognition beim Menschen**

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

vorgelegt von
Marina Roschkow
aus Nowosibirsk

Lübeck 2021

1. Berichterstatter: Prof. Dr. rer. nat. Henrik Oster

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

Tag der mündlichen Prüfung: 8.11.2021

Zum Druck genehmigt. Lübeck, den 8.11.2021

-Promotionskommission der Sektion Medizin-

Inhaltsverzeichnis

Abkürzungsverzeichnis	1
1 Einleitung	5
1.1 Die zirkadiane Uhr.....	7
1.1.1 Zirkadiane Uhren und ihre Organisation.....	7
1.1.2 Glukokortikoide und zirkadiane Regulation ihrer Sekretion.....	10
1.1.2.1 Die HPA-Achse.....	11
1.1.2.2 Neuronale Regulation.....	12
1.1.2.3 Die GC-Rhythmik und ihre Rolle bei der Synchronisation endogener Uhren	13
1.2 Schlaf.....	16
1.2.1 Schlafarchitektur.....	16
1.2.2 Regulation der zirkadianen Schlaf-Wach-Rhythmik.....	18
1.2.3 Glukokortikoide und Schlaf.....	20
1.3 Kognition	20
1.3.1 Arten des Gedächtnisses.....	21
1.3.2 Glukokortikoide und Kognition.....	22
1.3.3 Zirkadiane Regulation der Kognition	24
1.4 Fragestellung.....	25
2 Material und Methoden	27
2.1 Versuchspersonen	27
2.2 Studiendesign.....	29
2.3 Versuchsablauf.....	30
2.4 Studienmedikament	32
2.5 Kortisol	32
2.6 Schlaf	33
2.6.1 Polysomnographie	33
2.6.2 Schlaftagebuch.....	35
2.6.3 Aktigraphie	35
2.7 Kognition	36

2.7.1	Wortliste	36
2.7.2	Regensburger Wortflüssigkeits-Test (RWT).....	37
2.7.3	Psychomotorischer Vigilanztest (PVT).....	37
2.7.4	N-Back Task.....	37
2.8	Befindlichkeit.....	38
2.8.1	Stanford-Schläfrigkeits-Skala (SSS)	38
2.8.2	Visuelle Analogskala (VAS)	39
2.8.3	Mehrdimensionaler Befindlichkeitsfragebogen (MDBF)	39
2.9	Standardisiertes Essen.....	39
2.10	Bioelektrischen Impedanz-Analyse (BIA).....	40
2.11	Datenaufbereitung und Statistik	41
3	Ergebnisse	43
3.1	Kortisol	43
3.2	Schlaf	44
3.2.1	Zirkadianer Schlaf-Wach-Rhythmus	44
3.2.2	Aktivitäts-Ruhe-Rhythmik	47
3.2.3	Subjektive Schlafqualität und Chronotypen	48
3.3	Subjektive Tagesmüdigkeit.....	48
3.4	Kognition	50
3.4.1	Merkfähigkeit und Arbeitsgedächtnis	50
3.4.2	Divergentes Denken	53
3.4.3	Vigilanz	53
3.5	Vitalparameter	54
3.6	Zirkadiane Parameter	56
3.7	Korrelation aller Parameter.....	57
3.8	Ernährungszustand.....	60
4	Diskussion.....	62
4.1	Zusammenfassung der Ergebnisse.....	62
4.2	Effekte von Metyrapon auf den Nachtschlaf und die Aktivität-Ruhe-Rhythmik. 63	
4.2.1	Schlafarchitektur und zirkadiane Schlaf-Wach-Rhythmik.....	63
4.2.2	Schlafqualität und Müdigkeit	65
4.3	Einfluss von Metyrapon auf kognitive Funktionen und deren Periodik.....	66

4.3.1	Arbeitsgedächtnis im Tagesverlauf und Rolle des Chronotypen	66
4.3.2	Zusammenhang zwischen dem deklarativen Gedächtnis, Glukokortikoiden und Schlaf	70
4.4	Vitalparameter	74
4.5	Limitationen.....	75
4.6	Ausblick.....	78
5	Zusammenfassung	80
6	Literaturverzeichnis	82
7	Danksagung.....	101
8	Lebenslauf	Fehler! Textmarke nicht definiert.

Abkürzungsverzeichnis

Abb.	Abbildung
ACTH	<i>adrenocorticotropic hormone</i>
AMP	Amplitude
ANOVA	<i>analysis of variance</i>
ANS	autonomes Nervensystem
AVP	Arginin-Vasopressin
BCM	<i>body cellular mass</i>
BIA	bioelektrische Impedanz-Analyse
BL	<i>Baseline</i>
BMAL1	<i>brain and muscle aryl hydrocarbon receptor nuclear translocator-like1</i>
BMI	<i>body mass index</i>
cAMP	zyklisches Adenosinmonophosphat
CLOCK	<i>circadian locomotor cycles kaput</i>
CMT	<i>continuous matching task</i>
CREB	<i>cAMP responsive element binding protein</i>
CRH	<i>corticotropin-releasing hormone</i>
CRP	C-reaktives Protein
CRSD	<i>Circadian Rhythm Sleep Disorders</i>
Cry1/2	<i>Cryptochrome-Gene 1/2</i>
Dbp	<i>D-site albumin promoter binding protein</i>
DMH	dorsomedialer Kern des Hypothalamus
ECM	<i>extra cellular mass</i>
ECW	<i>extra cellular water</i>

EEG	Elektroenzephalographie
EMG	Elektromyographie
EOG	Elektrookulographie
ERK	<i>extracellular regulated protein kinase</i>
GABA	γ -Aminobuttersäure
GBS	Glukokortikoid-Rezeptor Bindungssequenz
GC	Glukokortikoid
GFR	Glomeruläre Filtrationsrate
glu	Glutamat
GOT	Glutamat-Oxalacetat-Transaminase
GPT	Glutamat-Pyruvat-Transaminase
GR	Glukokortikoid-Rezeptor
GRE	<i>glucocorticoid response element</i>
GSK3 β	<i>glycogen synthase kinase 3 beta</i>
HPA-Achse	Hypothalamus-Hypophysen-Nebennieren-Achse
HT	Hypothalamus
Hz	Hertz
ICW	<i>intra cellular water</i>
IS	<i>Inter-daily stability</i>
IV	<i>Intra-daily variability</i>
K ⁺	Kalium
Kap.	Kapitel
LHA	<i>lateral hypothalamic area</i>
MAPK	<i>mitogen activated protein kinase</i>
MC2R	<i>melanocortin 2 receptor</i>

MCH	<i>melanin-concentrating hormone</i>
MDBF	Mehrdimensionaler Befindlichkeitsfragebogen
MR	Mineralokortikoid-Rezeptor
MSF	<i>mid-sleep phase</i>
MT	<i>movement time</i>
MW	Mittelwert
NMDA	N-Methyl-D-Asparaginsäure
NNR	Nebennierenrinde
Non-REM-Schlaf	<i>non-rapid eye movement</i> -Schlaf
NREM	<i>non-rapid eye movement</i> -Schlaf
Nr1d1	<i>nuclear receptor subfamily 1, group D, member 1</i>
n.v.	nicht verfügbar
Per1-3	<i>Period</i> -Gene 1-3
PV	Phasenverschiebung
PVK	peripherer Venenverweilkatheter
PVN	paraventriculärer Nucleus
PVT	Psychomotorischer Vigilanztest
R	<i>resistance</i>
RA	relative Amplitude
REM-Schlaf	<i>rapid eye movement</i> -Schlaf
RHT	<i>Tractus retinohypothalamicus</i>
RR	arterieller Blutdruck nach Riva-Rocci
RWT	Regensburger Wortflüssigkeits-Test
S1-4	Schlafstadium 1-4
SCN	<i>Nucleus suprachiasmaticus</i>

sin	Sinusfunktion
SEM	<i>standard error of the mean</i>
SPZ	subparaventriculäre Zone
SSS	Stanford-Schläfrigkeits-Skala
StAR	<i>steroidogenic acute regulatory protein</i>
SWS	<i>slow wave sleep</i>
TBM	<i>total body water</i>
TRH	<i>thyrotropin-releasing hormone</i>
TSH	Thyreoidea-stimulierendes Hormon
TTFL	<i>transcription-translation feedback loop</i>
VAS	Visuelle Analogskala
VLPO	ventrolateraler präoptischer Nukleus
VNS	vegetatives Nervensystem
Xc	<i>reentrance</i>
γ-GT	Gamma-Glutamyl-Transferase
ZNS	zentrales Nervensystem

1 Einleitung

„Paradox: wenn ein Taktgeber aus dem Rhythmus kommt.“

Friedrich Löchner (1915 – 2013)

Fernreisen über mehrere Zeitzonen, Schichtarbeit oder ein 24-Stunden-Tag bestimmen zunehmend unseren Alltag und lassen physiologische Rhythmen unseres Körpers allmählich aus dem Takt geraten. Doch ist das nicht paradox, wenn ein Taktgeber, der unseren biologischen Rhythmus vorgibt, plötzlich selbst aus dem Takt gerät? Welche Auswirkungen hat eine Desynchronisation endogener Rhythmen auf unser Verhalten und die physiologischen Vorgänge, und sind wir in der Lage dieser entgegenzuwirken? Den scheinbaren Widerspruch veranschaulicht der deutsche Pädagoge und Dichter Friedrich Löchner in dem o.g. Zitat.

Durch die Rotation der Erde um die eigene Achse kommt es auf unserem Planeten zu einem regelmäßigen Wechsel von Licht und Dunkelheit, der das Verhalten und die Physiologie lebender Organismen erheblich beeinflusst. So entwickelten fast alle Lebewesen innere Uhren, um sich an die ständig, aber vorhersehbar wechselnden Umweltbedingungen anzupassen (Harmer *et al.*, 2001). Diese sog. zirkadianen Uhren sind wichtige Taktgeber für die zahlreichen physiologischen Prozesse. Der wohl bekannteste und bedeutendste zirkadiane Rhythmus beim Menschen ist der Schlaf-Wach-Rhythmus (Dijk und von Schantz, 2005). Kommt es beispielsweise zu einer Verschiebung des Schlaf-Wach-Rhythmus durch Fernflüge, kann dies für die Reisenden nicht nur kurz-, sondern auch langfristige gesundheitliche Folgen haben. Akut leiden die Personen unter anderem an Tagesmüdigkeit, Schlafstörungen, Beeinträchtigung der kognitiven (Cho *et al.*, 2000; Gaggioni *et al.*, 2014) und psychomotorischen Leistung, Appetitverlust, depressiver Verstimmung oder gastrointestinalen Beschwerden (Waterhouse *et al.*, 2007). Die genannten Symptome sind auch als *Jetlag* bekannt. Kommt es jedoch zu einer chronischen Störung des zirkadianen Systems, wie zum Beispiel bei Flugpersonal oder Schichtarbeitern, können die Betroffenen weitaus gravierende Krankheitssymptome oder chronische Krankheiten entwickeln (Boivin *et al.*, 2007; Cappuccio *et al.*, 2011; Luyster *et al.*, 2012).

Adipositas, *Diabetes mellitus* Typ 2, kardiovaskuläre Erkrankungen und ein erhöhtes Risiko für die Entstehung von Malignomen gehören zu solchen Spätfolgen.

Die *American Academy of Sleep Medicine* klassifiziert in ihrem Handbuch für Schlafstörungen (Thorpy, 2012) die verschiedenen Störungen des Schlaf-Wach-Rhythmus (CRSD, *Circadian Rhythm Sleep Disorders*), darunter auch das *Jetlag*-Syndrom (*Time Zone Change (Jet Lag) Syndrome*) und Schlafstörungen bei Schichtarbeit (*Shift Work Sleep Disorder*). Alle diese Schlafstörungen sind durch eine Abweichung der Schlafmuster von den physiologisch vorgegebenen Zeitplänen und der geophysikalischen Zeit gekennzeichnet. Dabei kommt es nicht nur zu einer Verschiebung der externen Zeit gegen die endogenen zirkadianen Rhythmen, sondern auch zur Desynchronisation einzelner endogener Funktionen in den verschiedenen Geweben (Kießling *et al.*, 2010). Die daraus resultierenden gesundheitlichen Probleme stellen die Medizin vor neue Herausforderungen in der Entwicklung von effizienteren Therapien der CRSD.

Bislang sind die von der *American Academy of Sleep Medicine* empfohlenen und gut geprüften Therapien mittels Lichts oder Melatonins sehr zeitaufwändig und nur schwer in unserem Alltag umsetzbar (Arendt, 2009). Das (Tages-) Licht spielt dabei eine bedeutende Rolle in der zirkadianen Synchronisation endogener Uhren und gilt als wichtigster externer *Zeitgeber* bei Säugetieren. Dabei werden die Lichtsignale über spezielle lichtempfindliche und Melanopsin-haltige Ganglionzellen in der Retina registriert und entlang des retinohypothalamischen Traktes zum *Nucleus suprachiasmaticus* (SCN) im Hypothalamus weitergeleitet (Hattar *et al.*, 2003; Guler *et al.*, 2008). Der SCN ist der zentrale zirkadiane Schrittmacher unseres Körpers und steuert über hormonelle und neuronale Signalwege weitere physiologische Rhythmen (Rusak und Zucker, 1979; Ralph *et al.*, 1990; Welsh *et al.*, 2010). Dazu zählen die Freisetzung von Glukokortikoiden (GC) und Melatonin (Szafarczyk *et al.*, 1980; Hastings, 1991), der Nieren- und Leberstoffwechsel (Levi und Schibler, 2007), die Regulation von Herzfrequenz, Blutdruck und Temperatur (Refinetti und Menaker, 1992) oder auch kognitive Prozesse (Woodruff *et al.*, 2016). Melatonin oder Melatonin-Analoga, als weitere chronotherapeutische Mittel, wirken hier direkt über Melatonin-Rezeptoren im SCN (Srinivasan *et al.*, 2008). Durch die Behandlung mit Licht oder Melatonin wird eine Phasenverschiebung endogener Rhythmen erzeugt, und man kann somit dem *Jetlag*-Syndrom entgegenwirken (Eastman und Burgess, 2009; Arendt, 2009; Zee und Goldstein, 2010). Der Einsatz dieser Therapien ist jedoch, wie bereits erwähnt, sehr aufwendig, und da das Melatonin nur in der Lage ist, das Uhrwerk nach vorne zu verstellen, ist es vor allem bei Flügen von Westen nach Osten geeignet.

In den Studien von Kießling und Oster konnte anhand eines Mausmodells die Schlüsselrolle der GCs aus der Nebenniere bei der Synchronisation endogener Uhren und somit der Anpassung an die externe Uhrzeit aufgezeigt werden (Kießling *et al.*, 2010; Oster *et al.*, 2011). Durch die Injektion des Glukokortikoidsynthese-Inhibitors Metyrapon zu unterschiedlichen Tageszeiten konnte bei Mäusen eine Phasenverschiebung der zirkadianen Sekretion von GCs verursacht werden, das heißt diese sowohl vor-, als auch zurückgestellt werden. Dadurch ließ sich die Dauer der Anpassung nach einer Verschiebung des Licht-Dunkel-Zyklus effektiv verkürzen. Effekte von Metyrapon auf die zirkadianen Rhythmen beim Menschen – wie Schlaf-Wach-Rhythmus, Kognition und Befindlichkeit – werden in dieser Studie untersucht. Dieser pharmakologische Ansatz der GC-Rhythmusverschiebung birgt ein enormes Potential für mögliche neue Therapieansätze in der Prävention von *Jetlag* wie auch Behandlung von Schlafstörungen bei Schichtarbeitern.

1.1 Die zirkadiane Uhr

1.1.1 Zirkadiane Uhren und ihre Organisation

Der Begriff „zirkadian“ kommt aus dem lateinischen von „*circa diem*“ und bedeutet „ungefähr ein Tag“. Durch die Achsenrotation der Erde kommt es zu einem zirkadianen Tag-Nacht-Rhythmus mit einer Periodenlänge von genau 24 Stunden. Um sich den äußeren Bedingungen anzupassen, entwickelten Lebewesen im Laufe der Evolution eigene endogene Uhrensyste und konnten somit eigene Verhaltensweisen und physiologische Prozesse an die durch die Erddrehung hervorgerufenen zyklischen Änderungen der Umweltbedingungen angleichen. Verschiedene äußere Reize wie Tageslicht, soziale Interaktionen, Aktivität (Levine *et al.*, 2002) oder Temperatur (Barrett und Takahashi, 1995), sind sog. *Zeitgeber* und bestimmen unseren Tagesrhythmus. Aber auch ohne äußere Stimuli sind die Lebewesen in der Lage, ihre inneren Rhythmen für mehrere Zyklen aufrechtzuerhalten (Aschoff, 1965). Die Periodenlänge dieser freilaufenden, endogenen Rhythmen beträgt dabei ungefähr 24 Stunden. So hat der Schlaf-Wach-Rhythmus beim Menschen eine durchschnittliche Länge von 24,2 Stunden (Czeisler und Gooley, 2007). Aufgrund der Differenz zwischen den endogenen und exogenen Rhythmen müssen die inneren Uhren permanent an die äußere Zeit adjustiert werden, um nicht aus dem Takt zu geraten. Dieser Vorgang wird als *Entrainment* bezeichnet (Aschoff und Pohl, 1978) und wird durch ein Wechselspiel zwischen *Zeitgebern* (externe Stimuli) und dem zentralen, endogenen Schrittmacher *Nucleus suprachiasmaticus* reguliert (Welsh *et al.*, 2010; Husse *et al.*, 2015).

Der wichtigste *Zeitgeber* für Säugetiere ist das (Tages-) Licht. Dabei werden die Lichtsignale, vor allem blauwelliges Licht (~ 480 nm), über spezielle lichtempfindliche, Melanopsin-haltige Ganglienzellen der inneren Retina aufgenommen, in Potentiale umgewandelt und über monosynaptische Neurone entlang des *Tractus retinohypothalamicus* zum bilateralen SCN im Hypothalamus weitergeleitet (Hattar *et al.*, 2003; Guler *et al.*, 2008). Der SCN ist eine kleine, paarige Kernregion aus ca. 20.000 Neuronen, die über verschiedene hormonelle und neuronale Signalwege mit anderen Hirnregionen und peripheren Organen vernetzt ist (Rusak und Zucker, 1979; Ralph *et al.*, 1990; Reppert und Weaver, 2002). Über dieses Netzwerk reguliert der SCN wichtige Lebensfunktionen wie den Stoffwechsel, das Hormon- und Immunsystem, sowie das Verhalten und die Kognition (Dibner *et al.*, 2010). Verbindungen zum paraventriculären Nucleus (PVN), über die subparaventriculäre Zone (SPZ), stellen im Hypothalamus eine wichtige Schaltstelle für die Regulation peripherer zirkadianer Rhythmen dar. Im PVN werden die vom SCN eingehenden Informationen in hormonelle und Signale des vegetativen Nervensystems umgewandelt und an periphere Oszillatoren weitergeleitet (Buijs und Kalsbeek, 2001). So wird beispielsweise im PVN das *Corticotropin-releasing hormone* (CRH) freigesetzt (Kalsbeek *et al.*, 2000; Engeland und Arnhold, 2005). CRH ist ein Teil der Hypothalamus-Hypophysen-Nebennieren-Achse und beeinflusst die Sekretion von Glukokortikoiden in der Nebennierenrinde über die Stimulation der *Adrenocorticotropic hormone* (ACTH)-Ausschüttung in der Hypophyse (Kap. 1.1.2). Weitere Projektionen vom SPZ zum dorsomedialen Kern des Hypothalamus (DMH) und weiter zum lateralen Hypothalamus und ventrolateralen präoptischen Nucleus (VLPO) regulieren den Schlaf-Wach-Rhythmus (Chou *et al.*, 2002 und 2003; Saper *et al.*, 2005). Die beschriebenen Signalwege sind in der Abbildung 1 zur Veranschaulichung dargestellt.

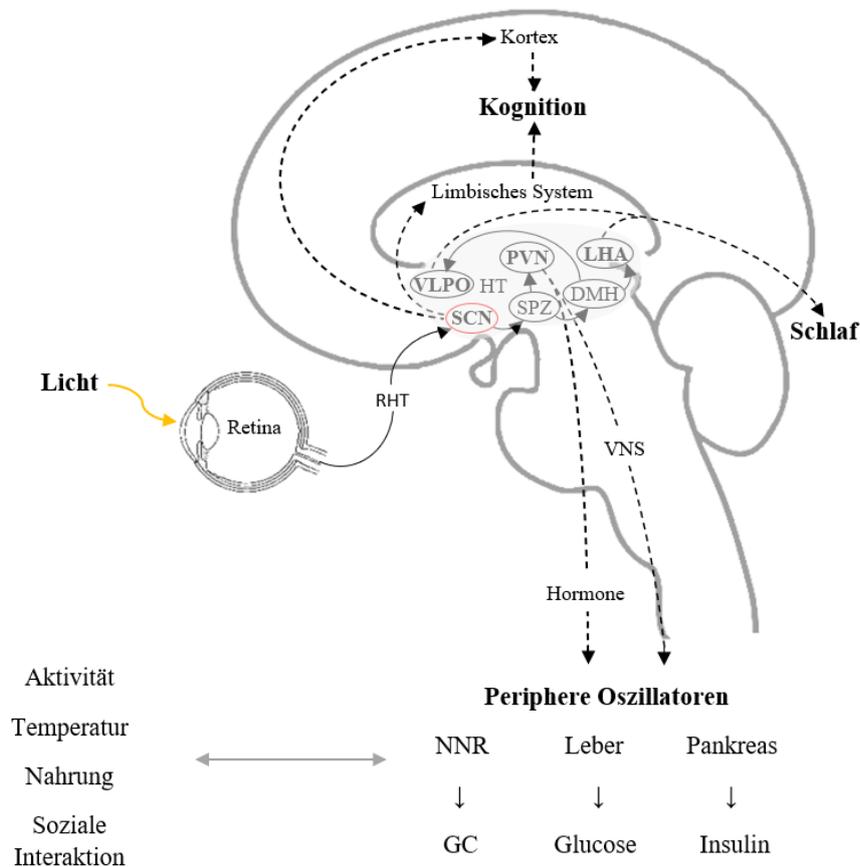


Abbildung 1. Schematische Darstellung wichtiger Signalwege zwischen dem Haupttaktgeber *Nucleus suprachiasmaticus* (SCN) und anderen zentralen und peripheren Regionen zur Regulation zirkadianer Rhythmen (Kap. 1.1.1). HT – Hypothalamus, RHT – *Tractus retinohypothalamicus*, SPZ – subparaventriculäre Zone, PVN – paraventriculärer Nukleus, DMH – dorsomedialer Kern des Hypothalamus, VLPO – ventrolateraler präoptischer Nukleus, LHA – *lateral hypothalamic area*, VNS – vegetatives Nervensystem, NNR – Nebennierenrinde, GC – Glukokortikoide.

Die Zellen des SCN und vieler weiterer peripherer Organe sind in der Lage selbständig, d. h. auch unabhängig von äußeren Einflüssen, zu oszillieren und die endogenen Rhythmen über einen bestimmten Zeitraum aufrechtzuerhalten (Aschoff, 1965; Schibler *et al.*, 2003; Dibner *et al.*, 2010). Die molekulare Grundlage der autonomen Oszillatoren bilden transkriptionell-translatorische Rückkopplungsschleifen der periodisch exprimierten Uhrengene (Oster, 2006; Brown *et al.*, 2012; Kap. 1.1.2.3). Sie kommen in verschiedenen Geweben wie Nebenniere (Oster *et al.*, 2006; Son *et al.*, 2008), Niere (Yoo *et al.*, 2004), Leber (Yamazaki *et al.*, 2000), Pankreas (Schibler *et al.*, 2003) und im zerebralen Kortex (Jilg *et al.*, 2010; Chun *et al.*, 2015) vor. So sind auch andere zentrale und periphere Gewebe fähig, ihre zirkadiane Rhythmik für eine begrenzte Zeit ohne einen funktionierenden SCN beizubehalten (Dibner *et al.*, 2010). Für eine dauerhafte Synchronisation lokaler Uhren untereinander und mit den externen *Zeitgebern* ist der SCN als zentraler Schrittmacher des zirkadianen Systems jedoch unentbehrlich (Tahara *et al.*, 2012).

Zusammenfassend ist festzustellen, dass die zahlreichen zirkadianen Uhren der Säugetiere hierarchisch organisiert und durch die hohe Vernetzung des Haupttaktgebers SCN mit peripheren Geweben und anderen Hirnregionen untereinander und mit der äußeren Zeit synchronisiert sind. Dies ermöglicht eine optimale Anpassung endogener Rhythmen, sowie physiologischer Prozesse und Verhaltensweisen an die Umwelt. Dabei verfügen periphere Organe über eigene Oszillatoren zur Regulation lokaler physiologischer Prozesse.

1.1.2 Glukokortikoide und zirkadiane Regulation ihrer Sekretion

Glukokortikoide (GC) sind Steroidhormone, die in der *Zona fasciculata* der Nebennierenrinde aus Cholesterin gebildet und in die Blutbahn abgegeben werden. Hierüber erreichen sie jede Zelle des Körpers, wo ihre Wirkung über die ubiquitär exprimierten Glukokortikoid-Rezeptoren (GR) und Mineralokortikoid-Rezeptoren (MR) vermittelt wird (Okamura, 2007; Joels *et al.*, 2008). Als sog. Stresshormon übernehmen GCs eine wichtige Funktion bei der Regulation der Stressreaktion und bereiten den Organismus durch eine Stimulation der Glukoneogenese in der Leber und die Mobilisierung von Energieressourcen wie Glukose (aus Glykogen und nach *De-novo*-Biosynthese) sowie Fettsäuren (aus Triglyceridspeichern im Fettgewebe) auf die Stresssituation vor (Lang, 2011). Zugleich werden andere Funktionen wie die Immunabwehr und kognitive Prozesse herunterreguliert, um Energiereserven zu sparen und den Stress besser bewältigen zu können. Der Hauptvertreter der Glukokortikoide beim Menschen ist das Kortisol.

Die Sekretion der Glukokortikoide folgt einem robusten zirkadianen Rhythmus. Im Tagesverlauf ist die Konzentration von Kortisol beim Menschen während der inaktiven Phase in der Nacht am niedrigsten und erreicht ihr Maximum in den frühen Morgenstunden, um so den Körper auf seine aktive Phase vorzubereiten (Moore und Eichler, 1972). Die zirkadiane Rhythmik der GCs wird über drei unterschiedliche Wege koordiniert (Chung *et al.*, 2011; Leliavski *et al.*, 2015; Abb. 2). Gut erforscht ist die hormonelle Regulation der Sekretion über die Hypothalamus-Hypophysen-Nebennieren-Achse (HPA-Achse, *hypothalamic-pituitary-adrenal axis*; Balsalobre *et al.*, 2000). Davon unabhängig wird die zirkadiane Freisetzung der GCs vom SCN direkt über *Nn. splanchnici* des autonomen Nervensystems beeinflusst (Ishida *et al.*, 2005; Oster *et al.*, 2006). Der dritte Weg der Regulation sind lokale zirkadiane Uhren der Nebennierenrinde, die einen annähernd 24-Stunden-Rhythmus der Glukokortikoid-Sekretion generieren (Oster *et al.*, 2006; Son *et al.*, 2008; Chung *et al.*, 2011).

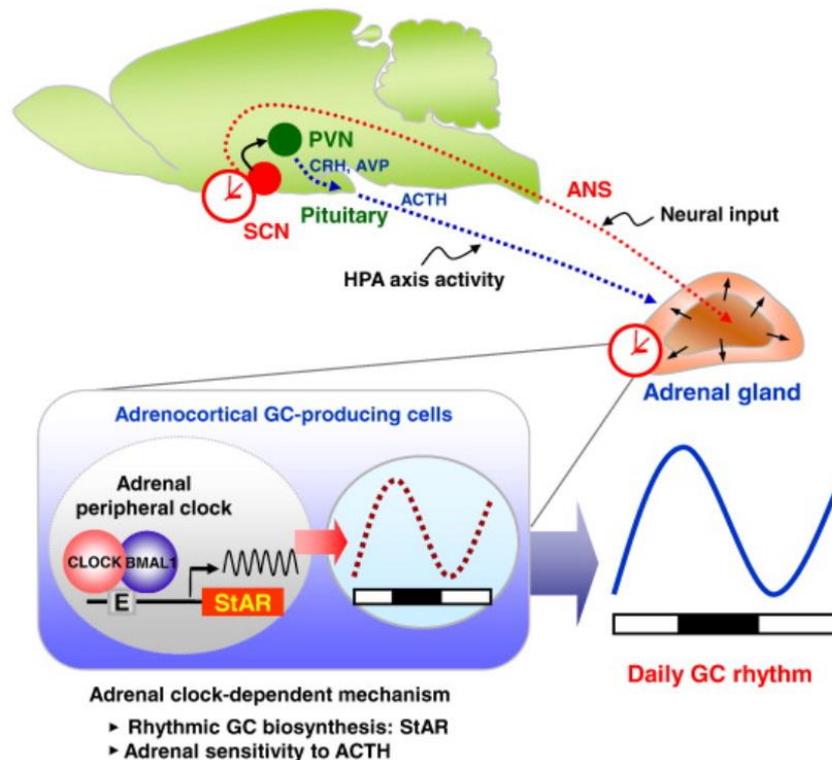


Abbildung 2. Schematische Darstellung der unterschiedlichen Regulationswege der Glukokortikoid-Synthese und deren zirkadianer Rhythmik. Die hormonelle Regulation erfolgt über die HPA-Achse (*hypothalamic-pituitary-adrenal axis*, Kap. 1.1.2.1), die neuronale über *Nn. splanchnici* des autonomen Nervensystems (ANS; Kap. 1.1.2.2) und schließlich über lokale Uhrgene der Nebennierenrinde (Kap. 1.1.2.3). SCN – *Nucleus suprachiasmaticus*, PVN – paraventriculärer Nucleus, CRH – *cotricotropin-releasing hormone*, AVP – Arginin-Vasopressin, ACTH – *adrenocorticotropic hormone*, CLOCK – *circadian locomotor cycles kaput*, BMAL1 – *brain and muscle aryl hydrocarbon receptor nuclear translocator-like1*, StAR – *steroidogenic acute regulatory protein*, GC – Glukokortikoide (aus Chung *et al.*, 2011, Abb. 5).

1.1.2.1 Die HPA-Achse

Der hormonelle Regelkreis reguliert neben der Stressreaktion, die zirkadiane GC-Sekretion in der Nebennierenrinde. Eine stressbedingte Freisetzung des CRH und Vasopressin (AVP; Arginin-Vasopressin) im PVN des Hypothalamus bewirkt zunächst über das hypophysäre Pfortadersystem eine ACTH-Ausschüttung im Hypophysenvorderlappen (Ulrich-Lai und Herman, 2009; Abb. 2). Das in den Körperkreislauf sezernierte ACTH regt anschließend über spezielle Rezeptoren (MC2R, *melanocortin 2 receptor*) die Steroidsynthese in der Nebennierenrinde an (Miller und Bose, 2011). Unabhängig vom Stress wird die CRH-Freisetzung im PVN auch indirekt vom SCN moduliert und die HPA-Achse so mit exogenen *Zeitgebern* synchronisiert (Buijs *et al.*, 1993).

Um eine überschießende Produktion der GCs und eine Überaktivität der Stresshormon-Achse zu vermeiden, hemmen die vermehrt zirkulierenden Glukokortikoide über ein

negatives Feedback an den PVN und die Hypophyse die CRH- und ACTH-Produktion (Walker *et al.*, 2012). Die dadurch verursachte ultradiane (Periodenlänge < 24 Stunden) GC-Ausschüttung, wird durch die zirkadiane Rhythmik überlagert (Spiga *et al.*, 2014). Die negative Rückkopplung erfolgt über Glukokortikoid- (GR) und Mineralokortikoid-Rezeptoren (MR). Dabei besitzen MR eine höhere Affinität für GCs und werden bereits bei normalen GC-Konzentrationen besetzt und regulieren so den basalen Grundtonus der HPA-Achse (Joels *et al.*, 2008). GR werden dagegen vor allem bei höheren GC-Konzentrationen aktiviert und sind so entscheidend bei der Stressregulation (de Kloet *et al.*, 2005). GR findet man in allen Zellen der Peripherie und im Gehirn, interessanterweise mit Ausnahme des SCN (Balsalobre *et al.*, 2000). Eine besonders hohe Dichte an GR findet sich im PVN und Hippocampus, den Hirnarealen, die eine entscheidende Rolle bei der Regulation der HPA-Achse haben und die GC-Freisetzung regulieren (Jacobson und Sapolsky, 1991). Durch diese negative Rückkopplung der Glukokortikoide an das zentrale Nervensystem (ZNS), stabilisieren sie die vom SCN synchronisierten zirkadianen Rhythmen in der Peripherie und schützen den Organismus vor unkoordinierter Desynchronisation peripherer Uhren bei sporadischen und kurzzeitigen Veränderungen externer Bedingungen, wie dunkle Kinosäle am Tag oder ein helles Feuerwerk in der Nacht. Dieser Mechanismus verhindert jedoch, beispielweise beim *Jetlag*, eine schnelle Anpassung der Rhythmen an die externe Zeit (Kießling *et al.*, 2010). Genau hier erkannten Kießling *et al.* einen möglichen Ansatzpunkt für die Therapie des *Jetlag*-Syndroms. Sie demonstrierten anhand eines Mausmodells, dass durch die Unterbrechung dieses Feedback-Mechanismus durch Hemmung der GC-Produktion – entweder in Form einer Adrenalektomie oder mit Hilfe des Glukokortikoidsynthese-Inhibitors Metyrapon – der SCN weniger resistent gegenüber äußeren Störungen wird und die endogenen Rhythmen schneller an die neue Zeitzone adaptieren. Diese interessante Erkenntnis eröffnet neue potenzielle Therapiemöglichkeiten des *Jetlag*-Syndroms.

1.1.2.2 Neuronale Regulation

Die zirkadiane Freisetzung der GCs wird auch unabhängig vom ACTH und der HPA-Achse direkt vom SCN über das vegetative Nervensystem gesteuert (Ishida *et al.*, 2005; Buijs *et al.*, 1999). Ishida *et al.* zeigten, dass auch nach Ausschalten der Hypophyse die GC-Produktion bei Nagern weiterhin durch Lichtimpulse stimuliert werden kann. Dabei gelangen die Informationen vom SCN über Neurone des PVN und der *Nn. splanchnici* des

sympathischen Nervensystems zur Nebennierenrinde (Buijs *et al.*, 1999; Abb. 2). Bei einer Durchtrennung der *Nn. splanchnici* kommt es außerdem zu einer Reduktion der maximalen zirkadianen GC-Amplitude (Ulrich-Lai *et al.*, 2006; Wotus *et al.*, 2013). Dies weist darauf hin, dass das autonome Nervensystem (ANS) eine Rolle bei der zirkadianen GC-Sekretion spielt. Die genaue Signalübermittlung vom vegetativen Nervensystem zur Nebennierenrinde ist jedoch noch nicht genau bekannt. Die Rolle von Katecholaminen und weiteren Neuropeptiden wird in einem Übersichtsartikel von Engeland (2013) diskutiert. Somit ist es möglich, die Nebennieren-Uhr und die Sekretion der GCs direkt durch Licht zu beeinflussen, was eine wichtige Rolle beim *Entrainment* spielt.

1.1.2.3 Die GC-Rhythmik und ihre Rolle bei der Synchronisation endogener Uhren

So wie der SCN besitzen fast alle anderen Gewebe der Säugetiere molekulare Bausteine für lokale zirkadiane Uhren (Dibner *et al.*, 2010). Die molekulare Basis bilden positive und negative Rückkopplungsschleifen, die ineinandergreifen und die Transkription und Translation sogenannter Uhrengene koordinieren (TTFL – *transcription-translation feedback loop*; Brown *et al.*, 2012). Zu den wichtigsten aktivierenden Komponenten der molekularen Uhr gehören die Transkriptionsfaktoren BMAL1 (*brain and muscle aryl hydrocarbon receptor nuclear translocator-like 1*) und CLOCK (*circadian locomotor output cycles kaput*). Diese binden in Form eines Heterodimers an die *E-Box*-Elemente der Promotor-Region der *Per1-3*- (*Period 1-3*) und *Cry1/2*-Gene (*Cryptochrome 1/2*) und aktivieren so deren Transkription. Durch den Anstieg der Konzentration der PER- und CRY-Proteine im Tagesverlauf kommt es nachts durch eine Translocation der Proteine in den Zellkern und Interaktion mit dem CLOCK/ BMAL1-Komplex zu einer negativen Rückkopplung und Hemmung der eigenen Transkription. In den frühen Morgenstunden wird der CLOCK/ BMAL1-Komplex durch allmählichen Abbau der PER- und CRY-Proteine frei und bewirkt eine erneute Aktivierung der *E-Box*-vermittelten Transkription. So entsteht ein 24-Stunden-Rhythmus der Uhrenproteine, der durch zusätzliche Rückkopplungsschleifen weiterer Elemente stabilisiert wird (Mohawk *et al.*, 2012). GCs sind wichtige Modulatoren zentraler Uhrengene, die sie über eine Bindung an intrazelluläre GR regulieren. Die aktivierten GR interagieren ihrerseits in Form eines Homodimers mit spezifischen GR-Bindungssequenzen (GBS) der *Glucocorticoid response elements* (GRE), die sich in der Promotorregion von steroidabhängigen Genen befinden, und beeinflussen so die Transkription des nachfolgenden Gens (Yamamoto, 1985). GREs wurden auch für *Per1/2*-

Gene nachgewiesen (Yamamoto *et al.*, 2005; So *et al.*, 2009). Demnach greifen die GCs über eine Aktivierung der *Per*-Transkription direkt in das zentrale molekulare Uhrensystem ein und führen zu einer Phasenverschiebung und zirkadianen Rhythmicität in Geweben (So *et al.*, 2008; Pezük *et al.*, 2012).

Die oben beschriebenen zentralen Bausteine des molekularen Uhrenwerkes finden sich auch in der Nebennierenrinde (Oster *et al.*, 2006; Son *et al.*, 2008). Zu den geschwindigkeitsbestimmenden Genen in der Glukokortikoid-Synthese zählt das *StAR*-Gen (*steroidogenic acute regulatory protein*), dessen zirkadiane Expression direkt vom CLOCK/BMAL1-Heterodimer aktiviert wird. Das so gebildete StAR-Protein ist für den Cholesterin-Transport von der äußeren in die innere Mitochondrienmembran verantwortlich, wo durch die Umwandlung des Cholesterins zu Pregnenolon der erste Schritt der Steroid-Synthese stattfindet. Die StAR-Rhythmik vermittelt und verursacht in der Nebennierenrinde eine robuste zirkadiane GC-Sekretion (Chung *et al.*, 2011; Abb. 2). Auch andere Nebennierenhormone wie Katecholamine, Mineralokortikoide und Sexualhormone werden unabhängig von äußeren Einflüssen und dem SCN rhythmisch sezerniert (Oster *et al.*, 2006). Die beschriebenen Gene steuern unter anderem die Cholesterinaufnahme in adrenokortikale Zellen und die Sensitivität der ACTH-Rezeptoren in der Nebennierenrinde und modulieren so den zirkadianen GC-Rhythmus (Oster *et al.*, 2006; Ulrich-Lai *et al.*, 2006; Son *et al.*, 2008).

Eine relativ neue und durchaus bedeutende Erkenntnis in der Chronobiologie ist die Schlüsselrolle der Glukokortikoide bei der Synchronisation zirkadianer Rhythmen anderer peripherer Organe (Oishi *et al.*, 2005; Balsalobre *et al.*, 2000; Kießling *et al.*, 2010; Pezük *et al.*, 2012). Kießling *et al.* (2010) schauten sich die verschiedenen Gene peripherer Gewebe genauer an und untersuchten, wie sich ein simulierter *Jetlag* bei Mäusen auf die endogenen Oszillatoren auswirkt und wie diese wieder synchronisieren. Durch die Verschiebung des Hell-Dunkel-Zyklus um 6 Stunden desynchronisierten die einzelnen lokalen Uhren. Nach einer gewissen Zeit tickten diese jedoch wieder synchron mit dem neu vorgegebenen Zyklus. Dabei zeigte sich, dass die Uhren verschiedener Gewebe unterschiedlich schnell resynchronisieren, aber auch jedes einzelne Uhrenglied innerhalb eines Gewebes wies eine charakteristische Resynchronisationskinetik auf. Auch vorangegangene Studien von Yamazaki *et al.* (2000), Reddy *et al.* (2002) und Davidson *et al.* (2009) veranschaulichten die Heterogenität des molekularen Uhrenwerkes bei Nagern. So werden die Gewebsumuhren anhand unterschiedlicher *Entrainment*-Zeiten in drei Gruppen eingeteilt (Kießling *et al.*, 2010): Die ZNS-Gruppe, bestehend aus dem SCN und somatosensorischen Kortex, zeigt

schnell resynchronisierende Uhrengene wie *Dbp* (*D-site albumin promoter binding protein*), *Bmal1* (*brain and muscle aryl hydrocarbon receptor nuclear translocator-like1*) und *Nr1d1* (*nuclear receptor subfamily 1, group D, member 1*). Periphere Gewebe wie Leber und Niere bilden die zweite Gruppe mit sich schnell (*Per2*), mäßig schnell (*Per1*, *Dbp* und *Nr1d1*) und langsam (*Bmal1*) synchronisierenden Genen. Das Pankreas bildet die dritte Gruppe mit sehr langsamen inneren Uhrengenen, die in umgekehrter Reihenfolge adaptieren (schnell: *Nr1d1*; langsam: *Per1/2*, *Dbp* und *Bmal1*). Die Nebennieren-Uhr mit *Per2* und *Cry1* (Ishida *et al.*, 2005; Oster *et al.*, 2006) nimmt dabei eine Zwischenposition ein. Die zirkadiane Resynchronisation ist somit stark gewebespezifisch, und langsame Uhren limitieren womöglich die *Entrainment*-Geschwindigkeit des Gesamt-Organismus.

Aufgrund der Erkenntnisse von Balsalobre (2000), Oishi (2005) und weiteren Wissenschaftlern ist die GC-Rhythmik in der Lage, die aus dem Takt geratenen peripheren Uhren in ihren Ist-Zustand zurückzubringen. Kießling *et al.* (2010) machten sich diesen Aspekt zu Nutze und zeigten, dass durch die Entfernung der Nebennieren-Uhr die Resynchronisation peripherer Oszillatoren beschleunigt werden kann. Eine schonende Manipulation der GC-Rhythmik kann durch den Kortikosteroid-Inhibitor Metyrapon erreicht werden. Eine Injektion von Metyrapon verursachte bei Mäusen eine Phasenverschiebung der GC-Rhythmik und des Schlaf-Wach-Rhythmus' um etwa 1-2 Stunden. In Abhängigkeit vom Zeitpunkt der Metyrapon-Gabe konnte die Geschwindigkeit der Resynchronisation in einem simulierten *Jetlag* entweder beschleunigt oder auch verzögert werden.

Es lässt sich also zusammenfassen, dass Glukokortikoide andere periphere Uhren zurücksetzen können (Balsalobre *et al.*, 2000) und über eine Regulation der Amplitude und des Zeitpunktes der GC-Sekretion (Sage *et al.*, 2004) die Resynchronisation endogener Uhren beeinflusst werden kann. Bei Mäusen konnte durch das Verabreichen von Metyrapon die Resynchronisation zirkadianer Rhythmen im *Jetlag* beschleunigt werden (Kießling *et al.*, 2010). Somit stellt es ein potentiell Therapeutikum für die Behandlung von *Jetlag*-Symptomen und weiterer damit assoziierter Störungen des Schlafes, der Kognition oder der Stimmungslage dar.

1.2 Schlaf

Schlaf nimmt eine zentrale Rolle in unserem Leben ein, denn wir verbringen ungefähr ein Drittel unserer Zeit in dem reversiblen und periodisch wiederkehrenden Ruhezustand veränderter Bewusstseinslage und Körperfunktionen (Pschyrembel Online). Bis Anfang des 19. Jahrhunderts wurde Nachtschlaf als ein passiver Vorgang mit einem vorübergehenden Verlust des Wachzustandes angesehen (Borbély, 1998). Doch dass dieser mehr als nur ein bedeutungsloser Bewusstseinsverlust ist, wird vor allem bei Schlafentzug oder Verschiebung der Schlafrhythmik deutlich. Kommt es beispielsweise bei Interkontinentalflügen oder Schichtarbeit zu einem unregelmäßigen oder verkürzten Nachtschlaf, fühlen sich die Menschen abgeschlagen, müde und haben oft erhebliche Probleme, nachts ein- und durchzuschlafen (Kim *et al.*, 2013). Daraus kann eine Vielzahl gesundheitlicher Probleme – wie Übergewicht (Cappuccio *et al.*, 2008), kardiovaskuläre Erkrankungen (Cappuccio *et al.*, 2011; Luyster *et al.*, 2012), kognitive Defizite (Lim und Dinges, 2008) oder Depression (Patel *et al.*, 2006) – resultieren oder sogar das Sterberisiko erhöht werden (Rechtschaffen und Bergmann, 2002; Luyster *et al.*, 2012; Reid und Abbott, 2015). Diese Erkenntnisse verdeutlichen die besondere Bedeutung eines geregelten und ausreichenden Schlafes für unsere allgemeine Gesundheit. Eine Reihe weitere Funktionen – wie Energieerhaltung (Brown *et al.*, 2012), Regulation des Glukosestoffwechsels (Morselli *et al.*, 2012), des endokrinen Systems oder der Immunabwehr (Gomez-Gonzalez *et al.*, 2012), aber auch die Gedächtniskonsolidierung (Brown *et al.*, 2012) – werden dem Schlaf zugesprochen. Doch trotz erheblicher Fortschritte, vor allem bei der Entschlüsselung zentralnervöser Kontrollmechanismen des Schlaf- und Wachzustandes (Brown *et al.*, 2012), ist die genaue Funktion des Schlafes nicht eindeutig geklärt und bleibt Gegenstand aktueller Forschung.

1.2.1 Schlafarchitektur

Durch die Erfindung der Elektroenzephalographie (EEG) von Hans Berger im Jahre 1929 konnten erstmals mit Hilfe eines nicht invasiven Verfahrens typische Aktivitätsmuster der elektrischen Hirnaktivität bei Menschen während des Nachtschlafes und im Wachzustand unterschieden und der Schlaf als ein aktiver Zustand mit einer charakteristischen Hirnaktivität verdeutlicht werden.

Anhand charakteristischer Frequenzmuster in der EEG, EMG (Elektromyographie) und EOG (Elektrookulographie) lässt sich der Schlaf in mehrere Schlafstadien mit Hilfe standardisierter Kriterien nach Rechtschaffen und Kales (1968) einteilen. Neben dem Wachzustand (W) werden die beiden Hauptschlafstadien Non-REM- und REM-Schlaf (*rapid eye movement*) unterschieden. Der Non-REM-Schlaf wird zusätzlich in die Schlafphasen S1, S2, S3 und S4 gegliedert. Den verschiedenen Schlafstadien werden unterschiedliche Frequenzen und Eigenschaften zugeordnet. Im wachen und inaktiven Zustand bei geschlossenen Augen werden im EEG überwiegend Alpha-Wellen mit einer Frequenz von 8-12 Hz registriert. Während der Schlafstadien S1 bis S4 nimmt die Frequenz ab und die Amplitude mit der Schlaftiefe dabei zu. In den Einschlafstadien S1 und S2 werden die Alpha-Wellen immer unregelmäßiger und es treten vermehrt Theta-Wellen (4-7 Hz) und im S2 sog. Schlafspindeln (12-14 Hz) oder K-Komplexe (biphasische Wellen mit steiler negativer Auslenkung, gefolgt von einer positiven Komponente; Amplitude $> 75 \mu\text{V}$) auf. Die Schlafphasen S3 und S4 werden auch als Tiefschlaf oder SWS (*slow wave sleep*) bezeichnet. Hier überwiegen die langsamen Delta-Wellen (0,5–2 Hz, $> 75 \mu\text{V}$). EOG und EMG zeigen während des Non-REM-Schlafes nur wenig Aktivität mit einem niedrigen Muskeltonus und rollenden Augenbewegungen. Durch die Aktivierung des parasympathischen Nervensystems werden auch Körperfunktionen wie Puls, Blutdruck oder Atmung verlangsamt bzw. gesenkt (Borbély, 1998). Erst im REM-Schlaf kommt es zu den typischen schnellen, ruckartigen Augenbewegungen bei sonst absoluter Muskelatonie und zur Aktivierung von Körpervorgängen (Aserinsky und Kleitman, 1953; Borbély, 1998). Im EEG zeigen sich hier unregelmäßige hochfrequente (2–7 Hz) und niederamplitudige Wellen, die auf eine hohe Hirnaktivität und gesteigerten Energieumsatz hinweisen (Dujardin *et al.*, 1990).

Die Übergänge zwischen den einzelnen Schlafstadien sind fließend, und ein Schlafzyklus, bestehend aus dem Non-REM- und REM-Schlaf, dauert in der Regel ca. 90 Minuten. Dieser wird 4-6-mal in der Nacht durchlaufen. Dabei nimmt der Anteil des Tiefschlafes in Verlauf der Nacht ab und die Länge der REM-Schlafes zu. So wird die erste Nachthälfte vom SWS dominiert und die zweite Hälfte vom REM-Schlaf, der insgesamt 20-25 % des Nachtschlafes bei Erwachsenen einnimmt. Daraus ergibt sich ein typisches Schlafprofil siehe Abbildung 3.

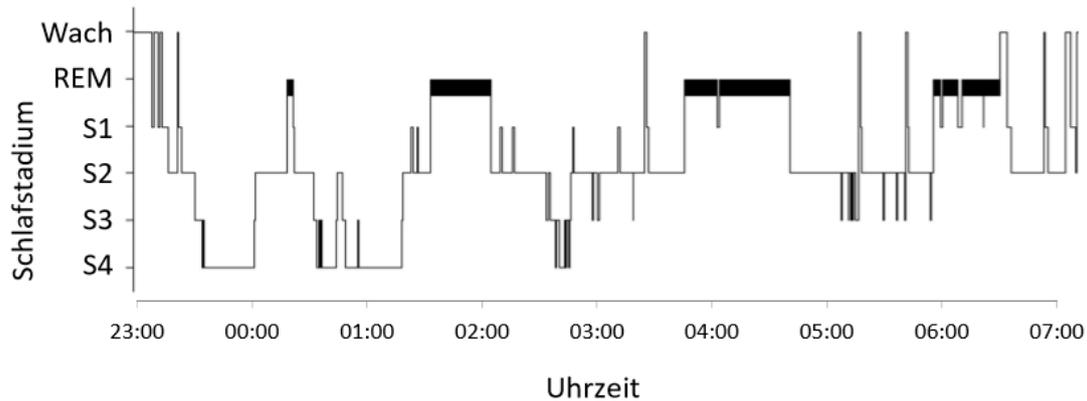


Abbildung 3. Hypnogramm eines gesunden Probanden unter Placebo-Bedingungen mit einem typischen Schlafprofil. Non-REM-Schlaf mit den Schlafphasen S1-4 und REM-Schlaf (*rapid eye movement*).

1.2.2 Regulation der zirkadianen Schlaf-Wach-Rhythmik

Der Schlaf-Wach-Rhythmus ist wohl der auffälligste zirkadiane Rhythmus – nicht nur bei Menschen, sondern auch bei vielen anderen Säugetieren (Dijk und von Schantz, 2005). Dieser periodische Wechsel von Ruhe und Aktivität folgt dem geophysikalischen 24-Stunden-Zyklus und wird durch verschiedene äußere und innere Einflüsse wie Tageslicht, soziale Interaktionen (Levine *et al.*, 2002) oder Temperatur (Barrett und Takahashi, 1995) bestimmt und vom zentralen Nervensystem (ZNS) gesteuert.

Der Schweizer Pharmakologe Borbély beschrieb Anfang der 1980er das bis heute anerkannte *Zwei-Prozess-Model* der Schlafregulation (Borbély, 1982; Daan *et al.*, 1984). Dabei wird unser Schlafverhalten durch die beiden unabhängigen Prozesse S, die Schlafhomöostase, und C, die zirkadiane Regulation, reguliert (Abb. 4). Der Prozess S veranschaulicht das Schlafbedürfnis, das während der Wachphase zu- und im Schlaf wieder abnimmt, wodurch eine Periodik der Ruhe und Aktivität entsteht und so unsere Schlafdauer und -tiefe bestimmt wird (Morris *et al.*, 2012). Dabei scheint die Konzentration des Adenosins in bestimmten Hirnregionen wie dem Frontalhirn entscheidend für die Regulation der Schlafhomöostase und somit des Wachzustandes zu sein (Porkka-Heiskanen *et al.*, 1997; Landolt, 2008).

Daneben wird die Schlaf-Wach-Periodik durch innere Oszillatoren des SCN (Kap. 1.1) bestimmt und aufrechterhalten (Prozess C). Über indirekte Projektionen, die über die SPZ (subparaventriculäre Zone) verlaufen, ist der SCN mit dem dorsomedialen Kern des Hypothalamus (DMH) verbunden. Der DMH ist eine wichtige Schaltregion in der

zirkadianen Regulation von Schlaf, Hormonsynthese und Nahrungsaufnahme (Lu *et al.*, 2001). Der zirkadiane Schlaf-Wach-Rhythmus wird hier über ausgehende glutamaterge Efferenzen zum lateralen Hypothalamus (LHA) und GABAerge (γ -Aminobuttersäure) Projektionen zum ventrolateralen präoptischen Nucleus (VLPO) reguliert (Chou *et al.*, 2002). Spezielle Orexin (auch Hypocretin)-haltige Neurone im lateralen Hypothalamus sind ebenfalls an der Schlafregulation beteiligt (Saper *et al.*, 2005; Abb. 5). So entwickeln beispielsweise sog. *Knockout*-Mäuse mit ausgeschaltetem *Orexin*-Gen eine Narkolepsie (Chemelli *et al.*, 1999), und im Gegensatz dazu kommt es bei VLPO-Läsionen zur Verkürzung des Schlafes (Lu *et al.*, 2000).

Trotz grundsätzlicher Unabhängigkeit beider Prozesse voneinander interagieren diese miteinander und bestimmen so die Ruhezeiten, die Länge oder auch die Qualität des Schlafes und der Wachphasen (Dijk und Franken, 2005).

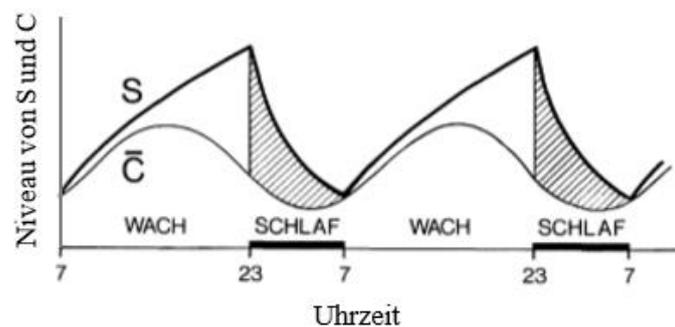


Abbildung 4. Zwei-Prozess-Modell der Schlafregulation mit Schlafhomöostase (S) und zirkadianer Regulation (C). Der Abstand zwischen den Kurven S und C entspricht dem Schlafdruck während der Wach- (weiße Fläche) und Schlafphase (schraffierte Fläche) (umgezeichnet nach Borbély, 1982).

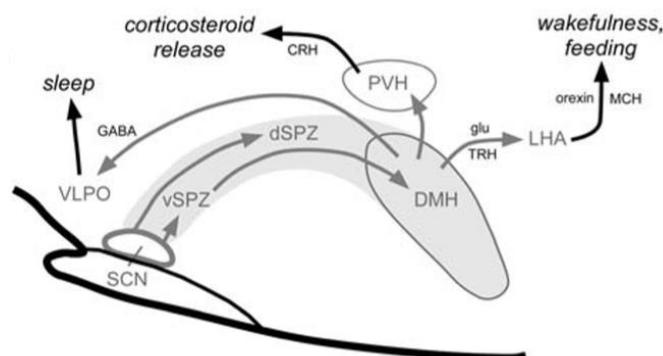


Abbildung 5. Schematische Darstellung wichtiger neuronaler Verbindungen zur zirkadianen Schlafregulation im Hypothalamus (Kap. 1.2.2). SCN – *Nucleus suprachiasmaticus*, SPZ – subparaventriculäre Zone (ventral und dorsal), DMH – dorsomedialer Kern des Hypothalamus, VLPO – ventrolateraler präoptischer Nucleus, LHA – lateraler Hypothalamus, PVH – paraventriculärer Nucleus, GABA – γ -Aminobuttersäure, glu – Glutamat, CRH – *corticotropin-releasing hormone*, TRH – *thyrotropin-releasing hormone*, MCH – *melanin-concentrating hormone* (aus Fuller *et al.*, 2006, Abb. 3).

1.2.3 Glukokortikoide und Schlaf

Ähnlich dem Schlaf-Wach-Rhythmus durchläuft die Freisetzung der Glukokortikoide ebenfalls einen robusten zirkadianen Rhythmus mit einem Maximum in den frühen Morgenstunden und einem Tiefpunkt zu Beginn des biologischen Schlafes. Es konnte anhand von Studien gezeigt werden, dass der Schlaf *per se* einen gewissen Einfluss auf die GC-Ausschüttung hat (Weitzman *et al.*, 1974 und 1983). So kommt es sowohl zu Beginn des Nacht- als auch beim Tagschlaf während der Tiefschlafphase (SWS) rasch zu einem Abfall des Kortisol-Spiegels. Ein isolierter hemmender Effekt des Tiefschlafes auf die GC-Sekretion konnte jedoch nicht aufgezeigt und einem bestimmten Schlafstadium zugeordnet werden (Follenius *et al.*, 1992).

Umgekehrt konnte im Rahmen mehrerer Studien am Menschen durch eine intravenöse Gabe von Kortisol ein Anstieg des SWS und eine Reduktion des REM-Schlafes verursacht werden (Born *et al.*, 1991; Bohlhalter *et al.*, 1997; Friess *et al.*, 1994 und 2004). Friess *et al.* konnten 2004 durch eine pulsatile Gabe von Hydrokortison bei jungen gesunden Männern einen signifikanten Anstieg von Delta- und Theta-Wellen im Schlaf-EEG, vor allem in den ersten beiden Stunden des Schlafes, und einen Rückgang des REM-Schlafes aufzeigen. Zu den gleichen Ergebnissen kam bereits 1991 der deutsche Neurowissenschaftler J. Born. Er demonstrierte, dass die Effekte der applizierten Glukokortikoide auf SWS über MR und auf den REM-Schlaf über GR vermittelt werden (Born *et al.*, 1991). In Anbetracht dessen, dass während des Nachtschlafes trotz eines Anstieges der Kortisol-Konzentration der Anteil des Tiefschlafes abnimmt und der REM-Schlaf zunimmt, ist die Rolle und der Einfluss der Glukokortikoide auf die Regulation des Schlafes zu diskutieren und eher als modulierend einzustufen.

1.3 Kognition

Der Überbegriff Kognition (lat. *cognitio* – Kennenlernen, Erkennen) beschreibt die Gesamtheit zahlreicher geistiger Prozesse, die mit dem Wahrnehmen und Erkennen im Zusammenhang stehen (Duden Online). Dieser Begriff wird oft uneinheitlich definiert und verallgemeinert alle bewussten, aber auch unbewussten Denk- und Wahrnehmungsvorgänge, die für den Erwerb, Organisation, Speicherung und Anwendung von Wissen entscheidend sind (Online Lexikon für Psychologie und Pädagogik). Die kognitiven Fähigkeiten können nach Hayes (1995) in 5 Hauptbereiche untergliedert werden:

Wahrnehmung, Aufmerksamkeit, Denken, Gedächtnis und Sprache. Im folgenden Abschnitt wird das Augenmerk vor allem auf das Gedächtnis, die Fähigkeit gespeicherte Informationen zu erinnern, gelegt.

1.3.1 Arten des Gedächtnisses

So vielfältig die Informationen sind, die wir tagtäglich bewusst oder auch unbewusst aufnehmen, verarbeiten und zu einem gewissen Teil auch abspeichern, so kann auch das Gedächtnis in verschiedene Arten unterteilt werden. Grundsätzlich wird zwischen dem Kurzzeit- und Langzeitgedächtnis unterschieden. Die Abbildung 6 (Bartsch, 2015) zeigt eine schematische Darstellung der Gedächtnisarten.

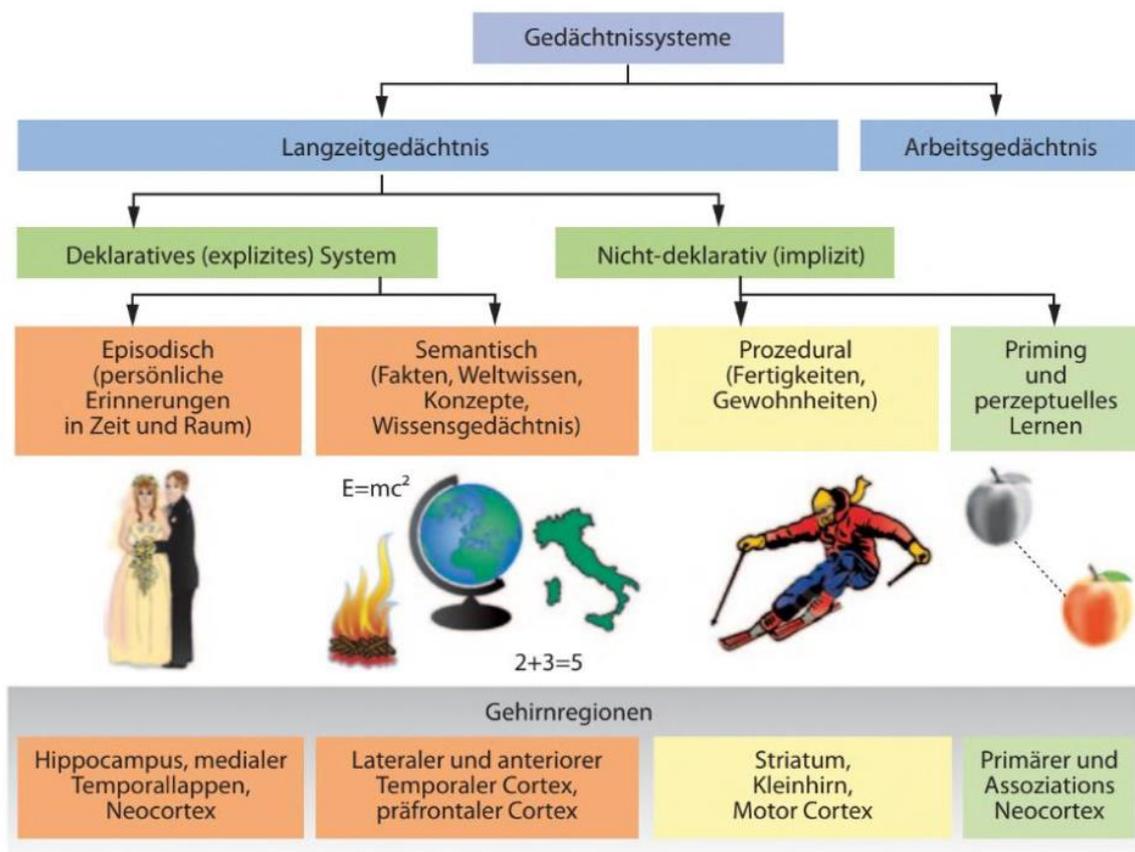


Abbildung 6. Arten des menschlichen Gedächtnisses (aus Bartsch, 2015, Abb. 2.1).

Nach dem Mehrkomponentenmodell nach Baddeley und Hitch (1994) ist das Arbeitsgedächtnis als eine Schnittstelle zwischen Kurz- und Langzeitgedächtnis für die zeitlich begrenzte Verarbeitung sowie Speicherung und Bereitstellung eingehender Informationen zuständig. Es setzt sich aus mehreren Speichersystemen zusammen. Diese

teilen sich nach Qualität der gespeicherten Information in eine phonologische Schleife, einem für die Verarbeitung von verbalen Informationen zuständigem Subsystem, sowie dem räumlich-visuellen Notizblock, der der Verarbeitung von visuell-räumlichen Informationen dient. Hier werden die aufgenommenen Sinneseindrücke zum ersten Mal im Gehirn kombiniert, verarbeitet und anschließend entweder gleich wiedergegeben oder zur langfristigen Konsolidierung an das Langzeitgedächtnis weitergeleitet. Es entspricht dem ersten Verarbeitungsschritt der Gedächtnisbildung, der sog. Enkodierung, und ist stark von der aktuellen Aufmerksamkeit geprägt. Wichtige kognitive Funktionen wie das Verstehen, Planen, Denken und die Integration verschiedener kombinierter Sinnesinformationen werden dem Arbeitsgedächtnis zugesprochen. Neuroanatomisch sind mehrere Strukturen und Faserverbindungen am Gedächtnissystem beteiligt. Das Kurzzeit- und Arbeitsgedächtnis werden Strukturen im dorsolateralen präfrontalen und im parietalen Kortex zugeordnet. Diese räumliche Verteilung lässt sich auch durch die enge Koppelung dieser beiden Gedächtnissysteme mit den Prozessen der Aufmerksamkeit und der Exekutive nachvollziehen.

Um die Informationen auch noch nach Tagen bis Jahrzehnte aufrufen und wiedergeben zu können, müssen diese im Langzeitgedächtnis gespeichert werden. Je nach Art der entsprechenden Information erfolgt die Konsolidierung in unterschiedlichen Hirnarealen (Abb. 6). Weiter unterteilt wird das Langzeitgedächtnis in das deklarative und nicht deklarative Gedächtnis (Squire, 1986). Zum deklarativen System gehört explizites Wissen, d.h. bewusst abrufbare Fakten oder Konzepte, die wiederum aus dem persönlichen Raum (episodisches Gedächtnis) oder dem Allgemeinwissen (semantisches Gedächtnis) entstammen. Zahlreiche weitere Unterformen können ebenfalls hier zugeordnet werden, z.B. das emotionale, prospektive oder autobiographische Gedächtnis. Im Gegensatz dazu werden im nicht deklarativen Gedächtnis Inhalte wie erlernte Fertigkeiten oder Abläufe (prozedurales Gedächtnis) und das sog. *Priming*, erleichtertes Wiedererkennen von Informationen, gespeichert. Diese laufen unbewusst ab und werden deshalb auch als implizit bezeichnet.

1.3.2 Glukokortikoide und Kognition

Einer der wichtigsten Hirnareale für die Gedächtnisbildung ist, neben dem zerebralen Kortex, der Hippocampus im Temporallappen des Großhirns. Dieser gehört zum limbischen System und bildet ein wichtiges Netzwerk aus zahlreichen neuronalen Verbindungen

zwischen der *Area entorhinalis* der Großhirnrinde und dem *Gyrus dentatus*, einer Region des Hippocampus mit hoher neuronaler Plastizität (McEwen, 1999). Hier werden bis ins Erwachsenenalter neue Neuronen gebildet und deren Verbindungen untereinander modelliert. Diese strukturelle Plastizität trägt erheblich zur Gedächtnisbildung bei und passt sich bei akutem oder chronischem Stress an (McEwen, 1999; Sousa *et al.*, 2000; Lisman und Otmakhova, 2001). Dabei sind Glukokortikoide wichtige Mediatoren während des strukturellen *Remodelings* des Hippocampus (McEwen und Chattarji, 2004).

Glukokortikoid-Rezeptoren (GR), die in allen Hirnarealen zu finden sind, weisen im Hippocampus eine besonders hohe Dichte auf und reagieren hier besonders empfindlich auf Steroidhormone (Newcomer *et al.*, 1994; Akil *et al.*, 1999). GR werden von den GCs jedoch erst bei höheren Konzentrationen besetzt und bewirken im Hippocampus, beispielsweise bei Stress, eine verminderte Erregbarkeit hippocampaler Neurone, was zu einer Beeinträchtigung des deklarativen Gedächtnisses führt (de Kloet *et al.*, 1993; Kirschbaum *et al.*, 1996). Insbesondere in den frühen Schlafphasen scheint die hier unter physiologischen Bedingungen fehlende Besetzung der GR eine entscheidende Rolle für die Gedächtniskonsolidierung zu haben (Born und Fehm, 1998; de Quervain *et al.*, 2000). Auch das starke Vorkommen von MR in limbischen und hippocampalen Regionen ist hinweisend für die Bedeutung der GCs in der Gedächtnisbildung.

Anhand zahlreicher experimenteller Versuche konnten auch Effekte der Glukokortikoide auf die Neurogenese demonstriert werden. In Abhängigkeit von den aktuellen Umweltbedingungen oder der Aktivität, die zu einem Anstieg der Glukokortikoide führen, können die freigesetzten GCs die Neurogenese sowohl aktivieren als auch hemmen (Mirescu und Gould, 2006). So zeigt beispielsweise ein dauerhaft erhöhter GC-Spiegel beim chronischen Stress eine hemmende Wirkung auf die neuronale Zellproliferation. Hingegen fördert eine Erhöhung der GCs während einer sportlichen Aktivität die Neurogenese (Pham *et al.*, 2003; Mirescu und Gould, 2006). Es wird somit deutlich, dass die Wirkung der GCs auf die Neurogenese durch weitere Faktoren modelliert wird. Unter anderem erfolgt dies über NMDA-Rezeptoren (N-Methyl-D-Asparaginsäure), deren Aktivierung durch Glutamat einen negativen Effekt auf die GC-vermittelte Wirkung auf die neuronale Plastizität hat (Cameron *et al.*, 1998). Die unterschiedlichen situationsabhängigen Auswirkungen der Glukokortikoide auf die Neurone im *Gyrus dentatus* implizieren, dass deren Einfluss auf das Gedächtnis und Lernvorgänge ebenfalls von dem aktuellen Aktivitätszustand abhängt (Joels *et al.*, 2006).

1.3.3 Zirkadiane Regulation der Kognition

Ein weiterer wichtiger Einflussfaktor auf die Kognition ist die Tageszeit. So zeigten schon frühe Untersuchungen von Davis *et al.* (1973), dass die Gedächtnisleistung von der Tageszeit abhängig ist und diese auch ohne externe *Zeitgeber* tagesrhythmisch variiert, d.h. endogen vermittelt ist (Wright *et al.*, 2002; Snider *et al.*, 2016). Auf molekularer Ebene konnten in den an der Gedächtnisbildung beteiligten Regionen zirkadiane Uhrengene nachgewiesen werden. Diese nehmen Einfluss auf die Kognition und die neuronale Plastizität (Jilg *et al.*, 2010; Chun *et al.*, 2015). Ein Zusammenhang zwischen dem Uhrenwerk und Kognition wird vor allem bei Erkrankungen wie Morbus Alzheimer oder dem *Jetlag*-Syndrom deutlich. Chronischer *Jetlag* führt bei den Betroffenen zu deutlichen kognitiven Defiziten, was auf die Phasenverschiebung endogener zirkadianer Rhythmen und eine Desynchronisation dieser mit der Umwelt zurückzuführen ist (Cho *et al.*, 2000). Auch bei neurodegenerativen Erkrankungen wie Morbus Alzheimer oder Parkinson wird eine gewisse Komorbidität der Veränderungen des zirkadianen Uhrenwerkes und der Kognition beschrieben (Musiek, 2015).

Die Phasenlage der molekularen Oszillatoren der entsprechenden Hirnareale wird von dem Haupttaktgeber SCN, zum einen über neuronale Verbindungen, aber auch hormonell über eine zirkadiane Steuerung der Glukokortikoid-Sekretion, reguliert (Conway-Campbell *et al.*, 2010; Woodruff *et al.*, 2016). Dabei variiert die Phasenlage zwischen den einzelnen Hirnregionen. So ist die *Per1*-Genexpression im Hippocampus und im präfrontalen Kortex spät in der Nacht am höchsten. In der Amygdala, einem paarigen Kerngebiet im medialen Temporallappen, erreicht sie ein Maximum am späten Tag (Chun *et al.*, 2015). Untersuchungen an *Bmal1*- und *Per1-Knockout*-Mäusen zeigten Defizite bei der Angstkonditionierung und im Arbeitsgedächtnis (Wardlaw *et al.*, 2014; Rawashdeh *et al.*, 2014).

In zahlreichen weiteren Studien an genmanipulierten Mäusen konnten unterschiedliche molekulare Modulatoren, die in die zentrale transkriptionell-translatorische Rückkopplungsschleife direkt oder indirekt eingreifen, und so die synaptische Plastizität und Kognition tagesabhängig regulieren, nachgewiesen werden. Dazu zählen unter anderem die Kinasen ERK/ MAPK (*extracellular regulated protein kinase/ mitogen activated protein kinase*) und GSK3 β (*glycogen synthase kinase 3 beta*; Adams und Sweatt, 2002; Besing *et al.*, 2017). Der ERK/ MAPK-Signalweg ist ein mehrstufiger Signaltransduktionsweg zur Regulation der Zelldifferenzierung und des Zellwachstums. Dieser kann, insbesondere im

SCN, durch Lichtsignale aktiviert werden und ist außerdem am lichtinduzierten *Entrainment* endogener Uhren beteiligt (Obrietan *et al.*, 1998; Butcher *et al.*, 2002). Über die Aktivierung des Translationsfaktors CREB (*cAMP responsive element binding protein*), der seinerseits das *Per1*-Gen induziert und so Einfluss auf die CLOCK/ BMAL1-Aktivität nimmt, ist die ERK/ MAP-Kinase an der zirkadianen Modulation der neuronalen Plastizität im Vorderhirn beteiligt (Travnickova-Bendova *et al.*, 2002). Die GSK3 β -Kinase hingegen fördert im Hippocampus durch Phosphorylierung den Abbau von BMAL1 und greift so direkt in die zentrale Rückkopplungsschleife des zirkadianen Systems ein (Sahar *et al.*, 2010; Besing *et al.*, 2017). Ein besseres Verständnis einzelner Regulationswege der Kognition auf molekularer Ebene und das Zusammenspiel mit dem zirkadianen Uhrenwerk ermöglicht in der Medizin die Entwicklung neuer Therapieansätze und Medikamente in der Behandlung von kognitiven Defiziten diverser Erkrankungen wie Morbus Alzheimer oder Parkinson.

1.4 Fragestellung

Aus den vorangegangenen Kapiteln geht hervor, dass zirkadiane Rhythmen wichtiger Bestandteil vieler physiologische Prozesse beim Menschen sind. Sie ermöglichen es, uns an die ständig wechselnden Umweltbedingungen anzupassen. Abgesehen vom Schlaf-Wach-Rhythmus, dem wohl bekanntesten zirkadianen Rhythmus beim Menschen, weisen viele endogene Stoffwechselprozesse, der Hormonhaushalt sowie das Verhalten und die Kognition eine tagesabhängige Oszillation auf. Gesteuert werden diese Rhythmen von inneren Uhren, gewebespezifischen Oszillatoren aus Uhrengenen und -proteinen, die nahezu in allen Geweben vorkommen. Kommt es beispielsweise durch Interkontinentalflüge oder Schichtarbeit zu einer Phasenverschiebung endogener Rhythmen gegenüber der äußeren Zeit, desynchronisieren innere Uhren. Dies führt sowohl kurz- als auch langfristig zu gravierenden gesundheitlichen Folgen. Schlafstörungen, Depressionen, Beeinträchtigung der kognitiven Leistung, aber auch kardiovaskuläre Erkrankungen und ein erhöhtes Krebsrisiko sind einige der hierfür genannten Beispiele mit einer zunehmenden Prävalenz, die die Medizin vor neue Herausforderungen in der Behandlung stellt. Ein möglicher Therapieansatz stellt hier die Resynchronisation endogener Rhythmen durch das Einstellen innerer Uhren dar.

Diese Arbeit basiert auf den Studienergebnissen von Kießling und Oster *et al.* (2010 und 2011), die durch eine Manipulation der Nebennieren-Uhr bei Mäusen – und somit der zirkadianen Glukokortikoid-Sekretion – eine Synchronisation endogener Uhren erzielen

konnten. Dabei bewirkte die Injektion des Glukokortikoidsynthese-Inhibitors Metyrapon zu unterschiedlichen Tageszeiten eine Phasenverschiebung innerer Uhren. Die Effekte von Metyrapon auf die zirkadiane Rhythmik des Schlaf-Wach-Rhythmus und der Kognition beim Menschen stehen im Fokus dieser Arbeit. Der Einfluss der Metyrapon-Gabe auf die endokrine Tagesrhythmik der Hormone – Kortisol, Melatonin, Wachstumshormone, Insulin und C-Peptid – mit deren Auswirkungen auf den Energiestoffwechsel – sind Bestandteil einer parallel angefertigten Promotionsarbeit. Sie werden hier deshalb nicht näher behandelt (Schöpfer, 2017). Gemeinsam haben beide Arbeiten den Bezug auf den Kortisol-Rhythmus als wichtige Einflussgröße und Zielparameter der Metyrapon-Gabe. Im Gegensatz zu den Analysen des Nachtschlafs mithilfe einer zweifaktoriellen Varianzanalyse (ANOVA) mit Betrachtung von Gesamtschlafdauer, Schlafqualität und Dauer der einzelnen Schlafstadien unter Metyrapon- vs. Placebo-Gabe – wie in der Arbeit von Frau Schöpfer – fokussiert die vorliegende Arbeit auf eine zeitabhängige Untersuchung des Nachtschlafes mithilfe einer Rhythmusanalyse und Erhebung diskriminierender zirkadianer Parameter – Amplitude und Phase. Diese werden ebenfalls für die Bereiche Müdigkeit, Kognition und Vitalparameter erhoben und untereinander verglichen.

Somit soll überprüft werden, ob eine morgendliche Einnahme von je 250 mg Metyrapon an drei aufeinanderfolgenden Tagen bei gesunden Männern:

1. zu einer Phasenverschiebung des zirkadianen Schlaf-Wach-Rhythmus mit Veränderung der zirkadianen Parameter Amplitude und Phase führt.
2. die Vigilanz und subjektive Müdigkeit bzw. Konzentration direkt oder indirekt, d.h. über einen Einfluss auf den Schlaf, beeinträchtigt und ihre Rhythmik verändert.
3. Auswirkungen auf die Kognition, insbesondere das deklarative und Arbeitsgedächtnis, und dessen Tagesrhythmik hat.
4. zu einer Veränderung der zirkadianen Parameter Amplitude und Phase aller erhobener Parameter führt und diese untereinander spezifische Abhängigkeiten aufweisen.

2 Material und Methoden

2.1 Versuchspersonen

An der Studie nahmen insgesamt 28 gesunde, normalgewichtige Männer (BMI 19-25 kg/m²) im Alter von 18 bis 35 Jahren teil. Während der Versuchsdurchführung wurden 7 Teilnehmer vorzeitig – aufgrund von schlechtem Nachtschlaf, technischen Problemen bei der Erhebung von Daten oder mangelnder Compliance – aus der Studie ausgeschlossen. Es wurden somit die Daten von 21 Probanden berücksichtigt. Um mögliche Einflüsse von zyklusabhängigen, hormonellen Schwankungen zu vermeiden, wurden Frauen in diese Studie nicht eingebunden.

Die Rekrutierung der Probanden erfolgte mittels eines Aushanges an der Universität zu Lübeck, einer Zeitungsannonce und aus dem Freundes- und Bekanntenkreis. Eine Vorauswahl der Interessenten fand telefonisch statt. Bei allen Probanden bestanden kein Nikotin-, Drogen- bzw. Alkoholabusus oder regelmäßige Medikamenteneinnahme. Ein regelmäßiger Schlaf-Wach-Rhythmus und das Fehlen von endokrinen – v.a. Diabetes mellitus und Schilddrüsenstoffwechselstörungen – sowie akuten Erkrankungen waren Voraussetzungen für die Studienteilnahme. Im Rahmen der Voruntersuchung (V0; 7-14 Tage vor dem Beginn der Studie) mit ausführlicher Anamneseerhebung, körperlicher Untersuchung und venöser Nüchtern-Blutentnahme (kleines Blutbild, K⁺, Kreatinin, GFR, Glukose, Cholesterin gesamt, Triglyceride, GOT, GPT, γ -GT, Lipase, CRP, TSH) wurden akute und chronische Erkrankungen sowie metabolische und psychiatrische Krankheiten ausgeschlossen. Ferner wurden arterieller Hypertonus (RR > 150/ 90 mmHg), Fettstoffwechselstörungen, eingeschränkte Nieren- oder Leberfunktion, sowie positive Familienanamnese für Morbus Cushing oder Morbus Addison ausgeschlossen. Die Schlafgewohnheiten wurden dokumentiert und eine Arbeit im Schichtdienst ausgeschlossen. Mögliche Allergien gegen die Studienmedikation Metyrapon wurden erfragt, sowie die parallele Teilnahme an anderen Studien mit gleichem oder ähnlichem Studiendesign und kognitiven Tests berücksichtigt. Zusätzlich erfolgte eine Bestimmung des Wasser- und Fettkörpergehaltes mit Hilfe der bioelektrischen Impedanz-Analyse (BIA).

Das Studienprotokoll wurde von der Ethikkommission der Universität zu Lübeck am 15.05.2013 (Aktenzeichen: 13-049) genehmigt. Alle Probanden gaben nach mündlicher und schriftlicher Aufklärung über den Studienablauf und die möglichen Nebenwirkungen des Studienmedikamentes Metyrapon vor der Studienteilnahme eine schriftliche

Einverständniserklärung ab. Die Teilnahme an der Studie wurde nach vollständigem Abschluss mit einer Aufwandsentschädigung von 200 € vergütet.

Tabelle 1. Ein- und Ausschlusskriterien.

	Einschlusskriterien	Ausschlusskriterien
Einverständniserklärung	unterschrieben und datiert	keine
Geschlecht	männlich	weiblich
Alter (Jahre)	18-35	< 18; > 35
BMI (kg/m ²)	19-25	< 19; > 25
Konsum	kein	Medikamente, Nikotin, Drogen, Alkohol
Medikation	keine, > 4 Wochen	regelmäßige oder innerhalb der letzten 4 Wochen
Labor (kleines Blutbild, K ⁺ , Kreatinin, GFR, Glukose, Cholesterin gesamt, Triglyceride, GOT, GPT, y-GT, Lipase, CRP, TSH)	normwertig ¹	pathologische Werte
Körperliche Untersuchung (Herz, Lunge, Abdomen, Pulsstatus, neurologischer Status)	unauffällig	pathologischer Befund
Blutdruck (mmHg)	< 150/ 90	> 150/ 90
Akute Erkrankungen, Verletzungen, Operationen oder Krankenhausaufenthalte	keine	alle (Hirn, Herz, Lunge, Niere, Leber, Pankreas, Nebenniere, Gastrointestinaltrakt)
Chronische, metabolische oder endokrine Erkrankungen (Eigen- oder Familienanamnese)	keine	Diabetes mellitus Schilddrüsenfunktionsstörungen Morbus Addison Morbus Cushing eingeschränkte Nieren- oder Leberfunktion Fettstoffwechselstörungen andere Organsysteme
Allergien	saisonale (Heuschnupfen) und sonstige ohne regelmäßige Medikation	Metyrapon oder Placebo
Psychische Erkrankungen	keine	akute und chronische
Schlaf-Wach-Rhythmus	regelrecht (Nachtschlaf zwischen 22-10 Uhr)	Schlafstörungen, stark von der Norm abweichende Schlafgewohnheiten, Schichtarbeit, Nachtschichten innerhalb der letzten 6 Wochen
Leistungssport	kein	übermäßig
Blutspende	> 4 Wochen	innerhalb der letzten 4 Wochen
Essgewohnheiten	normal, vegetarisch, vegan	Essstörungen
Studienteilnahme	abgeschlossene Studien und anderes Studiendesign/ Tests	parallele Teilnahme, Studien mit ähnlichem Studiendesign/ Tests

Ein- und Ausschlusskriterien für die Studienteilnahme. 1. Zentrallabor Universitätsklinikum Schleswig-Holstein Lübeck; BMI – *body mass index*; K⁺ - Kalium; GFR - Glomeruläre Filtrationsrate; GOT - Glutamat-Oxalacetat-Transaminase; GPT - Glutamat-Pyruvat-Transaminase; y-GT - Gamma-Glutamyl-Transferase, CRP - C-reaktives Protein, TSH - Thyreoidea-stimulierendes Hormon.

2.2 Studiendesign

Bei den durchgeführten Experimenten handelte es sich um eine placebokontrollierte, *within-person*- und doppelblinde Studie. Alle Teilnehmer absolvierten – nach erfolgreicher Telefon-Vorauswahl und Voruntersuchung (V0) – eine Probenacht (V1) und zwei Testphasen (V2 und V3) im Schlaflabor, wobei sie nach vorheriger Randomisierung jeweils zu entweder V2 oder V3 das Medikament (Metyrapon, Details siehe Kap. 2.4) und zur anderen Phase das Placebo erhielten. Sowohl die Probanden, als auch die Versuchsleiter waren während der gesamten Studienphase verblindet. Die Versuche erfolgten in jeweils einem oder parallel in den beiden identisch eingerichteten, schall- und lichtisolierten Schlaflaboren im Institut für Neuroendokrinologie an der Universität zu Lübeck. Dabei wurde darauf geachtet, dass die Probanden die Phasen V2 und V3 immer im selben Labor durchführten.

Die Probenacht diente der Eingewöhnung der Probanden im Schlaflabor und zur Beurteilung ihrer Schlafqualität mittels polysomnographischer Schlafregistrierung (EEG, EOG und EMG). Die Versuchspersonen trafen um 21:30 Uhr im Institut ein und wurden für das Schlaf-EEG (Kap. 2.6.1) vorbereitet. Um 23:00 Uhr wurde das Licht gelöscht und die Schlaferfassung begonnen. Diese wurde bis 7:00 Uhr am nächsten Morgen vorgenommen und anschließend die Schlafqualität der Teilnehmer beurteilt.

Nach erfolgreicher Eingewöhnung im Schlaflabor wurden die Probanden auf die Testphasen V2 und V3 vorbereitet. Sie erhielten 7 Tage vor dem jeweiligen Versuch ein Schlaftagebuch, in dem sie bis zum Beginn von V2/V3 ihren Schlaf-Wach-Rhythmus und besondere Vorkommnisse notierten. Zur objektiven Kontrolle der Schlaf-Wach-Rhythmik legten die Teilnehmer zusätzlich ab dem Tag -3 bis zum Ende des jeweiligen Versuches eine Actiwatch an. In den Nächten vor den Versuchstagen galt es auf ausreichend Schlaf ohne Phasenverschiebungen (z.B. durch Nachtwachen) zu achten. An den Tagen -2, -1 und am Tag der jeweiligen Sitzung (Tag 0) nahmen die Probanden um 10 Uhr je eine Kapsel mit dem Studienmedikament Metyrapon oder Placebo ein. Zwischen den beiden Sitzungen wurde eine *Wash-out*-Phase des Studienmedikamentes von mindestens zwei Wochen eingehalten. Der maximale Abstand zwischen V2 und V3 sollte idealerweise nicht länger als sechs Wochen betragen, um die Vergleichbarkeit innerhalb der Probanden zu optimieren und äußere Einflüsse durch Jahreszeitenwechsel zu minimieren.

2.3 Versuchsablauf

Die beiden Testphasen V2 und V3 waren in ihrem Aufbau identisch. Der Unterschied bestand nur in der Einnahme von Placebo oder Metyrapon. Insgesamt dauerten die einzelnen Versuchstage jeweils 25 Stunden. Die Probanden kamen möglichst anstrengungsarm um 15 Uhr in das Schlaflabor. Es erfolgte zunächst eine kurze Anamnese bezüglich besonderer Vorkommnisse in den letzten Tagen, wie z.B. Schlafstörungen, emotionaler oder körperlicher Stress oder andere Auffälligkeiten im Zusammenhang mit der Medikamenteneinnahme. Weiterhin wurde das Wohlbefinden, die Zusammensetzung und der Zeitpunkt der letzten Mahlzeit sowie Konsum von Alkohol oder Koffein in den letzten 24 Stunden, was am Versuchstag untersagt war, erfragt. Den Probanden wurden die Verhaltensregeln während der Versuche, wie geringe körperliche Aktivität, Vermeiden von emotionalem Stress und das Tragen von Sonnenbrillen beim Gang zur Toilette, erläutert. Während der gesamten Zeit durften die Teilnehmer das Schlaflabor nicht verlassen, ausgenommen die Toilettengänge, und mussten sich hauptsächlich im Bett bei 60° Oberkörperhochlagerung aufhalten. Alle elektronischen Geräte wurden eingesammelt, und es durfte nur Literatur ohne besonderen emotionalen Einfluss auf die Teilnehmer konsumiert werden. All diese Maßnahmen sollten mögliche Einflüsse auf den Hormonstoffwechsel, v.a. den Kortisol-Stoffwechsel, vermeiden helfen. Um standardisierte und kontrollierbare Lichtverhältnisse zu schaffen, wurde das Schlaflabor abgedunkelt und eine Stehlampe (35 Watt, 370 Lumen) als alleinige Lichtquelle an vorgegebener Position platziert, sodass eine gleichmäßige Beleuchtungsintensität von unter 20 Lux geschaffen wurde.

Anschließend wurde ein peripherer Venenverweilkatheter (PVK, 20 G), vorzugsweise am linken Arm, für die Blutentnahmen angelegt und eine Ringer-Lösung (ca. 60 ml/ Stunde) für die gesamte Zeit einer Sitzung über ein handelsübliches Infusionssystem mit 3-Wege-Hahn und einer 10 cm-Verlängerung zur besseren Durchgängigkeit des PVK infundiert. Die Blutentnahmen erfolgten stündlich von 16:00 bis 15:00 Uhr des Folgetages zur vollen Stunde (je ca. 10 ml Blut; insgesamt 24 Proben = 240 ml). In der Nacht wurde das Blut aus einem angrenzenden Raum über eine druckfeste Verlängerung durch eine schallisolierte Öffnung in der Wand entnommen, um den Nachtschlaf der Probanden nicht zu stören. Die Blutentnahmen dienten der Analyse von Effekten von Metyrapon auf die zirkadianen Rhythmen von Hormonen wie Kortisol, ACTH, Melatonin, Serotonin und Prolaktin. Diese Messungen sind Bestandteil einer weiteren Dissertation und sollen hier nicht näher erläutert werden (Schöpfer, 2017). Lediglich die Bestimmung der Kortisol-Konzentration im Serum

fließt als wichtiger Zielparameter der Metyrapon-Gabe in diese Arbeit ein und wird im Kapitel 2.5 und 3.1 behandelt.

Von 15:00 bis 23:00 Uhr und am folgenden Tag von 7:00 bis 15:00 Uhr wurden stündlich Vitalparameter (arterieller Blutdruck und Puls) nach Riva-Rocci und Korotkoff (Riva-Rocci, 1896; Korotkoff, 1905) gemessen und die Befindlichkeit mittels der Tests Stanford-Schläfrigkeits-Skala (SSS; Hoddes *et al.*, 1972), Visuelle Analogskala (VAS; Hayes und Patterson, 1921) und Mehrdimensionaler Befindlichkeitsfragebogen (MDBF; Steyer *et al.*, 1997) – ausgenommen die Zeitpunkte 23:00 und 7:00 Uhr – erfasst. Kognitive Tests – Wortliste (Hallschmid *et al.*, 2008), Regensburger Wortflüssigkeits-Test (RWT; Aschenbrenner *et al.*, 2001), Psychomotorischer Vigilanztest (PVT; Dinges und Powell, 1985) und *N-Back Task* (Kirchner, 1958) – wurden im 2-3-stündlichen Abstand durchgeführt (insgesamt 6 Mal). Den genauen Zeitpunkt entnehmen Sie bitte der schematischen Darstellung in Abbildung 7. Von 23:00 bis 7:00 Uhr wurde der Nachtschlaf mittels EEG-, EOG- und EMG-Elektroden aufgezeichnet. Die Probanden bekamen gegen 18:30 Uhr sowie um 8:30 Uhr und um 12:30 Uhr des Folgetages ein standardisiertes Essen aus der Küche des Universitätsklinikums Schleswig-Holstein in Lübeck. Die Versuchstage endeten jeweils nach der letzten Blutentnahme um 15:00 Uhr des folgenden Tages.

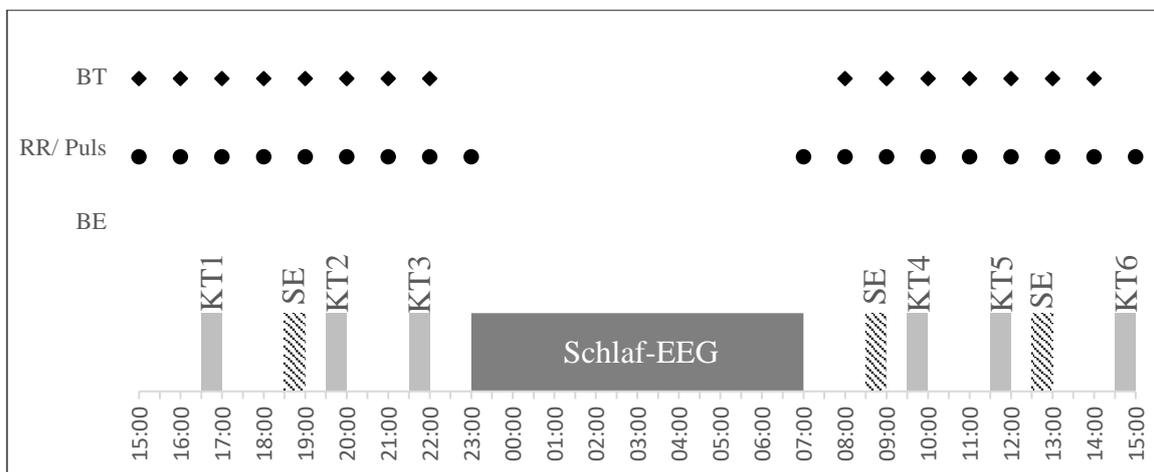


Abbildung 7. Versuchsablauf. Die Testphasen V2 und V3 dauerten insgesamt 24 Stunden. Um 15 Uhr trafen die Probanden im Schlaflabor ein und wurden auf den Versuch durch eine kurze Einweisung und Anlage einer peripheren Venenverweilkatheter für die Blutentnahme vorbereitet. Zur vollen Stunde erfolgte die Blutentnahme (BE). Zusätzlich wurden am Tag jede Stunde Befindlichkeitstests (BT) und die Messung des arteriellen Blutdruckes (RR) und Pulses durchgeführt. Kognitive Tests (KT1-KT6) fanden alle zwei bis drei Stunden statt und die Teilnehmer erhielten ein standardisiertes Essen (SE). In der Nacht von 23:00 bis 7:00 Uhr wurde ein Schlaf-EEG, EOG und EMG abgeleitet.

2.4 Studienmedikament

Als Testsubstanz wurde für die Studie das Metyrapon, Handelsname Metopiron® (Fachinformation des Arzneimittel-Kompodiums der Schweiz), verwendet. Metyrapon ist ein Inhibitor der Kortikosteroid-Biosynthese in der Nebennierenrinde. Dies erfolgt durch eine Hemmung der enzymatischen 11 β -Hydroxylierung von 11-Deoxykortisol und 11-Deoxykortikosteron und verhindert somit die Synthese von Kortisol und Aldosteron. Die Wirkung von Metyrapon ist von der Tageszeit der Verabreichung abhängig. Bei den durchgeführten Experimenten nahmen die Probanden nach vorheriger Randomisierung und Ausbalancierung innerhalb der Probanden an drei aufeinanderfolgenden Tagen jeweils um 10:00 Uhr eine Einzeldosis von 250 mg des Medikamentes Metyrapon oder des Placebos ein. Die Darreichungsform erfolgte oral in einer undurchsichtigen, roten Kapsel und enthielt 250 mg Metyrapon, 0,71 mg Natriumethyl-4-hydroxybenzoat und 0,35 mg Natriumpropyl-4-hydroxybenzoat. Die Bestandteile des Placebos waren, abgesehen von dem Wirkstoff Metyrapon, dem Verum identisch. Durch eine kurzzeitige Einnahme und eine moderate Einzeldosis der Testsubstanz wurden mögliche Nebenwirkungen oder Risiken für die Probanden weitestgehend vermieden und es waren vornehmlich die häufigsten Nebenwirkungen relevant. Nur vereinzelt wurde von den Versuchspersonen über Auffälligkeiten im Zusammenhang mit der Metyrapon-Einnahme, wie Konzentrationsstörungen oder Schwindel, berichtet.

Bei der dauerhaften Einnahme von Metyrapon sind folgende Risiken und Nebenwirkungen zu beachten (Fachinformation des Arzneimittel-Kompodiums der Schweiz): Häufige Nebenwirkungen (1-10%) wie Schwindel, Müdigkeit, Kopfschmerzen, Hypotonie, Übelkeit und Erbrechen. Seltene Nebenwirkungen (< 0,1%) wie Nebenniereninsuffizienz, verstärkter Haarwuchs, Hypertonie, Bauchschmerzen und allergische Hautreaktionen. Sehr seltene Nebenwirkungen (< 0,01 %) wie verringerte Leukozytenzahl und Haarausfall.

2.5 Kortisol

Zur Korrelation der nachfolgend beschriebenen zirkadianen Parameter wurden durch stündliche Blutentnahmen die Kortisol-Werte über einen Zeitraum von 24 Stunden unter beiden Versuchsbedingungen gemessen. Die Entnahme erfolgte mittels eines ungekühlten Serum-Röhrchens (S-Monovette 2,6 ml Z-Gel, Sarstedt, Nümbrecht, Deutschland) über ein 3-Wege-System mit Verlängerung (Kap. 2.3). Die Proben wurden zunächst für 20 Minuten

bei Raumtemperatur inkubiert und anschließend bei 4 °C und 4.000 Umdrehungen/ Minute für 10 Minuten zentrifugiert. Für die weitere Analyse wurden jeweils 500 µl des entstandenen Überstandes in ein Reagiergefäß (1,5 ml, transparent, Sarstedt, Nümbrecht, Deutschland) überführt und bei -20 °C eingefroren. Die Bestimmung von Kortisol erfolgte chemilumineszenz-immunometrisch im neuroendokrinen Labor der Universität zu Lübeck mithilfe von entsprechenden Testkits mit dem Immulite 2000-System von Siemens. Folgende analytische Kriterien galten dabei für die Bestimmung der Kortisol-Konzentration: Messbereich 28-1.380 nmol/l, analytische Sensitivität 5,5 nmol/l, Intraassay-Varianzkoeffizient 5,2-7,4 %, Gesamtassay-Varianzkoeffizient 6,8-9,4 %.

2.6 Schlaf

2.6.1 Polysomnographie

Zur Charakterisierung des Nachtschlafes mit seinen Schlafstadien und zur objektiven Beurteilung der Schlafqualität erfolgte eine polysomnographische Registrierung. Diese wurde mit Hilfe eines Elektroenzephalogramms (EEG), Elektrookulogramms (EOG) und Elektromyogramms (EMG) vorgenommen. Abgeleitet wurde das EEG mit Silber-Silberchlorid-Elektroden, die nach dem internationalen 10-20-System (Jasper, 1958) an den Positionen Cz, Fz, Pz, C3 und C4 angebracht und gegen die Referenzelektroden A1 und A2 am linken und rechten Mastoid verschaltet wurden. Das EOG wurde mit insgesamt vier Elektroden, je eine seitlich der temporalen Augenwinkel für das horizontale EOG und oberhalb und unterhalb des rechten Auges für das vertikale EOG abgeleitet. Zur Messung des Muskeltonus wurden die EMG-Elektroden beidseits am Kinn unterhalb der Mundwinkel befestigt. Die EOG- und EMG-Elektroden wurden jeweils gegeneinander verschaltet. Die Erdungs-Elektrode befand sich in der Mitte der Stirn. Die Aufzeichnung der elektrischen Signale geschah mit Hilfe des EEG-Gerätes Nihon Kohden Neurofax und des Programmes EEG 9000, Version 05-71. Der Hoch-/Tiefpassfilter war bei 0,159 Hz bzw. 35 Hz (Zeitkonstante 1 Sekunde) und die Abtastrate bei 200 Hz. Die Empfindlichkeit lag bei den EEG-Ableitungen bei 10 µV/mm, beim EMG bei 2 µV/mm und beim horizontalen und vertikalen EOG bei 20 µV/mm.

Die Elektroden wurden an der Kopfhaut mit einer leitenden adhäsiven Elektrodenpaste (EC2, Genuine Grass Electrode Cream, Natus Manufacturing Ltd., Gort, Co. Galway, Irland) und im Gesicht mit einer leitenden Elektrodencreme (Conductive Electrode Cream, Synapse,

Kustomer Kinetics, Arcadia, Kalifornien, USA) fixiert und zusätzlich mit EEG-Kleberingen (EEG-Kleberinge Hellige 20 mm x 8 mm) und Pflasterstreifen befestigt. Zur besseren Messung der elektrischen Aktivität und zum Herabsetzen des Widerstandes wurde die Haut mit einer alkoholhaltigen Desinfektionslösung (Cutasept F, Haut-Desinfizienz, Bode Chemie GmbH, Hamburg, Deutschland) und einer Peelingcreme (Everin, Spes medica, Italien) vorbehandelt. Nach abgeschlossener Positionierung aller Elektroden erfolgte eine Impedanzmessung (2 Electrodes Impedance Meter Mini-Imp, TEMEC Instruments B.V., Kerkrade) mit einem Ziel-Widerstand von möglichst unter 5 k Ω .

Für die Auswertung wurden die EEGs in den Ableitungen C3/A2 und C4/A1 nach den Kriterien von Rechtschaffen und Kales (1968) mit dem Programm SchlafAus 1.5.0.1 gescort und die Hauptschlafstadien Non-REM- und REM-Schlaf, sowie die einzelnen Schlafstadien Wach, S1, S2, S3, S4, SWS (*slow wave sleep*) und MT (*movement time*) bestimmt. Die weitere Analyse umfasste folgende Kriterien: Einschlafdauer (min), totale Schlafdauer (min), Schlaffeffizienz (%), Anzahl der Wachphasen, Anzahl der Aufwachperioden, S2-Latenz, SWS-Latenz, REM-Latenz und sowohl die totale Dauer in Minuten als auch der prozentuelle Anteil der einzelnen Schlafstadien. Diese wurden als „Mean \pm SEM“ (Mittelwert \pm Standardfehler des Mittelwertes, SEM - *standard error of the mean*) angegeben. Ein p-Wert von $p < 0.05$ gilt als signifikant.

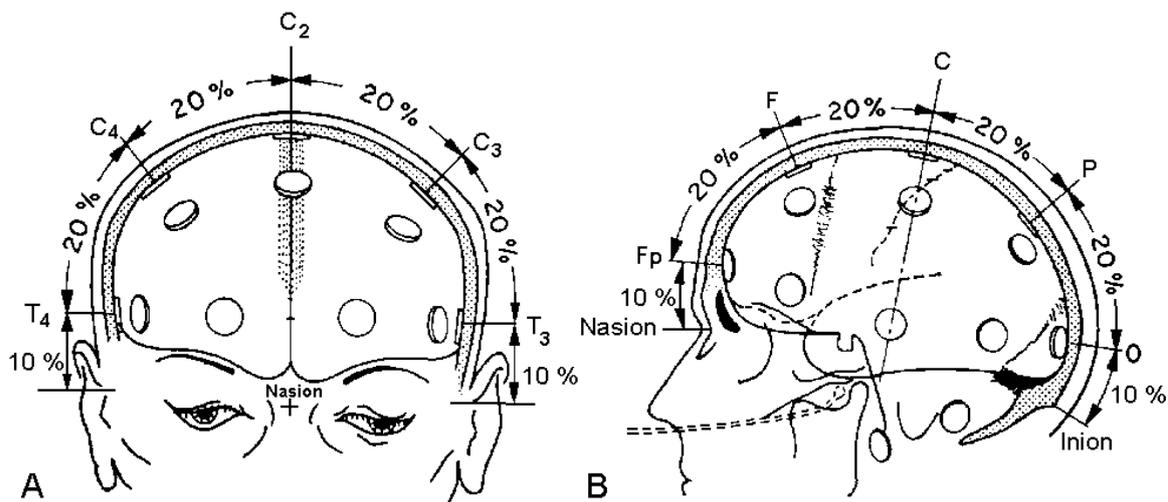


Abbildung 8. Internationales 10-20-System mit einer Ansicht von frontal (A) und von links auf den Kopf (B). C - central, P - parietal, F - frontal, Fp - frontal polar, O - occipital. Schematische Darstellung zur Bestimmung der einzelnen Positionen für die EEG-Elektroden nach dem 10-20-System. Für die Studie wurden Elektroden an folgenden Positionen angebracht: Cz (C), Fz (F), Pz (P), C3, C4 und A1/A2 auf Höhe des linken/rechten Mastoid als Referenzelektroden. Weiterhin wurde ein horizontales und vertikales EOG und EMG erfasst und eine Erdungselektrode in der Mitte der Stirn platziert (aus Jasper, 1958, Abb. 1 und 2).

2.6.2 Schlaftagebuch

Zur Dokumentation der Schlafzeiten und subjektiven Schlafqualität der Probanden in der Woche vor dem jeweiligen Versuchsbeginn erhielten diese vor jeder Testphase ein Schlaftagebuch. Hier galt es, über sieben Tage seine Einschlaf- und Aufwachzeiten, die Zeit des Zubettgehens und des Aufstehens, die Schlafqualität und das Wohlbefinden nach dem Aufstehen auf einer Skala von 1-5 (1 = sehr gut, 5 = sehr schlecht) und besondere Vorkommnisse – wie Nickerchen oder längere Wachperioden beim Einschlafen – einzutragen.

Bei der Auswertung wurde der jeweilige Chronotyp an freien und beschäftigten Tagen der Probanden für beide Versuchsbedingungen bestimmt. Dafür wurde die „*mid-sleep phase*“ (MSF; mittlere Uhrzeit zwischen Schlafbeginn und Schlafende) für die freien und beschäftigten Tage ermittelt. Je nach MSF unterscheidet man frühe (MSF < 3), normale (MSF 3-6) und späte (MSF > 6) Chronotypen. Des Weiteren wurden die Mittelwerte für die Schlafdauer (min), Schlafqualität und die morgendliche Befindlichkeit errechnet.

2.6.3 Aktigraphie

Zur Objektivierung und Kontrolle der körperlichen Aktivität und der Schlaf-Wach-Rhythmik der Teilnehmer trugen diese durchgängig an drei aufeinander folgenden Tagen vor dem Versuchsbeginn bis zum Ende des jeweiligen Versuches eine Actiwatch AW 7 (Cambridge Neurotechnology, Cambridge, UK). Das armbanduhnrähnliche, wasserfeste Gerät enthält im Inneren des Gehäuses Beschleunigungssensoren, die die Bewegungen des Trägers – vorzugsweise an der nicht dominanten Seite – registrieren und in einem festgelegten Intervall aufzeichnen. Für unsere Messung wurde ein Intervall von 1 Minute gewählt und der Beginn der Aufzeichnung auf 9 Uhr am Tag -3 festgelegt. Zudem verfügt die Actiwatch AW 7 über einen *Marker Button*, über dessen Betätigung die Probanden die Zeit des Zubettgehens und Aufstehens markieren konnten. Die aufgezeichneten Daten konnten mit Hilfe eines *Actiwatch USB Readers* und der *Actiwatch Activity and Sleep Analysis 7 Software* (Actiwatch Software Version 7.28 Beta, Cambridge Neurotechnology, Cambridge, UK) für die erste Analyse der Aktivität-Ruhe-Rhythmik graphisch in einem Actigramm visualisiert und weitere Aktivitäts- und Schlafparameter generiert werden. Für die Beurteilung der zirkadianen Rhythmik der Aktivität und der Schlaf-/Wachphasen, bestimmte man die 10 aktivsten (M10) und 5 inaktivsten Phasen (L5) eines 24h-Tages in 1-

Stunden Abständen und deren Beginn (M10-*onset* bzw. L5-*onset*). Die *Inter-daily stability* (IS) und die *Intra-daily variability* (IV) zeigten zum einen die Stabilität der Aktivitätsmuster zwischen den einzelnen Tagen (Werte zw. 0-1, 1 = höchste Stabilität) und zum anderen die Fragmentierung von aktiven und inaktiven Perioden innerhalb eines Tages (Werte zw. 0-2, von gering bis stark fragmentiert, Norm < 1). Es wurden zudem die Amplitude (AMP) und die relative Amplitude (RA, Werte zw. 0-1) als Differenz zwischen den aktivsten Phasen in der M10- und der L5-Periode berechnet (Van Someren *et al.*, 1999).

2.7 Kognition

Die kognitiven Tests dienten der Analyse und dem Vergleich der kognitiven Leistung sowohl unter den gesamten Teilnehmern als auch innerhalb der Probanden selbst (Metyrapon *vs.* Placebo) und der Darstellung des Einflusses von Metyrapon auf die Tagesrhythmik der Kognition. Folgende Tests wurden durchgeführt: Wortliste, Regensburger Wortflüssigkeits-Test (RWT), Psychomotorischer Vigilanztest (PVT) und *N-Back-Task*. Diese bildeten insgesamt sechs Testblöcke an den Versuchstagen V2 und V3 über den Tag verteilt. Die einzelnen Testverfahren wurden randomisiert und es wurde für jeden Probanden eine individuelle Reihenfolge festgelegt.

2.7.1 Wortliste

Bei den standardisierten Wortlisten (Hallschmid *et al.*, 2008) handelte es sich je um eine Reihe von ausgewählten Begriffen in einer festgelegten Abfolge zur Überprüfung der Merkfähigkeit der Probanden. Jede Liste besteht aus 10 emotionalen (Streit, Glück usw.) und 10 neutralen (Himmel, Laub usw.) Nomen. Die aufgezeichneten Begriffe wurden den Probanden zunächst vorgespielt, anschließend führten sie als Interferenz für eine Minute einen standardisierten Subtraktionstest durch und notierten daraufhin die gehörten Wörter innerhalb von fünf Minuten, unabhängig ihrer Reihenfolge und Bedeutung.

Mit Hilfe einzelner Wortlistendateien wurden separat emotionale und neutrale Begriffe gezählt, unterteilt in richtig und falsch erinnerte Wörter. Bei den falsch erinnerten Nomen trennte man zwischen solchen, die in den vorhergehenden Testungen der betreffenden Sitzung auf der Wortliste dargeboten worden waren (sog. Intrusionen) und solchen, die sich die Probanden spontan ausgedacht haben. Für die einzelnen Gruppen wurden Mittelwerte gebildet.

2.7.2 Regensburger Wortflüssigkeits-Test (RWT)

Der Regensburger Wortflüssigkeits-Test (Aschenbrenner *et al.*, 2001) zur Beurteilung des divergenten Denkens, der sog. Wortflüssigkeit, bestand aus 14 einzelnen normierten Untertests. Der hier verwendete Test überprüfte die formallexikalische (Buchstaben) Flüssigkeit. Die Probanden wurden dabei aufgefordert innerhalb von zwei Minuten alle Wörter mit einem vorgegebenen Anfangsbuchstaben aufzuschreiben. Es durften nur Begriffe genannt werden, die der deutschen Schriftsprache entlehnt sind. Eigennamen und Wörter mit dem selben Wortstamm wurden nicht gezählt. Es wurden folgende 12 Anfangsbuchstaben verwendet: K, D, V, A, E, T, P, G, H, B, M und R. Der Test ist an Hand einer deutschen Normstichprobe standardisiert. Daraus ergeben sich geschlechterspezifische Normwerte für verschiedene Altersgruppen für Erwachsene je nach Bildungsstand. Es wurden Mittelwerte der gewerteten Begriffe zu unterschiedlichen Zeitpunkten angegeben.

2.7.3 Psychomotorischer Vigilanztest (PVT)

Zur Messung der Aufmerksamkeit und Reaktionsfähigkeit wurde ein psychomotorischer Vigilanztest (Dinges und Powell, 1985) am Computer mit einer hausinternen Programmversion durchgeführt. Auf einem schwarzen Hintergrund leuchtete in einer zufälligen Abfolge und mit unterschiedlicher Latenzzeit jeweils auf der linken oder rechten Bildschirmhälfte ein roter Punkt auf. Die Probanden waren dabei aufgefordert in einem Zeitraum von fünf Minuten durch das schnellstmögliche Betätigen der Tasten „X“ für die linke und „M“ für die rechte Bildschirmhälfte zu reagieren. Die gemessene Reaktionszeit wurde auf dem Bildschirm angezeigt und am Ende der einzelnen Testblöcke wurden daraus die Mittelwerte ermittelt. Auch für die Anzahl der korrekten Reaktionen, die sog. Präzision, berechnete man Mittelwerte zu den einzelnen Testzeiten.

2.7.4 N-Back Task

Der *N-Back Task* (Kirchner, 1958; Gevins *et al.*, 1990) bestimmt computergestützt die Merkfähigkeit und die Konzentrationsfähigkeit der Versuchspersonen zu unterschiedlichen Tageszeiten und untersucht das Arbeitsgedächtnis. Er besteht aus kontinuierlichen Arbeitsgedächtnisaufgaben, wo den Probanden auf einem schwarzen Bildschirm jeweils nacheinander für einige Millisekunden einzelne Buchstaben präsentiert wurden. Alle sechs Testblöcke bestanden hier aus drei verschiedenen *N-Back*-Aufgaben, dem 1-, 2- und 3-*Back*-

Task. Die jeweilige Zahl, das „N“, definiert die Aufgabenstellung und bestimmt in welchem Abstand eine Reaktion – hier das Betätigen der Taste „1“ – auf einen Stimulus (Buchstabe) erfolgen soll. Die Aufgabe bestand also darin sich die Abfolge der einzelnen Buchstaben unabhängig von Groß- und Kleinschreibung möglichst genau zu merken und bei Wiederholung der einzelnen Buchstaben, die entweder direkt nacheinander (a-A-x) oder im Abstand von einem oder zwei anderen Buchstaben (a-X-a, A-x-x-a) auftraten, die Taste „1“ zu betätigen. Es erfolgte eine kontinuierliche Stimulusaufnahme (CMT, *continuous matching task*) und es galt, so viele richtige Paare wie möglich, entsprechend der jeweiligen Aufgabenstellung, zu erkennen. In der Auswertung wurden die Mittelwerte der richtig erkannten Buchstabenpaare getrennt für die jeweilige *N-Back*-Aufgabe und zusammenfassend für alle Aufgaben zu unterschiedlichen Zeitpunkten berechnet.

2.8 Befindlichkeit

Während der Versuchstage wurden tagsüber Befindlichkeitstests, bestehend auch der Stanford-Schläfrigkeitsskala (SSS), Visuellen Analogskala (VAS) und dem Mehrdimensionalen Befindlichkeitsfragebogen (MDBF) von den Probanden selbständig ausgefüllt. Diese erfassten den aktuellen Schläfrigkeitzzustand (SSS, MDBF, VAS), Gefühlslage (VAS) und Stimmung (MDBF) der Versuchsteilnehmer. Durch die Wiederholung dieser Tests im stündlichen Intervall (insgesamt je 15 Tests, 1-15) ließen sich mögliche zirkadiane Schwankungen der aufgeführten Parameter darstellen.

2.8.1 Stanford-Schläfrigkeitsskala (SSS)

Die Stanford-Schläfrigkeitsskala ist ein standardisierter Fragebogen für die Momentaufnahme der Tageschläfrigkeit. Dieser hat sich seit der Publikation im Jahr 1972 von Hoddes *et al.* bewährt und findet seinen Einsatz im klinischen und akademischen Alltag der Schlafmedizin. Es ist eine 7-stufige Skala mit Aussagen zur Müdigkeit und Aufmerksamkeit, von „1“ - „aktiv und munter, aufmerksam, hellwach“ bis „7“ - „fast schon träumend, kurz vor Schlafbeginn, Ringen um das Wachbleiben verloren“. Dabei wurde nur eine der sieben Stufen von den Probanden ausgewählt. Ermittelt wurden die Mittelwerte zu den unterschiedlichen Zeitpunkten.

2.8.2 Visuelle Analogskala (VAS)

Die Visuelle Analogskala (Hayes und Patterson, 1921) dient der subjektiven Messung und Abschätzung verschiedener Empfindungen und Gefühlslagen. Dabei setzten die Probanden auf einer Linie von 10 cm ein Kreuz von „die Aussage trifft überhaupt nicht“ bis „extrem“ zu. Für diese Studie wurden folgende Gefühle abgefragt: hungrig, satt, durstig, ängstlich, fröhlich, gestresst, schläfrig und konzentriert. Anschließend wurde die Länge der Strecke bis zu dem Kreuz in cm gemessen und die Mittelwerte für die einzelnen Gefühlslagen zu unterschiedlichen Zeiten bestimmt.

2.8.3 Mehrdimensionaler Befindlichkeitsfragebogen (MDBF)

Mit dem mehrdimensionalen Befindlichkeitsfragebogen (Steyer *et al.*, 1997) wurde die aktuelle, subjektive Stimmung der Versuchspersonen an Hand von drei bipolaren Dimensionen mit insgesamt 12 *Items* gemessen. Für die Studie wurde die MDBF-Kurzform A mit 12 *Items* des Fragebogens verwendet. Die drei abgefragten Dimensionen waren „Gute-Schlechte Stimmung“ (GS), „Wachheit-Müdigkeit“ (WM) und „Ruhe-Unruhe“ (RU), und diese wurden jeweils durch vier verschiedene positive und negative Adjektive, sog. *Items*, definiert. Die Untergruppe „GS“ setzte sich aus den *Items* „zufrieden, schlecht, gut und unwohl“ zusammen. „WM“ wurde durch die Adjektive „ausgeruht, schlapp, müde und munter“ bestimmt. Und die Gruppe „RU“ definierte sich durch die Begriffe „ruhelos, gelassen, unruhig und entspannt“. Dabei wurde die aktuelle Befindlichkeit jeweils auf einer fünfstufigen Skala von 1 „überhaupt nicht“ bis 5 „sehr“ angegeben.

Für die statistische Analyse ermittelte man Summenscores (zw. 4 und 20 Punkten) der einzelnen Dimensionen und deren Mittelwerte. Die Berechnung der „negativen“ Befindlichkeits-*Items* erfolgte invers (von 1=5 bis 5=1). Bei der Interpretation entsprach ein hoher Skalenwert (>12) einer positiven und ein niedriger Wert (<12) einer negativen Stimmungslage.

2.9 Standardisiertes Essen

In den beiden Testphasen V2 und V3 erhielten die Teilnehmer ein standardisiertes Abendessen (um 18:30 Uhr), Frühstück (um 8:30 Uhr) und Mittagessen (um 12:30 Uhr), zusammengestellt von der Klinikküche des Universitätsklinikums Lübeck.

Zwischenmahlzeiten waren untersagt, um einen Einfluss auf die Hormonausschüttung und den Stoffwechsel auszuschließen. Wasser durfte ad libitum getrunken werden. Für Veganer und Vegetarier wurde das Essen mit gleicher Energiemenge von insgesamt etwa 2200 kcal/9100 kJ mit 16 % Eiweiß, 26 % Fett und 58 % Kohlenhydraten angepasst.

Tabelle 2. Standardisiertes Essen.

Lebensmittel		Nährstoffgehalt			Energiegehalt	
Bezeichnung	Menge (g)	Eiweiß (g)	Fett (g)	KH (g)	kcal	kJoule
Abendessen						
Mischbrot	50	3,690	0,485	22,925	113	471
Vollkornbrötchen	60	5,005	0,922	25,411	131	551
Butter	15	0,086	12,375	0,150	112	462
Kasseler	30	6,120	1,200	0,300	37	54
Salami	20	3,600	3,400	0,200	46	190
Brotaufstrich	20	1,000	4,400	0,800	46	191
Tomaten	80	0,760	0,168	2,080	14	58
Banane	160	1,840	0,288	32,048	144	600
Summe	435	22,101	23,238	83,914	643	2.677
Frühstück						
Mischbrot	50	3,690	0,485	22,925	113	471
Vollkornbrötchen	60	5,005	0,922	25,411	131	551
Butter	15	0,086	12,375	0,150	112	462
Salami	20	3,600	3,400	0,200	46	190
Gouda	20	5,000	6,000	0,000	75	314
Erdbeerkonfitüre	50	0,150	0,050	29,500	121	512
Fruchtjoghurt	125	3,625	3,625	20,500	129	544
Summe	355	21,241	39,232	98,836	840	3.506
Mittagessen						
Bratwurst	100	13,200	30,600	0,200	328	1.358
Braune Sauce	100	0,532	2,675	7,000	54	228
Kartoffelbrei	200	2,784	2,176	22,272	120	508
Karottengemüse	150	0,900	4,200	6,450	75	309
Pudding	100	3,431	3,590	17,566	117	492
Summe	650	20,847	43,241	53,488	694	2.895
Gesamtsumme	1440	64,189	105,711	236,238	2.177	9.078

Zusammensetzung und Energiegehalt des standardisierten Essens. kcal - Energie in Kilokalorien; kJoule - Energie in Kilojoule; Eiweiß (Protein) in Gramm; Fett in Gramm; KH - Kohlenhydrate, resorbierbar in Gramm.

2.10 Bioelektrischen Impedanz-Analyse (BIA)

Im Rahmen der Voruntersuchungen erfolgte eine bioelektrische Impedanz-Analyse (BIA) mit Bestimmung des Körperwasser-, Fettgehaltes und der Muskelmasse zur Beurteilung des Ernährungs- und Trainingszustandes der Versuchspersonen. Die Messung wurde mit einem BIA-Gerät (Nutriguard M, Data Input, Pöcking, Deutschland) und 4 gekühlten

Spezialelektroden (BIANOSTIC AT® Elektroden, Data Input, Pöcking, Deutschland) vorgenommen. Die vier Klebeelektroden positionierte man am Handgelenk, auf Höhe des oberen Sprunggelenkes und jeweils proximal des 2. und 3. Interphalangealgelenkes der dominanten Hand und Fußes. Als Vorbereitung wurden diese Stellen mit einer alkoholhaltigen Desinfektionslösung behandelt und die Probanden dazu aufgefordert sich für 10 Minuten entspannt in Rückenlage zu begeben. Während der Messung sollte sowohl der Körperkontakt durch Spreizen der Beine in 45° voneinander und der Arme bis 30° vom Körper weg, als auch der Kontakt zu äußeren Metallgegenständen vermieden werden. Bei der Multifrequenzmessung (5, 50 und 100 KHz) mit dem BIA-Gerät wurden der Wasserwiderstand (R ; *resistance*), Zellwiderstand (X_c ; *reactance*), Phasenwinkel α , Prüfsumme s und Hand-/Fußwiderstand ($R_{\uparrow/\downarrow}$) für die Bestimmung weiterer Parameter abgeleitet. Mit der Auswertungssoftware NutriPlus© (Data Input, Pöcking, Deutschland) wurden die Werte für Körperfett (kg und %), das Gesamtkörperwasser (TBM = *total body water*; Summe aus extra- und intrazellulärem Wasser; ECW = *extra cellular water*; ICW = *intra cellular water*), Extrazelluläre Masse (ECM = *extra cellular mass*; Stützgewebe und extrazelluläre Flüssigkeit), Körperzellmasse (BCM = *body cellular mass*; Muskel- und Organmasse), ECM/ BCM-Index, Magermasse (Summe aus BCM und ECM), Zellanteil (%) und Grundumsatz (kcal) ermittelt.

2.11 Datenaufbereitung und Statistik

Die Analyse der gewonnenen Daten und deren grafische Darstellung erfolgte mithilfe des SPSS-Software-Pakets (Version 24, IBM, New York, New York, USA) und mit Microsoft Excel 2007 und 2016 (Microsoft Corporation, Redmond, Washington, USA). Zur Auswertung der Datensätze der verbundenen Stichproben (Metyrapon vs. Placebo) wurden – im Fall einer Normalverteilung – gepaarte t-Tests verwendet. Die Normalverteilung wurde mit Hilfe des Shapiro-Wilk- und Kolmogorov-Smirnov-Tests mit einer Signifikanzkorrektur nach Lilliefors überprüft. Bei nicht normalverteilten Messreihen wurde der nichtparametrische Wilcoxon-Vorzeichen-Rang-Test (2-seitig) durchgeführt.

Für die meisten gemessenen Merkmale wurden Messwiederholungen zu verschiedenen Zeitpunkten (stündlich oder alle 2-3 Stunden) durchgeführt. Deshalb erfolgte hier zusätzlich eine zweifaktorielle Varianzanalyse für Messwiederholungen (*two-way ANOVA, analysis of variance*). Diese prüft den Effekt durch die „Behandlung“ (Metyrapon vs. Placebo), den Effekt über die „Zeit“ (Messwiederholung) und die Wechselwirkung zwischen den beiden

Faktoren „Behandlung“ und „Zeit“ („Behandlung x Zeit“). Wichtige Voraussetzungen für die Berechnung ist die Normalverteilung und die Sphärizität (Varianzhomogenität und Homogenität der Korrelationen) der Messreihen. Mit dem Mauchly-Test wurde die Sphärizität überprüft. War diese nicht gegeben ($p < 0,05$), wurde die Signifikanz der Effekte mit Hilfe der Tests für Innersubjekteffekte mit einer Greenhouse-Geisser-Korrektur getestet. Zum besseren Vergleich und zur übersichtlichen grafischen Darstellung der Ergebnisse wurden ergänzend die einzelnen Werte an die *Baseline* (BL; Mittelwerte der Messungen 1 und 2 als Grundlinienwerte) der Probanden angepasst – durch Ermittlung der jeweiligen Differenz über den gesamten Zeitraum. Außerdem erfolgte eine Placebo-*Baseline*-Normalisierung auf die individualisierte Mittelung der Einzelwerte der Teilnehmer unter Placebo-Bedingungen über den gesamten Zeitraum in Prozent und als Differenz.

Für die Rhythmusanalyse und graphische Darstellung der zirkadianen Profile wurde die Software Prism (GraphPad Software, Version 9.0.2, San Diego, Kalifornien, USA) verwendet. Die Sinusfunktion, $y = \text{Baseline} + \text{Amplitude} \sin(\text{Frequenz } x + \text{Phasenverschiebung})$, wurde an die Daten angepasst und die Frequenz auf 1/24 Stunden festgelegt. Die explizite Bestimmung rhythmischer Parameter – Mittelwert (*Baseline*), Amplitude und Acrophase – und Prüfung auf statistische Signifikanz in allen drei Parametern zwischen der Metyrapon- und Placebo-Gruppe erfolgte bei unter beiden Bedingungen rhythmischen Datensätzen mit der Software CircaCompare (Parsons *et al.*, 2020) und bei einfach rhythmischen Daten mit CircWave (Version 1.4, Institut für Chronobiologie, Universität Groningen, Niederlande).

In der Korrelationsanalyse nach Pearson wurde der lineare Zusammenhang zwischen zwei Variablen mit Hilfe der Software Prism (GraphPad Software, Version 9.0.2, San Diego, Kalifornien, USA) untersucht. Die Qualität einer Korrelation wird durch den Korrelationskoeffizienten r angegeben und liegt bei einem Wert zwischen -1 und 1 (Cohen, 1988).

Alle Werte sind als Mittelwerte (MW) \pm Standardfehler des Mittelwertes (SEM, *standard error of the mean*) angegeben. Ein p-Wert $< 0,05$ wurde als signifikant, p-Werte zwischen 0,05 und 0,10 als statistischer Trend interpretiert.

3 Ergebnisse

3.1 Kortisol

Die stündlich gemessene Kortisol-Konzentration im Serum über 24 Stunden zeigte unter beiden Versuchsbedingungen eine typische zirkadiane Rhythmik mit einem Maximum in den Morgenstunden gegen 8 Uhr und einem Tiefpunkt um Mitternacht (Abb. 9). Die Messwerte variierten in Bezug auf die Tageszeit signifikant ($F(23, 460) = 100,163$, $p < 0,001$), ein signifikanter Effekt durch die Einnahme von Metyrapon konnte nicht festgestellt werden.

Eine ergänzende Rhythmusanalyse mit Bestimmung der zirkadianen Parameter, Amplitude und Phase ergab ebenfalls keine signifikante Phasenverschiebung bzw. einen signifikanten Einfluss des Studienmedikamentes auf die zirkadiane Rhythmik des Kortisol (Metyrapon vs. Placebo: AMP: 148,27 vs. 150,17 nmol/l, $p = 0,80$; Phase/ Maximum: 9,87 vs. 10,05 nmol/l, $p = 0,34$; Abb. 9; Tab. 6).

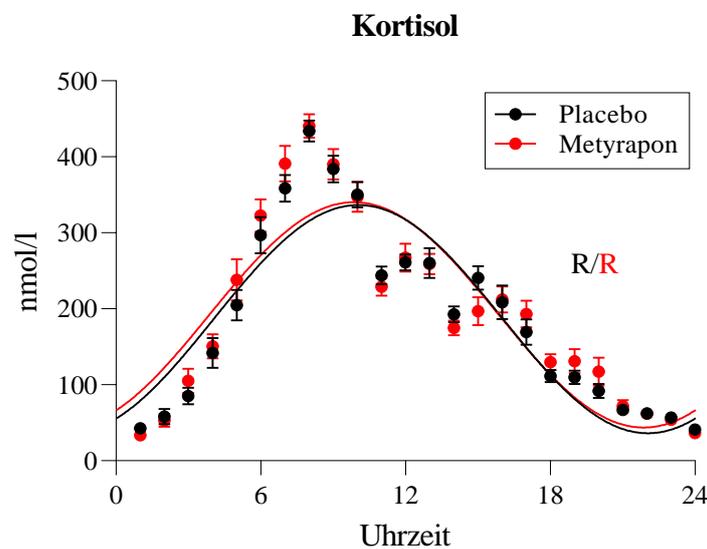


Abbildung 9. 24-Stunden-Profil der Kortisol-Konzentration im Serum aller 21 Probanden. Unter beiden Versuchsbedingungen besteht eine deutliche zirkadiane Rhythmizität mit einem typischen Kurvenverlauf und einem Maximum der Kortisol-Konzentration gegen 8 Uhr. Alle Werte sind als Mittelwerte (MW) \pm Standardfehler des Mittelwertes (SEM, *standard error of the mean*) angegeben. Metyrapon: $n = 21$, Placebo: $n = 21$. R – rhythmisch.

3.2 Schlaf

3.2.1 Zirkadianer Schlaf-Wach-Rhythmus

Die Analyse der mit Hilfe der Polysomnographie registrierten Schlafdaten für alle 21 eingeschlossenen Probanden (Tab. 3) zeigte sowohl in Bezug auf den zirkadianen Schlaf-Wach-Rhythmus (Schlafdauer, Einschlaf-, S2-, SWS- und REM-Latenz, Anzahl der Wachphasen und Aufwachperioden, Schlaf-Effizienz) als auch in der Schlafarchitektur (einzelne Schlafstadien in min und %, Tab. 3) keinen signifikanten Unterschied zwischen den Testphasen Metyrapon und Placebo ($p \geq 0,15$, Tab. 3).

Tabelle 3. Schlafdaten. Gesamtgruppe.

	Metyrapon MW \pm SEM	Placebo MW \pm SEM	Metyrapon vs. Placebo p-Wert
Zeit im Bett (min)	470,9 \pm 2,7	469,5 \pm 2,8	0,620
Einschlaf-Latenz (min)	9,7 \pm 1,3	11,1 \pm 1,6	0,485
Schlafdauer (min)	460,6 \pm 2,8	458,1 \pm 3,0	0,450
Schlaf-Effizienz (%)	97,8 \pm 0,3	97,6 \pm 0,3	0,632
Anzahl der Wachphasen	3,9 \pm 1,0	3,7 \pm 1,0	0,802
Anzahl der Aufwachperioden	80,3 \pm 6,0	80,9 \pm 5,9	0,910
S2-Latenz	4,1 \pm 0,7	4,4 \pm 0,4	0,721
SWS-Latenz	18,0 \pm 1,7	19,0 \pm 2,4	0,627
REM-Latenz	101,7 \pm 12,7	109,5 \pm 14,2	0,658
Schlafstadien, Zeit in min			
Wach	10,1 \pm 3,0	8,4 \pm 2,6	0,623
S1	43,5 \pm 5,3	43,1 \pm 3,7	0,922
S2	238,6 \pm 7,1	231,0 \pm 5,8	0,279
S3	48,7 \pm 3,2	53,5 \pm 3,6	0,197
S4	30,9 \pm 4,9	29,7 \pm 4,5	0,664
REM	88,4 \pm 6,6	92,2 \pm 3,8	0,502
MT	0,4 \pm 0,2	0,2 \pm 0,1	0,305
Non-REM	361,8 \pm 7,4	357,3 \pm 5,0	0,443
SWS	79,6 \pm 5,1	83,2 \pm 5,5	0,390
Schlafstadien, Zeit in %			
Wach	2,2 \pm 0,7	1,9 \pm 0,6	0,666
S1	9,4 \pm 1,1	9,4 \pm 0,8	0,996
S2	51,8 \pm 1,6	50,4 \pm 1,1	0,342
S3	10,6 \pm 0,7	11,7 \pm 0,8	0,155
S4	6,7 \pm 1,1	6,5 \pm 1,0	0,736
REM	19,2 \pm 1,4	20,1 \pm 0,8	0,460
MT	0,1 \pm 0,0	0,0 \pm 0,0	0,275
Non-REM	78,5 \pm 1,5	78,0 \pm 0,9	0,669
SWS	17,3 \pm 1,1	18,2 \pm 1,2	0,285

Einfluss von Metyrapon auf die Schlafarchitektur und den zirkadianen Schlaf-Wach-Rhythmus für alle 21 Versuchspersonen. Alle Werte sind als Mittelwerte (MW) \pm Standardfehler des Mittelwertes (SEM, *standard error of the mean*) angegeben. Ein p-Wert $< 0,05$ gilt als signifikant. S1-S4 – Schlafstadien 1-4 nach Rechtschaffen und Kales (1968); REM – REM-Schlaf (*rapid eye movement*); Non-REM – Non-REM-Schlaf (S1-S4); SWS – Deltaschlaf (*slow wave sleep*, S3 + S4); MT – Bewegungsphasen (*movement time*).

Unter Berücksichtigung der Schlafqualität und -effizienz einzelner Versuchsteilnehmer – schlechtes Einschlafen, generell sehr wenig Tiefschlaf oder ungewöhnlich frühe und sehr lange REM-Phase – wurden in einer gesonderten Analyse 5 Probanden aus der Wertung ausgeschlossen (Tab. 4). Somit ergab sich für die restlichen 16 Teilnehmer ein Trend für die Schlafstadien S2 – längere S2-Zeit (Metyrapon vs. Placebo: $244,3 \pm 6,9$ vs. $229,9 \pm 6,2$ min, $p = 0,067$) und S2-Anteil nach Metyrapon-Einnahme (Metyrapon vs. Placebo: $52,9 \pm 1,5$ vs. $50,2 \pm 1,2$ %, $p = 0,109$) – und S3 – tendenziell kürzere S3-Zeit für die Verum-Bedingungen (Metyrapon vs. Placebo: $49,1 \pm 3,1$ vs. $56,9 \pm 3,5$ min, $p = 0,056$). Der prozentuelle Anteil des Schlafstadiums S3 war hier sogar signifikant kleiner nach Einnahme von Metyrapon (Metyrapon vs. Placebo: $10,6 \pm 0,7$ vs. $12,4 \pm 0,8$ %, $p = 0,036$) und der Tiefschlaf somit geringfügig kürzer.

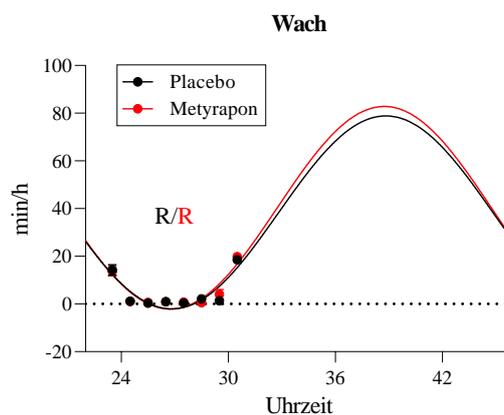
Tabelle 4. Schlafdaten. 16 Versuchspersonen.

	Metyrapon MW \pm SEM	Placebo MW \pm SEM	Metyrapon vs. Placebo p-Wert
Zeit im Bett (min)	472,0 \pm 2,8	467,4 \pm 3,1	0,155
Einschlaf-Latenz (min)	9,2 \pm 1,2	9,1 \pm 1,2	0,986
Schlafdauer (min)	462,3 \pm 2,9	458,1 \pm 3,4	0,255
Schlaf-Effizienz (%)	97,9 \pm 0,3	98,0 \pm 0,3	0,863
Anzahl der Wachphasen	2,9 \pm 0,9	2,8 \pm 0,9	0,911
Anzahl der Aufwachperioden	81,1 \pm 5,5	85,2 \pm 6,2	0,527
S2-Latenz	4,3 \pm 0,7	4,6 \pm 0,5	0,807
SWS-Latenz	17,0 \pm 1,3	16,6 \pm 0,7	0,764
REM-Latenz	111,9 \pm 124	119,8 \pm 15,3	0,730
Schlafstadien, Zeit in min			
Wach	5,4 \pm 1,6	6,4 \pm 2,4	0,728
S1	43,1 \pm 5,7	44,1 \pm 3,7	0,828
S2	244,3 \pm 6,9	229,9 \pm 6,2	0,067
S3	49,1 \pm 3,1	56,9 \pm 3,5	0,056
S4	33,8 \pm 4,9	31,5 \pm 4,2	0,513
REM	86,1 \pm 6,0	89,0 \pm 3,9	0,632
MT	0,5 \pm 0,2	0,3 \pm 0,1	0,371
Non-REM	370,3 \pm 6,7	362,4 \pm 5,0	0,199
SWS	82,9 \pm 4,8	88,4 \pm 5,3	0,215

Schlafstadien, Zeit in %			
Wach	1,2 ± 0,4	1,4 ± 0,5	0,685
S1	9,3 ± 1,2	9,6 ± 0,8	0,729
S2	52,9 ± 1,5	50,2 ± 1,2	0,109
S3	10,6 ± 0,7	12,4 ± 0,8	0,036
S4	7,3 ± 1,1	6,9 ± 0,9	0,575
REM	18,7 ± 1,3	19,4 ± 0,8	0,558
MT	0,1 ± 0,0	0,1 ± 0,0	0,333
Non-REM	80,1 ± 1,3	79,1 ± 0,9	0,450
SWS	17,9 ± 1,0	19,3 ± 1,2	0,133

Einfluss von Metyrapon auf die Schlafarchitektur und den zirkadianen Schlaf-Wach-Rhythmus für 16 Versuchspersonen. Fünf der Probanden wurden aufgrund von Ein- oder Durchschlafproblemen aus der Wertung ausgeschlossen. Alle Werte sind als Mittelwerte (MW) ± Standardfehler des Mittelwertes (SEM, *standard error of the mean*) angegeben. Ein p-Wert < 0,05 gilt als signifikant (grün). Rote Markierung ist ein statistischer Trend. S1-S4 – Schlafstadien 1-4 nach Rechtschaffen und Kales (1968); REM – REM-Schlaf (*rapid eye movement*); Non-REM – Non-REM-Schlaf (S1-S4); SWS – Deltaschlaf (*slow wave sleep*, S3 + S4); MT – Bewegungsphasen (*movement time*).

Eine Rhythmusanalyse der einzelnen Schlafstadien Wach, Non-REM und REM wies auch hier unter beiden Testbedingungen einen typischen zirkadianen Verlauf ohne signifikante Verschiebung der Phasenlage und Veränderung der Amplitude durch Metyrapon auf (Metyrapon vs. Placebo: Wach: AMP: 42,47 vs. 40,73 min/h, $p = 0,70$; Phase/ Maximum: 15,25 vs. 15,34 min/h, $p = 0,42$; Non-REM: AMP: 38,64 vs. 34,30 min/h, $p = 0,60$; Phase/ Maximum: 2,31 vs. 2,12 min/h, $p = 0,63$; REM: AMP: 10,63 vs. 13,47 min/h, $p = 0,57$; Phase/ Maximum: 7,39 vs. 6,86 min/h, $p = 0,81$; Abb. 10; Tab. 6).



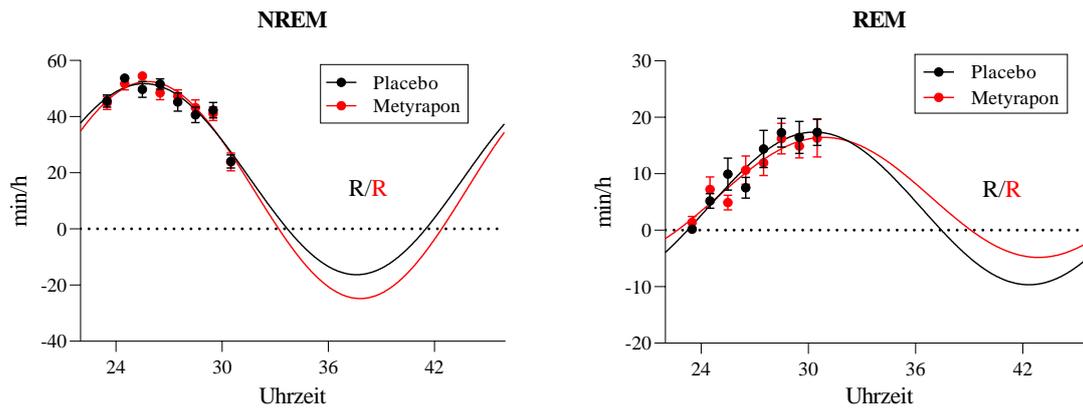


Abbildung 10. Zirkadiane Profile für die Schlafstadien Wach, NREM und REM unter Metyrapon- vs. Placebo-Bedingungen. Unter beiden Versuchsbedingungen besteht eine zirkadiane Rhythmicität mit einem typischen Kurvenverlauf der entsprechenden Schlafstadien. Dargestellt ist jeweils der Anteil des Schlafstadiums in Minuten pro Stunde. Alle Werte sind als Mittelwerte (MW) \pm Standardfehler des Mittelwertes (SEM, *standard error of the mean*) angegeben. Metyrapon: $n = 21$, Placebo: $n = 21$. Wach – Wachzustand; REM – REM-Schlaf (*rapid eye movement*); NREM – Non-REM-Schlaf (Schlafstadien S1-S4); R – rhythmisch.

3.2.2 Aktivitäts-Ruhe-Rhythmik

Zur Beurteilung von Veränderungen der zirkadianen Aktivitäts-Ruhe-Rhythmik wurden als sensitivste Parameter der Aktigraphie die IS (*Inter-daily stability*) und die IV (*Intra-daily variability*) bestimmt. Beide Variablen waren nicht signifikant (IS: $p = 0,619$; IV: $p = 0,059$), es zeigte sich jedoch ein geringer statistischer Trend zur verminderten Fragmentierung der täglichen Aktivität nach Metyrapon-Einnahme. Die Probanden wiesen hier somit tendenziell längere, zusammenhängende aktive und inaktive Phasen mit einer geringeren Frequenz beider Phasen innerhalb eines Tages auf. Insgesamt entsprachen IS (Metyrapon vs. Placebo: $0,61 \pm 0,03$ vs. $0,62 \pm 0,03$) und IV (Metyrapon vs. Placebo: $0,80 \pm 0,03$ vs. $0,96 \pm 0,07$) den Werten einer gesunden Population ohne Störungen der Aktivitäts-Ruhe-Rhythmik und einer guten Stabilität der Aktivitätsmuster. Auch L5 (Metyrapon vs. Placebo: 787 ± 194 vs. 567 ± 52 Bewegungen, $p = 0,469$) und M10 (Metyrapon vs. Placebo: 21173 ± 1532 vs. 19897 ± 1661 Bewegungen, $p = 0,186$) – das mittlere Minimum und Maximum der Aktivität als Indikatoren für ausreichend erholsame Inaktivitäts- und regelrechte Aktivitätsphasen – deuteten auf eine normale Rhythmik hin. Der Unterschied zwischen den beiden Versuchsbedingungen war jedoch nicht signifikant. So ließ sich auch keine Signifikanz zwischen den beiden Testphasen für die Zeitpunkte der geringsten (*L5-onset*; Metyrapon vs. Placebo: $01:30 \pm 00:16$ vs. $01:52 \pm 00:13$ Uhr, $p = 0,196$) und höchsten Aktivität (*M10-onset*, Metyrapon vs. Placebo: $11:00 \pm 00:27$ vs. $10:45 \pm 00:23$ Uhr, $p = 0,699$), die Amplitude ($p = 0,210$) und RA (Metyrapon vs. Placebo: $0,93 \pm 0,01$ vs. $0,94 \pm 0,00$, $p =$

0,898) nachweisen. Es zeichnete sich nur eine leichte Verschiebung des Schlafes ab (siehe L5/ M10-onset). Es wurden die Datensätze von insgesamt 16 Probanden ausgewertet und fünf der Teilnehmer aufgrund von unklaren Aufzeichnungsperioden nicht berücksichtigt.

3.2.3 Subjektive Schlafqualität und Chronotypen

Mit Hilfe der Schlaftagebücher wurde die subjektive Schlafqualität und der Chronotyp der Probanden in der Woche vor Versuchsbeginn bestimmt. Die beiden letzten Nächte lieferten Daten unter Versuchsbedingungen und wurden gesondert ausgewertet. Dabei zeigte sich kein signifikanter Unterschied für den Einschlaf- ($p = 0,293$) und Aufwachzeitpunkt ($p = 0,994$) und die Einschlafdauer ($p = 0,533$). Ein Trend zeichnete sich in der Schlafdauer, -qualität und der morgendlichen Befindlichkeit ab. Die Probanden schliefen insgesamt unter Metyrapon etwas länger (Metyrapon vs. Placebo: $8:11 \pm 0:10$ vs. $7:39 \pm 0:12$ h, $p = 0,061$), wobei die Schlafqualität (Metyrapon vs. Placebo: $2,12 \pm 0,14$ vs. $1,77 \pm 0,13$, $p = 0,057$) und die morgendliche Befindlichkeit (Metyrapon vs. Placebo: $2,24 \pm 0,12$ vs. $1,93 \pm 0,12$, $p = 0,056$) als geringfügig schlechter angegeben wurden.

Durch die Ermittlung der MSF (*mid-sleep phase*; Kap. 2.6.2) wurde der Chronotyp der einzelnen Probanden bestimmt. Fast alle Teilnehmer entsprachen einem normalen Chronotyp (MSF 3-6). Eine Subgruppenanalyse der MSF an freien und beschäftigten Tagen unter Verum- und Placebo-Bedingungen wies keinen signifikanten Unterschied auf (Metyrapon vs. Placebo: MSF freie Tage: $4:28 \pm 0:11$ vs. $4:26 \pm 0:10$ Uhr, $p = 0,861$; MSF beschäftigte Tage: $4:26 \pm 0:10$ vs. $4:18 \pm 0:10$ Uhr, $p = 0,182$).

3.3 Subjektive Tagesmüdigkeit

Für den Vergleich der Tagesmüdigkeit und Konzentration der Probanden zwischen der Metyrapon- und Kontrollgruppe und dessen Tagesrhythmik wurden die hierfür relevanten Befindlichkeitstests, Stanford-Schläfrigkeitsskala (SSS), Visuelle Analogskala (VAS) für die Gefühlslagen „schläfrig-konzentriert“ und mehrdimensionaler Befindlichkeitsfragebogen (MDBF) für die Dimension „wach-müde“, ausgewertet. Diese wurden in einem stündlichen Intervall von 15 Uhr bis 22 Uhr und am Folgetag von 8 Uhr bis 14 Uhr von den Probanden ausgefüllt.

In allen diesen Tests zeigte sich eine typische zirkadiane Rhythmik der Tagesmüdigkeit mit einem Maximum in den Abendstunden und einem Abfall der Konzentration zur Nacht hin

(Abb. 11). Es konnten sehr hohe Signifikanzen für den Effekt der „Zeit“ für die Befindlichkeitstests (SSS: $F(14, 280) = 20,645$, $p < 0,001$; VAS schläfrig: $F(14, 280) = 9,779$, $p < 0,001$; VAS konzentriert: $F(14, 280) = 7,662$, $p < 0,001$; MDBF-WM: $F(14, 266) = 10,353$, $p < 0,001$) ermittelt werden. Ein signifikanter Einfluss von Metyrapon auf die zirkadiane Rhythmik (Amplitude, Phasenlage) der Tagesmüdigkeit oder der Konzentration wurde nicht festgestellt (Abb. 11; Tab. 6).

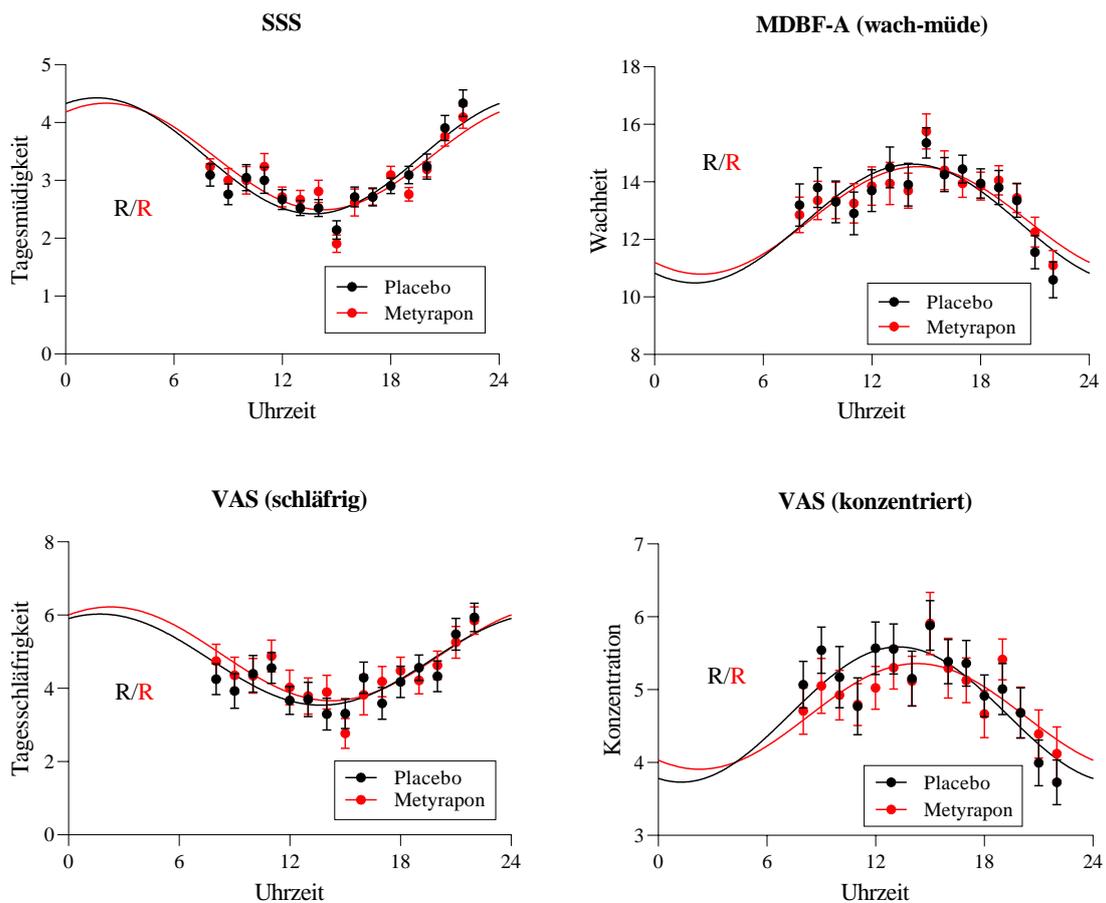


Abbildung 11. Tagesprofile für Tagesmüdigkeit und Konzentration anhand der Befindlichkeitstests SSS, VAS (schlāfrig-konzentriert) und MDBF-A (wach-müde) am dritten und vierten Tag der Behandlung. Unter beiden Versuchsbedingungen besteht eine zirkadiane Rhythmizität mit einem typischen Kurvenverlauf der einzelnen Parameter. Alle Werte sind als Mittelwerte (MW) \pm Standardfehler des Mittelwertes (SEM, *standard error of the mean*) angegeben. Metyrapon: $n = 21$, Placebo: $n = 21$. SSS – Stanford-Schlāfrigkeitsskala; VAS – Visuelle Analogskala; MDBF-A – Mehrdimensionaler Befindlichkeitsfragebogen, Kurzform A; R – rhythmisch.

3.4 Kognition

3.4.1 Merkfähigkeit und Arbeitsgedächtnis

Anhand der Wortliste und des *N-Back Tasks* wurde der Einfluss von Metyrapon auf die Merkfähigkeit und das Arbeitsgedächtnis der Probanden im Tagessverlauf überprüft. Die zweifaktorielle Varianzanalyse der Wortliste zeigte einen signifikanten Effekt der Behandlung mit Metyrapon auf die Merkfähigkeit von emotionalen Begriffen ($F(1, 20) = 10,930$, $p = 0,004$) und einen signifikanten Einfluss des Haupteffektes „Zeit“ auf die Erinnerung von emotionalen ($F(5, 100) = 4,208$, $p = 0,002$) und neutralen Wörtern ($F(5, 100) = 2,903$, $p = 0,017$; Abb. 12). So konnten die Probanden um 11:30 Uhr signifikant weniger emotionale Wörter unter Metyrapon-Bedingungen erinnern als nach Placebo-Gabe (gepaarter t-Test Metyrapon vs. Placebo: $4,67 \pm 0,40$ vs. $5,81 \pm 0,38$ Begriffe, $p = 0,01$). Für die restlichen Zeitpunkte wurde im t-Test kein signifikanter Unterschied zwischen den beiden Testbedingungen nachgewiesen. Für die Wiedergabe von neutralen Begriffen ließ sich nur im gepaarten t-Test zum Zeitpunkt 9:30 Uhr zeigen, dass die Teilnehmer sich besser erinnern konnten (Metyrapon vs. Placebo: $5,95 \pm 0,47$ vs. $4,52 \pm 0,37$ Begriffe, $p = 0,01$). Für die restlichen Abfragezeitpunkte als auch für alle falschen Antworten (neutral/neu, emotional/neu, neutral/Intrusion, emotional/Intrusion) ließ sich keine Signifikanz nachweisen.

Eine Analyse der Rhythmizität zeigte lediglich für die emotionale Wortliste unter Metyrapon-Bedingungen eine signifikante zirkadiane Rhythmik (Tab. 6). Die Verteilung der Werte für die emotionale Wortliste unter Placebo-Bedingungen und für die neutrale Wortliste unter beiden Bedingungen folgte keiner signifikanten zirkadianen Rhythmik, sodass hier der Vergleich der Tagesprofile zwischen den beiden Versuchsbedingungen eingeschränkt war. Die Sinuskurve der emotionalen Wortliste unter Placebo stellte sich deutlich gedämpft dar (Metyrapon vs. Placebo: AMP: $-0,81$ vs. $-0,20$, $p = n.v.$; Phase/Maximum: $18,27$ vs. $18,34$, $p = n.v.$; Abb. 12; Tab. 6). Bei der neutralen Wortliste war das Maximum der Phasenlage unter Metyrapon deutlich in die Morgenstunden verschoben und die Kurve insgesamt im Vergleich zu Placebo deutlich abgeflacht (Metyrapon vs. Placebo: AMP: $0,78$ vs. $-0,34$, $p = n.v.$; Phase/Maximum: $5,19$ vs. $18,07$, $p = n.v.$; Abb. 12; Tab. 6).

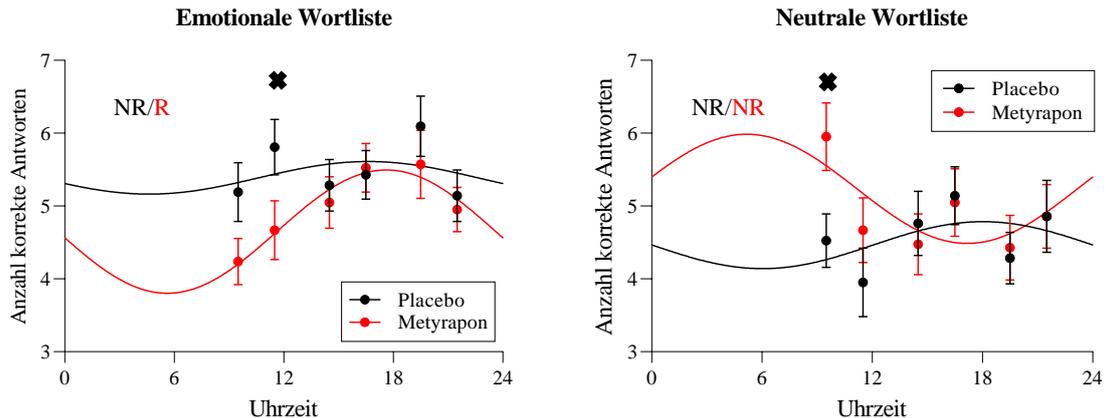


Abbildung 12. Tagesprofile für das Lernen der emotionalen und neutralen Wortliste mit Angabe der jeweiligen Anzahl korrekter Antworten. Lediglich für die emotionale Wortliste unter Metyrapon besteht eine zirkadiane Rhythmizität des Kurvenverlaufs mit einer Dämpfung der Sinuskurve unter Placebo. Die Sinuskurve der neutralen Wortliste weist eine Phasenvorverschiebung mit einem Maximum gegen 5 Uhr auf. Alle Werte sind als Mittelwerte (MW) \pm Standardfehler des Mittelwertes (SEM, *standard error of the mean*) angegeben. Metyrapon: $n = 21$, Placebo: $n = 21$. ✖: $p < 0,05$ im gepaarten t-Test. R – rhythmisch; NR – nicht rhythmisch.

Die Gesamtheit aller Ergebnisse der *1-*, *2-* und *3-Back*-Aufgaben zeigte eine Signifikanz für den Faktor „Zeit“ ($F(5, 95) = 3,635$, $p = 0,005$; Abb. 13) und im gepaarten t-Test einen leicht negativen Metyrapon-Einfluss auf das Arbeitsgedächtnis zum Abfragezeitpunkt 19:30 Uhr (Metyrapon vs. Placebo: $147,30 \pm 0,58$ vs. $148,90 \pm 0,38$ korrekte Antworten, $p = 0,017$). Vor allem im *1-Back Task* zeigte sich ein leichter negativer Effekt des Verums auf das Arbeitsgedächtnis in der ersten Versuchshälfte. So gaben die Probanden zu den Zeitpunkten 16:30 und 19:30 Uhr geringfügig weniger (Metyrapon vs. Placebo: 16:30 Uhr: $49,55 \pm 0,15$ vs. $49,90 \pm 0,07$, $p = 0,038$; 19:30 Uhr: $49,45 \pm 0,14$ vs. $49,90 \pm 0,07$, $p = 0,02$) und um 21:30 Uhr mehr (Metyrapon vs. Placebo: $50,00 \pm 0,00$ vs. $49,80 \pm 0,09$, $p = 0,046$) korrekte Antworten unter Metyrapon-Bedingungen an. Beim *2-Back Task* waren alle Ergebnisse nicht signifikant ($p > 0,096$). Der *3-Back Task* wies lediglich zum Zeitpunkt 19:30 Uhr geringfügig schlechtere Arbeitsgedächtnisleistung der Probanden nach Metyrapon-Einnahme auf (Metyrapon vs. Placebo: $48,50 \pm 0,37$ vs. $49,25 \pm 0,32$ korrekte Antworten, $p = 0,050$). Grundsätzlich waren die Unterschiede jedoch immer sehr gering. In der ANOVA konnte kein signifikanter Effekt für die Faktoren „Behandlung“ und „Behandlung x Zeit“ nachgewiesen werden.

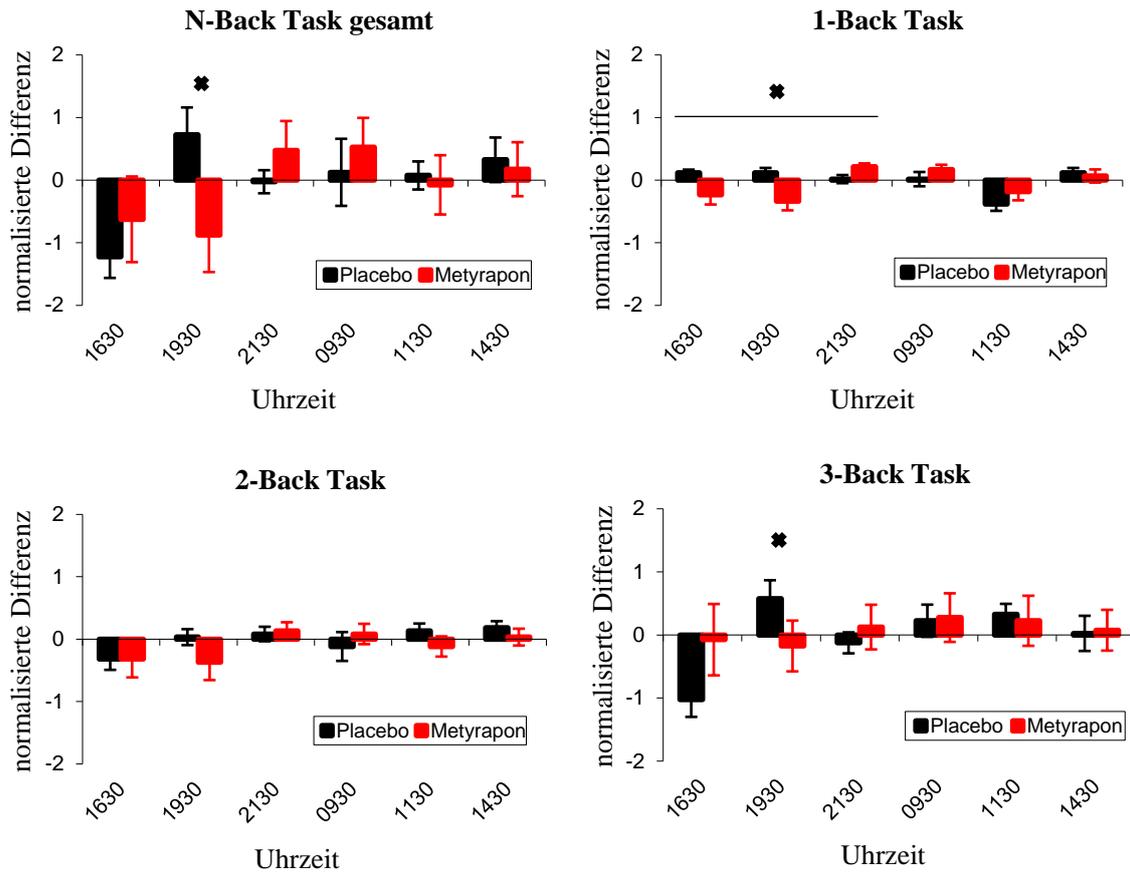


Abbildung 13. Placebo-Baseline-Normalisierung korrekter Antworten vom 1-, 2-, 3- und gesamten *N-Back Task* im Vergleich. Alle Werte sind als Mittelwerte (MW) \pm Standardfehler des Mittelwertes (SEM, *standard error of the mean*) angegeben. Metyrapon: n = 20, Placebo: n = 20. ✖: p < 0,05 im gepaarten t-Test.

Eine ergänzende Rhythmusanalyse des gesamten *N-Back Tasks* wies unter beiden Testbedingungen keine signifikant zirkadiane Rhythmität auf, sodass ein Vergleich der zirkadianen Parameter unter beiden Bedingungen nicht möglich war (Abb. 14; Tab. 6).

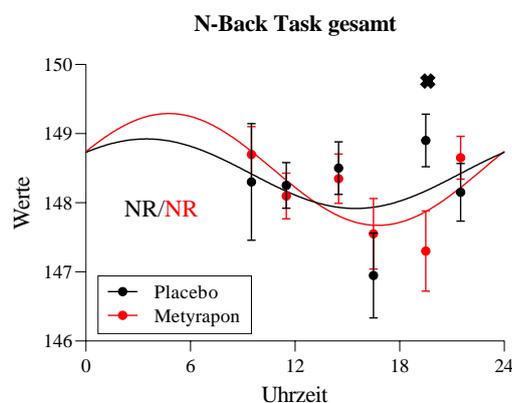


Abbildung 14. Tagesprofil korrekter Antworten des gesamten *N-Back Tasks* unter beiden Versuchsbedingungen. Unter beiden Versuchsbedingungen besteht keine zirkadiane Rhythmität. Alle Werte sind als Mittelwerte (MW) \pm Standardfehler des Mittelwertes (SEM, *standard error of the mean*) angegeben. Metyrapon: n = 20, Placebo: n = 20. ✖: p < 0,05 im gepaarten t-Test. NR – nicht rhythmisch.

3.4.2 Divergentes Denken

Zur Beurteilung des divergenten Denkens, d.h. des flüssig originellen Denkens bei Präsentation von offen formulierten Problemen, wurde der Regensburger Wortflüssigkeits-Test verwendet. Für alle 12 Buchstaben zeigte sich jedoch kein signifikanter Einfluss aller drei Haupteffekte auf die formallexikalische Flüssigkeit (Tab. 5) und keine zirkadiane Rhythmik der erhobenen Werte im Tagesverlauf unter beiden Versuchsbedingungen (Abb. 15). Im Laufe des Versuches schwankte die Anzahl korrekter Antworten zwischen $14,05 \pm 0,89$ und $16,52 \pm 0,92$ für Metyrapon und zwischen $13,67 \pm 0,95$ und $17,00 \pm 1,05$ für Placebo.

Tabelle 5. ANOVA des RWT.

Haupteffekt	Freiheitsgrade	F-Wert	p-Wert
Behandlung	1, 20	0,184	0,672
Zeit	5, 100	2,238	0,056
Behandlung x Zeit	5, 100	1,620	0,162

Ergebnisse der zweifaktoriellen Varianzanalyse des Regensburger Wortflüssigkeits-Tests für die Haupteffekte „Behandlung“, „Zeit“ und „Behandlung x Zeit“. Ein p-Wert < 0,05 gilt als signifikant.

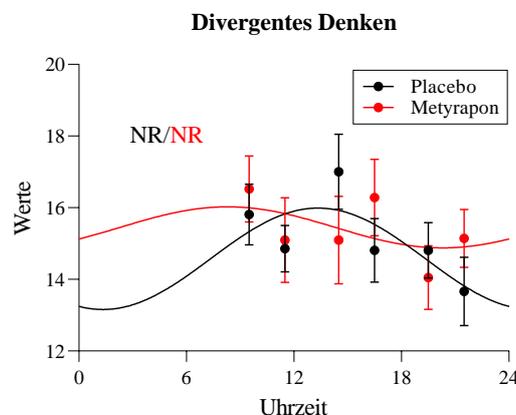


Abbildung 15. Tagesprofil der Anzahl korrekter Antworten des Regensburger Wortflüssigkeits-Test unter beiden Versuchsbedingungen. Unter beiden Versuchsbedingungen besteht keine zirkadiane Rhythmizität. Unter Metyrapon ist die Sinuskurve deutlich gedämpft und erfährt eine Phasenvorverschiebung mit einem Maximum gegen 7 Uhr. Alle Werte sind als Mittelwerte (MW) ± Standardfehler des Mittelwertes (SEM, *standard error of the mean*) angegeben. Metyrapon: n = 21, Placebo: n = 21. NR – nicht rhythmisch.

3.4.3 Vigilanz

Die Vigilanz der Probanden, gemessen mit Hilfe des psychomotorischen Vigilanztests, war unter beiden Versuchsbedingungen nicht signifikant unterschiedlich (Behandlung: $F(1, 19) = 0,186$, $p = 0,671$). Ermittelt wurden die Reaktionszeit und die Anzahl korrekter

Reaktionen, die sogenannte Präzision. Die Reaktionszeit lag unter Metyrapon-Bedingungen zwischen $355 \pm 7,06$ und $366 \pm 8,14$ ms und unter Placebo-Bedingungen zwischen $355 \pm 7,98$ und $380 \pm 20,21$ ms. Alle Probanden reagierten für beide Bedingungen zwischen $38 \pm 0,24$ und $39 \pm 0,31$ mal richtig auf den Stimulus. Somit konnte kein signifikanter Effekt von Metyrapon auf die Aufmerksamkeit und Reaktionszeit der Teilnehmer nachgewiesen werden. Die Faktoren „Zeit“ ($F(5, 95) = 2,034$, $p = 0,163$) und „Behandlung x Zeit“ ($F(5, 95) = 0,901$, $p = 0,387$) hatten ebenfalls keinen signifikant unterschiedlichen Einfluss auf die Vigilanz. Diese Feststellung zeigte sich ebenfalls in der ergänzenden Rhythmusanalyse, die unter beiden Testbedingungen keine signifikante zirkadiane Rhythmik aufwies (Tab. 6). Unter Metyrapon-Bedingungen war die Tageszeit-Varianz in der Reaktionszeit vergleichsweise zu Placebo deutlich gedämpft; im Gegensatz dazu fiel die Präzision unter Metyrapon um Mittag herum deutlich ab (Abb. 16).

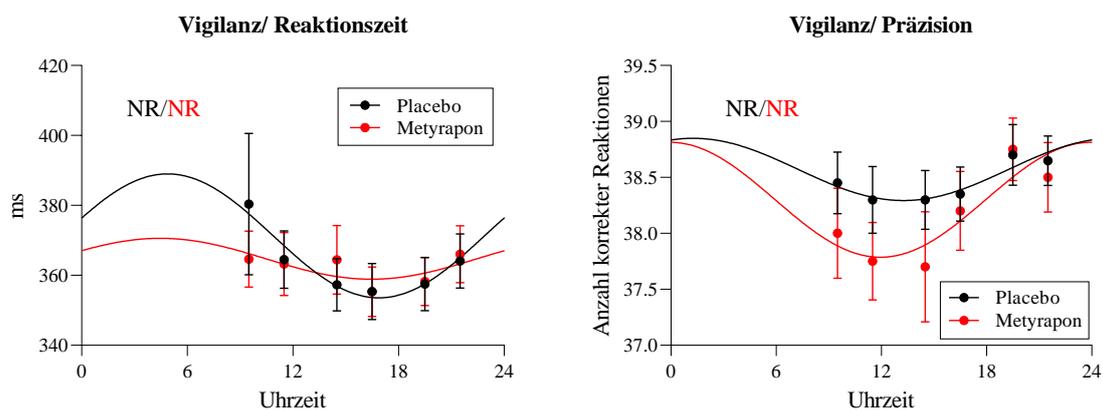


Abbildung 16. Tagesprofile der Reaktionszeit und Präzision unter beiden Versuchsbedingungen. Unter beiden Versuchsbedingungen besteht keine zirkadiane Rhythmizität. Unter Metyrapon fallen die Tageszeiteffekte deutlich geringer aus. Die Präzision unter Metyrapon erfährt gegen Mittag einen deutlichen Abfall. Alle Werte sind als Mittelwerte (MW) \pm Standardfehler des Mittelwertes (SEM, *standard error of the mean*) angegeben. Metyrapon: $n = 21$, Placebo: $n = 21$. NR – nicht rhythmisch.

3.5 Vitalparameter

Die stündlich gemessenen Vitalparameter Herzfrequenz und arterieller Blutdruck, unterliegen bekanntlich einer zirkadianen Rhythmik. So zeigten sich auch bei den Probanden signifikante Tagesschwankungen der Vitalparameter (HF: $F(17, 340) = 12,383$, $p < 0,001$; RR systolisch: $F(17, 340) = 10,659$, $p < 0,001$; RR diastolisch: $F(17, 340) = 11,059$, $p < 0,001$). Die Werte sanken zur Nacht ab und stiegen am Tag wieder an (Abb. 17). Metyrapon beeinflusste hier nur die Herzfrequenz signifikant ($F(1, 20) = 4,907$, $p = 0,039$). Im gepaarten t-Test war die HF der Probanden zum Zeitpunkt 17:00 Uhr signifikant höher nach

Metyrapon-Einnahme (Metyrapon vs. Placebo: $64,00 \pm 2,10$ vs. $59,62 \pm 1,40$ Schläge/min, $p = 0,033$).

Die zirkadianen Parameter Amplitude und Phase zeigten keine signifikante Veränderung unter Verumgabe bei den Vitalparametern (Metyrapon vs. Placebo: HF: AMP: 4,53 vs. 3,41 Schläge/ min, $p = 0,34$; Phase/ Maximum: 14,16 vs. 13,94 Schläge/ min, $p = 0,79$; syst. RR: AMP: -2,95 vs. -2,11 mmHg, $p = n.v.$; Phase/ Maximum: 23,63 vs. 22,49 mmHg, $p = n.v.$; diast. RR: AMP: 2,47 vs. 2,29 mmHg, $p = 0,84$; Phase/ Maximum: 20,25 vs. 20,24 mmHg, $p = 1,00$; Abb. 17). Unter Placebo-Bedingungen wies der systolische Blutdruck keine signifikante Rhythmizität auf, sodass ein Rhythmus-Vergleich zu Metyrapon eingeschränkt war (Tab. 6)

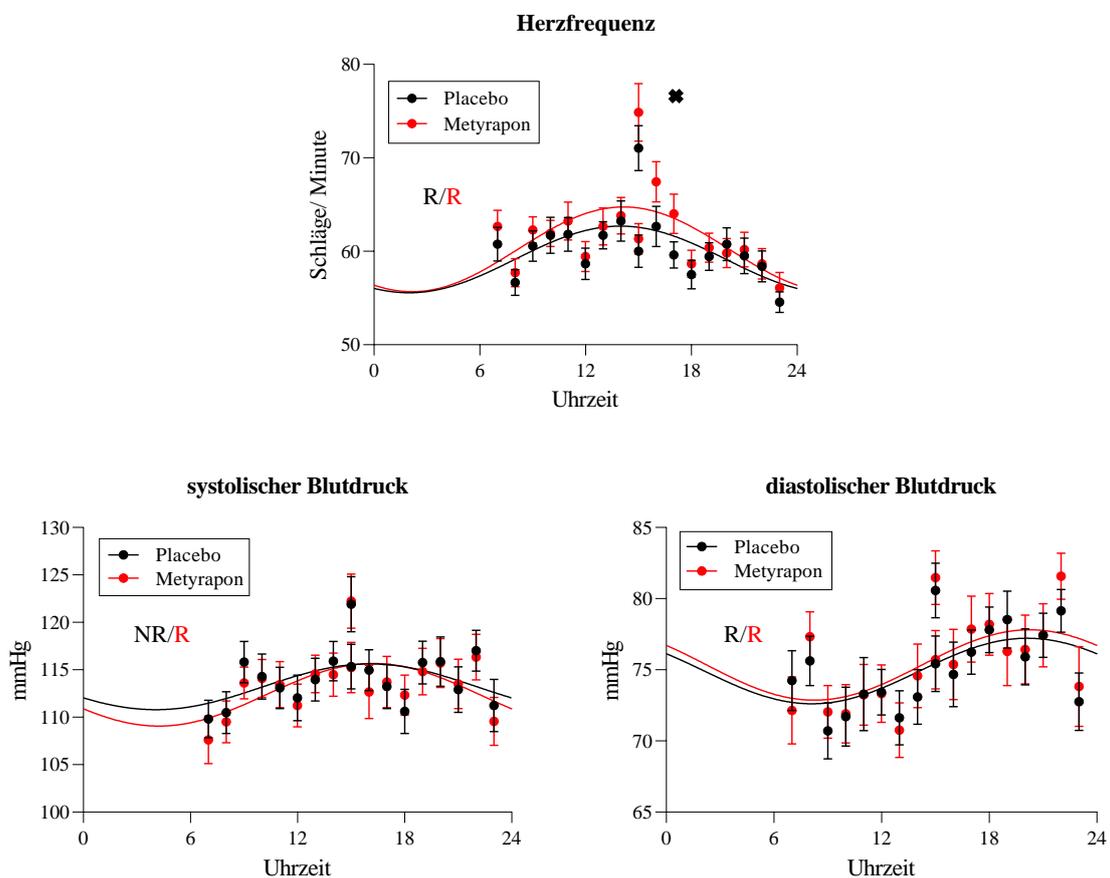


Abbildung 17. Tagesprofile der Vitalparameter aller 21 Probanden. Unter beiden Versuchsbedingungen besteht, mit Ausnahme des systolischen Blutdrucks unter Placebo, eine zirkadiane Rhythmizität mit einem typischen Kurvenverlauf. Alle Werte sind als Mittelwerte (MW) \pm Standardfehler des Mittelwertes (SEM, *standard error of the mean*) angegeben. * : $p < 0,05$ im gepaarten t-Test. R – rhythmisch; NR – nicht rhythmisch.

3.6 Zirkadiane Parameter

Die nachfolgende Tabelle 6 fasst die zirkadianen Parameter – Amplitude und Phase, mit ihrem Maximum und Angabe der Phasenverschiebung – für alle zuvor beschriebenen Parameter aus den Bereichen Kortisol, Schlaf, Müdigkeit, Kognition, Vigilanz und Vitalparameter für beide Versuchsbedingungen (Metyrapon vs. Placebo) zusammen. Des Weiteren sind hier die entsprechenden Mittelwerte als auch die Signifikanz der zirkadianen Rhythmizität der erhobenen Daten angegeben. Insgesamt zeigte sich für alle Parameter keine signifikante Veränderung in Amplitude, Phasenlage oder Mittelwert unter Einnahme von Metyrapon. Für die Parameter ohne eine nachgewiesene zirkadiane Rhythmik ist die Beurteilbarkeit der zirkadianen Parameter und der Vergleich zwischen Metyrapon und Placebo nur eingeschränkt möglich.

Tabelle 6. Zirkadiane Parameter.

	Rhythmi- zität		Mittelwert			Amplitude			Phase			
	PL	MT	PL	MT	p	PL	MT	p	Maximum		PV	p
									PL	MT		
Kortisol (nmol/l)	ja	ja	186,48	191,97	0,30	150,17	148,27	0,80	10,05	9,87	0,18	0,34
Schlafstadien, Anteil in min/h												
Wach	ja	ja	38,67	40,35	0,66	40,73	42,47	0,70	15,34	15,25	0,09	0,42
NREM	ja	ja	17,42	13,85	0,62	34,30	38,64	0,60	2,12	2,31	-0,18	0,63
REM	ja	ja	3,01	5,81	0,78	13,47	10,63	0,57	6,86	7,39	-0,53	0,81
Müdigkeit												
SSS	ja	ja	3,43	3,41	0,90	1,02	0,92	0,54	1,74	2,24	-0,50	0,18
VAS (schläfrig)	ja	ja	4,79	4,94	0,51	1,27	1,28	0,97	1,72	2,27	-0,54	0,42
MDBF-A (wach-müde)	ja	ja	12,55	12,66	0,73	2,12	1,87	0,64	14,24	14,58	-0,34	0,57
VAS (konzentriert)	ja	ja	4,66	4,63	0,90	0,94	0,72	0,43	13,30	14,27	-0,98	0,24
Kognition												
emotionale Wortliste	–	ja	5,39	4,69	n.v.	-0,20	-0,81	n.v.	18,34	18,27	0,07	n.v.
neutrale Wortliste	–	–	4,45	5,28	n.v.	-0,34	0,78	n.v.	18,07	5,19	12,88	n.v.
N-Back Task gesamt	–	–	148,42	148,47	n.v.	0,38	0,75	n.v.	4,74	4,92	-0,18	n.v.
divergentes Denken	–	–	14,43	15,53	n.v.	-0,62	0,53	n.v.	23,27	6,74	16,53	n.v.
Vigilanz/ Reaktionszeit (ms)	–	–	371,28	364,74	n.v.	16,69	5,30	n.v.	7,05	20,02	-12,97	n.v.
Vigilanz/ Präzision	–	–	38,62	38,30	n.v.	0,15	-0,03	n.v.	4,94	16,04	-11,10	n.v.
Vitalparameter												
Herzfrequenz (min ⁻¹)	ja	ja	59,12	60,21	0,16	3,41	4,53	0,34	13,94	14,16	-0,22	0,79

systolischer Blutdruck (mmHg)	–	ja	113,21	112,36	n.v.	-2,11	-2,95	n.v.	22,49	23,63	-1,14	n.v.
diastolischer Blutdruck (mmHg)	ja	ja	74,91	75,34	0,62	2,29	2,47	0,84	20,24	20,25	-0,01	1,00

Zusammenfassende Darstellung der Mittelwerte und zirkadianer Parameter (Amplitude und Phase) aller erhobenen Werte der 21 Versuchspersonen unter Placebo- vs. Metyrapon-Bedingungen. Die Rhythmicität gibt an, ob die jeweiligen Datensätze eine signifikant zirkadiane Rhythmik aufweisen. Ein p -Wert $< 0,05$ gilt als signifikant. PL – Placebo, MT – Metyrapon, p – p -Wert, PV – Phasenverschiebung, REM – REM-Schlaf (*rapid eye movement*), NREM – Non-REM-Schlaf (S1-S4), SSS – Stanford-Schläfrigkeits-Skala, VAS – Visuelle Analogskala, MDBF-A – Mehrdimensionaler Befindlichkeitsfragebogen, Kurzform A, n.v. – nicht verfügbar (fehlende Rhythmicität).

3.7 Korrelation aller Parameter

Für die Untersuchung einer linearen Abhängigkeit der einzelnen erhobenen Parameter untereinander und zur Bestimmung eines potentiellen gegenseitigen Einflusses der einzelnen Variablen, wie Kortisol oder Schlaf, auf andere Parameter unter Metyrapon- bzw. Placebo-Bedingungen, wurde eine Korrelationsanalyse nach Pearson (Hartung *et al.*, 1995) durchgeführt und für die beiden Testbedingungen verglichen. Der ermittelte Pearson-Korrelationskoeffizient r wurde in einer Matrix mit Angabe des p -Wertes dargestellt (Abb. 18 und 19). Aus den erhobenen Daten ergeben sich für beide Testbedingungen jeweils zwei Korrelationstabellen für die erhobenen Tageswerte – Kortisol, Müdigkeit, Kognition, Vigilanz und Vitalparameter (Abb. 18) – und Nachtwerte – Kortisol und Schlaf (Abb. 19).

Die Korrelationsanalyse für die Tagesparameter ergab vor allem eine deutliche signifikante Korrelation zwischen den einzelnen Befindlichkeitstests zur Bestimmung der Müdigkeit und Konzentration. So zeigte sich erwartungsgemäß eine stark negative Korrelation zwischen Schläfrigkeit und Wachheit (SSS vs. MDBF-A (wach-müde): $r = -0,8$, $p \leq 0,001$; Abb. 18) und eine stark positive Korrelation zwischen Konzentration und Wachheit (VAS (konzentriert) vs. MDBF-A (wach-müde): $r = 0,8$, $p \leq 0,001$; Abb. 18). Für die restlichen Befindlichkeitstests bestand eine mittelstark bis stark negative bzw. positive lineare Abhängigkeit, so auch für den systolischen und diastolischen Blutdruck. Für die Datensätze Kortisol, Kognition, Vigilanz und Herzfrequenz konnte zum Teil nur ein schwacher linearer oder kein signifikanter Zusammenhang festgestellt werden (Abb. 18). Insgesamt zeigten jedoch die signifikanten Korrelationen im Vergleich zwischen den Metyrapon- und Placebo-Bedingungen keine deutlichen Unterschiede (Tab. 7).

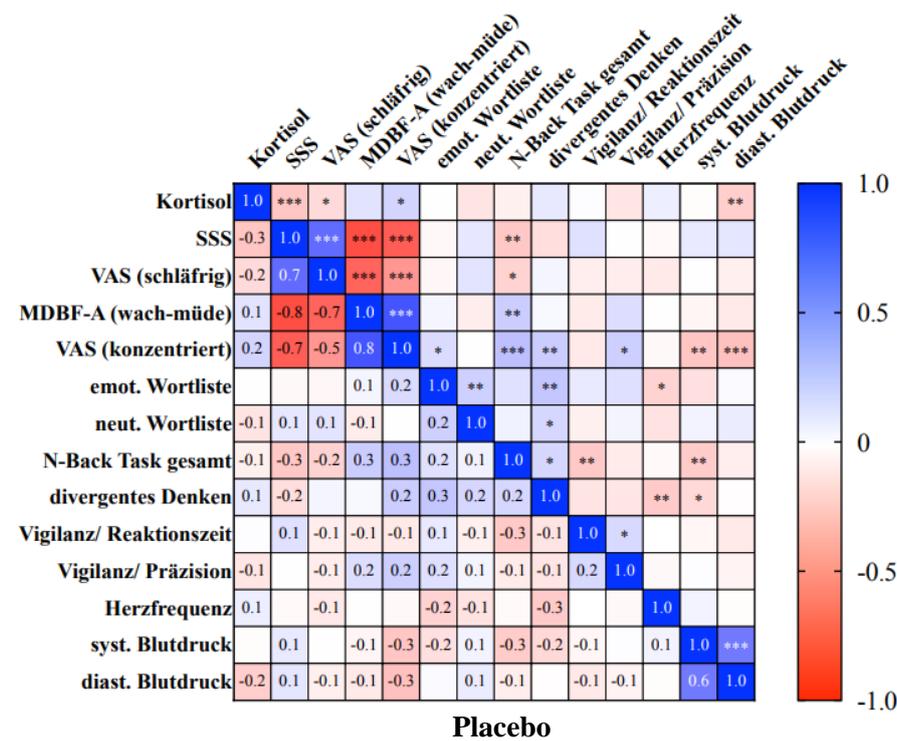
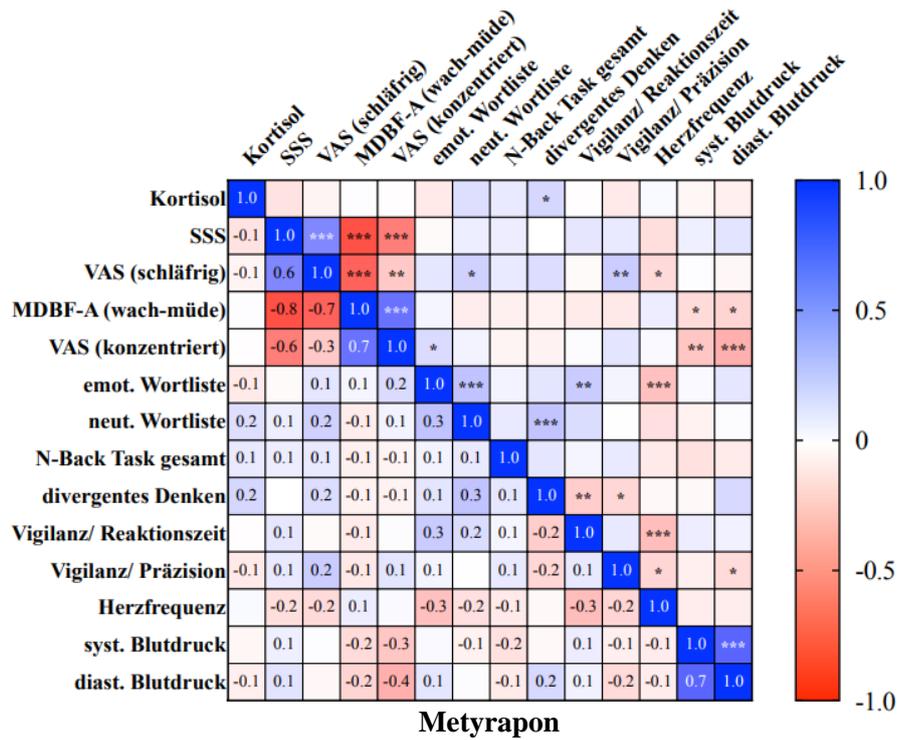


Abbildung 18. Korrelationsmatrix für die Tageswerte unter Metyrapon- vs. Placebo-Bedingungen für alle 21 Versuchspersonen mit Angabe des Korrelationskoeffizient r nach Pearson und des p-Wertes (*-***). Bei $r = 0$ besteht keine lineare Korrelation, $0 < r \leq 1$ gibt eine positive und $0 > r \geq -1$ eine negative Korrelation an. $r = +/- 0.10$: schwache Korrelation; $r = +/- 0.30$: mittelstarke Korrelation; $r = +/- 0.50$: starke Korrelation. Ein p-Wert $< 0,05$ gilt als signifikant. p-Werte: * $< 0,05$; ** $\leq 0,01$; *** $\leq 0,001$. SSS – Stanford-Schläfrigkeits-Skala, VAS – Visuelle Analogskala, MDBF-A – Mehrdimensionaler Befindlichkeitsfragebogen, Kurzform A.

Tabelle 7. Vergleich der Korrelationen in den Tageswerten.

	Kortisol	SSS	VAS (schlufig)	MDBF-A (wach-müde)	VAS (konzentriert)	emot. Wortliste	neut. Wortliste	N-Back Task gesamt	divergentes Denken	Vigilanz/ Reaktionszeit	Vigilanz/ Präzision	Herzfrequenz	syst. Blutdruck	diast. Blutdruck
Kortisol		0,27	0,38		0,27				0,38					0,38
SSS			0,30	0,5	0,30			0,11						
VAS (schlufig)				0,5	0,24		0,38	0,18			0,18	0,38		
MDBF-A (wach-mude)					0,24			0,11					0,38	0,38
VAS (konzentriert)						0,5		0,11	0,18		0,38		0,5	0,37
emot. Wortliste							0,37		0,27	0,27		0,37		
neut. Wortliste									0,37					
N-Back Task gesamt									0,38	0,11				
divergentes Denken										0,38	0,38	0,18	0,37	
Vigilanz/ Reaktionszeit											0,38	0,18		
Vigilanz/ Präzision												0,27		0,38
Herzfrequenz														
syst. Blutdruck														0,30
diast. Blutdruck														

p-Werte für den Vergleich signifikanter Korrelationen der Tageswerte unter Metyrapon- vs. Placebo-Bedingungen für alle 21 Versuchspersonen. Ein p-Wert < 0,05 gilt als signifikant. SSS – Stanford-Schlufigkeits-Skala, VAS – Visuelle Analogskala, MDBF-A – Mehrdimensionaler Befindlichkeitsfragebogen, Kurzform A.

Für die Nachtwerte ergab sich ein starker negativer Zusammenhang zwischen Non-REM- und REM-Schlaf ($r = -0,8$, $p \leq 0,001$) sowie dem Wachstadium ($r = -0,6$, $p \leq 0,001$) und den Kortisol-Werten ($r = -0,5$, $p \leq 0,001$; Abb. 19). Diese Korrelationen waren jedoch zwischen beiden Testbedingungen nicht signifikant verändert (Tab. 8).

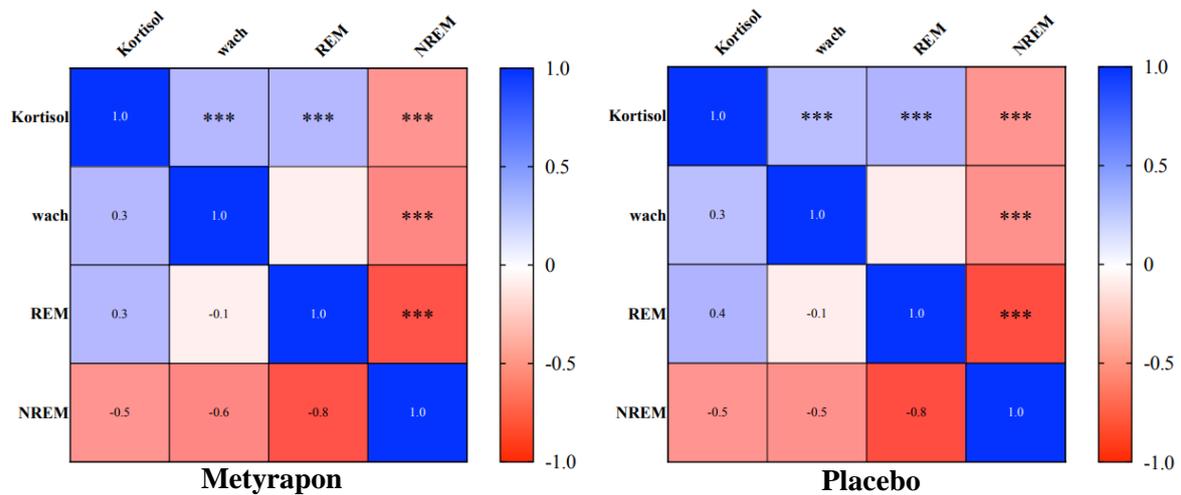


Abbildung 19. Korrelationsmatrix für die Nachtwerte unter Metyrapon- vs. Placebo-Bedingungen für alle 21 Versuchspersonen mit Angabe des Korrelationskoeffizient r nach Pearson und des p-Wertes (*-***). Bei $r = 0$ besteht keine lineare Korrelation, $0 < r \leq 1$ gibt eine positive und $0 > r \geq -1$ eine negative Korrelation an. $r = +/- 0.10$: schwache Korrelation; $r = +/- 0.30$: mittelstarke Korrelation; $r = +/- 0.50$: starke Korrelation. Ein p-Wert $< 0,05$ gilt als signifikant. p-Werte: * $\leq 0,05$; ** $\leq 0,01$; *** $\leq 0,001$. REM – REM-Schlaf (*rapid eye movement*), NREM – Non-REM-Schlaf (S1-S4).

Tabelle 8. Vergleich der Korrelationen in den Nachtwerten.

	Kortisol	Wach	REM	NREM
Kortisol	0,5	0,37	0,5	
Wach			0,33	
REM				0,5
NREM				

p-Werte für den Vergleich signifikanter Korrelationen der Nachtwerte unter Metyrapon- vs. Placebo-Bedingungen für alle 21 Versuchspersonen. Ein p-Wert $< 0,05$ gilt als signifikant. REM – REM-Schlaf (*rapid eye movement*), NREM – Non-REM-Schlaf (S1-S4).

3.8 Ernährungszustand

Alle Probanden waren vor Studienbeginn in einem sehr gutem Ernährungs- und Trainingszustand (ECM/BCM-Index: $0,77 \pm 0,01$; Phasenwinkel: $7,06 \pm 0,11$). Die Tabelle 9 zeigt die berechneten BIA-Werte der Versuchsteilnehmer und im Vergleich dazu die Idealwerte für gesunde, schlanke und sportlich trainierten Erwachsene gemäß den Berechnungsgrundlagen der Data-Input GmbH. Die Teilnehmer erfüllten annähernd die Idealwerte und somit auch die Grundvoraussetzungen für die Studienteilnahme.

Tabelle 9. Bioelektrische Impedanz-Analyse.

	Berechnete Werte	Idealwerte	Normalbereich	
	MW \pm SEM	MW \pm SEM	Männer	
Körperwasser (l)	47,3 \pm 0,9	45,1 \pm 4,7	39,1	- 51,1
Körperfett (kg)	12,4 \pm 0,9	13,6 \pm 4,6	7,3	- 19,4
Körperfett (%)	15,97 \pm 1,00	17,9 \pm 5,3	10,6	- 24,5
Magermasse (kg)	64,63 \pm 1,16	61,6 \pm 6,5	53,5	- 69,8
ECM (kg)	28,12 \pm 0,54	27,3 \pm 3,4	23,2	- 31,8
BCM (kg)	36,49 \pm 0,77	34,3 \pm 4,3	29,3	- 39,6
ECM/BCM-Index	0,77 \pm 0,01	0,80 \pm 0,15	0,68	- 0,93
Zellanteil (%)	56,46 \pm 0,45	55,7 \pm 3,4	51,9	- 59,4
Grundumsatz (kcal)	1770 \pm 24	1700 \pm 135	1450	- 1870

Messdaten und Normwerte der BIA für 20 Probanden (männlich; zw. 18-29 Jahre; Gewicht in kg: 77,0 \pm 1,3; Körpergröße in m: 1,85 \pm 0,01; BMI in kg/m²: 22,45 \pm 0,30). Alle berechneten Werte und Idealwerte sind als Mittelwerte (MW) \pm Standardfehler des Mittelwertes (SEM, *standard error of the mean*) angegeben. Definition des Normalbereichs über die Perzentilen 10 und 90. Idealwerte und Normbereich gemäß den Berechnungsgrundlagen der Data-Input GmbH. ECM – *extra cellular metass* (Extrazelluläre Masse), BCM – *body cellular mass* (Körperzellmasse).

4 Diskussion

4.1 Zusammenfassung der Ergebnisse

Unser Alltag wird von zirkadianen Rhythmen bestimmt, seien es innere Taktgeber oder externe Einflüsse wie der periodische Wechsel von Tag und Nacht, die unsere Physiologie auf einen 24-Stunden-Rhythmus festlegen. Durch die Globalisierung und Entwicklung einer Leistungsgesellschaft werden diese evolutionsbedingt entwickelten festen Rhythmen zunehmend durch beispielsweise Interkontinentalflüge oder Schichtarbeit gestört. Die so entstehende Phasenverschiebung endogener Rhythmen gegenüber der äußeren Zeit führt zu zahlreichen Erkrankungen, die immer mehr in den Fokus der allgemeinen Aufmerksamkeit geraten und die Medizin zur Entwicklung effizienterer Therapien auf dem Gebiet der Chronomedizin drängen.

Einen möglichen pharmakologischen Therapieansatz stellt die Manipulation des zirkadianen Kortisol-Rhythmus mittels Metyrapon dar. Untersuchungen von Kießling *et al.* demonstrierten 2010 eine Phasenverschiebung endogener zirkadianer Rhythmen nach Applikation dieses Glukortikoidsynthese-Inhibitors bei Mäusen (Kießling *et al.*, 2010). Anlehnend an die Ergebnisse der Tierstudie war das Ziel dieser Arbeit, den phasenverschiebenden Effekt von Metyrapon auf physiologische Rhythmen beim Menschen zu analysieren. Durch die Gabe von jeweils 250 mg Metyrapon am Morgen von drei aufeinanderfolgenden Tagen sollte der morgendliche Kortisol-Anstieg vorverlegt und so Einfluss auf zirkadiane Rhythmen wie Nachtschlaf, Kognition, Vigilanz und Müdigkeit genommen werden. Die aufgestellte Hypothese konnte durch unsere Studienergebnisse unter den durchgeführten Bedingungen nicht bestätigt werden. Es zeigten sich keine signifikanten Unterschiede zwischen den beiden Versuchsbedingungen (Metyrapon *vs.* Placebo), sowohl für den Nachtschlaf, kognitive Funktionen, die subjektive Müdigkeit und Vigilanz als auch für die gemessenen Vitalparameter. Die Rhythmik der Kortisol-Konzentration im Serum galt dabei als wichtige Einflussgröße der Metyrapon-Gabe. Sie wies ebenfalls keine signifikante Veränderung unter Verum-Einnahme auf. Für die explizite Untersuchung des phasenverschiebenden Effektes von Metyrapon wurde eine Rhythmusanalyse durchgeführt. Die dabei ermittelten zirkadianen Parameter Amplitude und Phase unterlagen keiner signifikanten Veränderung unter Metyrapon. Es konnten lediglich für die untersuchten Bereiche Kognition und Vigilanz vereinzelt signifikante Abweichungen zu einzelnen Messzeitpunkten unter Metyrapon und eine Veränderung der Tagesprofile festgestellt werden. So war beispielsweise bei den Probanden zu vier Messzeiten das Arbeitsgedächtnis

geringfügig eingeschränkt und die Konsolidierung von neutralen Textinhalten erfuhr eine Vorverschiebung in die Morgenstunden. Die nähere Erläuterung der hier gezeigten Veränderungen erfolgt in den folgenden Kapiteln. Insgesamt wiesen die Versuchsteilnehmer unter beiden Studienbedingungen im Tagesverlauf charakteristische Schwankungen der gemessenen Parameter auf, die eine hohe Korrelation und Signifikanz in Bezug auf den Abfragezeitpunkt aufzeigten. Diese Schwankungen folgten zum Teil zirkadianen Rhythmen mit typischen physiologischen Mustern. Abschließend lässt sich feststellen, dass die orale Einnahme von insgesamt 750 mg Metyrapon keinen signifikanten messbaren Einfluss auf die untersuchten zirkadianen Rhythmen bei jungen gesunden Männern hatte.

4.2 Effekte von Metyrapon auf den Nachtschlaf und die Aktivität-Ruhe-Rhythmik

4.2.1 Schlafarchitektur und zirkadiane Schlaf-Wach-Rhythmik

Unser wohl auffälligster zirkadianer Rhythmus, der Schlaf-Wach-Rhythmus, folgt einer robusten 24-Stunden-Periodik, die durch homöostatische und zirkadiane Prozesse reguliert und von weiteren Faktoren beeinflusst wird (Borbély, 1982). Eine wichtige Interaktion besteht zwischen Schlaf und den Hormonen der HPA-Achse. Unter physiologischen Bedingungen ist die Kortisol-Konzentration zu Beginn der Nacht, wo vornehmlich der Tiefschlaf mit langsamen Delta-Wellen (SWS) dominiert, am niedrigsten und erreicht die maximale Konzentration zum Ende der Nacht, wo der REM-Schlaf überwiegt (Rechtschaffen und Kales, 1968). Durch eine Infusion von Hydrokortison – und somit einem Anstieg der Kortisol-Serumkonzentration – in der Nacht kommt es zum Anstieg des Tiefschlafanteils und Reduktion des REM-Schlafes (Born *et al.*, 1991; Friess *et al.*, 2004). Einen gegenteiligen Effekt erreicht man durch die Gabe des Glukokortikoidsynthese-Inhibitors Metyrapon, der durch die Hemmung der Steroid-11 β -Hydroxylase die Biosynthese von Kortisol unterdrückt und so in die negative Rückkopplung der HPA-Achse eingreift, was zu einem Anstieg der Hormone CRH und ACTH führt (Jahn *et al.*, 2003). Metyrapon verursacht eine Reduktion des SWS und induziert häufigeres Erwachen. Anhand mehrerer Studien konnte gezeigt werden, dass dieser Effekt vor allem über die erhöhte CRH-Konzentration im PVN vermittelt wird (Holsboer *et al.*, 1988; Jahn *et al.*, 2003). Die vom Kortisolsynthese-Hemmer verursachten Veränderungen der ACTH- und Kortisol-Freisetzung haben nur geringen Einfluss auf den Tiefschlaf. Die Wirkung von Metyrapon

auf die negative Rückkopplung der HPA-Achse ist dosisabhängig, und die Veränderungen des Schlafes erreichen erst ab einer bestimmten Dosierung ihr Maximum (Kap. 4.5). Des Weiteren konnten Jahn *et al.* (2003) durch eine über den Tag verteilte Gabe von 4,5 g oder 6 g Metyrapon einen Phasenvorschub des physiologischen morgendlichen Kortisol-Anstiegs bewirken und folglich einen phasenverschiebenden Effekt von Metyrapon auf das zirkadiane System demonstrieren. Dieser Effekt wurde ebenfalls in der Studie von Kießling *et al.* 2010 am Mausmodell nachgewiesen. Wir stellten die Annahme auf, dass durch eine morgendliche Gabe von Metyrapon eine Vorverlagerung des normalerweise am frühen Morgen auftretenden GC-Maximums auf die Zeit um Mitternacht möglich wäre, was seinerseits zu einer Verschiebung des physiologischen Schlaf-Wach- bzw. Aktivitäts-Ruhe-Rhythmus führt und den Anteil des Tiefschlafes in der Nacht insgesamt reduziert.

In unserer Arbeit erhielten die Probanden jeweils um 10 Uhr morgens des Versuchstages und den beiden Tagen zuvor insgesamt 750 mg Metyrapon. Entsprechend den aktuellen Forschungsergebnissen war eine Reduktion des Tiefschlafes mit vermehrten Wachphasen und eine Vorverlegung der Aktivität-Ruhe-Rhythmik zu erwarten. Die aufgezeichneten Schlafdaten für alle 21 eingeschlossenen Probanden zeigten jedoch sowohl in Bezug auf den zirkadianen Schlaf-Wach-Rhythmus als auch in der Schlafarchitektur keine signifikanten Unterschiede zwischen Metyrapon und Placebo. Auch die Rhythmusanalyse der einzelnen Schlafstadien Wach, Non-REM und REM wies keine signifikante Phasenverschiebung auf (Kap. 3.2.1, Abb. 10; Kap. 3.6, Tab. 6). Eine gesonderte Analyse von 16 Probanden (Kap. 3.2.1, Tab. 4) ergab als einziges einen signifikant kleineren prozentuellen Anteil des Schlafstadiums S3 des Tiefschlafes. Dies könnte auf die Wirkung von Metyrapon auf den SWS zurückzuführen sein. Da es jedoch bei allen anderen untersuchten Parametern in Bezug auf die Schlafarchitektur oder -rhythmik zu keinen signifikanten Unterschieden kam, ist hier am ehesten von einem Zufallsbefund auszugehen. So blieben sowohl der Non-REM-, hier insbesondere der SWS, der REM-Schlaf, deren Latenz als auch die Wachphasen unverändert. Diese Annahme stützt ebenfalls der fehlende Effekt von Metyrapon auf das Serum-Kortisol als wichtiger Zielparameter der Metyrapon-Wirkung (Kap. 3.1) und infolgedessen ausbleibende Veränderung in den Hormonwerten für CRH und ACTH, die in der vorliegenden Arbeit jedoch nicht weiter untersucht wurden. Angesichts der starken linearen Korrelation der einzelnen Schlafstadien und den Kortisol-Konzentration (Kap. 3.7, Abb. 19), ist der ausbleibende Einfluss des Metyrapons am ehesten durch die niedrig gewählte Tagesdosis des Verums begründet (Kap. 4.5), die ebenfalls für die fehlende Signifikanz der Ergebnisse im Vergleich von Metyrapon vs. Placebo spricht.

Actiwatch-Messungen stellen ein einfaches Mittel zur objektiven Beurteilung von Schlafstörungen und Veränderungen von zirkadianen Rhythmen und der körperlichen Aktivität dar. Dabei spiegeln gestörte Aktivitätsmuster Verschiebungen innerer Rhythmen wider und können Indikatoren für Krankheiten sein. Seinerseits kann die körperliche Bewegung endogene Rhythmen beeinflussen und eine übermäßige abendliche Aktivität zu einer Zurückverlagerung zirkadianer Rhythmen führen (Mistlberger und Skene, 2005; Yamanaka *et al.*, 2015). Die Auswertung der Aktigraphie und der Schlaftagebücher ergaben keine Veränderungen der Aktivitäts- und Ruhemuster unserer Probanden, die unter beiden Versuchsbedingungen denen gesunder Männer mit einem stabilen Wechsel der täglichen Ruhe- und Bewegungszeit entsprachen (Minors *et al.*, 1996; Mitchell *et al.*, 2017). Die leichte Vorverschiebung des Nachtschlafes nach Einnahme des Verums, erkennbar an dem in der Aktigraphie gemessenen L5-*onset*-Wert (Kap. 3.2.2), war nicht signifikant. Die fehlende Signifikanz und Veränderungen des Schlafes und der Aktivitätsmuster könnte auf die niedrig gewählte Metyrapon-Dosis von 250 mg/ Tag zurückgeführt werden, da diese entscheidend für eine ausreichende Senkung des Kortisol-Spiegels und der damit verbundenen Verschiebung des zirkadianen Systems ist (Kap. 4.5).

4.2.2 Schlafqualität und Müdigkeit

Infolge der oben beschriebenen Veränderungen des Schlafes durch Metyrapon mit Abnahme des Tiefschlafes, vermehrten Wachperioden und einer Phasenverschiebung zirkadianer Rhythmen wäre von einer deutlichen Verschlechterung der Schlafqualität und der damit verbundenen morgendlichen Müdigkeit auszugehen. Abgesehen davon wurde im Rahmen anderer Studien demonstriert, dass ein erniedrigter Kortisol-Spiegel, beispielsweise beim chronischen Erschöpfungssyndrom oder Morbus Addison, mit einer erhöhten Müdigkeit verbunden ist (Brosnan und Cowing, 1996; Nijhof *et al.*, 2014). Die genauen Mechanismen sind jedoch bislang nicht endgültig geklärt und werden von weiteren Faktoren beeinflusst. Unsere Probanden zeigten in allen hierfür verwendeten Tests, Stanford-Schläfrigkeitsskala (SSS), VAS für das Attribut „schläfrig“, „konzentriert“ und MDBF mit der Dimension „wach-müde“, für beide Versuchsbedingungen einen typischen Kurvenverlauf mit zunehmender Müdigkeit zum Abend hin und Abnahme dieser nach dem Schlaf. Die erwarteten Veränderungen und ein phasenverschiebender Effekt des Glukokortikoid-Inhibitors auf die Tagesrhythmik mit einem früheren Auftreten der Müdigkeit blieben aufgrund des ausbleibenden Einflusses auf die Kortisol-Konzentration und des Nachtschlafes aus. Lediglich die Auswertung der Schlaftagebücher verzeichnete eine leichte Tendenz zur Verschlechterung der Schlafqualität und der morgendlichen Befindlichkeit

unter akuter Metyrapon-Einnahme vor Versuchsbeginn, was für seine hemmende Wirkung auf das Kortisol und damit verbundene erhöhte Müdigkeit und schlechteren Schlaf sprechen könnte. Ein signifikanter Einfluss des Kortisol-Inhibitors auf die Schlafqualität und Müdigkeit wurde jedoch nicht nachgewiesen.

4.3 Einfluss von Metyrapon auf kognitive Funktionen und deren Periodik

4.3.1 Arbeitsgedächtnis im Tagesverlauf und Rolle des Chronotypen

Wie viele andere physiologische Prozesse unterliegen die unterschiedlichen kognitiven Komponenten wie das Arbeit-, Langzeitgedächtnis oder auch Wachsamkeit und Vigilanz einer täglichen zirkadianen Modulation, die durch die Faktoren des homöostatischen Schlafdrucks und der morgendlichen Schlafträgheit zusätzlich beeinflusst werden (Wright *et al.*, 2012). Das Arbeitsgedächtnis erlaubt es uns, Informationen kurzzeitig zu speichern und aktiv zu manipulieren, um somit die meisten kognitiven Funktionen wie Verstehen, Planen, logisches Denken und das Verarbeiten räumlich-visueller Information zu steuern (Baddeley, 2000). Es weist eine typische Tagesrhythmik mit einem Nadir der kognitiven Leistung in der späten Nacht und am frühen Morgen nach dem Aufwachen auf. Dieses ist unter anderem durch eine abfallende nächtliche zirkadiane Stimulation der Gehirnerregung und eine morgendliche Schlafträgheit zu erklären (Tassi und Muzet, 2000). Etwa 2-4 Stunden nach dem Aufstehen erreicht das Arbeitsgedächtnis durch eine zunehmende zirkadiane Hochregulation der Gehirnerregung und Abbau der Schlafträgheit das höchste Leistungsniveau, das bis in die Abendstunden relativ hoch bleibt, jedoch aufgrund des ansteigenden homöostatischen Schlafdrucks etwas abnimmt (Reid *et al.*, 2011; Wright *et al.*, 2012). Ein weiterer Leistungseinbruch ist am Nachmittag zu beobachten, wenn die Schlafträgheit vollständig abgebaut wurde, der zirkadiane Einfluss jedoch dem einsetzenden homöostatischen Schlafdruck noch nicht ausreichend stark entgegenwirkt (Babkoff *et al.*, 1991; Wertz *et al.*, 2006). Durch das Dominieren der zirkadianen Erregung gegenüber dem steigenden Schlafdruck im weiteren Tagesverlauf steigt die kognitive Leistung zum Abend wieder an, bevor sie in der Nacht erneut vom zirkadianen System herunterreguliert wird (Wright *et al.*, 2012). Die beschriebene Periodik des Arbeitsgedächtnisses entspricht der unter standardisierten Bedingungen mit einem geregelten Tag-Nacht-Rhythmus. Diese wird jedoch täglich von weiteren Einflussfaktoren wie Chronotyp, Alter, Schlafentzug, Licht,

Erregungszustand oder auch Hormonen wie Kortisol und Melatonin moduliert (Valdez *et al.*, 2012).

Eine entscheidende Rolle spielt dabei die individuelle Phasenlage des endogenen zirkadianen Systems, die als Chronotyp bezeichnet wird und erheblich die Periodik unserer kognitiven Leistungsfähigkeit mitbestimmt (May, 1999). Dies kann man anhand des Unterschiedes zwischen dem frühen und späten Chronotyp veranschaulichen. Beim Frühtyp ist die zirkadiane Rhythmik vorverlagert, sodass sie sich bereits kurz nach dem Aufwachen am Zeitpunkt maximaler kognitiver Leistung befindet (Mongrain *et al.*, 2004). Im Gegensatz dazu befindet sich der Spättyp, bei dem das zirkadiane System nach hinten verlagert ist, morgens im Nadir zirkadianer Gehirnerregung und ist erst am Abend maximal leistungsfähig (Duffy *et al.*, 2001). Die individuelle Periodik innerer Uhren und die Tatsache, dass sowohl die Hauptarbeitszeit vieler Menschen und Schulzeiten in den frühen Morgenstunden beginnen, wo viele sich noch an einem tiefen Punkt ihrer kognitiven Leistungskurve befinden, ist ein relevantes Faktum, was im Alltag berücksichtigt werden sollte. Denn ein gesellschaftliches Leben, was entgegen der eigenen biologischen Zeit stattfindet, führt auf Dauer zur Dysregulation physiologischer Prozesse und fördert neben kognitiven Defiziten eine ganze Reihe schwerwiegender Erkrankungen wie *Diabetes mellitus* Typ 2, kardiovaskuläre Erkrankungen oder Krebs (Knutsson, 2003; Marquié *et al.*, 2015). Dabei leiden die späten Chronotypen im Durchschnitt häufiger an einem sozialen *Jetlag*, was unter anderem den Konsum von Suchtmitteln wie Alkohol, Nikotin und Koffein fördert (Wittmann *et al.*, 2006 und 2009). Der soziale *Jetlag* beschreibt die Diskrepanz zwischen der sozialen und physiologischen Zeit, was auf lange Sicht im Falle eines chronischen sozialen *Jetlags*, ähnlich wie der wiederholte reiseinduzierte *Jetlag*, zu gravierenden Folgen für die Gesundheit führt (Wittmann *et al.*, 2006; Roenneberg *et al.*, 2012). Die in unsere Studie eingeschlossenen Probanden wiesen fast ausschließlich einen normalen Chronotyp auf, der einem MSF zwischen 3 und 6 Uhr entspricht (*midpoint of sleep on free days*; Roenneberg, 2012). So konnten wir von einer typischen Tagesperiodik der kognitiven Leistung der Versuchsteilnehmer ausgehen und einen möglichen Einfluss der individuellen Phasenlage der Probanden auf die Ergebnisse vernachlässigen.

Zur Beurteilung des Arbeitsgedächtnisses unserer Probanden im Tagesverlauf führten wir in einem 2- bis 3-stündlichen Intervall den *N-Back Task* durch. Hier zeigte sich eine typische tagesrhythmische Periodik des Arbeitsgedächtnisses unter Placebo-Bedingungen mit einer hohen Signifikanz in Bezug auf den Abfragezeitpunkt. Durch die Einnahme von Metyrapon am Morgen des Versuchstages und den beiden Tagen zuvor erwarteten wir, entsprechend

den Ergebnissen von Kießling *et al.* (2010), durch eine Manipulation des zirkadianen Systems eine Vorverlegung dieser Rhythmik mit verbesserter Gedächtnisleistung am Morgen und einer Verschlechterung zur Nacht hin. Allgemein führt Metyrapon über die Hemmung der Kortisol-Synthese zu einer Beeinträchtigung des Arbeitsgedächtnisses (Lupien *et al.*, 2002). Insgesamt zeigten die Versuchsteilnehmer nur zu einem Zeitpunkt, um 19:30 Uhr, eine signifikante Verschlechterung des Arbeitsgedächtnisses unter Einnahme des Kortisol-Hemmers. Es konnte angedeutet werden, dass die Probanden am Vormittag mehr korrekte Antworten im Vergleich zum Placebo angaben, jedoch ohne das Signifikanzniveau zu erreichen. Weitere signifikante Veränderungen durch Metyrapon ließen sich in der Auswertung des *1-* und *3-Back Task* nachweisen. Hier zeigten die Probanden in den Nachmittags- und Abendstunden schlechtere Leistungen des Arbeitsgedächtnisses und zur Nacht hin sogar eine geringfügige Verbesserung, was hier im Widerspruch zu den erwarteten Ergebnissen steht (Het *et al.*, 2005; Maheu *et al.*, 2005). Die schlechtere Gedächtnisleistung am Abend kann zum einen durch die hemmende Wirkung von Metyrapon auf die GC-Produktion und der daraus resultierenden Gedächtnisdefiziten, als auch im Rahmen eines erwarteten Phasenvorschubs erklärt werden. Aufgrund der fehlenden Veränderung der Kortisol-Rhythmik zum Zeitpunkt der Versuchsdurchführung liegt die Vermutung nahe, dass die resultierenden Effekte auf das Arbeitsgedächtnis durch die Metyrapon-Gabe der drei vorangegangenen Tage vor Versuchsbeginn hervorgerufen wurde und somit eine Nachwirkung der passageren Kortisol-Suppression darstellte. Dieser verzögerte hemmende Effekt lässt sich durch Wirkung des Glukokortikoid-Rezeptors (GR) als Transkriptionsfaktor erklären. Der Haupteffekt der GCs erfolgt über die intrazelluläre Bindung an GR, die im Vergleich zu den MR eine niedrigere Affinität gegenüber den GCs aufweisen, mit anschließender Dissoziation des GC-GR-Komplexes in den Zellkern und Bindung als Homodimer an spezifische Regulationselemente in der DNA (GRE, *glucocorticoid response element*) und Aktivierung oder Hemmung der entsprechenden Gene (Yamamoto, 1985). Die Wirkung der GCs setzt langsam ein und macht sich erst dann bemerkbar, wenn eine genügend hohe wirksame Konzentration des neusynthetisierten Proteins erreicht ist. Deren Präsenz bestimmt dann die Dauer der durch GCs angestoßenen Wirkungen, auch wenn die Glucocorticoide längst aus dem Blut verschwunden sind. Des Weiteren werden erst bei Erreichen einer bestimmten Kortisol-Konzentration die niedrigaffinen GR besetzt und entfalten ihre Wirkung als Transkriptionsfaktor im Zielorgan, wie dem präfrontalen Kortex als wichtige Struktur des Arbeitsgedächtnisses (de Kloet *et al.*, 1998). Dies könnte erklären, dass trotz der bereits normalisierten Kortisol-Konzentrationen

im Serum der vorangegangene suppressive Effekt des Metyrapons auf das Kortisol mitsamt o.g. Veränderungen des Arbeitsgedächtnisses am Versuchstag anhalten und der normalisierte GC-Spiegel erst verzögert seine Wirkung zeigt.

Eine erneute Verbesserung des Kurzzeitgedächtnisses vor dem Zubettgehen, wie im *I-Back Task* gezeigt, kann durch die nachlassende inhibitorische Wirkung des Metyrapon mit einer Normalisierung der endogenen Kortisol-Werte begründet werden. Oral verabreichtes Metyrapon erreicht nach ungefähr einer Stunde seine maximale Plasmakonzentration und blockiert die Kortisol-Synthese für etwa vier Stunden (Fachinformation des Arzneimittel-Kompodiums der Schweiz). Da die Probanden das Metyrapon um 10 Uhr morgens einnahmen, ist von einer unzureichenden Serumkonzentration zur Nacht hin und nachlassender Wirkung auf das Arbeitsgedächtnis auszugehen. Die fehlende Signifikanz für die restlichen Ergebnisse des *N-Back Task* könnte mit der niedrig gewählten Metyrapon-Tagesdosis von 250 mg zusammenhängen, da die Wirkung von Metyrapon auf das zirkadiane System und Kognition stark dosisabhängig ist (Kap. 4.3.2 und 4.5).

Des Weiteren wird das Arbeitsgedächtnis stark von der aktuellen Aufmerksamkeit beeinflusst (Awh *et al.*, 2006). Um die Aufmerksamkeit der Probanden zum Zeitpunkt der kognitiven Testabfrage zu bestimmen, absolvierten die Probanden den psychomotorischen Vigilanztest (PVT). Dieser misst die Reaktionszeit und ist dabei besonders empfindlich gegenüber zirkadianen und Schlaf-bezogenen Veränderungen der Vigilanz. Die Vigilanz beschreibt die Fähigkeit, das Aufmerksamkeitsniveau auch unter monotonen Bedingungen bei seltener Reizfrequenz aufrechtzuerhalten. Die Daueraufmerksamkeit und Reaktionsfähigkeit folgen ebenfalls einem festen Tagesrhythmus und sind entscheidend für eine intakte kognitive Funktion. So ist die Reaktionszeit, ähnlich wie das Arbeitsgedächtnis, am Abend am besten und fällt zum Morgen hin wieder ab (Blatter und Cajochen, 2007). Als Stresshormon bereitet Kortisol den Organismus auf einen Zustand besonders hoher Aufmerksamkeit vor und ist ein wichtiger Modulator der Vigilanz (van Marle *et al.*, 2009). Durch eine Suppression der GC-Konzentration mittels Metyrapon gingen wir von einer verzögerten Reaktionszeit aus. So zeigte sich in der Abbildung 16 (Kap. 3.4.3) eine deutliche Dämpfung der tageszeitlichen Varianz in der Reaktionszeit mit Verringerung der Amplitude (Kap. 3.6, Tab. 6), die auf den hemmenden Effekt von Metyrapon zurückgeführt werden kann. Eine lineare Abhängigkeit zwischen der Kortisol-Konzentration und der Vigilanz konnte jedoch zum Zeitpunkt der Versuchsdurchführung nicht nachgewiesen werden, sodass hier ebenfalls ein anhaltender Effekt der vorangegangenen Verum-Gabe ursächlich sein könnte. Die Untersuchung der Präzision wies einen Abfall dieser um die Mittagszeit nach

Metyrapon-Einnahme auf und spricht für die direkte Wirkung des Verums ohne Veränderung der Phasenlage. Die beschriebenen Veränderungen der Vigilanz erreichten jedoch nicht das Signifikanzniveau, welchem die niedrig gewählte tägliche Metyrapon-Dosis zugrunde liegen könnte.

Außerdem ist es erwiesen, dass das Arbeitsgedächtnis seinerseits Einfluss auf die Aufmerksamkeit nimmt, was ebenfalls eine limitierte Kapazität der Reizaufnahme hat (de Fockert *et al.*, 2001; Awh *et al.*, 2006). Bei einer kurzzeitigen Überlastung des Arbeitsspeichers kann dieser über die Steuerung und Eindämmung der aktuellen Aufmerksamkeit vorübergehend entlastet werden. Die Probanden absolvierten im Rahmen der kognitiven Testabfrage verschiedene Gedächtnistests nacheinander. Dabei folgte der PVT der Wortliste und dem Wortflüssigkeits-Test zur Bestimmung des deklarativen Gedächtnisses. Eine vorläufige Auslastung des Arbeitsgedächtnisses könnte dazu geführt haben, dass die aktuelle Aufmerksamkeit zu einem gewissen Maß beeinflusst wurde und es folglich zu einer fehlenden Periodik der Vigilanz im Tagesverlauf kam. Ebenfalls könnte die reizarmen und monotonen Versuchsbedingungen eine weitere Ursache für die fehlende Rhythmizität sowohl der Ergebnisse des *N-Back Tasks* und des Vigilanztests sein (Kap. 3.6, Tab. 6).

Eine lineare Abhängigkeit der Vigilanz und des Arbeitsgedächtnisses unter Metyrapon konnte entgegen den Erwartungen nicht aufgezeigt werden (Kap. 3.7, Abb. 18). So konnten wir eine Interaktion zwischen der Aufmerksamkeit und dem Arbeitsgedächtnis als zusätzlichen Störfaktor des Arbeitsgedächtnisses ausschließen.

Zusammenfassend lässt sich feststellen, dass der Effekt von Metyrapon auf das Arbeitsgedächtnis und seine zirkadiane Periodik unter den durchgeführten Versuchsbedingungen vereinzelt vorzufinden, jedoch unzureichend für eine eindeutige signifikante Wirkung war.

4.3.2 Zusammenhang zwischen dem deklarativen Gedächtnis, Glukokortikoiden und Schlaf

Wichtige Modulatoren der unterschiedlichen Gedächtnisarten sind der Nachtschlaf und Glukokortikoide. Dabei hat sowohl jeder für sich, als auch die Interaktion zwischen Schlaf und GCs, einen Effekt auf Kodierung, Konsolidierung oder Abruf verschiedener Gedächtnisinhalte. Schlaf ist entscheidend an der Gedächtniskonsolidierung beteiligt

(Wagner und Born, 2008). Dabei erfolgt im Tiefschlaf bevorzugt die Konsolidierung von Hippocampus-abhängigen deklarativen Erinnerungen, und während der REM-Phase wird das Amygdala-abhängige emotionale und prozedurale Gedächtnis gefestigt (Plihal and Born, 1997; Wagner *et al.*, 2001). Beide Schlafstadien korrelieren unter physiologischen Bedingungen mit unterschiedlichen GC-Konzentrationen. In der ersten Nachthälfte dominiert der Tiefschlaf mit einer niedrigen Kortisol-Konzentration und zum Ende der Nacht steigt der GC-Spiegel an und der REM-Schlaf überwiegt (Born and Fehm, 1998). Die verbleibenden GCs während des frühen Nachtschlafes wirken vornehmlich an den hochaffinen MR, während sie in der späten Schlafphase bei höheren Konzentrationen auch die niedrigaffinen GR aktivieren (Reul und de Kloet, 1986). Dabei verhindert der physiologische GC-Anstieg im REM-Schlaf eine überschießende emotionale Gedächtniskonsolidierung, die beispielsweise bei neuropsychiatrischen Erkrankungen wie Depressionen durch eine Störung der zirkadianen Tag-Nacht-Rhythmik und der HPA-Achse verstärkt ist (Rock *et al.*, 2014).

GCs weisen abhängig von ihrer Konzentration unterschiedliche Effekte auf die kognitiven Prozesse wie Lernen und Gedächtnis auf und folgen dabei einer umgekehrten U-förmigen Funktion (Lupien und McEwen, 1997; Kuhlmann *et al.*, 2005; Marin *et al.*, 2011). So beeinträchtigen sowohl stark erhöhte als auch sehr niedrige Kortisol-Konzentrationen die Gedächtnisleistung. Dieses Phänomen wird durch die unterschiedliche Affinität des Kortisols für MR und GR und dem daraus resultierenden Ungleichgewicht der Rezeptoraktivierung erklärt. Sowohl eine zu geringe MR- als auch eine zu starke GR-Aktivierung in den entsprechenden Gehirnregionen wie Hippocampus, Amygdala und präfrontaler Kortex verschlechtern das Gedächtnis. Diese unterschiedliche Besetzung der Rezeptoren findet sich ebenfalls im Tagesverlauf. Die affineren MR sind über den ganzen Tag und die GR am Vormittag zu ungefähr 50 % und am Nachmittag zu 10 % besetzt (de Kloet *et al.*, 1998). Folglich führt eine Applikation von GCs am Morgen zur Beeinträchtigung des Gedächtnisses am Vormittag, ohne Veränderung der Gedächtnisleistung am Nachmittag oder sogar hier zu einer geringen Verbesserung derselben (Het *et al.*, 2005). Im Gegensatz dazu sind bei einer Hydrokortison-Gabe am Nachmittag keine Veränderungen der Kognition zu verzeichnen, was auf eine maximale Besetzung der Rezeptoren hindeutet (Maheu *et al.*, 2005).

Bezogen auf das deklarative Gedächtnis, also bewusstes Erinnern von Fakten und Konzepten, wird eine unterschiedliche Wirkung der GCs auf emotionale im Vergleich zu neutralen Textinhalten oder Erinnerungen beschrieben (Buchanan und Lovallo, 2001;

Rimmele *et al.*, 2003). Grundsätzlich fällt den Menschen das Behalten von emotional erregenden Informationen leichter als von neutralen Inhalten (Canli *et al.*, 2000). Durch die emotionale Erregung kommt es zu einer zusätzlichen Aktivierung der Amygdala und einer höheren noradrenergen Aktivität, die die Wirkung der GCs auf das Gedächtnis zusätzlich verstärkt (McGaugh, 2000; Wirth, 2015). Bei neutralen Textinhalten bleibt dieser Effekt aus, sodass Kortisol weniger Einfluss auf neutrale Erinnerungen hat.

In dieser Arbeit untersuchten wir die Wirkung des Glukokortikoidsynthese-Inhibitors Metyrapon auf das deklarative Gedächtnis mittels einer Wortliste bestehend aus emotionalen und neutralen Nomen. Durch die Senkung der GC-Konzentration am Morgen erwarteten wir, dass die Probanden sich vor allem an die emotionalen Begriffe schlechter erinnern können und die neutralen Wörter unbeeinflusst bleiben. Dieser Effekt sollte durch den zusätzlichen phasenverschiebenden Effekt von Metyrapon bevorzugt in den späten Abendstunden zu finden sein. In der graphischen Darstellung unserer Ergebnisse der Wortliste war allgemein eine Beeinträchtigung emotionaler und Verbesserung neutraler Gedächtnisinhalte zu erkennen. Ein signifikanter Effekt war jedoch nur zu einem der sechs Abfragezeitpunkte, jeweils am Vormittag der zweiten Versuchshälfte, zu finden. Allgemein entsprachen die Tagesschwankungen des emotionalen deklarativen Gedächtnisses einem typischen Verlauf und zeigten auch unter Metyrapon eine deutlich signifikante zirkadiane Periodik, die in ihrer Phase jedoch nicht verschoben war (Wright *et al.*, 2012; Kap. 3.4.1, Abb. 12). Der negative Effekt auf emotionale Gedächtnisinhalte könnte auf die Wirkung von Metyrapon zurückgeführt werden. Als weitere Ursache, die unter anderem für die gesteigerte Dynamik nach Metyrapon-Gabe spricht, wäre eine Veränderung auf der Rezeptorebene denkbar. Wie oben beschrieben wird die GC-Wirkung über die GR und MR, die vor allem in den Zellen des Hippocampus, dem wichtigsten Hirnareal des deklarativen Gedächtnisses, vermehrt aufzufinden sind, entsprechend einer umgekehrten U-förmigen Dosis-Wirkungs-Kurve vermittelt. Folglich hängt die individuelle Ansprechbarkeit eines Organs bzw. einer Zelle auf die GCs von der Menge der exprimierten GR und MR und deren aktuellen Besetzung mit Kortisol ab. Die zytoplasmatische Konzentration der Rezeptoren unterliegt einer Autoregulation und kann sich bei anhaltend veränderter Kortisol-Konzentration entsprechend anpassen und so die Empfindlichkeit der Zelle gegenüber GCs verändern (Burnstein *et al.*, 1991; Bronnegard, 1996). Unter der Annahme, dass eine transiente morgendliche Hemmung der Kortisol-Sekretion der Nebenniere über drei aufeinander folgende Tage zu einer Veränderung der Rezeptordichte der GR und MR im Hippocampus führt, ist eine damit verbundene gesteigerte Sensitivität der Rezeptoren denkbar. Folglich

sind bereits geringere Mengen des Kortisol notwendig, um die niedrigaffineren GR zu sättigen und somit einen negativen Effekt mit Einschränkung der Merkfähigkeit emotionaler Wörter auszulösen. Für den überschießenden Effekt, trotz eines normwertigen Serum-Kortisol, spricht auch die gesteigerte zirkadiane Dynamik der Ergebnisse der emotionalen Wortliste (Kap. 3.4.1, Abb. 12).

Eine nicht erwartete verbesserte Erinnerung an neutrale Begriffe könnte durch einen sog. Kompromisseffekt erklärt werden. Mehrere Studien zeigten, dass abhängig von der GC-Konzentration eine Beeinträchtigung bzw. Verbesserung des emotionalen Gedächtnisses als Kompensation zu einer Priorisierung bzw. Verschlechterung neutraler Inhalte führen kann (Jelici *et al.*, 2004; Payne *et al.*, 2007). Vereinfacht gesagt, konnten sich die Probanden aufgrund des emotionalen Gedächtnisdefizites nach Metyrapon-Einnahme als Ausgleich neutrale Begriffe besser merken. Dies zeigt sich ebenfalls deutlich in dem Kurvenverlauf der Ergebnisse der neutralen Wortliste mit einer nahezu Spiegelung dieser im Vergleich zur emotionalen Wortliste (Kap. 3.4.1, Abb. 12). Diese Hypothese wird ebenfalls von der vorliegenden signifikanten linearen Korrelation beider Parameter untereinander gestützt (Kap. 3.7, Abb. 18). Eine mangelnde Signifikanz der Ergebnisse zwischen Metyrapon vs. Placebo könnte die niedrig gewählten Metyrapon-Tagesdosis und somit unzureichende Hemmung der Kortisol-Synthese zugrunde liegen. Um relevante Nebenwirkungen bei unseren gesunden Probanden zu vermeiden, wurde eine Tagesdosis von 250 mg gewählt. In diversen Studien zeigte sich jedoch erst ab einer Tagesgesamtosis von 1,5 g eine signifikante Unterdrückung der endogenen Kortisol-Freisetzung, die zu einer Beeinträchtigung der kognitiven Leistung führte (Reul und de Kloet, 1985; Kalman und Spencer, 2002; Rimmele *et al.*, 2010). Eine Tagesdosis von 750 mg wies diesen Effekt bereits nicht mehr auf (Marin *et al.*, 2011).

Anhand der Wortliste werden Kodierung und Konsolidierung von Gedächtnisinhalten überprüft. Zur Messung der Abruffunktion aus dem Langzeitgedächtnis verwendeten wir im Rahmen jeder Testsitzung den Regensburger Wortflüssigkeits-Test. Der Abruf von Informationen folgt ebenfalls einer umgekehrten U-förmigen Dosis-Wirkungs-Kurve, die jedoch nach links verschoben ist, sodass entweder bereits gering erhöhte oder eine stärkere Senkung endogener Kortisol-Konzentrationen zu einer Beeinträchtigung des Abrufes deklarativer Gedächtnisinhalte führen (de Quervain *et al.*, 2009). Der Kurvenverlauf der Abruffunktion zeigte im Vergleich zu Placebo eine Vorverschiebung des Maximums von den Abend- in die Morgenstunden, was für den phasenverschiebenden Effekt von Metyrapon sprechen könnte (Kap. 3.4.2, Abb. 15). Bei fehlender Änderung der Kortisol-Werte ist hier

ein Übertritt der anhaltenden Metyrapon-Wirkung der vorangegangenen Tage im Sinne einer verzögerten Wirkung des Kortisols auf genomischer Ebene denkbar. Des Weiteren zeigte sich ein gedämpfter Kurvenverlauf auf einem hohen Niveau, der bei einer Normalisierung der Kortisol-Werte am Versuchstag und aufgrund der Vorverlagerung der zirkadianen Rhythmik zu einer Optimierung mit insgesamt verbessertem Gleichgewicht der GR- und MR-Besetzung unter Verum-Gabe führt. Ursächlich für die Dämpfung der zirkadianen Rhythmik könnte ebenfalls der insgesamt monoton gehaltene und reizarme Versuchsaufbau und folglich eine reduzierte Vigilanz der Versuchsteilnehmer sein. Hier zeigt sich eine schwach signifikant negative Abhängigkeit beider Parameter (Kap. 3.7, Abb. 18).

Ein signifikanter Effekt von Metyrapon auf das deklarative Gedächtnis konnte anhand der Ergebnisse nicht eindeutig nachgewiesen werden. Anhand der veränderten tageszeitlichen Varianz der Parameter unter Metyrapon ist ein möglicher übergetretener phasenverschiebender Effekt unter akuter Metyrapon-Einnahme denkbar.

4.4 Vitalparameter

Bereits vor mehreren Jahrzehnten wurden tagesrhythmische Schwankungen sowohl des arteriellen Blutdrucks als auch der Herzfrequenz beschrieben (Millar-Craig *et al.*, 1978; Degaute *et al.*, 1991). Diese weisen einen ähnlichen Verlauf mit zwei Spitzenwerten, zum einen am Morgen gegen 10 Uhr und zum anderen am Abend um 20 Uhr, auf. Hier fällt der Anstieg jedoch nach einem kurzen Nadir am Nachmittag etwas geringer aus. In der Nacht sinken die Vitalparameter wieder ab, bis sie gegen 3 Uhr nachts ihren absoluten Tiefpunkt erreichen und bereits vor dem Aufwachen wieder ansteigen. Dabei zeigen die Werte über den 24-Stunden-Tag gesehen für die Herzfrequenz im Vergleich zum systolischen und diastolischen Blutdruck eine größere Amplitude bis zu 20 %, wobei die Schwankungen des Blutdrucks bei 10-15 % liegen. Die beschriebene 24-Stunden-Periodik der Vitalparameter wird maßgeblich von dem Schlaf-Wach- und Aktivitäts-Ruhe-Rhythmus bestimmt, sodass die Werte vor allem in Ruhephasen wie dem Nachtschlaf absinken (Degaute *et al.*, 1991). Unabhängig vom Aktivitäts-Ruhe-Zyklus weisen der arterielle Blutdruck und die Herzfrequenz ebenfalls einen robusten zirkadianen Rhythmus auf, der hinweisend auf eine Interaktion mit dem endogenen zirkadianen System ist. Eine anhaltende Desynchronisation zirkadianer Rhythmen, wie sie beispielsweise bei Schichtarbeitern zu finden ist, fördert die Hypertonie-Entwicklung und erhöht so das Schlaganfallrisiko und die Entstehung anderer kardiovaskulärer Erkrankungen (Morris *et al.*, 2017).

Während der Versuchssitzungen erfolgte bei den Probanden eine stündliche Kontrolle der Vitalparameter. Dabei wurden in dem Zeitraum von 23 Uhr bis 7 Uhr keine Werte erhoben, um den Nachtschlaf und weitere erhobene Daten nicht zu beeinflussen. Insgesamt entsprachen die Tagesschwankungen beider Messwerte der jungen gesunden Männer unter beiden Versuchsbedingungen einem normalen physiologischen Verlauf. Eine fehlende Phasenverschiebung durch Metyrapon könnte durch die niedrig gewählte Tagesdosis erklärt werden. Es ist außerdem möglich, dass signifikante Veränderungen der Vitalparameter in die versuchsbedingte Messpause in der Nacht fielen und somit nicht registriert wurden. Ein grundsätzlicher Abfall der Blutdruckwerte durch die Gabe des Glukokortikoidsynthese-Inhibitors und der damit verbundenen Senkung des Kortisol-Spiegels, wie sie bei Patienten mit einer Nebenniereninsuffizienz (Rhee und Pearce, 2011) zu finden sind, wurde ebenfalls nicht festgestellt. Lediglich zu Beginn des Versuches und vor dem Zubettgehen verzeichneten wir ungewöhnliche Anstiege der Parameter. Diese können zum einen durch eine höhere körperliche Aktivität wie das Ankommen im Schlaflabor und Vorbereitungen für die Nacht mit Zähneputzen und Umziehen verbunden sein - wobei der Blutdruck stärker von körperlicher Bewegung und Orthostase beeinflusst wird. Zum anderen waren die Probanden durch die ungewöhnliche neue Situation und entsprechende Vorbereitungen vor Versuchsbeginn wie beispielsweise die Anlage eines peripheren Venenverweilkatheters einem möglichen Stress ausgesetzt. Dieser ist ebenfalls ein wichtiger Einflussfaktor und führt kurzfristig über die Aktivierung des sympathischen Nervensystems zu einem Anstieg der Herzfrequenz und des Blutdrucks (Lambert *et al.*, 2014). Um diese Störfaktoren zu minimieren, wurden die Probanden gebeten, bereits eine Stunde vor Versuchsbeginn ohne starke körperliche Anstrengung anzukommen. Dies war jedoch stark von der Compliance der Probanden abhängig.

4.5 Limitationen

Für die vorliegende Arbeit sind einige relevante Einschränkungen zu nennen, die die Ergebnisse beeinflusst haben könnten. Trotz einzelner signifikanter Ergebnisse, die zum Teil auf die Wirkung von Metyrapon zurückgeführt werden können, ließ sich insgesamt weder für den Schlaf-Wach-Rhythmus noch für die Tagesrhythmik kognitiver Funktionen wie deklaratives und Arbeitsgedächtnis, Vigilanz, oder die subjektive Müdigkeit der Probanden ein signifikanter Effekt des Kortisol-Hemmers nachweisen. Diese Ergebnisse zeigten sich ebenfalls für das Zielparame-ter Kortisol (Kap. 3.1, Abb. 9). Lediglich für die

kognitiven Parameter (neutrale Wortliste, *N-Back Task* und divergentes Denken) konnte eine Phasenverschiebung der Tagesrhythmik festgestellt werden, diese erreichten im Endergebnis jedoch nicht das Signifikanzniveau. Großer Wahrscheinlichkeit nach hängt dies mit der niedrig gewählten Dosis des Verums von 250 mg/ Tag und einem kurzen Darreichungszeitraum von drei Tagen zusammen. Um eine entsprechende Verschiebung der Rhythmen bei Mäusen zu erzielen, erhielten diese in der Studie von Kießling *et al.* 2010 an 16 aufeinanderfolgenden Tagen jeweils eine Einzeldosis von 100 mg/kg Körpergewicht, die bei einem durchschnittlichen Körpergewicht unserer Probanden von $77 \pm 1,3$ kg einer ungefähren täglichen Dosis von 7.700 mg entsprechen würde. Der Einsatz einer solch hohen Dosierung hätte das Risiko von Nebenwirkungen für die gesunden Probanden stark erhöht und wäre ethisch nicht vertretbar gewesen. Üblicherweise wird Metyrapon diagnostisch zur Prüfung der Funktion der HPA-Achse oder in der Therapie des Cushing-Syndroms und Hyperaldosteronismus eingesetzt. Die verwendete Dosierung beträgt dabei durchschnittlich 3 g am Tag, kann jedoch je nach individuellen Kortisol-Werten zwischen 250 mg und 6 g/ Tag schwanken (Fachinformation des Arzneimittel-Kompodiums der Schweiz). Des Weiteren konnte in mehreren Studien erst ab einer Tagesdosis von 1,5 g des Kortisol-Inhibitors eine signifikante Unterdrückung der endogenen Kortisol-Freisetzung erzielt werden (Reul und de Kloet, 1985; Kalman und Spencer, 2002; Rimmelé *et al.*, 2010). Demnach ist es naheliegend, dass die hier verwendete Tagesdosis des Metyrapon, und womöglich die recht kurz gewählte Applikationszeit, nicht ausreichend hoch war, um den gewünschten signifikanten phasenverschiebenden Effekt zu bewirken. Zum Ausschluss von Nebenwirkungen wurde die Tagesdosis von der Ethikkommission auf maximal 250 mg festgelegt. Ferner erfolgte die Einnahme der Studienmedikation, abgesehen von einer kurzen Bestätigung der Probanden per SMS, nicht unter kontrollierten Bedingungen, sodass eine nicht ordnungsgemäße Einnahme Ursache für eine unzureichende Wirkung sein könnte. Auch der gewählte Applikationszeitpunkt am Morgen könnte für die fehlende Wirkung des Metyrapon verantwortlich sein. Pharmakologisch betrachtet erreicht oral verabreichtes Metyrapon nach einer Stunde die maximale Plasmakonzentration und blockiert die Kortisol-Synthese effektiv für vier Stunden (Fachinformation des Arzneimittel-Kompodiums der Schweiz). So konnten beispielsweise Jahn *et al.* durch eine pulsatile Gabe von Metyrapon, in dem sie die Gesamtdosis von 4,5 oder 6 g unter Berücksichtigung der pharmakologischen Eigenschaften auf mehrere Einzeldosen über den Tag verteilten und diese über drei Tage verabreichten, einen Phasenvorschub des physiologischen morgendlichen Kortisol-Anstieges erzielen (Jahn *et al.*, 2003). Dabei erhielten die gesunden Probanden die höchste

Tagesdosis am Abend vor dem Zubettgehen, wenn die physiologische GC-Konzentration niedrig ist. Demnach ist es denkbar, dass durch die Gabe des Medikamentes zu einer anderen Tageszeit die Wirkung durch ein Eingreifen in die zirkadiane Periodik zu einem anderen Zeitpunkt verstärkt werden könnte. Die richtige Metyrapon-Dosis und den entsprechenden Darreichungszeitpunkt für die Verschiebung physiologischer zirkadianer Rhythmen könnte am Beispiel des Kortisol-Rhythmus im Rahmen einer Pilotstudie ermittelt werden. Eine direkte Messung der akuten Suppression des Kortisol-Spiegels hätte ebenfalls in Rahmen dieser Arbeit erfolgen können. Ein weiterer entscheidender Aspekt dieser Arbeit im Vergleich zu der Vorläuferstudie von Kießling *et al.* ist die fehlende *Jetlag*-Simulation. Es ist denkbar, dass ein normal funktionierendes und stabiles endogenes Uhrenwerk, wie es bei unseren Probanden angenommen wurde, schwerer durch eine kurzzeitige pharmakologische Manipulation zu beeinflussen ist. Es ist bekannt, dass periphere Gewebe, deren aktiv transkribierten Gene bis zu 10 % uhrenkontrolliert sind, für eine gewisse Zeit ihren Rhythmus erhalten können (Dibner *et al.*, 2010). So wäre es möglich, dass die gewünschte Phasenverschiebung erst zu einem späteren Zeitpunkt nach dem Versuchsende auftrat.

Ferner unterliegt das Stresshormon vielfältigen Einflüssen und reagiert prompt, durch beispielsweise emotional erregende Situationen – aber auch den Konsum von Alkohol, Nikotin oder Koffein – mit erhöhten Kortisol-Spiegeln (Adinoff *et al.*, 2003; Kudielka *et al.*, 2004; Steptoe und Ussher, 2006; Lovallo *et al.*, 2006). Durch strenge Ausschlusskriterien und eine ausführliche Anamnese in der Voruntersuchung unserer Studie sollten die möglichen Störfaktoren minimiert werden, um die Ergebnisse nicht zu verfälschen. Während der Versuchstage waren die Studienteilnehmer weitgehend gegenüber äußeren *Zeitgeber*-Reizen wie Licht, zusätzliche Mahlzeiten, übermäßige Aktivität oder soziale Kontakte und psychosozialen Stressoren abgeschirmt. Vor Versuchsbeginn mussten wir uns jedoch bei der Einhaltung der Regeln auf die Compliance der Probanden verlassen. Hier konnte es nicht definitiv ausgeschlossen werden, dass das Verhalten der Versuchsteilnehmer, beispielsweise durch übermäßigen Kaffeekonsum an vorangegangenen Tagen oder Stress aufgrund eines zeitlichen Drucks pünktlich am Versuchsort zu erscheinen, Einfluss auf die endogene Kortisol-Freisetzung nahm. Dies erklärt unter anderem die erhöhten Vitalparameter in der ersten Stunde der Versuchssitzung.

Eine weitere Einschränkung bildet die Auswahl der Probanden. Da bekannt ist, dass Veränderungen im Hormonhaushalt während des Menstruationszyklus sowohl den Schlaf (Walsleben, 2011) als auch den GC-Stoffwechsel (Lovallo *et al.*, 2019) und das Gedächtnis (Pompili *et al.*, 2012) beeinflussen, wurden im Rahmen dieses Experiments ausschließlich

Männer untersucht. In zukünftigen Studien sollte daher zusätzlich überprüft werden, ob beim weiblichen Geschlecht durch eine Metyrapon-Applikation Veränderungen der zirkadianen Schlaf-Wach-Rhythmik und anderer physiologischer Rhythmen verursacht werden können.

4.6 Ausblick

Bereits vor 20 Jahren belegten tierexperimentelle Studien die Rolle der GCs bei der Synchronisation peripherer zirkadianer Rhythmen (Balsalobre *et al.*, 1998 und 2000). 2010 gelang es der Forschungsgruppe von Kießling unter Simulation eines *Jetlags* den Schlaf-Wach-Rhythmus von Mäusen durch eine Manipulation des zirkadianen GC-Rhythmus mittels Metyrapon schneller an die neu vorgegebene Zeit adaptieren zu lassen (Kießling *et al.*, 2010). Vor diesem Hintergrund postulierten wir, dass der zirkadiane Kortisol-Rhythmus auch beim Menschen ein wichtiger *Zeitgeber* für die Synchronisation endogener zirkadianer Rhythmen ist und eine morgendliche Gabe des Glukokortikoidsynthese-Inhibitors Metyrapon bei gesunden Männern zu einer Verschiebung des Schlaf-Wach-Rhythmus sowie anderer physiologischer Rhythmen führt. Anhand der Ergebnisse dieser Arbeit ließ sich jedoch kein signifikanter Einfluss des Kortisol-Hemmers Metyrapon auf die zirkadiane Periodik des Schlafes, der Kognition oder der Stimmung der Probanden nachweisen, was vermutlich mit der niedrig gewählten Medikamentendosis und dem kurzen Applikationszeitraum zusammenhängt.

Die Planung einer Folgestudie mit einem ähnlichen Versuchsaufbau mit Anpassung der Metyrapon-Dosis, vollständiger Abschirmung der Studienteilnehmer gegenüber äußeren Reizen und Simulation eines *Jetlags*, mittels fest vorgegebener vor- oder zurückverlagerter Schlaf- und Mahlzeiten, könnte eine weitere Möglichkeit in der Gewinnung neuer Erkenntnisse auf dem Gebiet der Chronophysiologie darstellen. Denn angesichts der zunehmenden Globalisierung mit Fernflügen und der Entwicklung einer 24-Stunden Gesellschaft leiden die Menschen immer mehr an nicht nur kurzfristigen Folgen wie Schlafstörungen, Konzentrationsschwäche oder Gedächtnisstörungen, sondern auch an gravierenden gesundheitlichen Problemen mit steigender Inzidenz für kardiovaskuläre und Krebserkrankungen. Diese bilden heutzutage die Haupttodesursache und stellen die Medizin vor neue Herausforderungen in der Erforschung potenter Therapien. Die zugrundeliegenden Mechanismen des zirkadianen Systems und dessen Einfluss auf die menschliche Gesundheit sind wichtige Aspekte der aktuellen Forschung. Eine pharmakologische Manipulation des

zirkadianen Systems ermöglicht neue Therapieansätze, sodass die an Tierversuchen gewonnenen Erkenntnisse immer mehr an klinischer Relevanz gewinnen.

5 Zusammenfassung

Das zirkadiane Uhrensystem (vom lateinischen *circa diem* = ungefähr ein Tag) ist ein fester Bestandteil des menschlichen Organismus und bestimmt viele physiologische Prozesse wie den Schlaf-Wach-Rhythmus, endokrine Rhythmen oder kognitive Prozesse. Der zentrale zirkadiane Taktgeber des hierarchisch organisierten inneren Uhrenwerkes beim Menschen ist der *Nucleus suprachiasmaticus* im Hypothalamus, der die endogenen Rhythmen nicht nur mit den zyklisch wechselnden Umweltbedingungen, sondern auch untereinander synchronisiert. Auch viele periphere Gewebe weisen zirkadiane Oszillatoren auf. Ein funktionierendes zirkadianes System ist entscheidend für unsere Gesundheit. Eine zirkadiane Dysregulation kann schwerwiegende Krankheiten, unter anderem Depressionen, kardiovaskuläre oder maligne Erkrankungen, zur Folge haben. Neuere Erkenntnisse auf dem Gebiet der Chronophysiologie sprechen den zirkadian sezernierten Glukokortikoiden der Nebennierenrinde eine wichtige Rolle bei der Synchronisation peripher Rhythmen zu. In Tierstudien führte eine Injektion des Glukokortikoidsynthese-Inhibitors Metyrapon durch die Verschiebung der GC-Rhythmik zu einer schnelleren Anpassung der Mäuse an einen verschobenen Licht-Dunkel-Zyklus. In der vorliegenden Arbeit wurde der phasenverschiebende Effekt der Glukokortikoidsynthese-Inhibitors Metyrapon auf zirkadiane Rhythmen beim Menschen untersucht.

Im Rahmen einer placebokontrollierten, *within-person*- und doppelblinden Studie wurde an 21 gesunden, normalgewichtigen Männern die Wirkung der morgendlichen Gabe von je 250 mg Metyrapon an drei aufeinanderfolgenden Tagen auf die zirkadiane Rhythmik des Nachtschlafes, kognitiver Funktionen und Befindlichkeit untersucht. Die Studie lieferte keine signifikanten Ergebnisse, sodass es unter den durchgeführten Bedingungen zu keinen Veränderungen des zirkadianen Systems durch Metyrapon kam. Lediglich vereinzelt ließen sich Hinweise für einen möglichen phasenverschiebenden Effekt von Metyrapon anhand der Ergebnisse untersuchter kognitiver Funktionen erkennen, die hier einen übergetretenen Einfluss des Verum aus den vorangegangenen Tagen der Einnahme vermuten lassen. Mögliche Ursachen für den fehlenden Einfluss des Kortisol-Hemmers auf die untersuchten Rhythmen und die ausbleibende Signifikanz könnten die niedrig gewählte Dosis, der gewählte Applikationszeitpunkt und die Applikationsdauer sein.

Aufgrund zunehmender Inzidenz für Rhythmusstörungen und daraus resultierenden Folgeerkrankungen besteht ein besonderes Interesse für die Erforschung neuer Therapeutika auf dem Gebiet der Chronomedizin. Dabei birgt der pharmakologische Ansatz der GC-

Rhythmusverschiebung ein enormes Potential für mögliche neue Therapieansätze in der Prävention von *Jetlag* wie auch bei der Behandlung von Schlafstörungen bei Schichtarbeitern und sollte weiter erforscht werden.

6 Literaturverzeichnis

Adams JP, Sweatt JD: Molecular psychology: roles for the ERK MAP kinase cascade in memory. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology* 42: 135-163; 2002

Adinoff B, Ruether K, Krebaum S, Iranmanesh A, Williams MJ: Increased salivary cortisol concentrations during chronic alcohol intoxication in a naturalistic clinical sample of men. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research* 27: 1420-1427; 2003

Akil M, Pierri JN, Whitehead RE, Edgar CL, Mohila C, Sampson AR, Lewis DA: Lamina-specific Alterations in the Dopamine Innervation of the Prefrontal Cortex in Schizophrenic Subjects. *American Journal of Psychiatry* 156: 1580-1589; 1999

Arendt J: Managing jet lag: some of the problems and possible new solutions. *Sleep Medicine Reviews* 13: 249-256; 2009

Aschenbrenner S, Tucha O, Lange KW: RWT. Regensburger Wortflüssigkeits-Test. 1. Aufl., Hogrefe, Göttingen, 2001

Aschoff J, Pohl H: Phase relations between a circadian rhythm and its zeitgeber within the range of entrainment. *Naturwissenschaften* 65: 80-84; 1978

Aschoff J: Circadian Rhythms in Man. A self-sustained oscillator with an inherent frequency underlies human 24-hour periodicity. *Science* 148: 1427-1432; 1965

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

Awh E, Vogel EK, Oh SH: Interactions between attention and working memory. *Neuroscience* 139: 201-208; 2006

Babkoff H, Caspy T, Mikulincer M: Subjective sleepiness ratings: the effects of sleep deprivation, circadian rhythmicity and cognitive performance. *Sleep* 14: 534-539; 1991

Baddeley A: The episodic buffer: A new component of working memory? *Trends in Cognitive Sciences* 4: 417-423; 2000

Baddeley A, Hitch GJ: Developments in the concept of working memory. *Neuropsychology* 8: 485-493; 1994

Balsalobre A, Brown SA, Marcacci L, Tronche F, Kellendonk C, Reichardt HM, Schütz G, Schibler U: Resetting of circadian time in peripheral tissues by glucocorticoid signaling. *Science* 289: 2344-2346; 2000

Balsalobre A, Damiola F, Schibler U: A serum shock induces circadian gene expression in mammalian tissue culture cells. *Cell* 93: 929-937; 1998

Barrett RK, Takahashi JS: Temperature compensation and temperature entrainment of the chick pineal cell circadian clock. *The Journal of neuroscience* 15: 5681-5692; 1995

Bartsch T: Die verschiedenen Gedächtnisarten. In: Bartsch T (Hrsg.): Störungen der Gedächtnisfunktion. Ein Überblick. 3-6, Springer, Berlin, 2015

Berger H: Über das Elektrenkephalogramm des Menschen. *Archiv für Psychiatrie und Nervenkrankheiten* 87: 527–570; 1929

Besing RC, Rogers CO, Paul JR, Hablitz LM, Johnson RL, McMahon LL, Gamble KL: GSK3 activity regulates rhythms in hippocampal clock gene expression and synaptic plasticity. *Hippocampus* 27: 890-898; 2017

Blatter K, Cajochen C: Circadian rhythm in cognitive performance: methodical constraints, protocols, theoretical underpinnings. *Physiology & Behavior* 90: 196-208; 2007

Bohlhalter S, Murck H, Holsboer F, Steiger A: Cortisol Enhances non-REM Sleep and Growth Hormone Secretion in Elderly Subjects. *Neurobiology of Aging* 18: 423-429; 1997

Boivin DB, Tremblay GM, James FO: Working on atypical schedules. *Sleep Medicine* 8: 578-589; 2007

Borbély AA: A Two Process Model of Sleep Regulation. *Human Neurobiology* 1: 195-204; 1982

Borbély AA: Wozu dient der Schlaf? Versuch einer Synthese. In: Bobérly AA: Das Geheimnis des Schlafs. Neue Wege und Erkenntnisse der Forschung. Ausgabe für das Internet, 114-123, Deutsche Verlags-Anstalt, Stuttgart, 1998. https://www.pharma.uzh.ch/static/schlafbuch/Geheimnis_des_Schlafs.pdf (Tag des Zugriffs: 26.04.2020)

Born J, de Kloet ER, Wenz H, Kern W, Fehm HL: Gluco- and antimineralocorticoid effects on human sleep: a role of central corticosteroid receptors. *American Journal of Physiology* 260: E183-188; 1991

Born J, Fehm HL: Hypothalamus–pituitary–adrenal activity during human sleep: A coordinating role for the limbic hippocampal system. *Experimental and Clinical Endocrinology & Diabetes* 106: 153-163; 1998

Bronnegard M: Steroid receptor number. Individual variation and downregulation by treatment. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine* 154: 28-33; 1996

Brosnan CM, Cowing NFC: Addison's disease. *The British Medical Journal* 312: 1085-1087; 1996

Brown SA, Kowalska E, Dallmann R: (Re)inventing the circadian feedback loop. *Developmental Cell* 22: 477-487; 2012

Buchanan TW, Lovallo WR: Enhanced memory for emotional material following stress-level cortisol treatment in humans. *Psychoneuroendocrinology* 26: 307-317; 2001

Buijs MR, Markman M, Nunes-Cardoso B, Hou YX, Shinn S: Projections of the suprachiasmatic nucleus to stress-related areas in the rat hypothalamus: A light and electron microscopic study. *The Journal of Comparative Neurology* 335: 42-54; 1993

Buijs RM, Kalsbeek A: Hypothalamic integration of central and peripheral clocks. *Nature Reviews Neuroscience* 2: 521-526; 2001

Buijs RM, Wortel J, Van Heerikhuize JJ, Feenstra MG, Ter Horst GJ, Romijn HJ, Kalsbeek A: Anatomical and functional demonstration of a multisynaptic suprachiasmatic nucleus adrenal (cortex) pathway. *European Journal of Neuroscience* 11: 1535-1544; 1999

Burnstein KL, Bellingham DL, Jewell CM, Powell-Oliver FE, Cidlowski JA: Autoregulation of glucocorticoid receptor gene expression. *Steroids* 56: 52-58; 1991

Butcher GQ, Dziema H, Collamore M, Burgoon PW, Obrietan K: The p42/44 mitogen-activated protein kinase pathway couples photic input to circadian clock entrainment. *Journal of Biological Chemistry* 277: 29519-29525; 2002

Cameron HA, Hazel TG, McKay RDG: Regulation of neurogenesis by growth factors and neurotransmitters. *Journal of Neurobiology* 36: 287-306; 1998

Canli T, Zhao Z, Brewer J, Gabrieli JD, Cahill L: Event-related activation in the human amygdala associates with later memory for individual emotional experience. *Journal of Neuroscience* 20: RC99; 2000

Cappuccio FP, Cooper D, D'Elia L, Strazzullo P, Miller MA: Sleep duration predicts cardiovascular outcomes: a systematic review and meta-analysis of prospective studies. *European heart journal* 32, 1484-1492; 2011

Cappuccio FP, Taggart FM, Kandala NB, Currie A, Peile E, Stranges S, Miller MA: Meta-analysis of short sleep duration and obesity in children, adolescents and adults. *Sleep* 31: 619-626; 2008

Chemelli RM, Willie JT, Sinton CM, Elmquist JK, Scammell T, Lee C, Richardson JA, Williams SC, Xiong Y, Kisanuki Y, Fitch TE, Nakazato M, Hammer RE, Saper CB, Yanagisawa M: Narcolepsy in orexin knockout mice: molecular genetics of sleep regulation. *Cell* 98: 437-451; 1999

Cho K, Ennaceur A, Cole JC, Suh CK: Chronic jet lag produces cognitive deficits. *The Journal of Neuroscience* 20: RC66; 2000

Chou TC, Bjorkum AA, Gaus SE, Lu J, Scammell TE, Saper CB: Afferents to the ventrolateral preoptic nucleus. *The Journal of Neuroscience* 22: 977-990; 2002

Chou TC, Scammell TE, Gooley JJ, Gaus SE, Saper CB, Lu J: Critical role of dorsomedial hypothalamic nucleus in a wide range of behavioral circadian rhythms. *The Journal of Neuroscience* 23: 10691-10702; 2003

Chun LE, Woodruff ER, Morton S, Hinds LR, Spencer RL: Variations in phase and amplitude of rhythmic clock gene expression across prefrontal cortex, hippocampus, amygdala, and hypothalamic paraventricular and suprachiasmatic nuclei of male and female rats. *Journal of Biological Rhythms* 30: 417-436; 2015

Chung S, Son GH, Kim K: Circadian rhythm of adrenal glucocorticoid: Its regulation and clinical implications. *Biochimica et Biophysica Acta - Molecular Basis of Disease* 1812, 581-591; 2011

Cohen J: Statistical power analysis for the behavioral sciences. 2. Aufl., Hillsdale NJ: L. Erlbaum Associates, 1988

Conway-Campbell BL, Sarabdjitsingh RA, McKenna MA, Pooley JR, Kershaw JM, Meijer OC, de Kloet ER, Lightman SL: Glucocorticoid ultradian rhythmicity directs cyclical gene pulsing of the clock gene period 1 in rat hippocampus. *Journal of Neuroendocrinology* 22: 1093-1100; 2010

- Czeisler CA, Gooley JJ:** Sleep and circadian rhythms in humans. *Cold Spring Harbor Symposia on Quantitative Biology* 72: 579–597; 2007
- Daan S, Beersma DG, Borbély AA:** Timing of human sleep: recovery process gated by a circadian pacemaker. *American Journal of Physiology* 246: R161-183; 1984
- Davidson AJ, Castanon-Cervantes O, Leise TL, Molyneux PC, Harrington ME:** Visualizing jet lag in the mouse suprachiasmatic nucleus and peripheral circadian timing system. *The European journal of neuroscience* 29: 171–180; 2009
- Davis FA, Michael JA, Tomaszewski JS:** Fluctuations of motor function in multiple sclerosis related to circadian temperature variations. *Diseases of the Nervous System* 34: 33-36; 1973
- de Fockert, JW, Rees G, Frith CD, Lavie N:** The role of working memory in visual selective attention. *Science* 291: 1803-1806; 2001
- de Kloet ER, Joëls M, Holsboer F:** Stress and the brain: from adaptation to disease. *Nature Reviews Neuroscience* 6: 463-475; 2005
- de Kloet ER, Oitzl MS, Joels M:** Functional Implications of Brain Corticosteroid Receptor Diversity. *Cellular and Molecular Neurobiology* 13: 433-55; 1993
- de Kloet ER, Vreugdenhil E, Oitzl MS, Joels M:** Brain corticosteroid receptor balance in health and disease. *Endocrine Reviews* 19: 269-301; 1998
- de Quervain DJ, Roozendaal B, Nitsch RM, McGaugh JL, Hock C:** Acute cortisone administration impairs retrieval of long-term declarative memory in humans. *Nature Neuroscience* 3: 313-314; 2000
- de Quervain DJF, Aerni A, Schelling G, Roozendaal B:** Glucocorticoids and the regulation of memory in health and disease. *Frontiers in Neuroendocrinology* 30: 358-370; 2009
- Degaute JP, Van De Borne P, Linkowski P, Van Cauter E:** Quantitative analysis of the 24-hour blood pressure and heart rate patterns in young men. *Hypertension* 18: 199-210; 1991
- Dibner C, Schibler U, Albrecht U:** The mammalian circadian timing system: organization and coordination of central and peripheral clocks. *Annual Review of Physiology* 72: 517-549; 2010

Dijk D, von Schantz M: Timing and consolidation of human sleep, wakefulness, and performance by a symphony of oscillators. *Journal of Biological Rhythms* 20: 279-290; 2005

Dijk DJ, Franken P: Interaction of sleep homeostasis and circadian rhythmicity: Dependent or independent systems. In: Kryger MH, Roth T, Dement WC (Hrsg.): Principles and Practice of Sleep Medicine. 4. Aufl., 418-434, Elsevier, Philadelphia, 2005

Dinges DF, Powell JW: Microcomputer analyses of performance on a portable, simple visual RT task during sustained operations. *Behavior Research Methods, Instruments, & Computers* 17: 652-655; 1985

Duden Online. <https://www.duden.de> (Tag des Zugriffs: 29.04.2020)

Duffy JF, Rimmer DW, Czeisler CA: Association of intrinsic circadian period with morningness-eveningness, usual wake time, and circadian phase. *Behavioral Neuroscience* 115: 895-899; 2001

Dujardin K, Guerrien A, Leconte P: Sleep, brain activation and cognition. *Physiology & Behavior* 47: 1271-1278; 1990

Eastman CI, Burgess HJ: How To Travel the World Without Jet Lag. *Sleep Medicine Clinics* 4: 241-255; 2009

Engeland WC, Arnhold MM: Neural circuitry in the regulation of adrenal corticosterone rhythmicity. *Endocrine* 28: 325-332; 2005

Engeland WC: Sensitization of endocrine organs to anterior pituitary hormones by the autonomic nervous system. *Handbook of Clinical Neurology* 117: 37-44; 2013

Fachinformation des Arzneimittel-Kompodiums der Schweiz. <https://compendium.ch/> (Tag des Zugriffs: 22.05.2020)

Follenius M, Brandenberger G, Bandesapt JJ, Libert JP, Ehrhart J: Nocturnal Cortisol Release in Relation to Sleep Structure. *Sleep* 15: 21-27; 1992

Friess E, Bardeleben UV, Wiedemann K, Lauer C, Holsboer F: Effects of pulsatile cortisol infusion on sleep-EEG and nocturnal growth hormone release in healthy men. *Journal of Sleep Research* 3: 73-79; 1994

Friess E, Tagaya H, Grethe C, Trachsel L, Holsboer F: Acute Cortisol Administration Promotes Sleep Intensity in Man. *Neuropsychopharmacol* 29: 598-604; 2004

Fuller PM, Gooley JJ, Saper CB: Neurobiology of the Sleep-Wake Cycle: Sleep Architecture, Circadian Regulation, and Regulatory Feedback. *Journal of Biological Rhythms* 21: 482-493; 2006

Gaggioni G, Maquet P, Schmidt C, Dijk DJ, Vandewalle G: Neuroimaging, cognition, light and circadian rhythms. *Frontiers in Systems Neuroscience* 8: 126; 2014

Gevins AS, Bressler SL, Cutillo BA, Illes J, Miller JC, Stern J, Jex HR: Effects of prolonged mental work on functional brain topography. *Electroencephalography and Clinical Neurophysiology* 76: 339-350; 1990

Gomez-Gonzalez B, Dominguez-Salazar E, Hurtado-Alvarado G, Esqueda-Leon R, Santana-Miranda R, Rojas-Zamorano JA, Velazquez-Moctezuma J: Role of sleep in the regulation of the immune system and the pituitary hormones. *Annals of the New York Academy of Sciences* 1261: 97–106; 2012

Guler AD, Ecker JL, Lall GS, Haq S, Altimus CM, Liao HW, Barnard AR, Cahill H, Badea TC, Zhao H, Hankins MW, Berson DM, Lucas RJ, Yau KW, Hattar S: Melanopsin cells are the principal conduits for rod-cone input to non-image-forming vision. *Nature* 453: 102-105; 2008

Hallschmid M, Benedict C, Schultes B, Born J, Kern W: Obese men respond to cognitive but not to catabolic brain insulin signaling. *International Journal of Obesity* 32: 275-282; 2008

Harmer SL, Panda S, Kay SA: Molecular bases of circadian rhythms. *Annual review of cell and developmental biology* 17: 215–253; 2001

Hartung J, Elpelt B, Klösener KH: Statistik – Lehr- und Handbuch der angewandten Statistik. Oldenbourg Verlag, München; 1995

Hastings MH: Neuroendocrine rhythms. *Pharmacology & therapeutics* 50: 35– 71; 1991

Hattar S, Lucas RJ, Mrosovsky N, Thompson S, Douglas RH, Hankins MW, Lem J, Biel M, Hofmann F, Foster RG, Yau KW: Melanopsin and rod-cone photoreceptive systems account for all major accessory visual functions in mice. *Nature* 424: 76-81; 2003

Hayes MHS, Patterson DG: Experimental development of the graphic rating method. *Psychological Bulletin* 18: 98-99; 1921

Hayes N: Kognitive Prozesse - eine Einführung. In: Gerstenmaier J (Hrsg.): Einführung in die Kognitionspsychologie. 11-40, Ernst Reinhardt Verlag, München, 1995

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

Hoddes E, Dement W, Zarcone V: The development and use of the Stanford Sleepiness Scale (SSS). *Psychophysiology* 9: 150; 1972

Holsboer F, von Bardeleben U, Steiger A: Effects of intravenous corticotropin-releasing hormone upon sleep-related growth hormone surge and sleep EEG in man. *Neuroendocrinology* 48: 32-38; 1988

Husse J, Eichele G, Oster H: Synchronization of the mammalian circadian timing system: Light can control peripheral clocks independently of the SCN clock: Alternate routes of entrainment optimize the alignment of the body's circadian clock network with external time. *Bioessays* 37: 1119-1128; 2015

Ishida A, Mutoh T, Ueyama T, Bando H, Masubuchi S, Nakahara D, Tsujimoto G, Okamura H: Light activates the adrenal gland: timing of gene expression and glucocorticoid release. *Cell metabolism* 2: 297-307; 2005

Jacobson L, Sapolsky R: The role of the hippocampus in feedback regulation of the hypothalamic-pituitary-adrenocortical axis. *Endocrine Reviews* 12: 118-34; 1991

Jahn H, Kiefer F, Schick M, Yassouridis A, Steiger A, Kellner M, Wiedemann K: Sleep endocrine effects of the 11-beta-hydroxysteroiddehydrogenase inhibitor metyrapone. *Sleep* 26: 823-829; 2003

Jasper HH: The ten-twenty electrode system of the International Federation. *Electroencephalography and clinical neurophysiology* 10, 371-375, 1958

Jelici M, Geraerts E, Merckelbach H, Guerrieri R: Acute stress enhances memory for emotional words, but impairs memory for neutral words. *The International Journal of Neuroscience* 114: 1343-1351; 2004

Jilg A, Lesny S, Peruzki N, Schwegler H, Selbach S, Dehghani F, Stehle JH: Temporal dynamics of mouse hippocampal clock gene expression support memory processing. *Hippocampus* 20: 377-388; 2010

Joels M, Krugers H, Karst H: Stress-induced changes in hippocampal function. *Progress in Brain Research* 167: 3-15; 2008

Joels M, Pu Z, Wiegert O, Oitzl MS, Krugers HJ: Learning under stress: how does it work? *Trends in Cognitive Sciences* 10: 152-158; 2006

Kalman BA, Spencer RL: Rapid corticosteroid-dependent regulation of mineralocorticoid receptor protein expression in rat brain. *Endocrinology* 143: 4184-4195; 2002

Kalsbeek A, Garidou ML, Palm IF, Van Der Vliet J, Simonneaux V, Pévet P, Buijs RM: Melatonin sees the light: blocking GABA-ergic transmission in the paraventricular nucleus induces daytime secretion of melatonin. *European Journal of Neuroscience* 12: 3146-3154; 2000

Kiessling S, Eichele G, Oster H: Adrenal glucocorticoids have a key role in circadian resynchronization in a mouse model of jet lag. *The Journal of clinical investigation* 120: 2600-2609; 2010

Kim MJ, Son KH, Park HJ, Choi DJ, Yoon CH, Lee HY, Cho EY, Cho MC: Association between shift work and obesity among female nurses: Korean Nurses' Survey. *BMC Public Health* 13: 1204; 2013

Kirchner WK: Age differences in short-term retention of rapidly changing information. *Journal of Experimental Psychology* 55: 352-358; 1958

Kirschbaum C, Wolf OT, May M, Wippich W, Hellhammer DH: Stress- and treatment-induced elevations of cortisol levels associated with impaired declarative memory in healthy adults. *Life Sciences* 58: 1475-1483; 1996

Knutsson A: Health disorders of shift workers. *Occupational Medicine* 53: 103-108; 2003

Korotkoff NC: On the problem of the methods of blood pressure research. *Imperatorskoi Voenna Meditsinskoy Akademii* 11: 365; 1905

Kudielka BM, Schommer NC, Hellhammer DH, Kirschbaum C: Acute HPA axis responses, heart rate, and mood changes to psychosocial stress (TSST) in humans at different times of day. *Psychoneuroendocrinology* 29: 983-992, 2004

Kuhlmann S, Piel M, Wolf OT: Impaired memory retrieval after psychosocial stress in healthy young men. *Journal of Neuroscience* 25: 2977-2982; 2005

- Lambert EA, Chatzivlastou K, Schlaich M, Lambert G, Head GA:** Morning surge in blood pressure is associated with reactivity of the sympathetic nervous system. *American Journal of Hypertension* 27: 783-792; 2014
- Landolt HP:** Sleep Homeostasis: A Role for Adenosine in Humans? *Biochemical Pharmacology* 75: 2070-2079; 2008
- Lang F:** Hormone. In: Schmidt RF, Lang F, Heckmann M (Hrsg.): *Physiologie des Menschen. Mit Pathophysiologie*. 31. Aufl., 435-461, Springer, Berlin, 2011
- Leliavski A, Dumbell R, Ott V, Oster H:** Adrenal clocks and the role of adrenal hormones in the regulation of circadian physiology. *Journal of biological rhythms* 30: 20-34; 2015
- Levi F, Schibler U:** Circadian rhythms: mechanisms and therapeutic implications. *Annual review of pharmacology and toxicology* 47: 593-628; 2007
- Levine JD, Funes P, Dowse HB, Hall JC:** Resetting the circadian clock by social experience in *Drosophila melanogaster*. *Science* 298: 2010-2012; 2002
- Lim J, Dinges DF:** Sleep Deprivation and Vigilant Attention. *Annals of the New York Academy of Sciences* 1129: 305-22; 2008
- Lisman JE, Otmakhova NA:** Storage, recall, and novelty detection of sequences by the hippocampus: Elaborating on the SOCRATIC model to account for normal and aberrant effects of dopamine. *Hippocampus* 11: 551-568; 2001
- Lovallo WR, Cohoon AJ, Acheson A, Vincent AS, Sorocco KH:** Cortisol stress reactivity in women, diurnal variations, and hormonal contraceptives: studies from the Family Health Patterns Project. *Stress* 22: 421-427; 2019
- Lovallo WR, Farag NH, Vincent AS, Thomas TL, Wilson MF:** Cortisol responses to mental stress, exercise, and meals following caffeine intake in men and women. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior* 83: 441-447; 2006
- Lu J, Greco M, Shiromani P, Saper CB:** Effects of the lesions of the ventrolateral preoptic nucleus on NREM and REM sleep. *Journal of Neuroscience* 20: 3830-3842; 2000
- Lu J, Zhang YH, Chou TC, Gaus SE, Elmquist JK, Shiromani P, Saper CB:** Contrasting Effects of Ibotenate Lesions of the Paraventricular Nucleus and Subparaventricular Zone on Sleep–Wake Cycle and Temperature Regulation. *Journal of Neuroscience* 21: 4864-4874; 2001

Lupien SJ, McEwen BS: The acute effects of corticosteroids on cognition: integration of animal and human model studies. *Brain Research Reviews* 24: 1-27; 1997

Lupien SJ, Wilkinson CW, Briere S, Menard C, Ng Ying Kin NM, Nair NP: The modulatory effects of corticosteroids on cognition: Studies in young human populations. *Psychoneuroendocrinology* 27: 401-416; 2002

Luyster FS, Strollo PJ Jr, Zee PC, Walsh JK: Sleep: a health imperative. *Sleep* 3: 727–34; 2012

Maheu FS, Collicutt P, Kornik R, Moszkowski R, Lupien SJ: The perfect time to be stressed: a differential modulation of human memory by stress applied in the morning or in the afternoon. *Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry* 29: 1281-1288; 2005

Marin MF, Hupbach A, Maheu FS, Nader K, Lupien SJ: Metyrapone administration reduces the strength of an emotional memory trace in a long-lasting manner. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 96: E1221-E1227; 2011

Marquié JC, Tucker P, Folkard S, Gentil C, Ansiau D: Chronic effects of shift work on cognition: findings from the VISAT longitudinal study. *Occupational & Environmental Medicine* 72: 258-264; 2015

May CP: Synchrony effects in cognition: the costs and a benefit. *Psychonomic Bulletin & Review* 6: 142-147; 1999

McEwen BS, Chattarji S: Molecular mechanisms of neuroplasticity and pharmacological implications: the example of tianeptine. *European Neuropsychopharmacology* 14: 497-502; 2004

McEwen BS: Stress and Hippocampal Plasticity. *Annual Review of Neuroscience* 22: 105-122; 1999

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

Millar-Craig MW, Bishop CN, Raftery EB: Circadian variation of blood-pressure. *Lancet* 1: 795-797; 1978

Miller WL, Bose HS: Early steps in steroidogenesis: intracellular cholesterol trafficking. Thematic Review Series: Genetics of Human Lipid Diseases. *The Journal of Lipid Research* 52: 2111-2135; 2011

- Minors D, Akerstedt T, Atkinson G:** The Difference between activity when in Bed and out of Bed. Healthy Subjects and selected Patients. *Chronobiology International* 13: 27-34; 1996
- Mirescu C, Gould E:** Stress and Adult Neurogenesis. *Hippocampus* 16: 233-8; 2006
- Mistlberger RE, Skene DJ:** Nonphotic Entrainment in Humans? *Journal of Biological Rhythms* 20: 339-352; 2005
- Mitchell JA, Quante M, Godbole S, James P, Hipp JA, Marinac CR, Mariani S, Cespedes Feliciano EM, Glanz K, Laden F, Wang R, Weng J, Redline S, Kerr J:** Variation in actigraphy-estimated rest-activity patterns by demographic factors. *Chronobiology International* 34: 1042-1056; 2017
- Mohawk JA, Green CB, Takahashi JS:** Central and peripheral circadian clocks in mammals. *Annual Review of Neuroscience* 35: 455-462; 2012
- Mongrain V, Lavoie S, Selmaoui B, Paquet J, Dumont M:** Phase relationships between sleep-wake cycle and underlying circadian rhythms in morningness-eveningness. *Journal of Biological Rhythms* 19: 248-257; 2004
- Moore RY, Eichler VB:** Loss of a circadian adrenal corticosterone rhythm following suprachiasmatic lesions in the rat. *Brain Research* 42: 201-206; 1972
- Morris CJ, Aeschbach D, Scheer, Frank AJL:** Circadian system, sleep and endocrinology. *Molecular and cellular endocrinology* 349: 91-104; 2012
- Morris CJ, Purvis TE, Mistretta J, Hu K, Scheer F:** Circadian Misalignment Increases C-Reactive Protein and Blood Pressure in Chronic Shift Workers. *Journal of Biological Rhythms* 32: 154-164; 2017
- Morselli LL, Guyon A, Spiegel K:** Sleep and metabolic function. *Pflügers Archiv - European Journal of Physiology* 463: 139160; 2012
- Musiek ES:** Circadian clock disruption in neurodegenerative diseases: cause and effect? *Frontiers in Pharmacology* 6: 29; 2015
- Newcomer JS, Craft S, Hershey T, Askins K, Bardgett ME:** Glucocorticoid-induced impairments in declarative memory performance in adult humans. *Journal of Neuroscience* 14: 2047-2053; 1994

- Nijhof SL, Rutten JMTM, Uiterwaal CSPM, Bleijenberg G, Kimpfen JLL, van de Putte EM:** The role of hypocortisolism in chronic fatigue syndrome. *Psychoneuroendocrinology* 42: 199-206, 2014
- Obrietan K, Impey S, Storm DR:** Light and circadian rhythmicity regulate MAP kinase activation in the suprachiasmatic nuclei. *Nature Neuroscience* 1: 693-700; 1998
- Oishi K, Shirai H, Ishida N:** CLOCK is involved in the circadian transactivation of peroxisome-proliferator-activated receptor alpha (PPARalpha) in mice. *Biochemical Journal* 386: 575-581; 2005
- Okamura H:** Suprachiasmatic nucleus clock time in the mammalian circadian system. *Cold Spring Harbor Symposia on Quantitative Biology* 72: 551-556; 2007
- Online Lexikon für Psychologie und Pädagogik.** <https://lexikon.stangl.eu/> (Tag des Zugriffs: 29.04.2020)
- Oster H, Barclay J, Husse J:** Adrenal Glucocorticoids as a Target for Jet Lag Therapies. *Expert Review of Endocrinology & Metabolism* 6: 673-679; 2011
- Oster H, Damerow S, Kiessling S, Jakubcakova V, Abraham D, Tian J, Hoffmann MW, Eichele G:** The circadian rhythm of glucocorticoids is regulated by a gating mechanism residing in the adrenal cortical clock. *Cell Metabolism* 4: 163-173; 2006
- Oster H:** The genetic basis of circadian behavior. *Genes, Brain and Behavior* 5: 73-79; 2006
- Parsons R, Parsons R, Garner N, Oster H, Rawashdeh O:** CircaCompare: a method to estimate and statistically support differences in mesor, amplitude and phase, between circadian rhythms. *Bioinformatics* 36(4): 1208-1212; 2020
- Patel V, Kirkwood BR, Pednekar S, Weiss H, Mabey D:** Risk factors for common mental disorders in women: Population-based longitudinal study. *The British Journal of Psychiatry* 189: 547-555; 2006
- Payne JD, Jackson ED, Hoscheidt S, Ryan L, Jacobs WJ, Nadel L:** Stress administered prior to encoding impairs neutral but enhances emotional long-term episodic memories. *Learning & Memory* 14: 861-868; 2007
- Pezük P, Mohawk JA, Wang LA, Menaker M:** Glucocorticoids as entraining signals for peripheral circadian oscillators. *Endocrinology* 153: 4775-4783; 2012

Pham K, Nacher J, Hof PR, McEwen BS: Repeated restraint stress suppresses neurogenesis and induces biphasic PSA-NCAM expression in the adult rat dentate gyrus. *European Journal of Neuroscience* 17: 879-886; 2003

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

Pompili A, Arnone B, Gasbarri A: Estrogens and memory in physiological and neuropathological conditions. *Psychoneuroendocrinology* 37: 1379-1396; 2012

Porkka-Heiskanen T, Strecker RE, Thakkar M, Bjorkum AA, Greene RW, McCarley RW: Adenosine: a mediator of the sleep-inducing effects of prolonged wakefulness. *Science* 276: 1265-1268; 1997

Psyhyrembel Online. <https://www.psyhyrembel.de> (Tag des Zugriffs: 26.04.2020)

Ralph MR, Foster RG, Davis FC, Menaker M: Transplanted suprachiasmatic nucleus determines circadian period. *Science* 247: 975-978; 1990

Rawashdeh O, Jilg A, Jedlicka P, Slawska J, Thomas L, Saade A, Schwarzacher SW, Stehle JH: PERIOD1 coordinates hippocampal rhythms and memory processing with daytime. *Hippocampus* 24: 712-723; 2014

Rechtschaffen A, Bergmann BM: Sleep deprivation in the rat: An update of the 1989 paper. *Sleep: Journal of Sleep and Sleep Disorders Research*, 25: 18-24; 2002

Rechtschaffen A, Kales A: A manual of standardized terminology, techniques and scoring system for sleep stages of human subject. United States Government Printing Office, Washington, 1968

Reddy AB, Field MD, Maywood ES, Hastings MH: Differential resynchronisation of circadian clock gene expression within the suprachiasmatic nuclei of mice subjected to experimental jet lag. *Journal of Neuroscience* 22: 7326-7330; 2002

Refinetti R, Menaker M: The circadian rhythm of body temperature. *Physiology & Behavior* 51: 613-637; 1992

Reid KJ, Abbott SM: Jet lag and shift work disorder. *Sleep Medicine Clinics* 10: 523-535; 2015

Reid KJ, McGee-Koch LL, Zee PC. Cognition in circadian rhythm sleep disorders. *Progress in Brain Research* 190: 3-20; 2011

- Reppert SM, Weaver DR:** Coordination of circadian timing in mammals. *Nature* 418: 935-941; 2002
- Reul JM, de Kloet ER:** Anatomical resolution of two types of corticosterone receptor sites in rat brain in vitro autoradiography and computerized image analysis. *The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology* 24: 269-272; 1986
- Rhee SS, Pearce EN:** Update: Systemic Diseases and the Cardiovascular System (II). The endocrine system and the heart: A review. *Revista Española de Cardiología* 64: 220-231; 2011
- Rimmele U, Domes G, Mathiak K, Hautzinger M:** Cortisol has different effects on human memory for emotional and neutral stimuli. *Neuroreport* 14: 2485-2488; 2003
- Rimmele U, Meier F, Lange T, Born J:** Suppressing the morning rise in cortisol impairs free recall. *Learning & Memory* 17: 186-190; 2010
- Riva-Rocci S:** Un nuovo sfigmomanometro. *Gazzetta Medica di Torino* 47: 981; 1896
- Rock PL, Roiser JP, Riedel WJ, Blackwell AD:** Cognitive impairment in depression: a systematic review and meta-analysis. *Psychological Medicine* 44: 2029-2040; 2014
- Roenneberg T, Allebrandt KV, Merrow M, Vetter C:** Social Jetlag and Obesity. *Current Biology* 22: 939-943; 2012
- Roenneberg T:** What is chronotype? *Sleep and Biological Rhythms* 10: 75-76; 2012
- Rusak B, Zucker I:** Neural Regulation of Circadian Rhythms. *Physiological Reviews* 59: 449-526; 1979
- Sage D, Ganem J, Guillaumond F, Laforge-Anglade G, François-Bellan A, Bosler O, Becquet D:** Influence of the corticosterone rhythm on photic entrainment of locomotor activity in rats. *Journal of biological rhythms* 19: 144-156; 2004
- Sahar S, Zocchi L, Kinoshita C, Borrelli E, Sassone-Corsi P:** Regulation of BMAL1 protein stability and circadian function by GSK3 β -mediated phosphorylation. *PLoS One* 5: e8561; 2010
- Saper CB, Lu J, Chou TC, Gooley J:** The hypothalamic integrator for circadian rhythms. *Trends in Neurosciences* 28: 152-157; 2005

Schibler U, Ripperger J, Brown SA: Peripheral circadian oscillators in mammals: time and food. *Journal of biological rhythms* 18: 250-260; 2003

Schöpfer P: Untersuchungen zum Einfluss einer transienten Glukokortikoid-Suppression auf die endokrine Tagesrhythmik beim Menschen. Med. Diss. Lübeck, 2017

Snider KH, Dziema H, Aten S, Loeser J, Norona FE, Hoyt K, Obrietan K: Modulation of learning and memory by the targeted deletion of the circadian clock gene *Bmal1* in forebrain circuits. *Behavioural Brain Research* 308: 222-235; 2016

So AYL, Bernal TU, Pillsbury ML, Yamamoto KR, Feldmana BJ: Glucocorticoid regulation of the circadian clock modulates glucose homeostasis. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 106: 17582-17587; 2009

Son GH, Chung S, Choe HK, Kim HD, Baik SM, Lee H, Lee HW, Choi S, Sun W, Kim H, Cho S, Lee KH, Kim K: Adrenal peripheral clock controls the autonomous circadian rhythm of glucocorticoid by causing rhythmic steroid production. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 105: 20970-20975; 2008

Sousa N, Lukoyanov NV, Madeira MD, Almeida OFX, Paula-Barbosa MM: Reorganization of the morphology of hippocampal neurites and synapses after stress-induced damage correlates with behavioral improvement. *Neuroscience* 97: 253-266; 2000

Spiga F, Walker JJ, Terry JR, Lightman SL: HPA axis-rhythms. *Comprehensive Physiology* 4: 1273-1298; 2014

Squire LR: Mechanisms of memory. *Science* 232: 1612–1619; 1986

Srinivasan V, Spence DW, Pandi-Perumal SR, Trakht I, Cardinali DP: Jet lag: therapeutic use of melatonin and possible application of melatonin analogs. *Travel medicine and infectious disease* 6: 17-28; 2008

Stephoe A, Ussher M: Smoking, cortisol and nicotine. *International Journal of Psychophysiology* 59: 228-235; 2006

Steyer R, Schwenkmezger P, Notz P, Eid M: Der Mehrdimensionale Befindlichkeitsfragebogen (MDBF). 1. Aufl., Hogrefe, Göttingen, 1997

Szafarczyk A, Hery M, Laplante E, Ixart G, Assenmacher I, Kordon C: Temporal relationships between the circadian rhythmicity in plasma levels of pituitary hormones and in hypothalamic concentrations of releasing factors. *Neuroendocrinology* 30: 369-376; 1980

Tahara Y, Kuroda H, Saito K, Nakajima Y, Kubo Y, Ohnishi N, Seo Y, Otsuka M, Fuse Y, Ohura Y, Komatsu T, Moriya Y, Okada S, Furutani N, Hirao A, Horikawa K, Kudo T, Shibata S: In vivo monitoring of peripheral circadian clocks in the mouse. *Current Biology* 22: 1029-1034; 2012

Tassi P, Muzet A: Sleep inertia. *Sleep Medicine Reviews* 4: 341-353; 2000

Thorpy MJ: Classification of Sleep Disorders. *Neurotherapeutics* 9: 687-701; 2012

Travnickova-Bendova Z, Cermakian N, Reppert SM, Sassone-Corsi P: Bimodal regulation of mPeriod promoters by CREB-dependent signaling and CLOCK/BMAL1 activity. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 99: 7728-7733; 2002

Ulrich-Lai YM, Herman JP: Neural regulation of endocrine and autonomic stress responses. *Nature Reviews Neuroscience* 10: 397-409; 2009

Valdez P, Ramírez C, García A: Circadian rhythms in cognitive performance: implications for neuropsychological assessment. *ChronoPhysiology and Therapy* 2: 81-92; 2012

van Marle HJ, Hermans EJ, Qin S, Fernández G: From specificity to sensitivity: how acute stress affects amygdala processing of biologically salient stimuli. *Biological Psychiatry* 66: 649-55; 2009

Van Someren EJW, Swaab DF, Colenda CC, Cohen W, McCall WV, Rosenquist PB: Bright light therapy: improved sensitivity to its effects on rest–activity rhythms in Alzheimer patients by application of nonparametric methods. *Chronobiology International* 16: 505-518; 1999

Wagner U, Born J: Memory consolidation during sleep: interactive effects of sleep stages and HPA regulation. *Stress* 11: 28-41; 2008

Wagner U, Gais S, Born J: Emotional memory formation is enhanced across sleep intervals with high amounts of rapid eye movement sleep. *Learning & Memory* 8: 112-119; 2001

Walker JJ, Spiga F, Waite E, Zhao Z, Kershaw Y, Terry JR, Lightman SL: The origin of glucocorticoid hormone oscillations. *PLoS Biology* 10: e1001341; 2012

Walsleben JA: Women and sleep. *Handbook of Clinical Neurology* 98, 639-651; 2011

Wardlaw SM, Phan TX, Saraf A, Chen X, Storm DR: Genetic disruption of the core circadian clock impairs hippocampus-dependent memory. *Learning & Memory* 21: 417-423; 2014

Waterhouse J, Reilly T, Atkinson G, Edwards B: Jet lag: trends and coping strategies. *The Lancet* 369, 1117-1129; 2007

Weitzman ED, Nogeire C, Perlow M, Fukushima D, Sassin J, McGregor P, Gallagher TF, Hellman L: Effects of a Prolonged 3-Hour Sleep-Wake Cycle on Sleep Stages, Plasma Cortisol, Growth Hormone and Body Temperature in Man. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* 38: 1018–1030; 1974

Weitzman ED, Zimmerman JC, Czeisler CA, Ronda J: Cortisol Secretion Is Inhibited during Sleep in Normal Man. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* 56: 352–358; 1983

Welsh DK, Takahashi JS, Kay SA: Suprachiasmatic nucleus: cell autonomy and network properties. *Annual review of physiology* 72: 551-577; 2010

Wertz AT, Ronda JM, Wright KP: Effects of sleep inertia on cognition. *Journal of the American Medical Association* 295: 163-164; 2006

Wirth MM: Hormones, stress, and cognition: The effects of glucocorticoids and oxytocin on memory. *Adaptive Human Behavior and Physiology* 1: 177-201; 2015

Wittmann M, Vollmer T, Schweiger C, Hiddemann W: The relation between the experience of time and psychological distress in patients with hematological malignancies. *Palliative & Supportive Care* 4, 357-363; 2006

Wittmann M: The inner experience of time. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological Sciences* 364: 1955-1967; 2009

Woodruff ER, Chun LE, Hinds LR, Spencer RL: Diurnal corticosterone presence and phase modulate clock gene expression in the male rat prefrontal cortex. *Endocrinology* 157: 1522–1534; 2016

https://www.who.int/healthinfo/global_burden_disease/GBD_report_2004update_full.pdf
(Tag des Zugriffs: 05.05.2020)

Wotus C, Lilley TR, Neal AS, Suleiman NL, Schmuck SC, Smarr BL, Fischer BJ, de la Iglesia HO: Forced Desynchrony Reveals Independent Contributions of Suprachiasmatic Oscillators to the Daily Plasma Corticosterone Rhythm in Male Rats. *PLoS One* 8: e68793; 2013

Wright KP, Hull JT, Czeisler CA: Relationship between alertness, performance, and body temperature in humans. *American Journal of Physiology* 283: 1370-1377; 2002

Wright KP, Lowry CA, Lebourgeois MK: Circadian and wakefulness-sleep modulation of cognition in humans. *Frontiers in Molecular Neuroscience* 5: 50; 2012

Yamamoto KR: Steroid receptor regulated transcription of specific genes and gene networks. *Annual Review of Genetics* 19: 209-252; 1985

Yamamoto T, Nakahata Y, Tanaka M, Yoshida M, Soma H, Shinohara K, Yasuda A, Mammine T, Takumi T: Acute physical stress elevates mouse period1 mRNA expression in mouse peripheral tissues via a glucocorticoid-responsive element. *Journal of Biological Chemistry* 280: 42036-42043; 2005

Yamanaka Y, Hashimoto S, Takasu NN, Tanahashi Y, Nishide S, Honma S, Honma K: Morning and evening physical exercise differentially regulate the autonomic nervous system during nocturnal sleep in humans. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology* 309: 1112-1121; 2015

Yamazaki S, Numano R, Abe M, Hida A, Takahashi R, Ueda M, Block GD, Sakaki Y, Menaker M, Tei H: Resetting central and peripheral circadian oscillators in transgenic rats. *Science* 288: 682-685; 2000

Yoo S, Yamazaki S, Lowrey PL, Shimomura K, Ko CH, Buhr ED, Sieppka SM, Hong H, Oh WJ, Yoo OJ, Menaker M, Takahashi JS: PERIOD2:LUCIFERASE real-time reporting of circadian dynamics reveals persistent circadian oscillations in mouse peripheral tissues. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 101: 5339-5346; 2004

Zee PC, Goldstein CA: Treatment of Shift Work Disorder and Jet Lag. *Current Treatment Options in Neurology* 12: 396-411; 2010

7 Danksagung

Herzlich bedanken möchte ich mich bei Herrn Prof. Dr. med. Dr. h.c. H. Lehnert für die Bereitstellung der zur Durchführung der Experimente benötigten wissenschaftlichen Einrichtungen und Mittel.

Mein besonderer Dank geht an meinen Doktorvater Herrn Prof. Dr. rer. nat. H. Oster und meinen Betreuer Herrn Dr. med. V. Ott für die hervorragenden Betreuung während der Durchführung der Studie und die konstruktiven Anmerkungen sowie Korrekturvorschläge bei der Verfassung der Dissertationsschrift. Weiterhin möchte ich mich für die Überlassung des Dissertationsthemas, die Entwicklung der Studie und die Hilfe bei der statistischen Auswertung bedanken. Ich weiß die Geduld, Offenheit und Zuverlässigkeit in jeder Phase der Arbeit sehr zu schätzen. Denn nur so war es mir möglich meine Dissertation unter den besten Betreuungsbedingungen zu erstellen.

Bei meiner Mitdotorandin, Pia Schöpfer, die sich in einer gesonderten Dissertation mit dem Einfluss von Metyrapon auf die endokrine Tagesrhythmik beim Menschen beschäftigt hat, möchte ich mich ebenfalls herzlich bedanken. Insbesondere möchte ich mich für die motivierenden Worte und den Zuspruch bei den langen gemeinsamen Tagen und Nächten im Schlaflabor bedanken. Neben der gemeinsamen erfolgreichen Datenerhebung und zuverlässigen Zusammenarbeit, freue ich mich insbesondere über die Entstehung einer festen Freundschaft.

Des Weiteren geht mein Dank an Matthias Mölle und Arne Weigenand, die mir bei der Einarbeitung in die Polysomnographie und deren Auswertung eine große Unterstützung waren und mir geduldig alle Fragen beantwortet haben. Für die logistische Organisation und ein immer offenes Ohr möchte ich mich bei Christiane Otten bedanken.

Einen großen Dank möchte ich auch an unsere Probanden richten, ohne die eine Durchführung der Studie und die Entstehung dieser Arbeit nicht möglich gewesen wären. Danke für das Vertrauen, die gute Mitarbeit und die gemeinsame aufgebrauchte Zeit im Schlaflabor.

Nicht zuletzt danke ich vom Herzen meinem Ehemann und meinen Eltern für die großartige, bedingungslose Unterstützung auf allen Ebenen, den Rückhalt bei der Erstellung der Dissertation und während meines gesamten Studiums.