

Aus der Medizinischen Klinik I
Direktor: Prof. Dr. med. H. L. Fehm

**Vasopressinwirkungen nach subchronischer, intranasaler Behandlung
auf die neuroendokrine Schlafarchitektur bei alten Menschen**

Inauguraldissertation
zur
Erlangung der Doktorwürde
der Universität zu Lübeck
-Aus der medizinischen Fakultät-

vorgelegt von
Frank Albrecht
aus Schwemsal

Lübeck 2004

1. Berichterstatter: Priv.-Doz. Dr. med. Boris Perras

2. Berichterstatter: Dr. phil. Dipl.-Psych. Jutta Backhaus

Tag der mündlichen Prüfung: 17. 12. 2004

Zum Druck genehmigt: 17. 12. 2004

gez. Prof. Dr. med. Peter Dominiak

Dekan der Medizinischen Fakultät

Inhaltsverzeichnis

Inhaltsverzeichnis	3
Abkürzungsverzeichnis	6
1. Einleitung und Fragestellung	8
1.1 Die Schlafarchitektur und die verschiedenen Schlafstadien	8
1.2 Hormonsekretionsmuster während des Schlafes	11
1.2.1 Die hypothalamo–hypophysäre-adrenokortikale Achse (HPA-Achse)	11
1.2.2 Die somatotrope Achse	12
1.3 Vasopressin	13
1.3.1 Physiologische Grundlagen	13
1.3.2 Vasopressin als Neuropeptid	14
1.3.3 Vasopressinwirkungen auf den Schlaf	14
1.4 Veränderungen der Schlafarchitektur im Alter	17
1.5 Veränderungen der hormonellen Parameter im Alter	18
1.6 Die intranasale Applikation	19
1.7 Fragestellung	21
2. Material und Methoden	22
2.1 Versuchspersonen und Voruntersuchungen	22
2.2 Studiendesign	23
2.2.1 Allgemeiner Versuchsablauf	23
2.2.2 Spezieller Versuchsablauf während der Labornächte	25
2.3 Messmethoden	26
2.3.1 Kardiovaskuläre Messungen	26
2.3.2 Die Schlafregistrierung	26
2.3.3 Blutentnahmen	27
2.3.4 Hormonbestimmungen	27
2.4 Schlaftagebuch und Vitalparameterkontrolle	29

2.5 Datenreduktion und Analyse	29
2.5.1 Schlaf	29
2.5.2 Hormone	30
2.5.3 Natrium, Osmolalität, Hämatokrit und Vasopressin	31
2.5.4 Klinische Chemie und Differenzialblutbild	31
2.5.5 Statistische Analysen	31
3. Ergebnisse	33
3.1 Ergebnisse der Schlaftauswertung	33
3.1.1 Ergebnisse Nacht II (Baseline-Phase)	33
3.1.2 Ergebnisse Nacht IV (nach Behandlung)	33
3.2 Hormone	35
3.2.1 Wachstumshormon	35
3.2.2 Kortisol	36
3.2.3 IGF-1	37
3.3 Natrium, Osmolalität, Hämatokrit und Vasopressin	37
3.4 Klinische Chemie und Differenzialblutbild	39
3.5 Kardiovaskuläre Messwerte	39
3.5.1 Blutdruck	39
3.5.2 Herzfrequenz	40
3.6 Körpergewicht	41
3.7 Schlaftagebuch und subjektive Schlafqualität	41
4. Diskussion	44
4.1 Die Veränderungen im Schlaf- und Hormonprofil	44
4.2 Die subjektive Schlafqualität	49
4.3 Nebenwirkungen	50
5. Zusammenfassung und Schlussfolgerungen	51
6. Literaturverzeichnis	53
7. Anhang	65
7. Danksagung	66

Abkürzungsverzeichnis

Abkürzung	Bedeutung
ACTH	Adrenokortikotropes Hormon
ADH	Adiuretisches Hormon (Vasopressin)
AEP	akustisch-evozierte Potenziale
bzw.	Beziehungsweise
ca.	Circa
CBG	Cortisolbindendes Globulin
cm	Zentimeter
CRH	cortikotropin-releasing hormone
EEG	Elektroenzephalogramm
EKG	Elektrokardiogramm
EMG	Elektromyogramm
engl.	Englisch
EOG	Elektrookulogramm
ggf.	Gegebenenfalls
GHRH	growth hormone-releasing hormone
hGH	human growth hormone
HPA-Achse	hypothalamo-hypophysäre-adrenokortikale-Achse
Hz	Hertz
IGF	Insulin-like growth factor
IU	International Units
Konz.	Konzentration
l	Liter
ml	Milliliter
MW	Mittelwert

N.	Nervus
NaCl	Natriumchlorid
ng	Nanogramm
pg	Picogramm
PSQI	Pittsburgh Sleep Quality Index
REM	rapid eye movement
s	Sekunde
SEM	standard error of the mean
SS	Somatostatin
SWS	slow wave sleep
TRH	thyrotropin-releasing hormone
vs.	Versus
z. B.	zum Beispiel
μV	Microvolt
μg	Microgramm

1. Einleitung und Fragestellung

Schlaf – welche Bedeutung er für das menschliche Wohlbefinden hat, wird uns meistens erst bewusst, wenn es zu einer Störung der Nachtruhe kommt. Es ist bekannt, dass eine Verknüpfung zwischen spezifischen nächtlichen endokrinen Sekretionsmustern und den Frequenzbändern im Elektroenzephalogramm (EEG) besteht. In jüngeren Jahren schlafen wir meistens sprichwörtlich „wie die Babies“, jedoch kommt es mit zunehmendem Alter zu Schlafproblemen. Es treten im Laufe des Älterwerdens physiologische Veränderungen auf, welche unter anderem die neuroendokrinen Prozesse und den komplexen Vorgang Schlaf beeinflussen. Diese beiden Systeme sind funktionell nicht trennbar. Tier- und Humanstudien zeigen, dass man in diese Prozesse medikamentös eingreifen und dadurch Änderungen der endokrinen Sekretionsmuster sowie Änderungen im EEG-Frequenzband hervorrufen kann.

Die vorliegende Arbeit beschäftigt sich mit dem Einfluss subchronisch (ein Zeitraum von mehreren Wochen bis Monaten) intranasal applizierten Vasopressins auf die Schlafstruktur und die spezifische Sekretionsrhythmik von Kortisol und Wachstumshormon bei älteren Menschen. Ferner wird auf die subjektive Schlafqualität im Vergleich mit den objektivierbaren EEG-Befunden eingegangen.

1.1 Die Schlafarchitektur und die verschiedenen Schlafstadien

Schlaf ist kein passiver Zustand des Organismus, sondern eine aktive Leistung des Gehirns als bestimmter Bewusstseinszustand. Sieben bis acht Stunden pro Tag verbringt ein Erwachsener im Durchschnitt schlafend (Kripke et al., 2002). Jedoch ist das individuelle Schlafverhalten sehr unterschiedlich. Außerdem können die Schlafqualität und Schlafdauer von verschiedenen Parametern beeinflusst werden, wie z. B. Medikamenten (Balogh, 2001), psychischer Befindlichkeit (Benca et al., 1992), Schichtarbeit (Akerstedt, 1987) und vorhergehender längerer Wachzeit (Webb und Agnew, Jr., 1975). Durch die Messung der Gehirnaktivität im EEG während des Schlafes lassen sich Schlaftiefe und Schlafstadien untersuchen und anschließend einteilen. Diese Polysomnographie genannte Aufzeichnung kann nach den Kriterien von Rechtschaffen und Kales beurteilt werden (Rechtschaffen und Kales, 1968). Um besser differenzieren zu können, werden zusätzlich zum EEG noch die Augenbewegungen im Elektrookulogramm (EOG) und die Muskelaktivität im

Elektromyogramm (EMG) abgeleitet, da auch in diesen Ableitungen für jedes Schlafstadium charakteristische Merkmale vorherrschen. So sind neben dem Wachzustand 5 Schlafstadien festzustellen, die man in den non-orthodoxen und orthodoxen Schlaf einteilen kann.

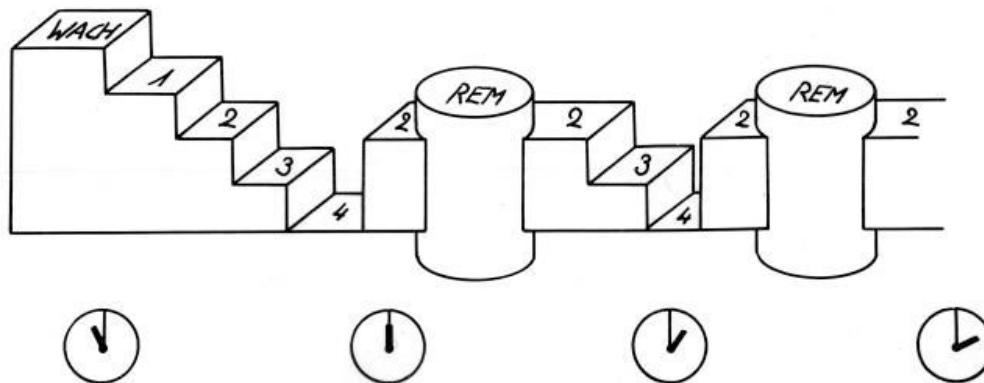
Der non-orthodoxe Schlaf entspricht dem so genannten REM-Schlaf („rapid eye movement“), welcher wegen der spezifischen Aktivität im EOG so benannt wird. Auf äußere Reize ist der Proband äußerst schwer, ähnlich einem tieferen Schlafstadium, erweckbar, wacht aber häufig von alleine auf. Wird er im REM-Schlaf geweckt, so erinnert er sich oft an einen Traum. Das Neugeborene verbringt von seinen 16 Stunden Schlaf 50% in REM-Phasen, der Erwachsene 25%. Im REM-Schlaf zeigt das EEG eine Desynchronisierung und schnellere Aktivität ähnlich wie beim Einschlafen. Abgesehen von schnellen Augenbewegungen, Zuckungen einzelner Finger oder Zehen (Myoklonien) und des Zwerchfells ist die übrige Muskulatur völlig schlaff. Sie ist funktionell von der Kontrolle supraspinaler Systeme entkoppelt. Wegen dieser widersprüchlichen Phänomene wird der REM-Schlaf auch paradoxer Schlaf genannt.

Der orthodoxe Schlaf wird in vier Stadien I-IV eingeteilt. Davor tritt der Wachzustand auf, bei welchem der entspannte Proband im Bett liegt und das EEG einen typischen Alpha-Rhythmus (8-13 Hz, 20-100 μ V) zeigt. Im EOG sind die sich bewegenden Augen zu sehen und das EMG weist eine hohe Muskelspannung auf. Nach einigen Minuten wird der Alpha-Rhythmus des Gehirns durch langsamere, kleinere Theta-Wellen (4-7 Hz, 20-70 μ V) abgelöst. Es kommt zu langsamen, pendelförmigen Augenbewegungen und der Muskeltonus im EMG nimmt etwas ab. Gegen Ende treten „vertex sharp waves“ mit hoher Frequenz und Amplitude im EEG auf. Außerdem wird dieses Übergangsstadium durch bizarre Bilder und Gedanken, so genannte hypnagoge Halluzinationen begleitet. Nach einigen Minuten im Stadium I verändert sich das Hirnstrombild weiter. Es erscheinen Schlafspindeln (12-14 Hz, 10-60 μ V) und biphasische K-Komplexe (2-5 Hz, 170-270 μ V), eingestreut in den Theta-Wellen. Die Augenbewegungen und der Muskeltonus nehmen weiter ab im Schlafstadium II. Der folgende Tiefschlaf („slow wave sleep“) im Stadium III und IV ist durch immer höher und langsamer werdende Delta-Wellen (0,3-3 Hz, 50-350 μ V) charakterisiert. Der Unterschied zwischen Stadium III und IV ist quantitativ und bezieht sich auf die prozentuale Verteilung der Delta-Wellen pro Registereinheit. In Stadium III beträgt der Anteil 20-50%, in Stadium IV mehr als 50%. Es finden kaum noch Augenbewegungen statt, der Muskeltonus im EMG signalisiert tiefe Entspannung. Außerdem lässt sich eine stark verminderte Aktivität des Vegetativums mit niedriger Herz- und Atemfrequenz und vermindertem Blutdruck feststellen. Die prozentuale

Verteilung der einzelnen Schlafstadien pro Nacht beträgt ca. 10% für Wachen und Schlafstadium I, ca. 50% werden im Schlafstadium II verbracht, Schlafstadium III und IV nehmen ca. 20% ein und der REM-Schlaf beträgt ca. 20%.

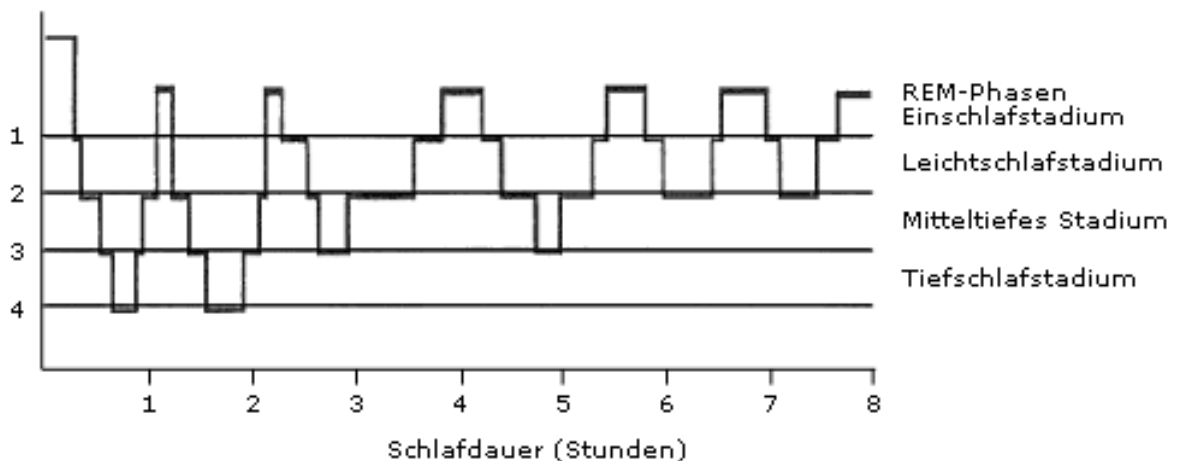
Die zeitliche Reihenfolge, in der die unterschiedlichen Schlafstadien ablaufen, wird durch die so genannte Schlaftreppe sichtbar gemacht:

Abbildung 1: Schematische Darstellung der „Schlaftreppe“



In ungefähr 3-6 Zyklen pro Nacht wechseln sich Non-REM-Schlaf und REM-Schlaf ab. Am Anfang der Nacht überwiegen nach dem Durchlaufen von Stadium I und II Stadium III und Stadium IV und nach ca. 90 Minuten (± 10 Minuten) schließt sich eine kurze REM-Episode an. Im Laufe der Nacht verschiebt sich der Anteil Non-REM-Schlaf/REM-Schlaf zu Gunsten des REM-Schlafes und die Tiefschlafphasen nehmen ab. Folgende Abbildung zeigt das ideale Schlafmuster eines Probanden im Schlaflabor:

Abbildung 2: Darstellung eines idealisierten EEG-Frequenzbandes



1.2 Hormonsekretionsmuster während des Schlafes

Der Schlaf unterliegt wie fast alle anderen biologischen Prozesse einem zirkadianen Rhythmus, welcher von einem inneren Zeitgeber, dem Nucleus suprachiasmaticus initiiert wird und im Zusammenspiel mit anderen oszillatorischen Prozessen funktioniert (Dijk und Lockley, 2002). Die Dauer dieses Rhythmus beträgt beim Menschen ungefähr 24 Stunden (Czeisler et al., 1999) und kann von exogenen Faktoren wie zum Beispiel Licht beeinflusst werden (Skene et al., 1999). Es ist bekannt, dass Schlaf mit spezifischen Mustern neuroendokriner Sekretionsaktivität einhergeht, welche unter anderem die Hypophysenaktivität betreffen (Luboshitzky, 2000). Neben den zirkadianen Sekretionsrhythmen sind für eine Reihe von Hormonen auch ultradiane Oszillationen der Sekretion nachgewiesen worden, die biologische Rhythmen mit einer Periode von 20 Minuten bis 2 Stunden sind. Zwei Hormone stechen besonders hervor, was die Veränderungen ihrer Serumspiegel in der Nacht anbelangt: Zum einen Kortisol als Effektorhormon der hypothalamo-hypophysären-adrenokortikalen Achse (HPA-Achse) und zum anderen Wachstumshormon (hGH) als Effektorhormon der somatotropen Achse.

1.2.1 Die hypothalamo–hypophysäre-adrenokortikale Achse (HPA-Achse)

Der HPA-Achse kommt bei der Vermittlung von Stressreaktionen im Körper eine zentrale Rolle zu. Die Synthese von Kortikotropin-Releasing-Hormon (CRH) in den Nuclei paraventricularis und supraopticus und dessen Ausschüttung in den hypothalamo-hypophysären Portalkreislauf bedingt eine vermehrte Synthese und Abgabe von adrenokortikotropem Hormon (ACTH) in den Blutkreislauf aus der Adenohypophyse. Die Hauptmodulatoren der ACTH-Sekretion sind im wesentlichen die Freisetzung von CRH und Vasopressin (Spath-Schwalbe et al., 1987). Die steigende Konzentration von ACTH führt wenige Minuten später zu einer erhöhten Abgabe von Glukokortikoiden aus der Nebennierenrinde. Die Glukokortikoide bewirken in den Zellen des Körpers eine Aktivierung von Transkriptionsprozessen im Zellkern. Daraus resultieren vielfältige Wirkungen auf den Metabolismus, z. B. die Erhöhung der Glukoneogenese in der Leber, die Erhöhung des Blutzuckerspiegels, eine Steigerung der Immunsuppression und die Induktion von antiphlogistischen Wirkungen. Des Weiteren hat Kortisol regulierende Effekte auf die Wirkung einiger wichtiger Signalsubstanzen wie z. B. die Wirkung der Katecholamine (Axelrod und Reisine, 1984). Neben den vielfältigen Regelfunktionen im Organismus hemmen die Glukokortikoide gleichzeitig über eine negative Rückkopplung die CRH- und ACTH

Ausschüttung. Dieser Effekt wird aufgrund der Lipophilie der Glukokortikoide über Glukokortikoidrezeptoren vom Typ I und Typ II im Bereich des Hypothalamus, der Hypophyse und vor allem des Hippokampus übertragen (Jacobson und Sapolsky, 1991).

Die physiologische Grundaktivität der Sekretion von Glukokortikoiden unterliegt einer zirkadianen Rhythmik, welche von ultradianen Episoden überlagert wird. Am Anfang der Nacht fällt der ACTH- und Kortisolspiegel stark ab und erreicht sein 24-Stunden Minimum (Nadir). Am geringsten ist die Sekretion während der ersten Tiefschlafphasen (Alford et al., 1973). Zirka 3 Stunden nach dem Einschlafzeitpunkt steigt der Serumspiegel wieder an, um seine maximale Konzentration in den frühen Morgenstunden zu erreichen (Weitzman et al., 1971). Die Glukokortikoidsekretion steigt hauptsächlich in den non-REM-Schlafphasen an (Kupfer et al., 1983). Exogene Einflüsse wie körperlicher und psychischer Stress führen in den dem Hypothalamus übergeordneten Zentren zu einer Aktivierung der sekretorischen Aktivität der HPA-Achse durch nervale Stimulierung des Hypothalamus (Axelrod und Reisine, 1984).

1.2.2 Die somatotrope Achse

Die somatotrope Achse hat große Bedeutung für den Metabolismus der Zellen und damit für den gesamten Organismus. Über hGH können alle Körperzellen erreicht werden und dementsprechend breit ist das Wirkungsspektrum, das durch das Hormon erzielt wird. Die Kombination von hGH in Verbindung mit in der Leber produziertem Somatomedin-C (IGF-1) führt in den Zielzellen zur Steigerung von metabolischen Prozessen. Es kommt zu einer erhöhten Mineralisation der Knochen, zur Umverteilung der körperlichen Fettdepots zu Gunsten des fettfreien Anteils (Carrel und Allen, 2000), zu immun- und hämatopoetisch modulierenden Prozessen (Hooghe et al., 1993) und zu diabetogenen Effekten (Adamson, 1981). Die hGH-Ausschüttung unterliegt vielfältigen Regulationsmechanismen, zum einen durch hypothalamische Peptide, wozu das Somatostatin, das Somatoliberin und TRH gehören, zum anderen durch zirkulierende Wachstumsfaktoren IGF-1 und IGF-2. Ebenso übt Ghrelin, ein im Magen gebildetes Peptid aus 28 Aminosäuren, einen starken Reiz auf die Ausschüttung von hGH aus (Broglia et al., 2002). Des Weiteren sind stoffwechselaktive Faktoren wie Glucose und Fette nach Mahlzeiten beteiligt (Cappon et al., 1993). Die Aminosäure Arginin führt zu einem deutlichen Sekretionsanstieg von hGH (Assan et al., 1977). Als exogene Sekretionsreize wären körperliche Arbeit und Stress zu nennen (Bopp et al., 1978). Die basale hGH-Sekretion erfolgt in sekretorischen Episoden, die in der Nacht häufiger sind und auch eine höhere Amplitude haben. Offensichtlich sind der

Einschlafzeitpunkt und die erste Tiefschlafphase ein initiierender Faktor für die hGH-Sekretion (Takahashi et al., 1968). Genau wie Kortisol fallen die sekretorischen Episoden des hGH in die non-REM-Schlafphasen (Van Cauter und Copinschi, 2000a).

1.3 Vasopressin

1.3.1 Physiologische Grundlagen

Vasopressin ist ein Peptid aus neun Aminosäuren und wird in den magnozellularen Neuronen des Nucleus supraopticus und Nucleus paraventricularis aus einem biologisch inaktiven Vorläufermolekül synthetisiert. Zusätzlich enthält der Nucleus supraquiasmaticus vasopressinproduzierende Neuronenpopulationen (Stopa et al., 1984; van Leeuwen et al., 1978). Das Peptid wird nach axonalem Transport in der Neurohypophyse, dem Hinterlappen der Hypophyse, gespeichert. Von dort wird Vasopressin, an Neurophysin II gekoppelt, durch Exozytose des Speichergranulainhalts in den Körperkreislauf sezerniert. Die nervale Koordination der Sekretion wird vom Hypothalamus als übergeordnetem Zentrum übernommen. Die Innervation der synthetisierenden Nuclei ist unter anderem durch noradrenerge Fasern vom Hirnstamm und dem dorsalen Vagus kern sichergestellt.

Zur Stimulierung der Vasopressin-Sekretion kommt es durch Hypovolämie, Hypotension und Hypersomolarität des Blutes (Robertson und Ganguly, 1986). Ferner üben Erbrechen, Übelkeit (Rowe et al., 1979; Nussey et al., 1988), Nikotin (Rowe et al., 1980), Hypoglykämien (Baylis et al., 1981) und Acetylcholin einen sekretionssteigernden Effekt aus. Inhibitorische Effekte haben Adrenalin (Kimura et al., 1981), Ethanol (Collins et al., 1992) und CRH (Plotsky et al., 1985).

Die Wirkung an den Erfolgsorganen ist rezeptorabhängig, wobei V_1 - und V_2 -Rezeptoren unterschieden werden. V_1 -Rezeptoren kommen in vielen verschiedenen Geweben des Körpers vor, wie Gehirn, Leber, Hoden, Blutgefäßen, Nierenmark und dem Ganglion cervicale superior (Phillips et al., 1990). In sehr hoher Konzentration wirkt Vasopressin über $V_{1\alpha}$ -Rezeptoren vasokonstriktorisch und führt somit zu einer Blutdruckerhöhung. Des Weiteren spielt es eine wichtige Rolle als hypophyseotropes Hormon im hypophysären Portalkreislauf über $V_{1\beta}$ -Rezeptoren in Verbindung mit CRH bei der Regulation der ACTH-Sekretion (Gillies et al., 1982; Ventura et al., 1999).

V_2 -Rezeptoren sind ausschließlich in der Niere nachgewiesen worden (Phillips et al., 1990). In den Sammelrohren der Niere wirkt Vasopressin über V_2 -Rezeptoren durch eine verstärkte Rückresorption von Wasser antidiuretisch.

1.3.2 Vasopressin als Neuropeptid

Philips et al. 1990 konnten wie oben erwähnt spezifische V_1 -Rezeptoren für Vasopressin im Gehirn von Ratten nachweisen. Dies lässt den Schluss zu, dass Vasopressin neben den Funktionen zur Erhaltung des Wasserhaushaltes und der Blutdruckregulation noch als Neurotransmitter und/oder Neuromodulator im Gehirn tätig wird. In Tierversuchen stellte sich heraus, dass Vasopressin einen Effekt auf das Lernverhalten von Ratten hat (De Wied, 1971; Kovacs et al., 1979). Wahrscheinlich wird dieser Effekt durch die Modulation von Katecholaminen in bestimmten Bereichen des Gehirnes vermittelt (Kovacs et al., 1979).

Auch im limbischen System des Menschen konnten Vasopressinrezeptoren nachgewiesen werden (Loup et al., 1991). Es existieren Hinweise auf die Beeinflussung der kortikalen Erregbarkeit im Gehirn durch das Neuropeptid (Born et al., 1986; Fehm-Wolfsdorf et al., 1988; Gais et al., 2002). Außerdem konnte gezeigt werden, dass Konzentration und Aufmerksamkeit sich unter Vasopressineinfluss verbesserten (Snel et al., 1987). Die Studien untersuchten jedoch nur die Akutwirkung kurz vor den Versuchen intranasal oder systemisch applizierten Vasopressin. In einer weiteren Studie wurde die Wirkung auf das verbale Gedächtnis nach subchronischer Vasopressingabe über drei Monate bei älteren Menschen geprüft. Es zeigte sich kein genereller Effekt auf das Gedächtnis, jedoch ließ sich eine Verbesserung von Einzelaspekten der Gedächtnisbildung nachweisen (Perras et al., 1997).

Zusammenfassend lässt sich feststellen, dass die Forschungsergebnisse in Bezug auf die gedächtnisverbessernden Wirkungen von Vasopressin beim Menschen sehr inkonsistent sind und sich keine eindeutigen Ergebnisse auf das Lernverhalten zeigen. Der Nachweis der spezifischen Verbesserung des Gedächtnisses gelang bisher nur bei Tieren. Somit bleibt die These, dass das Neuropeptid die Gedächtnisfunktion auch beim Menschen verbessert, zu beweisen (Fehm-Wolfsdorf et al., 1984; Fehm-Wolfsdorf et al., 1985; Born et al., 1998a).

1.3.3 Vasopressinwirkungen auf den Schlaf

Neben der Determinierung von zirkadianen Rhythmen der Hormonsekretion und anderen physiologischen Funktionen gilt der Nucleus suprachiasmaticus als Hauptzeitgeber bei der Regulation des Schlaf-Wach-Rhythmus bei Säugetieren. Eine Zerstörung im Ganzen oder von Teilen des Kerns geht mit starken Veränderungen in der Schlaf-Wach-Rhythmik einher wie Tierversuche zeigten (Mouret et al., 1978;

Eastman et al., 1984). Dabei scheint die Größe der Läsionen mit dem Ausmaß der Änderungen am zirkadianen System zu korrelieren. Das Vorkommen von vasopressinproduzierenden Neuronen im Nucleus suprachiasmaticus lässt vermuten, dass das Neuropeptid regulierende Funktionen im Schlaf-Wach-Rhythmus hat (van Leeuwen et al., 1978; Stopa et al., 1984).

a) Tierstudien

1983 untersuchten Forscher Battleboro-Ratten, die an einem angeborenen Diabetes insipidus centralis leiden. Dabei stellten sie fest, dass die tägliche Dauer des paradoxen Schlafes um 38% im Vergleich zu heterozygoten Artgenossen vermindert war und die Tiefschlafphasen ebenfalls verkürzt waren. Diese Defizite ließen sich mit der intravenösen Infusion von Vasopressin beheben, aber ebenso durch die intravenöse Infusion der Flüssigkeitsmenge analog zur täglichen Trinkmenge (Danguir, 1983). Eine weitere Studie zeigte, dass sich die Amplitude des Schlaf-Wach-Rhythmus durch Infusion von Vasopressin in einen Seitenventrikel von Rattengehirnen vergrößerte (Kruisbrink et al., 1987). Als Folge dessen postulierten Brown und Nunez nach elektroenzephalographischen Untersuchungen, dass bei Battleboro-Ratten mit Vasopressingmangel eine verminderte Amplitude des zirkadianen Rhythmus auftrat (Brown und Nunez, 1989). 1989 konnte als weiterer Effekt der intrazerebroventrikulären Dauerinfusion von Vasopressin gezeigt werden, wie sich die Wachzeit der Tiere nach Applikation des Neuropeptids verlängerte (Arnauld et al., 1989). Dieser Mechanismus ließ sich mit einem Vasopressinantagonisten hemmen. In weiteren Tierstudien wurde festgestellt, dass Vasopressin nach einer einwöchigen Anwendung die Expression von hippocampalen Kortikosteroidrezeptoren stimuliert (Veldhuis und De Kloet, 1982). Eine nachweisbare Wirkung wird jedoch erst durch die subchronische Anwendung von Neuropeptiden hervorgerufen (De Kloet und Reul, 1987).

b) Humanstudien

Der erste Versuch, der die Wirkungen auf die Schlafarchitektur des Menschen beschreibt, wurde 1982 durchgeführt. Nach intranasaler Gabe von 14 IU beziehungsweise 16 IU Lysin-Vasopressin konnte bei jungen Männern eine signifikante Zunahme von Schlafstadium II beobachtet werden. Die Veränderungen der Schlafstadien III und IV und des paradoxen Schlafes sind als nicht-signifikant eingestuft worden, sie nahmen jedoch leicht ab (Timsit-Berthier et al., 1982). 1992

wurde erneut eine Studie zur Vasopressinwirkung auf den menschlichen Schlaf durchgeführt. Dabei sind im Verlauf der Nacht von 22.00-7.00 Uhr kontinuierliche Vasopressininfusionen von 0.33 IU/h, 0.66 IU/h und 0.99 IU/h bei jungen Männern appliziert worden. Im Vergleich zur Placebo-Gruppe kam es unter der geringsten Dosierung zu einer Abnahme des REM-Schlafes von 10.8%, unter den beiden höchsten Dosierungen zu einer Abnahme von 24.0%, bzw. 24.4%. Nicht-signifikante Werte wurden in dieser Studie mit einer Zunahme des Schlafstadium II und der Aufwachzeit festgestellt (Born et al., 1992).

Bei Betrachtung der Ergebnisse lässt sich feststellen, dass Vasopressin in das Schlafgeschehen regulierend eingreift, da es bei Akutanwendung zu einer Verflachung des Schlafprofils zu Ungunsten der Tiefschlafstadien und der REM-Schlafphasen kommt. Es wird angenommen, dass der allgemeine Aktivierungseffekt des Neuropeptids eine Ursache für die Wirkungen auf das Schlafprofil sein könnte. Dies deckt sich mit den Ergebnissen der Studien, die sich mit den Wirkungen auf Lernen und Gedächtnis auseinandersetzen. Jedoch sind keine längerfristigen Anwendungen hinsichtlich der Wirkung auf den Schlaf durchgeführt worden. 1990 fand ein Langzeitversuch statt, der die Effekte intranasal gegebenen Vasopressins über 84 Tage auf 106 Patienten mit Morbus Alzheimer untersuchte. Der Schwerpunkt dieser Arbeit lag auf den klinischen Wirkungen und der Durchführung verschiedener psychometrischer Tests, um eine eventuelle Verbesserung der Demenz und der kognitiven Störungen zu erkennen (Wolters et al., 1990). Die Ergebnisse dieser Studie ließen keine gedächtnisverbessernden Wirkungen erkennen, Nebenwirkungen wurden nach Langzeiteinnahme nicht beobachtet.

In einer 1996 durchgeführten einfach-blinden Studie wurden zwei ältere Probanden (75 bzw. 80 Jahre) über drei Monate mit intranasal eingenommenen Vasopressin behandelt (Perras et al., 1996). Untersucht wurden wöchentlich ereignis-korrelierte Potenziale, das Schlaf-EEG und klinische Laborparameter wie Serumnatrium, Serum-Osmolalität und die Plasmavasopressinkonzentration. Effekte hinsichtlich der ereignis-korrelierten Potenziale gab es nicht, und die Laborparameter blieben auch weitgehend in den erwarteten Normbereichen. Unerwartet zeigte sich aber eine Veränderung in der Schlafarchitektur dahingehend, dass es zu einer Verlängerung der Tiefschlafphasen um circa 10% von 7,4% auf 17,5% kam. Der Anteil von Schlafstadium I und Schlafstadium II verminderte sich äquivalent. Das erstmalige Auftreten dieses Effektes nach vier Wochen und das Persistieren nach Absetzen des Nasensprays machen einen großen Unterschied im Wirkmechanismus des intranasal applizierten Vasopressin akut vs. subchronisch deutlich. Um die Ergebnisse zu

untermauern, wurde 1999 eine weitere Studie durchgeführt, bei der die Probandengruppe aus 26 gesunden Versuchspersonen ohne Schlafstörungen bestand (Alter > 70 Jahre) (Perras et al., 1999). In der doppel-blinden Studie wurden die Probanden in zwei Behandlungsgruppen eingeteilt (Vasopressin vs. Placebo), um Effekte des Neuropeptids deutlicher darzustellen. Nach einer Baseline-Phase von drei Tagen im Schlaflabor und Ableitung des Schlaf-EEG schloss sich die Behandlungsphase mit Vasopressin in der einen Gruppe und Placebo in der anderen für 3 Monate an. Die Behandlungsphase wurde mit drei Nächten im Schlaflabor und Ableitung des Schlaf-EEG abgeschlossen. Neben den elektroenzephalographischen Aufzeichnungen sind noch wöchentlich Blutdruck und die Herzfrequenz, am Ende der Studie die Plasmakonzentrationen von Vasopressin, Kortisol, ACTH, IGF-1, die Serum-Osmolalität und das Serum-Natrium gemessen worden. Die Ergebnisse machten signifikante Unterschiede zwischen beiden untersuchten Gruppen hinsichtlich des Schlafes deutlich. So schliefen die Probanden der Vasopressin-Gruppe ca. 42 Minuten länger. Sie zeigten ca. 21 Minuten längere Schlafphasen im Schlafstadium III und IV und ca. 10 Minuten mehr REM-Schlaf. Bezüglich der Labor- und klinischen Parameter lässt sich feststellen, dass es am Morgen nach der letzten experimentellen Nacht zu keinen signifikanten Änderungen von Vasopressin, Kortisol, ACTH, IGF-1, der Serum-Osmolalität, des Serum-Natriums, der Herzfrequenz und des Blutdruckes kam. Einzig der Blutdruck und das Plasmavasopressin zeigten eine signifikante Erhöhung 30 Minuten nach Einnahme der Substanz. Da die Probanden täglich Schlaftagebuch führten, floss auch das subjektive Schlafempfinden mit in die Auswertung ein, es konnten jedoch keine Unterschiede in den subjektiven Maßen zwischen der Placebo- und Vasopressin-Gruppe gefunden werden. Die Ergebnisse zeigen einen deutlichen Einfluss von Vasopressin auf die Schlafarchitektur älterer Leute bei intranasaler subchronischer Anwendung im Sinne einer Schlafverlängerung. Somit scheint sich die Akutanwendung des Peptids von der langfristigen hinsichtlich Mechanismus und Wirkung zu unterscheiden.

1.4 Veränderungen der Schlafarchitektur im Alter

Altern geht mit vielfältigen physiologischen Umstellungsvorgängen vonstatten. Auch der Schlaf-Wachrhythmus und die Schlafqualität sind davon betroffen. Schlafstörungen können bei alten Menschen zum einen durch psychische Beeinträchtigungen wie z. B. Altersdepressionen auftreten (Reynolds et al., 1985), zum anderen sind sie durch somatische Erkrankungen bedingt, wie z. B. der Nykturie bei Herzinsuffizienz (Middelkoop et al., 1996). Doch auch das Schlafmuster, welches

bei jungen Leuten vorherrscht, ändert sich im Laufe des Lebens. Der Einschlafzeitpunkt verzögert sich, die Aufwachfrequenz erhöht sich (Webb, 1982a), die Zeit, die in den Schlafstadien III und IV und im REM-Schlaf verbracht wird, nimmt ab (Hayashi und Endo, 1982) und die Tagesschlaffrequenz erhöht sich ebenfalls (Webb, 1982b). Interessanterweise ist nicht die totale Schlafzeit für Tagesmüdigkeit verantwortlich, sondern die Höhe der Aufwachfrequenz (Carskadon et al., 1982). Diese Änderungen im Schlafmuster gehen mit einer subjektiv empfundenen verminderten Schlafqualität im Alter einher. Um dies zu kompensieren werden der Erwachsenen regelmäßig Schlaftabletten eingenommen, wie eine Studie aus den USA zeigt (Daly, 1989). Aufgrund der vielfältigsten Ursachen, die die Schlafstörungen verursachen können, ist aber gerade das voreilige Verschreiben von Medikamenten sehr kritisch zu betrachten, da dadurch die Ursache der Schlafstörung nicht beseitigt wird, und es zu Komplikationen wie Atemdepression, gerade bei älteren Menschen, kommen kann (Reynolds et al., 1985). An erster Stelle stehen bei den verordneten Medikamenten Sedativa wie Benzodiazepine oder Imidazopyridine. Nebenwirkungen bei einmaligem Gebrauch sind Depression der Tiefschlafphase (Borbely und Achermann, 1991) und Depression der REM-Schlafphasen während der ersten vier Stunden der Nacht (Brunner et al., 1991). Die zirkadiane Schlafarchitektur bleibt erhalten, jedoch vermindern Benzodiazepine die Konzentrations- und kognitive Leistungsfähigkeit (Borbely, 1984). Bei längerer Anwendung treten Nebenwirkungen auf wie Verwirrtheit, kognitive, sexuelle und psychomotorische Störungen als auch visuelle sowie auditive Halluzinationen (Lechin et al., 1996). Alternative Möglichkeiten einem gestörten Schlaf-Rhythmus entgegenzuwirken, vor allem bei langfristiger Indikation, sind z. B. Schlafhygiene und Verhaltenstherapie (Asplund, 1999).

1.5 Veränderungen der hormonellen Parameter im Alter

Parallel zu den elektroenzephalographischen Veränderungen kommt es mit steigendem Lebensalter zu Änderungen der schlafassoziierten Hormonsekretion. Am deutlichsten kann man Veränderungen bei der Ausschüttung von Kortisol und hGH beobachten. Der Kortisolnadir ist bei alten Menschen nachweisbar erhöht (Kern et al., 1996; Van Cauter et al., 2000b). Der zirkadiane Rhythmus der Kortisolsekretion bleibt zwar erhalten, jedoch kommt es zu einer Vorverschiebung der Phasen von ca. 1.5 Stunden (Sherman et al., 1985; van Coevorden et al., 1991). Des Weiteren zeigt sich eine verstärkte sekretorische Ruheaktivität. Dies geht mit den oben beschriebenen Schlafstörungen im Alter einher. Die HPA-Achse wird von limbischen und hippocampalen Strukturen als übergeordnete Zentren mitreguliert (Born und Fehm,

1998b). Durch erhöhte Kortisolspiegel können einerseits hippocampale Neurone, speziell die Mineralkortikoidrezeptoren (Sapolsky, 1999; McEwen, 2000), geschädigt werden. Andererseits kann es zu einer Down-Regulation der Glukokortikoidrezeptoren im Hippocampus und im limbischen System (Sapolsky et al., 1984) kommen. Diese beiden pathophysiologischen Vorgänge könnten ursächlich für eine verminderte Feedbackhemmung der Glukokortikoide sein. Psychischer und physischer Stress ist der Haupttrigger der HPA-Achsenaktivität. Kumuliert dieser Stress im Laufe eines Menschenlebens, so führt der permanent erhöhte Plasmakortisolspiegel indirekt zu einer progressiven Insuffizienz der Feedback-Funktion der HPA-Achse und damit zu einer verminderten Hemmung der Kortisolsekretion.

Die somatotrope Achse erfährt ebenfalls im Laufe eines Menschenlebens nachweisbare Veränderungen. Die Amplitude der schlafassoziierten hGH-Peaks nimmt im Alter rasch ab und nach dem 45. Lebensjahr liegt nur noch eine geringe Sekretionsaktivität vor (van Coevorden et al., 1991). Wachstumshormon als anaboles Hormon führt bei Mangel zu den typischen Befunden wie einer vergrößerten Körperfettmasse und einer verminderten Muskel-/Knochenmasse. Ferner findet man eine Atrophie der Haut und inneren Organe. Verschiedenen Studien zufolge hat exogen zugeführtes hGH einen positiven Effekt auf den Stoffwechsel. Nach mehrfacher subkutaner Applikation bei Männern über 60 Jahre sind ein Muskelmassenzuwachs und eine Fettgewebsabnahme festgestellt worden (Rudman et al., 1991).

Auch die Vasopressinsekretion unterliegt im Alter Veränderungen, was sich unter anderem in morphologischen Aspekten äußert, welche den Nucleus supra-chiasmaticus betreffen. So konnte in Tierstudien festgestellt werden, dass sich das Volumen des Kerns bei älteren Ratten im Vergleich zu jungen Tieren vergrößert und die Zelldichte sich vermindert. Ferner nimmt die Dichte der vasopressinergen Neuronen ab (Rooszendaal et al., 1987). Bei älteren Menschen wurde post mortem durch Autopsie eine Abnahme des Volumens und der Zellzahl ebenjener Neurone beobachtet (Swaab et al., 1985b; Hofman, 2000). Im Unterschied zu jungen Menschen stellte sich eine reduzierte jahreszeitliche Oszillation der Vasopressin-neuronen im Gehirn bei alten Menschen heraus (Hofman und Swaab, 1994).

1.6 Die intranasale Applikation

Ein großes Problem für die Beeinflussung von Gehirnfunktionen ist die Tatsache, dass Substanzen, welche im Gehirn potenziell zentral-nervöse Prozesse beeinflussen, nicht per intravenöser oder oraler Gabe appliziert werden können. In geringer Konzentration

überwinden sie die Blut-Hirn-Schranke nicht, des Weiteren kann es zu peripher-systemischen Wirkungen kommen. 1986 zeigten Balin et al. per Licht- und Elektronenmikroskopie in einer Tierstudie, dass große Moleküle wie z. B. Meerrettichperoxidase nach intranasaler Gabe innerhalb von 45-90 Minuten über das olfaktorische Epithel und durch paraaxonalen Transport entlang des N. olfactorius den Bulbus olfactorius und damit das ZNS erreichen (Balin et al., 1986). Auch beim Menschen gibt es Beweise, dass dieser Weg von intranasal applizierten Substanzen zu einer direkten Beeinflussung von zentralnervösen Prozessen führt ohne peripher-systemische Nebenwirkungen auszulösen. In einer Studie aus dem Jahr 1996 wurden nach intravenöser und intranasaler Gabe von Arginin-Vasopressin bei Probanden ereignis-korrelierte Potentiale gemessen. Hierbei zeigte sich, dass nur intranasal appliziertes Arginin-Vasopressin die P3-Komponente der ereignis-korrelierten Potentiale veränderte. Intravenös verabreicht hatte die Substanz keine Konsequenzen (Pietrowsky et al., 1996). Weiter festigen lässt sich die These des Transports über das olfaktorische Epithel mit der Messung der Liquorkonzentrationen der betreffenden Medikamente nach intranasaler Applikation. Die Konzentrationen dieser Substanzen wurden über einen intraspinalen Katheter bei jungen gesunden Probanden gemessen. Für ACTH 4-10, Insulin und Vasopressin stellte sich heraus, dass die Peptide 30 Minuten nach Applikation im Liquor nachweisbar waren. Bis 80 Minuten nach Applikation waren die Substanzen im Liquor bei dieser Studie signifikant erhöht nachweisbar. Die Plasmakonzentrationen von Insulin oder ACTH 4-10 änderten sich nach Substitution nicht signifikant, die Vasopressinwerte im Plasma stiegen dagegen signifikant an (Born et al., 2002).

1.7 Fragestellung

Die vorliegende Arbeit untersucht die Wirkungen von subchronisch applizierten Vasopressin auf die neuroendokrine Schlafarchitektur bei gesunden älteren Probanden. Es wurden folgende Fragestellungen fokussiert:

- Verbessert die subchronische intranasale Behandlung mit Vasopressin die Schlafdauer bzw. die Dauer des Tief- und REM-Schlafes?
- Gehen die beobachteten Veränderungen des Schlafs parallel mit Veränderungen der nächtlichen Hormonsekretion einher, im Speziellen mit einer Erhöhung oder Erniedrigung der Wachstumshormon- und Kortisolspiegel?
- Führt eine solche Behandlung zu einer Verbesserung der subjektiv empfundenen Schlafqualität?
- Treten Nebenwirkungen auf, vor allem in Hinblick auf das kardiovaskuläre System und den Flüssigkeitshaushalt?

2. Material und Methoden

2.1 Versuchspersonen und Voruntersuchungen

An der vorliegenden Studie nahmen 35 Frauen und Männer teil, die nach folgenden Kriterien ausgewählt wurden: Alter über 68 Jahre, keine schweren körperlichen Erkrankungen, insbesondere keine internorganischen, keine neurologischen und keine psychischen Störungen. Des Weiteren durften die Versuchsteilnehmer weder rauchen, regelmäßig trinken oder regelmäßig Medikamente einnehmen. Die Eigenanamnese musste frei von kardiovaskulären Erkrankungen sein und sollte milde Schlafstörungen nach dem PSQI beinhalten. Körperliche Mobilität und unbetreutes Wohnen waren ebenso Voraussetzung. Die potenzielle Teilnehmergruppe wurde über eine Zeitungsanzeige angesprochen. Es wurden Daten von 20 Probanden in die Auswertung einbezogen, die während einer Vorstudie untersucht wurden, wobei der Schwerpunkt der Auswertung der vorliegenden Arbeit auf der vasopressininduzierten Verbesserung der neuroendokrinen Architektur des Schlafs liegt.

Alle Versuchspersonen wurden vor Versuchsbeginn mündlich und anhand eines Merkblattes über den Sinn, Inhalt und Nebenwirkungen der Studie aufgeklärt und gaben schriftlich ihre Einverständniserklärung. Als Gegenleistung zur Studienteilnahme wurde den Versuchsteilnehmern ein Entgelt von 750 DM ausbezahlt. Die Studie ist von der örtlichen Ethikkommission genehmigt worden und die Probanden wurden über ein jederzeit mögliches freiwilliges Ausscheiden aufgeklärt.

Das Alter der Versuchsteilnehmer lag zwischen 68 und 87 Jahren, das Durchschnittsalter betrug 72.9 Jahre. Es fand nach erster telefonischer Anamnese eine gründliche Voruntersuchung statt. Diese beinhaltete die Erhebung der kompletten Krankengeschichte der Versuchsteilnehmer, eine gründliche körperliche Untersuchung, das Schreiben eines Elektrokardiogramms, die laborchemische Bestimmung folgender Blutparameter: großes Differenzialblutbild, Elektrolyte, Kreatinin, Bilirubin, Cholesterin, HDL- und LDL-Cholesterin, Triglyceride, Glucose, Laktat, Alanin-Amino-Transferase, Aspartat-Amino-Transferase, Gamma-Glutamyl-Transferase, alkalische Phosphatase, TSH und ggf. fT_3/fT_4 . Des Weiteren wurde der Blutdruck nach Riva-Rochi und manuell der Puls gemessen. Die systolischen und diastolischen Blutdruckwerte und die Herzfrequenz waren bei allen Probanden im Normbereich.

Die abgeleiteten EKG zeigten alle einen Sinusrhythmus und einen normalen Stromkurvenverlauf ohne Hinweise auf eine abgelaufene oder frische Ischämie.

Die psychische Anamnese wurde mit der Hamilton Depressionsskala vervollständigt, um Probanden mit depressiven Erkrankungen herauszufiltern. Zum Zwecke der standardisierten Einschätzung der angegebenen Schlafstörungen wurde ein standardisiertes Interview, basierend auf dem „Pittsburgh Sleep Quality Index“ (PSQI), durchgeführt. Ein Score von 5 bis 10 Punkten im PSQI wurde als Einschlusskriterium für die Teilnahme an der Studie gefordert.

In der Vorbereitungsnacht wurden als Ursache für Schlafstörungen ein Restless-legs-Syndrom per Video-Monitoring und das Schlaf-Apnoe-Syndrom mittels Pulsoxymetrie ausgeschlossen.

2.2 Studiendesign

2.2.1 Allgemeiner Versuchsablauf

Als Studiendesign wurde eine randomisierte Doppelblindstudie im „ad libitum“ Design gewählt, um den individuellen Schlafgewohnheiten der Probanden gerecht zu werden. Konkret bedeutete dies, dass die Probanden im Schlaflabor zu ihrer gewohnten Zeit ins Bett gehen sollten und ggf. vor dem Schlafen noch lesen konnten. Am Morgen konnten sie ein Signal geben, wenn sie aufstehen wollten. Sie sollten allerdings nicht wach im Bett liegen bleiben. Weiterhin sollten sie während der gesamten Studiendauer individuelle Schlafgewohnheiten wie Mittagschlaf und Schlafzeiten beibehalten. Im Schlaflabor wurde streng darauf geachtet, dass das akustische und visuelle Umfeld sich nicht störend auf den Schlaf auswirkte.

Die Versuchsteilnehmer wurden randomisiert in zwei Gruppen eingeteilt (siehe auch Tabelle 1). Eine Gruppe (a 12 Probanden) erhielt über 10 Wochen Vasopressin (Arginin-Vasopressin, Bachem, Heidelberg, Deutschland) intranasal, die andere Gruppe (a 14 Probanden) Placebo (physiologische Kochsalzlösung). Jeder Teilnehmer in der Vasopressin-Gruppe applizierte sich pro Tag 100 µg Vasopressin, aufgeteilt auf je zwei Sprühstöße a 25 µg morgens und abends. Dies entspricht 2 x 20 IU. Analog erhielten die Probanden der Placebo-Gruppe morgens und abends je zwei Sprühstöße physiologische Kochsalzlösung. Die Dauer der Studie wurde auf zehn Wochen festgelegt. Der Versuchsablauf legte zwei Blöcke mit je zwei aufeinander folgenden Nächten fest, an denen die Teilnehmer im Schlaflabor erschienen und die Nächte zur Erfassung des Schlaf-EEG schlafend dort verbrachten. Zwischen den zwei Blöcken lag die Behandlungsphase von 10 Wochen (siehe auch Abbildung A1 im Anhang).

Nacht I und Nacht III dienten jeweils dazu, die Teilnehmer an die Laborbedingungen zu gewöhnen. Diese Nächte waren vom Ablauf her identisch mit den Versuchsnächten mit dem einzigen Unterschied, dass kein Blut abgenommen wurde. Die erste experimentelle Nacht (Nacht II) wurde als Baseline genutzt, um Ausgangswerte zu erhalten, die in unserer statistischen Analyse als Kovariate dienen. Während des ersten Versuchsblocks wurden alle Teilnehmer mit dem Placebo intranasal behandelt. Am Morgen nach der zweiten Nacht wurden die Probanden gemäß ihrer Gruppeneinteilung mit Vasopressin oder Placebo weiterbehandelt. Die Behandlungsgruppe applizierte sich morgens nach dem Aufstehen und abends ca. eine Stunde vor dem zu Bett gehen jeweils 2 Sprühstöße Vasopressin intranasal, die Placebo-Gruppe analog dazu isotonische Kochsalzlösung. Nach zehn Wochen fanden wieder zwei Nächte (Nacht III und Nacht IV) im Schlaflabor zur Erfassung der Schlaf-EEG statt. Am Abend vor Nacht IV wurde letztmalig Vasopressin appliziert.

Während der gesamten Behandlungsphase lagerten die Probanden die Lösung mit dem Vasopressin im Kühlschrank zu Hause. Von Seite des Herstellers wurde die Stabilität der gekühlten Substanz für zwei Wochen garantiert. Wir tauschten die Flaschen im Rahmen eines Hausbesuches jede Woche aus. Dies diente zur klinischen Verlaufsbeobachtung, Messung und Dokumentation der kardiovaskulären Parameter und des Erfragens von Nebenwirkungen.

Tabelle 1: Die Gruppeneinteilung der Placebo- und Vasopressin-Gruppe

	Placebo (n=14)	Vasopressin (n=12)
Männer (insgesamt 13)	8	5
Frauen (insgesamt 13)	6	7
Durchschnittsalter (Jahre)	73.0	72.8
Altersgrenzen (Jahre)	68 - 87	68 - 81

Gruppenverteilung von Männern und Frauen in der Placebo- und Vasopressin-Gruppe. Es werden die absoluten Werte dargestellt. Das Alter aller Versuchsteilnehmer lag zwischen 68 und 87 Jahren, das Durchschnittsalter betrug 72.9 Jahre. Es werden nur die Probanden zahlenmäßig aufgeschlüsselt, deren Werte in die endgültige Statistik einfließen (n=26).

2.2.2 Spezieller Versuchsablauf während der Labornächte

Die Studie wurde im Schlaflabor der Klinik für Innere Medizin des Universitätsklinikums Schleswig-Holstein, Campus Lübeck durchgeführt. Die räumliche Aufteilung umfasst zwei Schlafräume für jeweils einen Probanden, die an einen Raum grenzen, der als Aufenthaltsraum für den Versuchsleiter diente. In diesem Raum befand sich das Gerät für die Schlafregistrierung und die Apparatur zur nächtlichen Blutentnahme. Die benötigten Kabel und Schläuche wurden durch eine 10 x 10 cm große Öffnung, welche mit Schaumstoff zur Lärm- und Lichtdämmung verschlossen war, in der Wand jedes Schlafraumes nach außen geführt.

Jeder Versuchsteilnehmer wurde zwei Stunden vor Versuchsbeginn einbestellt, um die Versuchsnächte vorzubereiten. Den individuellen Versuchsbeginn legte der jeweilige Proband gemäß seiner individuellen Schlafgewohnheiten fest. Nach Anlegen aller Elektroden für die Polysomnographie mit EEG-, EOG- und EMG-Elektroden wurden der Blutdruck und die Herzfrequenz gemessen. Um Blut während der Nacht abzunehmen und die Probanden dadurch nicht zu wecken, erfolgte die Anlage einer Venenverweilkanüle (Venflon^R 2, 1.2 mm O.D. L 45 mm) in eine Vene des Unterarms. Diese Verweilkanüle wurde mit einem dünnen Plastikschauch (Combidyn^R-Druckschlauch, Volumen 1.5 ml, Länge 200 cm) konnektiert und vom Schlafräum nach außen in den Aufenthaltsraum geleitet. Über einen Dreiwegehahn am dortigen Ende bestand die Möglichkeit, den Probanden Blut abzunehmen und Spüllösung zu applizieren.

Per Klopfsignal konnten sich die Probanden für nächtliche Toilettengänge bemerkbar machen. Am Morgen konnte der Proband dieses Signal ebenso benutzen, um den Versuchsleiter darauf aufmerksam zu machen, dass er aufstehen möchte. Der Versuchsleiter befand sich während der gesamten Versuchszeit im Aufenthaltsraum, um etwaige Probleme sofort zu erkennen.

In Nacht I und Nacht III ist nur das EEG abgeleitet worden. Blut wurde nicht entnommen, jedoch eine Venenverweilkanüle angelegt und eine Infusion angeschlossen. Die beiden Nächte, die in die statistische Analyse einfließen, waren Nacht II und IV. In diesen wurde zusätzlich zur EEG-Aufzeichnung im Abstand von 15 Minuten wiederholend Blut abgenommen. Für die Probanden ergab sich kein bemerkbarer Unterschied während des Schlafens im Labor im Vergleich zu den Eingewöhnungsnächten.

Am Morgen nach Nacht II und IV wurde das Körpergewicht gemessen und die folgenden Laborparameter durch zusätzliche Blutproben bestimmt: großes

Differenzialblutbild, Natrium, Kalium, Calcium, Kreatinin, Bilirubin, HDL- und LDL-Cholesterin, Triglyceride, Glucose, Laktat, Alanin-Amino-Transferase, Aspartat-Amino-Transferase, Gamma-Glutamyl-Transferase und alkalische Phosphatase sowie IGF-1.

2.3 Messmethoden

2.3.1 Kardiovaskuläre Messungen

Der Blutdruck und die Herzfrequenz wurden mit einem automatischen Druckmesser gemessen (Boso „Medicus“, Bosch und Sohn“, Jungingen, Germany). Dies erfolgte bei der Aufnahmeuntersuchung, dreimalig während der Vorbereitung auf die experimentellen Nächte (direkt nach der Ankunft, nach Anlegen der EEG-Elektroden und kurz vor dem Licht löschen ca. eine Stunde nach Vasopressin-Applikation), am Morgen nach jeder experimentellen Nacht und während der gesamten Versuchszeit einmal pro Woche bei Austausch der Nasenspray-Fläschchen.

2.3.2 Die Schlafregistrierung

Die EEG-Aufzeichnungen während der experimentellen Nächte vom Zeitpunkt des Lichtlöschens bis zum Zeitpunkt des Aufstehens wurden mit einem Nicolet EEG 1A97 Gerät der Firma Nicolet, Madison, WI, USA durchgeführt. Das EEG wurde von C3 und C4 abgeleitet. Zur Artefakterkennung und Schlafstadiendifferenzierung wurden das EOG und das mentale EMG herangezogen. Als Erdung diente eine nasale Elektrode. Die Lokalisationen der Elektroden waren wie folgt festgelegt: C3/C4 rechts und links des Scheitels, die EOG-Ableitung mit horizontaler Achse rechts und links lateral der Augenwinkel und vertikaler Achse ober- sowie unterhalb eines Auges, die EMG-Ableitung rechts und links der Mundwinkel und die Erdungselektrode einseitig nasal. Nach Bündelung der ca. 1.2 Meter langen einzelnen Elektrodenkabel sind diese mit einer Steckdose am Bett des Probanden konnektiert worden und über ein abgeschirmtes Kabel durch die Öffnung in der Wand nach außen zur Registriereinheit des Gerätes geleitet worden. Die uneingeschränkte Bewegungsfähigkeit der Teilnehmer war auf jeden Fall durch die Länge der Elektrodenkabel gewährleistet. Nach Verstärkung kam es zur Darstellung der einzelnen Ableitungen durch einen Mehrkanalschreiber auf Papier mit der Vorschubgeschwindigkeit von 1 cm/s.

Zum Ausschluss eines Schlaf-Apnoe-Syndroms ist ein Pulsoxymeter konnektiert worden. Das Gerät zeichnete kontinuierlich die Herzfrequenz und Sauerstoffsättigung auf einen fortlaufenden Papierstreifen auf.

2.3.3 Blutentnahmen

Blut wurde in den experimentellen Nächten wiederholend in Monovetten^R (Firma Sarstedt, Nürnberg) entnommen. Die erstmalige Blutentnahme erfolgte nach dem Legen der Venenverweilkanüle, wobei folgende Werte bestimmt wurden: Natrium, Osmolalität, Vasopressin, Kortisol, hGH und ein kleines Blutbild. Nach dem Lichtlöschen entnahm der Versuchsleiter dann kontinuierlich jeweils viertelstündlich Blut zu Bestimmung der Kortisol- und hGH-Werte. Zusätzlich zu den beiden vorher genannten Werten sind stündlich Natrium, Osmolalität, ein kleines Blutbild und Vasopressin quantifiziert worden. Der technische Vorgang der Blutentnahme aus dem Aufenthaltsraum gestaltete sich wie folgt: Nach Aspiration mit einer 5 ml Einwegspritze von ca. 2-3 ml Blut am Dreiwegehahn erfolgte die Abnahme von wenigen Millilitern in eine neue Einwegspritze, aus der dann das entnommene Blut in die entsprechenden Monovetten verteilt wurde. Für die Bestimmung von Kortisol, hGH, Natrium, Osmolalität und IGF-1 wurden ca. 3 ml Blut in einer 9 ml Serummonovette abgenommen, zur Bestimmung von Vasopressin wurde Blut in einer 3.7 ml EDTA-Monovette abgenommen. Die weitere Durchgängigkeit der Kanüle stellte während der gesamten Nacht die Tropfinfusion von NaCl-Lösung (NaCl 0.9%, Firma Braun, Melsungen, Deutschland) über ein Infusionsbesteck (Original Infusomat, Länge 250 cm, Volumen 20 ml, Firma Braun, Melsungen, Deutschland) als Spüllösung sicher, welches ebenfalls am Dreiwegehahn angeschlossen war. Die Gesamtmenge der infundierten Lösung entsprach ungefähr der Menge des entnommenen Blutes. Bei einer durchschnittlichen Schlafdauer von 8 Stunden ergibt sich eine Gesamtzahl der Blutentnahmen von ungefähr 32. Dies entspricht einem Blutverlust durch Abnahme von unter 300 ml bei jedem Probanden. Die infundierte Menge Kochsalzlösung betrug ca. 500 ml.

Die Blutproben wurden sofort nach der Entnahme 10 Minuten bei 4000 Umdrehungen/Minute und 4 Grad Celsius in einer Zentrifuge 2K15 der Firma Sigma zentrifugiert. Anschließend erfolgte die Pipettierung des Serums in 1.5 ml fassende Reaktionsgefäße der Firma Eppendorf und die tiefgefrorene Lagerung bis zur Bestimmung der Hormone bei -20 Grad Celsius.

2.3.4 Hormonbestimmungen

Die Messungen wurden anhand kommerziell erhältlicher halbautomatischer Kits mit Hilfe des medizinisch-technischen Laborpersonals durchgeführt. Die gesamten Blutproben eines Probanden wurden im Doppelansatz in demselben Assay mit

anschließender Mittelwertbildung bestimmt. Es folgt eine kurze Auflistung der Spezifikationen des jeweiligen Kits:

a) Vasopressin

Das Plasma-Vasopressin wurde anhand eines spezifischen Radioimmunassays (Vasopressin (ADH)-RIA mit Doppelantikörper/PEG-Trennung, Firma Bühlmann Laboratories AG, Switzerland) bestimmt. Die Sensitivität dieses Tests beträgt 0.35 pg/ml. Der Intraassay-Variationskoeffizient ist < 11.2% bei Konzentrationen zwischen 0.35 und 20 pg/ml.

b) Kortisol

Die Plasma-Kortisol Werte wurden quantitativ mit einem kompetitiven ELISA-Test (Enzym-Test^R Kortisol, Boehringer Mannheim Immundiagnostica) bestimmt. Die Sensitivität dieses Tests beträgt 0.2 µg/dl. Der Intraassay-Variationskoeffizient ist < 5.1% bei Konzentrationen zwischen 1 und 50 µg/dl.

c) hGH

Das Plasma-hGH wurde mit Hilfe eines spezifischen Radioimmunassays (DPC Biermann, Bad Nauheim, Germany, RIA mit Doppelantikörper/PEG-Trennung) quantitativ bestimmt. Die Sensitivität dieses Tests beträgt 0.9 ng/ml. Der Intraassay-Variationskoeffizient ist < 5.9% bei Konzentrationen zwischen 1.1 und 10.9 ng/ml.

d) IGF-1

Das Plasma-IGF wurde mit Hilfe eines Radioimmunassays (Nichols, Genf, Schweiz) quantitativ bestimmt. Die Sensitivität dieses Tests beträgt 13.5 ng/ml. Der Intraassay-Variationskoeffizient ist < 3%.

Der Interassay-Variationskoeffizient aller Test war niedriger als 10%.

Das Blutbild, die Serum-Elektrolyte und die Serum-Osmolalität wurden mit Routinemethoden in den Laboren der Medizinischen Universität zu Lübeck bestimmt.

2.4 Schlaftagebuch und Vitalparameterkontrolle

Während der Dauer der Studie erhielten alle Versuchsteilnehmer ein standardisiertes Schlafprotokoll, in dem für jeden Tag nach dem Aufstehen die subjektive Schlafqualität auf einer Skala von -5 (schlechteste Schlafqualität) bis +5 (beste Schlafqualität) vermerkt werden musste. Des Weiteren wurden auf diesem Bogen die Schlafdauer, die nächtlichen Schlafunterbrechungen durch Wasserlassen und die Dauer von Tagesschlafepisoden vermerkt.

2.5 Datenreduktion und Analyse

2.5.1 Schlaf

Die Beurteilung und Qualifizierung der jeweiligen Schlafstadien erfolgte nach den Kriterien von Rechtschaffen und Kales (Rechtschaffen und Kales, 1968). Dies nahmen fachlich ausgebildete Medizinisch-technische Assistenten vor. Die auswertenden Mitarbeiter kannten die Gruppenverteilung gemäß Vasopressin vs. Placebo nicht. Es wurden folgende Parameter als abstrakte objektivierbare Messgrößen bestimmt:

- der Einschlafzeitpunkt (engl. „sleep onset latency“, SOL):

Dieser Parameter ist definiert als das erste Auftreten von Schlafstadium I, gefolgt von Schlafstadium II.

- die Einschlaflatenz:

Dieser Parameter ist als die Zeit vom Löschen des Lichtes bis zum Einschlafzeitpunkt definiert.

- die Gesamtschlafperiode (engl. „sleep period time“, SPT):

Dieser Parameter ist die Zeit vom Einschlafzeitpunkt bis zum endgültigem Erwachen, definiert als letztmaliges Auftreten irgendeines Schlafstadiums, exklusive der Wachphasen.

- die totale Schlafzeit (engl. „total sleep time“, TST):

Dieser Parameter ist definiert als die Dauer vom Einschlafzeitpunkt bis zum Aufwachzeitpunkt inklusive der Wachzeiten.

- die Schlafeffizienz (engl. „sleep efficiency“, SE):

Dieser Parameter ist definiert als die Dauer der totalen Schlafzeit relativ zur Gesamtschlafperiode in Prozent (TST dividiert durch SPT multipliziert mit 100)

- die Wachphasen (engl. „wake after sleep onset“, WASO):

Dieser Parameter ist definiert als die Zeit in wachem Zustand nach dem Einschlafzeitpunkt während der SPT. Angegeben als absoluter und relativer Wert.

- die absolute Dauer der einzelnen Schlafstadien:

Diese Parameter sind für Schlafstadium I-IV, für den REM-Schlaf und für Wachphasen in Minuten definiert worden.

- der relative Anteil der Schlafstadien an der Gesamtschlafperiode:

Diese Parameter sind für Schlafstadium I-IV, für den REM-Schlaf und für die Wachphasen in Prozent definiert worden.

2.5.2 Hormone

Um einen Zusammenhang zwischen dem elektroenzephalographischen Schlafmuster eines jeden Probanden und seinen individuellen hormonellen Sekretionsmustern herstellen zu können, wurden folgende Parameter auf Grundlage der viertelstündlich bestimmten Plasmakonzentrationen von Kortisol und hGH mit in die Auswertung einbezogen:

- Die mittleren Kortisol- und hGH-Konzentrationen im Plasma sind während der Gesamtschlafperiode und separat für die erste und zweite Hälfte der Gesamtschlafperiode bestimmt worden.
- Die maximalen Kortisol- und hGH-Konzentrationen im Plasma sind als absolute Werte während der Gesamtschlafperiode bestimmt worden.
- Die minimalen Kortisol- (Nadir) und hGH-Konzentrationen im Plasma sind als absolute Werte während der Gesamtschlafperiode bestimmt worden.
- Die zeitliche Latenz der Kortisol- und hGH-Maxima sind in Bezug zum Einschlafzeitpunkt bestimmt worden.
- Die Latenz des Kortisolnadirs ist in Bezug zum Einschlafzeitpunkt bestimmt worden.

2.5.3 Natrium, Osmolalität, Hämatokrit und Vasopressin

Die absoluten Werte von Serum-Natrium, der Serum-Osmolalität, dem Hämatokrit und Vasopressin wurden stündlich während der Gesamtschlafzeit bestimmt.

2.5.4 Klinische Chemie und Differenzialblutbild

Es wurden ebenfalls die absoluten Werte bestimmt.

2.5.5 Statistische Analysen

Aufgrund der z. T. signifikant unterschiedlichen Baseline-Werte (z. B. REM-Schlaf, Einschlaf latenz) der Placebo- und Vasopressin-Gruppe erfolgten die statistische Analysen mit Hilfe einer Kovarianzanalyse (ANCOVA). Als Statistikprogramm für den Computer wurde BMDP^R benutzt. Nacht I und Nacht III dienten der Gewöhnung der Versuchsteilnehmer an die Laborbedingungen. Die dort erhaltenen Messwerte flossen nicht in die analytischen Berechnungen ein. Die Analyse beinhaltete immer einen

Gruppenfaktor „Behandlung“ (Vasopressin vs. Placebo), bei Mehrfachmessungen (täglich, wöchentlich) einen Gruppenfaktor „Zeitpunkt“.

Die täglich von den Probanden dokumentierten häuslich erhobenen Daten wie Schlafdauer, Einschlafzeitpunkt und Wachzeiten während der Gesamtschlafperiode und die wöchentlich aufgezeichneten Variablen (Blutdruck und Herzfrequenz) wurden durch einen zusätzlichen Gruppenfaktor „Zeitpunkt“ evaluiert. Um Effekte des Vasopressins auf die Nykturieffrequenz, die Tagesschlafdauer/-frequenz und die subjektive Schlafqualität beurteilen zu können, wurden non-parametrische Tests (Kruskal-Wallis, Wilcoxon) herangezogen. Im Hinblick auf die Beurteilung der Hypothesen wurden bis auf die Vergleiche der Kortisolwerte Zwei-Seiten-Tests durchgeführt, im Fall der Kortisol-Analyse wurde mit einem Ein-Seiten-Test gerechnet. Die Freiheitsgrade sind nach Greenhouse-Geisser korrigiert worden. Ein p-Wert kleiner oder gleich 0.05 wurde als signifikant angesehen.

3. Ergebnisse

3.1 Ergebnisse der Schlafauswertung

Aufgrund technischer Probleme wie Abknicken oder Thrombosieren des Blutentnahmeschlauchs mussten von insgesamt 35 Probanden 9 Teilnehmer von der Auswertung ausgeschlossen werden, da mehr als zwei konsekutive Blutproben fehlten.

3.1.1 Ergebnisse Nacht II (Baseline-Phase)

Beide Behandlungsgruppen zeigten in Nacht II die alterstypischen Muster der Schlafarchitektur, welche durch eine erhöhte Aufwachfrequenz, eine verlängerte Schlafzeit im Stadium I, eine verringerte Schlafzeit in den Tiefschlafstadien III und IV und im REM-Schlafstadium charakterisiert ist. Wenn man beide Gruppen miteinander vergleicht, lässt sich feststellen, dass sich signifikante Unterschiede hinsichtlich folgender Parameter ergeben: SPT, S1, Tiefschlaf und REM-Schlaf. Die Einschlaflatenz unterscheidet sich nicht signifikant voneinander.

3.1.2 Ergebnisse Nacht IV (nach Behandlung)

Nach der 10-wöchigen Behandlung mit täglich 40 IU Vasopressin zeigten sich Unterschiede hinsichtlich der bestimmten Schlafparameter zwischen Vasopressin- und Placebo-Gruppe. Während die Placebo-Gruppe am Ende der Behandlungsphase in ihrem Schlafverhalten mit Nacht II vergleichbar war, ließen sich in der Vasopressin-Gruppe deutliche Verbesserungen ausmachen. Die vasopressinbehandelten Versuchspersonen zeigten 21.5 Minuten mehr Tiefschlaf, die Gesamtschlafperiode war um 18.9 Minuten verlängert und der REM-Schlaf nahm um 11.6 Minuten zu. Demgegenüber nahm die Zeit, die in Schlafstadium II verbracht wird, um 19.5 Minuten ab. Außerdem verzögerte sich der Einschlafzeitpunkt in der Vasopressin-Gruppe um 12.4 Minuten. Durch eine hohe Varianz der Daten waren diese Ergebnisse nicht signifikant.

Tabelle 2: Schlaf-EEG während Nacht IV

	Placebo (n=14)		Vasopressin (n=12)		Signifikanz
	MW	SEM	MW	SEM	
Einschlaflatenz (Min.)	25.1	6.2	37.5	6.7	
SPT (Min.)	397.3	19.1	416.2	20.6	
TST (Min.)	320.7	20.3	330.2	19.9	
Schlafeffizienz (%)	80.6	2.5	79.6	2.9	
REM-Latenz (Min.)	44.8	13.4	45.2	14.4	

Dauer der Schlafstadien (Min.)

WASO	76.6	13.8	86.0	15.0	
S1	46.6	9.8	42.5	10.6	
S2	204.0	12.3	184.5	13.3	
SWS (S3+S4)	21.3	5.9	42.8	6.4	p<0.05
REM	48.8	5.5	60.4	5.5	

Dauer der Schlafstadien für die 1. Hälfte der Nacht (%)

WASO	15.4	4.2	19.9	4.6	
S1	10.8	1.2	8.8	1.3	
S2	57.0	3.0	47.9	3.3	p<0.05
SWS (S3+S4)	7.7	2.4	13.8	2.6	p<0.05
REM	9.1	1.4	9.7	1.5	

Dauer der Schlafstadien für die 2. Hälfte der Nacht (%)

WASO	20.6	4.1	22.0	4.5	
S1	12.3	1.5	11.6	1.6	
S2	46.3	3.4	40.8	3.7	
SWS (S3+S4)	5.1	2.2	6.6	2.4	
REM	15.7	2.0	19.0	2.2	

Ergebnisse der EEG-Auswertungen von 26 gesunden alten Probanden nach 10-wöchiger Behandlung mit Vasopressin, getrennt dargestellt für die Placebo-Gruppe und die Vasopressin-Gruppe. Es sind baseline-korrigierte Mittelwerte (MW±SEM) dargestellt (ANCOVA), die Signifikanz ergibt sich aus dem paarweisen Vergleich mit der Placebo-Gruppe. S1-S4: Schlafstadien I bis IV, REM: Rapid Eye Movement-Schlaf, Einschlaflatenz: Dauer vom Löschen des Lichtes bis zum Einschlafzeitpunkt, SPT: Gesamtschlafzeit exklusive der Wachphasen, TST: Totale Schlafzeit inklusive der Wachphasen, WASO: Wachphasen nach dem Einschlafzeitpunkt, Schlafeffizienz: Dauer der totalen Schlafzeit relativ zur Gesamtschlafperiode in Prozent.

3.2 Hormone

Geschlechtsspezifische Unterschiede der Hormonsekretion konnten bei kleiner Fallzahl pro Gruppe nicht erfasst werden, da die erhaltenen Werte stark streuten. Jedoch lassen sich die Unterschiede aufgrund der hier vorliegenden Werte nicht ausschließen.

3.2.1 Wachstumshormon

Unter Placebobedingungen war die hGH-Sekretion wie erwartet dem fortgeschrittenen Alter entsprechend in beiden Nächten vermindert. Im Vergleich dazu unterschied sich jedoch die Vasopressin-Gruppe in Nacht IV deutlich von der Placebo-Gruppe. Während der Gesamtschlafperiode waren die durchschnittlichen hGH-Werte im Blut um 0.8 ng/ml höher als die hGH-Werte der Placebo-Gruppe. Dieser Wert ergab einen Trend zur Signifikanz ($p < 0.08$). Bei gesonderter Betrachtung der jeweiligen Nachthälfte zeigte sich ein Anstieg der hGH-Konzentrationen unter Vasopressin sowohl in der 1. als auch der 2. Nachthälfte, allerdings ergab nur der Unterschied in der 2. Nachthälfte einen Trend zur Signifikanz.

Nach Bestimmung des Spitzenwertes (Peak) für hGH stehen 2.2 ng/ml (\pm SEM: ± 0.8 ng/dl) in der Placebo-Gruppe und 3.7 ng/ml (\pm SEM: ± 0.8 ng/dl) in der Vasopressin-Gruppe gegenüber. Auch hier ist ein Anstieg zu sehen, der jedoch keine Signifikanz erreicht.

Tabelle 3: Ergebnisse der nächtlichen hGH-Untersuchungen während Nacht IV

	Placebo (n=14)		Vasopressin (n=12)		Signifikanz
	MW	SEM	MW	SEM	
Maximum	2.2	0.8	3.7	0.8	
Maximum-Latenz (Min.)	94.2	28.3	97.0	28.4	
<i>Mittlere Konzentration während:</i>					
SPT	1.0	0.2	1.5	0.2	p<0.08
1. Hälfte der SPT	1.1	0.3	1.6	0.3	
2. Hälfte der SPT	0.9	0.1	1.2	0.1	p<0.08

Ergebnisse der hGH-Auswertungen von 26 gesunden alten Probanden nach 10-wöchiger, intranasaler Behandlung mit Vasopressin oder Placebo, getrennt dargestellt für die Placebo-Gruppe und die Vasopressin-Gruppe. Es sind baseline-korrigierte Mittelwerte (MW±SEM) dargestellt (ANCOVA). Alle Werte, sofern nicht anders angegeben, in ng/ml. Die SPT (Gesamtschlafperiode) ist die Zeit vom Einschlafzeitpunkt bis zum Erwachen, definiert als letztmaliges Auftreten irgendeines Schlafstadiums, exklusive der Wachphasen.

3.2.2 Kortisol

Der Durchschnittswert des Hormons im Blut während der Nacht lag in beiden Gruppen nach der 10-wöchigen Behandlungsphase bei 6.8 µg/dl (±SEM: ±0.4 µg/dl). Auch sind die Durchschnittswerte der ersten und zweiten Nachthälfte von beiden Gruppen vergleichbar. Es zeigte sich das typische Kortisol-Sekretionsprofil mit einem Nadir in den frühen Nachtstunden und einem Anstieg mit folgendem Maximum am Morgen bei beiden Gruppen vor und nach der Behandlung. In der Vasopressin-Gruppe war der Nadir im Vergleich zur Placebo-Gruppe um 23.8% signifikant niedriger nach der Vasopressineinnahme (Nadir±SEM Vasopressin: 1.6±0.2 µg/dl vs. Nadir±SEM Placebo: 2.1±0.2 µg/dl; p<0.04). Der Kortisolnadir tritt in der Vasopressin-Gruppe um 13.6 Minuten zeitlich früher auf.

Bei den Spitzenwerten für Kortisol gibt es keine wesentlichen Unterschiede, 16.2 µg/dl (±SEM: ±1.1 µg/dl) in der Placebo-Gruppe stehen 16.1 µg/dl (±SEM: ±1.1 µg/dl) in der Vasopressin-Gruppe gegenüber. Auffällig ist eine zeitliche Latenz des Spitzenwertes in der Vasopressin-Gruppe im Vergleich zur Placebo-Gruppe, nämlich um 38.2 Minuten.

Tabelle 4: Ergebnisse der nächtlichen Kortisol-Untersuchungen während Nacht IV

	Placebo (n=14)		Vasopressin (n=12)		Signifikanz
	MW	SEM	MW	SEM	
Maximum	16.2	1.1	16.1	1.1	p<0.04
Maximum-Latenz (Min.)	290.9	28.2	329.1	29.0	
Nadir	2.1	0.2	1.6	0.2	
Nadir-Latenz (Min.)	113.3	12.9	99.7	13.5	

Mittlere Konzentration während:

SPT	6.8	0.4	6.8	0.4
1. Hälfte der SPT	4.1	0.4	3.7	0.5
2. Hälfte der SPT	8.9	0.7	10.0	0.7

Ergebnisse der Kortisol-Auswertungen von 26 gesunden alten Probanden nach 10-wöchiger, intranasaler Behandlung mit Vasopressin oder Placebo, getrennt dargestellt für die Placebo-Gruppe und die Vasopressin-Gruppe. Es sind baseline-korrigierte Mittelwerte (MW±SEM) dargestellt (ANCOVA). Alle Werte, sofern nicht anders angegeben, in µg/dl. Die SPT (Gesamtschlafperiode) ist die Zeit vom Einschlafzeitpunkt bis zum Erwachen, definiert als letztmaliges Auftreten irgendeines Schlafstadiums, exklusive der Wachphasen.

3.2.3 IGF-1

Die IGF-1 Konzentrationen wurden am Morgen nach den experimentellen Nächten II und IV gemessen und spiegelten keinerlei signifikante Veränderung durch die Vasopressinbehandlung wider. In der Placebo-Gruppe standen 84.8 pg/ml (±SEM: ±4.4 pg/ml) den gemessenen 88.3 pg/ml (±SEM: ±4.9 pg/ml) in der Vasopressin-Gruppe gegenüber.

3.3 Natrium, Osmolalität, Hämatokrit und Vasopressin

Um Effekte des Vasopressin auf die Flüssigkeitshomöostase feststellen zu können, wurden Serum-Natrium, Serum-Osmolalität und der Hämatokritwert stündlich während der Gesamtschlafzeit bestimmt. Behandlungsbedingte Unterschiede ergaben sich zu keinem Messzeitpunkt während der Nacht.

In absoluten Zahlen ausgedrückt ergeben sich die Werte in der folgenden Tabelle. Signifikante Änderungen ließen sich nach der 10-wöchigen Behandlung mit intranasalem Vasopressin nicht feststellen.

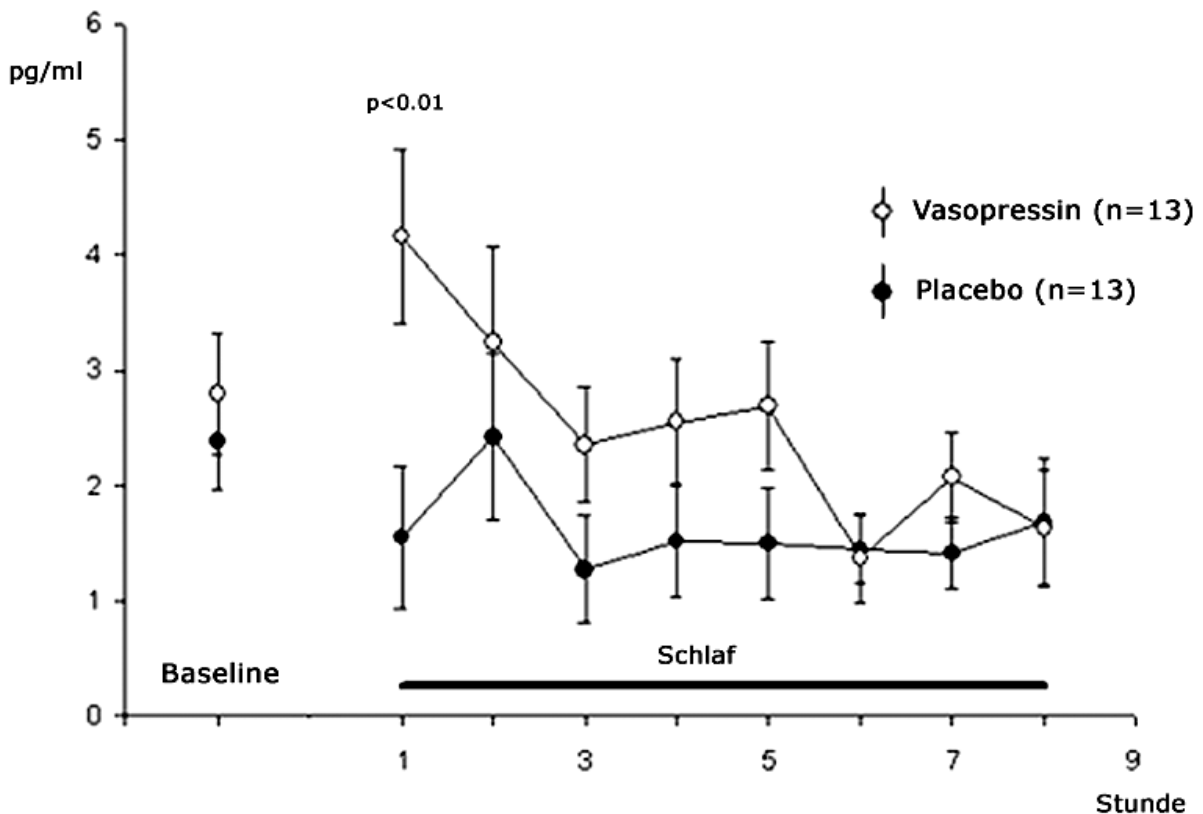
Tabelle 5: Ergebnisse von Natrium, Osmolalität und Hämatokrit

	Placebo (n=19)		Vasopressin (n=16)	
	MW	SEM	MW	SEM
Natrium (mmol/l)	141.34	0.39	141.18	0.42
Osmolalität (mosmol/kg)	293.8	1.0	292.9	1.0
Hämatokrit	0.373	0.005	0.365	0.006

Baseline-korrigierte Mittelwerte (MW±SEM) von Serum-Natrium, Osmolalität und Hämatokrit nach 10 Wochen intranasaler Behandlung mit Vasopressin oder Placebo (ANCOVA). Die Unterschiede zwischen den Behandlungsgruppen waren nicht signifikant.

Anders dagegen verhielten sich die Plasmakonzentrationen des Vasopressin nach 10-wöchiger Behandlung mit Vasopressin. Die Werte, welche über die gesamte Nacht bestimmt worden sind, zeigten ein höheres Niveau gegenüber der Placebo-Gruppe, was einem Trend zur Signifikanz entsprach. Als Mittelwert wurde baseline-korrigiert in der Vasopressin-Gruppe 2.84 pg/ml (\pm SEM: \pm 0.49 pg/ml; $p < 0.1$) festgestellt, in der Placebo-Gruppe 1.71 pg/ml (\pm SEM: \pm 0.44 pg/ml; $p < 0.1$). Am größten war die Differenz unmittelbar nach der Applikation des Peptids. Hier bestand eine Differenz von 2.61 pg/ml zwischen beiden Gruppen. Im Verlauf der Nacht sanken die Konzentrationen in der Vasopressin-Gruppe und glichen sich dem Niveau der Placebo-Gruppe in den Morgenstunden an.

Abbildung 3: Vasopressinkonzentrationen während des Schlafes in Nacht IV



Die Vasopressinkonzentrationen in beiden Gruppen während der Gesamtschlafperiode, dargestellt als baseline-korrigierte Mittelwerte (\pm SEM) nach 10-wöchiger Vasopressinbehandlung.

3.4 Klinische Chemie und Differenzialblutbild

Die bestimmten Werte für das große Differenzialblutbild, Natrium, Kalium, Calcium, Kreatinin, Bilirubin, HDL- und LDL-Cholesterin, Triglyceride, Glucose, Laktat, Alanin-Amino-Transferase, Aspartat-Amino-Transferase, Gamma-Glutamyl-Transferase und die alkalische Phosphatase zeigten keine Werte außerhalb des Normbereichs und keine Behandlungseffekte.

3.5 Kardiovaskuläre Messwerte

3.5.1 Blutdruck

Signifikante Änderungen ergaben sich in den experimentellen Nächten bei den systolischen Blutdruckwerten. Eine Stunde nach Einnahme von Vasopressin kam es im Bereich der baseline-korrigierten Mittelwerte der Vasopressin-Gruppe zu einem deutlichen Anstieg. Während die Placebo-Gruppe Werte um 126.3 mmHg (\pm SEM: \pm 3.8

mmHg) aufwies, zeigte die Vasopressin-Gruppe Werte um 138.6 mmHg (\pm SEM: \pm 4.1 mmHg; $p < 0.05$). Die systolischen Mittelwerte vor Applikation und nach dem Aufstehen waren bei beiden Gruppen vergleichbar. Vergleichbar sind auch die diastolischen Blutdruckwerte beider Gruppen vor, eine Stunde nach der Applikation und nach dem morgendlichen Erwachen.

Tabelle 6: Die Blutdruckwerte während Nacht IV

	Placebo (n=19)		Vasopressin (n=16)		Signifikanz
	MW	SEM	MW	SEM	
<i>Systolischer Blutdruck (mmHg)</i>					
vor Applikation	136.8	3.6	140.2	3.9	p < 0.05
1 Stunde danach	126.3	3.8	138.6	4.1	
nach dem Erwachen	134.1	2.8	138.5	3.1	
<i>Diastolischer Blutdruck (mmHg)</i>					
vor Applikation	82.1	2.4	82.9	2.6	
1 Stunde danach	76.2	2.1	75.8	2.2	
nach dem Erwachen	78.3	2.3	80.5	2.5	

Baseline-korrigierte Mittelwerte (MW \pm SEM) von Blutdruck nach 10-wöchiger intranasaler Behandlung mit Placebo oder Vasopressin (ANCOVA). Die Werte für den paarweisen Vergleich vor Applikation der abendlichen Dosis der Testsubstanz, eine Stunde danach und nach dem morgendlichen Erwachen sind dargestellt.

Die während der Behandlungsphase wöchentlich einmal durchgeführten Blutdruckmessungen brachten über den gesamten Zeitraum keine relevante Änderungen in beiden Gruppen zum Vorschein und lagen im Normbereich. Damit lassen sich keine klinisch messbaren Langzeiteffekte auf das kardiovaskuläre System bei subchronischer Vasopressineinnahme nachweisen.

3.5.2 Herzfrequenz

Die Messung der Herzfrequenz unmittelbar vor der intranasalen Vasopressinapplikation und eine Stunde danach in der experimentellen Nacht IV nach der Behandlungsphase brachte bei beiden Gruppen keine pathologischen Werte und signifikante Änderungen

zu Tage. 72.3/Minute (\pm SEM: \pm 2.3/Minute) vor der Applikation und 66.2/Minute (\pm SEM: \pm 1.6/Minute) nach Applikation in der Placebo-Gruppe sind vergleichbar mit 73.3/Minute (\pm SEM: \pm 2.5/Minute) vor der Applikation und 66.1/Minute (\pm SEM: \pm 1.7/Minute) nach Applikation in der Vasopressin-Gruppe. Auch am Morgen nach Nacht IV zeigten sich nur geringfügige Differenzen der Herzfrequenz bei beiden Gruppen.

Tabelle 7: Die Herzfrequenz während der Nacht IV

	Placebo (n=19)		Vasopressin (n=16)	
	MW	SEM	MW	SEM
<i>Herzfrequenz (Schläge/Min)</i>				
vor Applikation	72.3	2.3	73.3	2.5
1 Stunde danach	66.2	1.6	66.1	1.7
nach dem Erwachen	68.2	2.1	70.0	2.3

Baseline-korrigierte Mittelwerte (MW \pm SEM) der Herzfrequenz nach 10-wöchiger intranasaler Behandlung mit Placebo oder Vasopressin (ANCOVA). Die Werte für den paarweisen Vergleich vor Applikation der abendlichen Dosis der Testsubstanz, eine Stunde danach und nach dem morgendlichen Erwachen sind dargestellt.

Ebenso zeigten die wöchentlich durchgeführten Herzfrequenzkontrollen keine pathologischen Auffälligkeiten.

3.6 Körpergewicht

Das Körpergewicht der Versuchsteilnehmer änderte sich während der 10-wöchigen Behandlungsphase in beiden Gruppen nicht signifikant.

3.7 Schlaftagebuch und subjektive Schlafqualität

Um einen subjektiven Eindruck von der Schlafqualität zu erhalten, sollten die Versuchsteilnehmer regelmäßig ein Schlaftagebuch jeden Tag während der Behandlungsphase führen. Bei der Gegenüberstellung der täglichen totalen Schlafzeit stellt sich heraus, dass die Placebo-Gruppe mit 7:41 Stunden (\pm SEM: \pm 0.11 Stunden) ähnlich lange wie die Vasopressin-Gruppe mit 7:37 Stunden (\pm SEM: \pm 0.12 Stunden)

schief. Die Nykturiefrequenz lag in der Placebo-Gruppe bei 0.83/Nacht (\pm SEM: \pm 0.13/Nacht), in der Vasopressin-Gruppe war sie etwas höher mit 1.04/Nacht (\pm SEM: \pm 0.23/Nacht). Die Zeiten des Zubettgehens, des Aufstehens und die Dauer der Tagesschlafepisoden spiegelten keinerlei Effekte der Peptidbehandlung wider.

Der paarweise Vergleich der Unterschiede der beiden Gruppen ergab keinen signifikanten Unterschied. Die subjektive Schlafqualität verbesserte sich ebenfalls nicht durch die Vasopressinbehandlung.

Tabelle 8: Schlaftagebucheintragungen

	Placebo (n=19)		Vasopressin (n=16)	
	MW	SEM	MW	SEM
<i>Schlafdauer (Stunden:Minute)</i>				
Studienzeitraum	7:41	0:11	7:37	0:12
Tag 1-14	7:47	0:12	7:46	0:11
Tag 56-70	7:39	0:11	7:37	0:11
<i>Nykturie (Anzahl/Nacht)</i>				
Studienzeitraum	0.83	0.13	1.04	0.23
Tag 1-14	1.05	0.19	1.07	0.24
Tag 56-70	0.65	0.10	1.07	0.25
<i>Schlafqualität (score)</i>				
Studienzeitraum	+2.15	0.54	+2.00	0.49
Tag 1-14	+1.81	0.56	+2.07	0.55
Tag 56-70	+2.46	0.59	+2.13	0.50
<i>Tagschlafdauer (Min.)</i>				
Probanden mit Tagesschlaf	6		6	
Studienzeitraum	30.0	8.2	20.0	4.6
Tag 1-14	29.8	8.1	20.3	4.5
Tag 56-70	32.4	8.5	19.4	7.2

Mittelwerte (MW±SEM) der berichteten Schlafdauer, Nykturie, Schlafqualität und der Tagschlafdauer nach 10-wöchiger intranasaler Behandlung mit Placebo oder Vasopressin. Die Durchschnittswerte für den gesamten 10-wöchigen Behandlungszeitraum und für die ersten und letzten 14 Tage des Behandlungszeitraums sind dargestellt.

4. Diskussion

Die hier vorliegende Arbeit untersucht die Effekte von Vasopressin nach subchronischer intranasaler Applikation auf den Schlaf und die schlafassoziierte endokrine Sekretion von hGH und Kortisol bei älteren Menschen. Die Probanden waren zwischen 68 und 87 Jahre alt, physisch sowie psychisch gesund, Nichtraucher, nahmen keine Medikamente ein und klagten über leichte Schlafstörungen. Dazu wurde ein placebokontrolliertes Design gewählt. Mögliche Nebeneffekte während der zehnwöchigen Behandlung wurden durch Erfassung folgender Parameter kontrolliert: Blutdruck, Puls, Wasserhaushalt und Gewicht. Um neben der objektiven EEG-Auswertung die subjektive Qualität des Schlafes beurteilen zu können, führten die Versuchsteilnehmer ein Schlaftagebuch über den gesamten Beobachtungszeitraum. Die untersuchte Kohorte zeigte in Nacht II (Baseline-Nacht) das charakteristische Schlafprofil des Alters mit reduzierten Tief- und REM-Schlafphasen im Vergleich zu jüngeren Leuten, dafür aber ein fragmentierteres Schlafmuster mit häufigen Wachphasen (Hayashi und Endo, 1982; Feinberg, 1974). Generell fiel bei der Auswertung der Laborprotokolle auf, dass die nächtlichen EEG-Ableitungen und BlutentnahmeprozEDUREN einen erheblichen Störfaktor für den Schlaf darstellen, dessen negativer Einfluss auch durch noch so sorgfältiges Arbeiten nicht vollständig beseitigt werden konnte. Insbesondere die Veneverweilkanüle war bei häufiger Bewegung des Armes nicht immer rückläufig, so dass einzelne Nächte nicht auswertbar waren. Wegen der Limitierung der Blutmenge, die bei den Probanden entnommen werden konnte, ließen sich diese Nächte nicht wiederholen.

4.1 Die Veränderungen im Schlaf- und Hormonprofil

Als Grundlage für diese Arbeit diente eine Studie von Perras et al. aus dem Jahre 1999, in der erstmalig in einem größeren Probandenkollektiv die Wirkung von subchronisch applizierten Vasopressin auf den Schlaf untersucht wurde. Bis zu diesem Zeitpunkt gab es nur Untersuchungen zur Akutwirkung des Peptids auf den Schlaf und das Gedächtnis. In der oben erwähnten Studie konnte gezeigt werden, dass die subchronische Vasopressineinnahme über drei Monate signifikante Veränderungen des Schlafs bewirkte. Die Gesamtschlafperiode, die Zeit in den Tiefschlafphasen und die REM-Schlafzeit nahmen im Vergleich zur Placebo-Gruppe zu (Perras et al., 1999). Die erhaltenen Ergebnisse gaben Hinweise darauf, dass das Peptid kausal in die Schlafregulation eingreift. Diese Ergebnisse wurden in der vorliegenden Arbeit weiter

untersucht. Bei kritischer Interpretation der erhaltenen Werte stellte sich heraus, dass die Effekte des Neuropeptids auf den Schlaf nicht vollständig reproduziert wurden. Es kam im Vergleich zur Placebo-Gruppe ebenfalls zu einer zeitlichen Zunahme der Tief- und REM-Schlafphasen, jedoch differierten die hier erhaltenen Ergebnisse bezüglich der Einschlaf latenz und der Gesamtschlafperiode. Erstere verzögerte sich in der Vasopressin-Gruppe im Vergleich zur Placebo-Gruppe um 12.4 min. Wenn man die Ergebnisse von Tierstudien in Betracht zieht, verfestigen sich die Hinweise, dass die Akutwirkung des Peptids das Schlafgeschehen negativ beeinflusst, da die Wachzeit von Battleboro-Ratten verlängert und die Amplitude des Schlaf-Wach-Rhythmus vergrößert wird (Kruisbrink et al., 1987; Arnould et al., 1989). Dies liess sich damals für die intrazerebroventrikuläre und intravenöse Gabe von Vasopressin feststellen. Es existieren weiterhin Hinweise, dass Vasopressin die kortikale Erregbarkeit beim Menschen steigert und somit einen neurozerebral aktivierenden Effekt ausübt (Fehm-Wolfsdorf et al., 1988). Diese Aktivierung lässt sich mit psychischen und neurophysiologischen Methoden nachweisen (z. B. AEP). Auch wurde in Studien mit kurzfristiger Applikation von Vasopressin gezeigt, dass sich der Schlaf durch eine Abnahme von REM-Schlaf und Zunahme von Schlafstadium II verflacht (Timsit-Berthier et al., 1982; Born et al., 1992). In der Arbeit von Born et al. kam es während der intravenösen Applikation in der Gruppe, die die niedrigste Konzentration an Vasopressin (0.33 IU/h) erhielt, zu einer Zunahme der Einschlaf latenz. In einer weiteren Vorstudie zu dieser Arbeit, die eine intranasale Vasopressinapplikation in der Methode festlegten, wurde nicht konsequent auf einen festen Applikationszeitpunkt geachtet und die Substanz ist oft direkt erst vor dem „Licht aus machen“ angewendet worden. Dies spiegelte sich ebenfalls in der Einschlaf latenz wider, diese war in der Vasopressin-Gruppe im Vergleich zur Placebo-Gruppe deutlich erhöht. Wir legten daher im Studiendesign fest, dass die Versuchsteilnehmer spätestens eine Stunde vor dem zu Bett gehen das Vasopressin per Sprühstoß in die Nase anwenden sollten. Es kam somit zu einer Reduktion der Einschlaf latenz im Gesamtkollektiv, die Differenz von 12.4 Minuten legt jedoch die Vermutung nahe, dass die störende Akutwirkung für die Langzeiteffekte auf den Schlaf des Peptids nicht gänzlich zu eliminieren ist. Dieser Effekt könnte über die aktivierende Wirkung des Locus coeruleus als morphologische Struktur erklärt werden (Foote et al., 1991). Der aktivierende Effekt von Vasopressin via Locus coeruleus, der zu einer erhöhten Aufmerksamkeit und Alarmbereitschaft führt, scheint durch noradrenerge Neurone vermittelt zu werden (Olpe und Baltzer, 1981; Foote et al., 1983).

Das Ergebnis der Gesamtschlafperiode unserer Probanden unterscheidet sich ebenfalls im Vergleich von den Ergebnissen der damaligen Arbeit. Perras et al. wiesen eine

Verlängerung der Schlafzeit von 41.4 Minuten nach (Perras et al., 1999). Die Schlafzeit unserer Probanden in der Vasopressin-Gruppe verlängerte sich nur um 18.9 Minuten. Allerdings wurde das Studiendesign in der hier vorliegenden Versuchsreihe um nächtliche Blutentnahmen erweitert. Unsere Kohorte schlief mit einer Venenverweilkanüle, über die viertelstündlich Blut entnommen wurde. Die Verweilkanüle und die Blutentnahmen stellten einen zusätzlichen Stressfaktor dar, der negative Auswirkungen auf das Schlafprofil der Teilnehmer haben könnte. In einer Vorarbeit zu dieser Studie folgte auf Nacht IV noch eine Nacht V. In dieser ist eine Subgruppe von 15 Probanden nur hinsichtlich der Effekte auf das nächtliche EEG nach unmittelbar vorherigem Absetzen von Vasopressin untersucht worden. Blutentnahmen fanden nicht statt. Bei der Auswertung stellte sich heraus, dass die Zunahme der Tiefschlafphasen und der Gesamtschlafperiode wesentlich ausgeprägter war als in Nacht IV. Aufgrund dieser Feststellung lässt sich durch Wegfall von Stressfaktoren, wie z. B. Blutentnahmen, eine deutlich ausgeprägtere Wirkung des Vasopressin auf den Schlaf postulieren, da die eigentliche Wirkung maskierende Faktoren wegfallen (Perras B. et al., 2002).

Mit einer Erniedrigung des Nadirs um 23.8 % als Ausdruck der maximalen tonischen Inhibition der Kortisolsekretion während der Nacht wurde unter der Vasopressin-Behandlung eine Verstärkung der nächtlichen Hemmung der Kortisolsekretion deutlich. Vasopressin scheint also auf Mechanismen zu wirken, die diese Hemmung vermitteln. Das typische Sekretionsmuster des Kortisols geht mit einem 24-Stundenminimum, dem Nadir, einher, welcher zeitlich mit den ersten Tiefschlafphasen synchronisiert ist (Alford et al., 1973). Über den weiteren Verlauf der Nacht lässt sich feststellen, dass die Aktivität der HPA-Achse gerade während der Tiefschlafphasen inhibiert ist (Weitzman et al., 1983; Weitzman et al., 1974), bevor es in den Morgenstunden nach dem Aufwachen zu einem 24-Stundenmaximum des Kortisolspiegels im Serum kommt. Die orthodoxen Schlafphasen scheinen eine wichtige Rolle für die Regulation des Stresshormons zu spielen. Dies wurde in folgenden Studien näher untersucht: 1993 erhielten 14 Probanden an zwei definierten Zeitpunkten während der Nacht 50 µg Bolusinjektionen von CRH, welches als Hauptstimulator der HPA-Achse gilt. Der Vergleich mit einer zweiten experimentellen Nacht, in welcher die Probanden nicht schlafen durften und ebenfalls zweimalig CRH bekamen, ergab, dass die Reaktion des Plasma-Kortisols auf den Stimulus CRH während der Deltaschlafphasen am geringsten war (Spath-Schwalbe et al., 1993). In einer anderen Studie wurde mit einer Injektionskombination aus Vasopressin und CRH gearbeitet, da Vasopressin der zweitstärkste Promotor der ACTH-Sekretion nach CRH ist. Auch hier ergaben sich dasselbe Bild und die Schlussfolgerung einer am stärksten ausgeprägten Hemmung

der Kortisolfreisetzung während der Tiefschlafphasen ((Bierwolf et al. , 1997)). Um herauszufinden, über welchen Mechanismus diese schlafinduzierte Hemmung vonstatten geht, führten Born et al. eine Arbeit durch, bei der schlafenden jungen Männern im ersten Teil kontinuierlich Kortisol infundiert wurde. Bei den Auswertungen der Schlaf-EEG stellte sich heraus, dass die Tiefschlafphasen zunahmten und im Gegenzug dazu die REM-Phasen zeitlich abnahmen. In dem zweiten Teil der Studie wurde 200 mg Kaliumcanrenoat zweimalig vor den Versuchen im Schlaflabor appliziert. Bei der Auswertung dieser Schlaf-EEG zeigte sich eine signifikante Abnahme von Tiefschlaf. Der REM-Schlaf blieb unbeeinflusst (Born et al., 1991). Kaliumcanrenoat ist ein ZNS-gängiger Aldosteronantagonist mit starker Mineralkortikoidrezeptoraffinität. Somit lässt sich vermuten, dass die modulierenden Effekte des Tiefschlafes auf die Aktivität der HPA-Achse über ebenjene Rezeptoren mitvermittelt werden. Diese These lässt sich weiter stützen durch eine Arbeit aus dem Jahre 1996, in welcher gezielt die Zusammenhänge zwischen Tiefschlaf, den Mineralkortikoidrezeptoren und der Kortisolsekretion untersucht wurden. Nach Vorbehandlung wiederum mit Kaliumcanrenoat ließ sich die tiefschlafassoziierte Hemmung der Kortisolausschüttung nach CRH-Bolusgabe nicht mehr nachweisen. Im Vergleich mit der Placebo-Gruppe kam es zu wesentlich höheren Kortisolspiegeln im Blut während der gesamten Nacht (Born et al., 1997). Mineralkortikoidrezeptoren lassen sich im Gehirn nur im Hippocampus nachweisen. Der Hippocampus als ein morphologischer Teil des limbischen Systems, welches die Modulation der HPA-Achse in starkem Maße mitvermittelt (De Kloet et al., 1998), scheint eine Schlüsselfunktion als anatomische Struktur mit seinen Rezeptoren zu besitzen. Bereits 1982 wurde eine Tierstudie mit Untersuchungen an Diabetes insipidus centralis erkrankten Battleboro-Ratten veröffentlicht, die postulierte, dass Vasopressin die Kapazität der Steroidrezeptoren in der Hippocampusregion und der vorderen Hypophyse erhöhte (Veldhuis und De Kloet, 1982). Die Tiere wurden eine Woche mit dem Neuropeptid behandelt. Die Induktion der Steroidrezeptorsynthese durch die Vasopressin-Behandlung geht möglicherweise mit einer verbesserten Suppression der Kortisolsekretion und damit mit einer Verlängerung der Tiefschlafphasen und REM-Phasen einher. Dafür sprechen auch die Ergebnisse der nächtlichen Hormonbestimmungen im vorliegenden Probandenkollektiv. Der Nadir des 24-Stunden Kortisolspiegels liegt in der behandelten Gruppe mit 1.6 µg/dl signifikant um 0.5 µg/dl niedriger als in der Placebo-Gruppe und wird um 13.6 Minuten eher erreicht. Die getrennte Analyse von erster und zweiter Nachthälfte ergibt, dass der durchschnittliche Kortisolspiegel im Blut hauptsächlich während der ersten Nachthälfte in der Vasopressin-Gruppe niedriger als in der Placebo-Gruppe ist. Dies spricht für eine

gesteigerte Suppression der HPA-Achsenaktivität vor allem während der ersten Tiefschlafzyklen via oben beschriebenem Mechanismus der Steroidrezeptorsynthese und damit für eine effektivere Hemmung der HPA-Achse.

Deutlich differenzieren muss man die Akutwirkung von der subchronischen des Neuropeptids. Eine Behandlung über einen längeren Zeitraum verbessert die Inhibition der Kortisolsekretion, während nach akuter Applikation die Kortisolsekretion durch die Stimulation von ACTH gefördert wird (Axelrod und Reisine, 1984; Spath-Schwalbe et al., 1987).

Bei der Betrachtung der Serumspiegel von Wachstumshormon fällt eine Steigerung der durchschnittlichen Konzentration des hGH im Plasma von 0.8 ng/ml in der Vasopressin-Gruppe nach Behandlung im Vergleich zur Placebo-Gruppe auf. Außerdem ist der Peak in der Behandlungsgruppe höher. Die stärkste hGH-Sekretion, betrachtet über den 24-Stunden-Tagesrhythmus, erfolgt während der ersten Tiefschlafphasen (Van Cauter et al., 1998). Mit fortschreitendem Lebensalter vermindern sich die Zeit im Tiefschlaf und die hGH-Sekretion (Prinz et al., 1995). Somit wurde erwartet, dass sich durch die Vasopressinbehandlung und die damit bedingte Tiefschlafzunahme eine erhöhte Sekretion von hGH feststellen lässt. Die erhaltenen Werte zeigten jedoch nur einen Trend zur Signifikanz ($p < 0.08$ für die durchschnittlichen Serumspiegel während der SPT). Des Weiteren unterschieden sich die gemessenen IGF-1 Werte beider Gruppe nach der Behandlung kaum von einander. Schlaf, im Speziellen verbesserter Tiefschlaf im Alter, scheint nach 10-wöchiger Behandlung mit Vasopressin kaum Auswirkungen auf die somatotrope Achse zu haben.

Ein alternatives Erklärungsmodell der Wirkung des Neuropeptids auf den Schlaf unterscheidet sich deutlich vom Modell der Induktion der Steroidrezeptorsynthese. Hier steht der Nucleus suprachiasmaticus als zirkadianer Rhythmusgeber im Mittelpunkt. Der Kern mit seiner autonomen metabolischen und elektrischen Grundaktivität (Weaver, 1998), die auch *in vitro* erhalten bleibt, ist der Hauptzeitgeber vieler biologischer Rhythmen, so auch des Schlaf-Wach-Rhythmus. Die Dauer dieses Rhythmus wird unter anderem von exogenen Faktoren wie z. B. Licht beeinflusst (Skene et al., 1999). Aber auch der Alterungsprozess im Laufe eines Menschenlebens ruft Veränderungen in seiner Struktur hervor. Es gibt Untersuchungen über die vasopressinergen Neuronenpopulationen des Nucleus suprachiasmaticus. Das Vorliegen von solchen vasopressinhaltigen Zellen legt die ebenfalls die Vermutung nahe, dass das Neuropeptid an der Regulation des Schlaf-Wach-Rhythmus mitbeteiligt ist. Wie in Tierstudien festgestellt wurde, vermindert sich die Vasopressinzellichte bei

älteren Ratten um 31% und die verbleibenden Zellen vergrößern sich (Roozendaal et al., 1987). In Humanstudien wurde postuliert, dass die Zellzahl und das Zellvolumen mit dem Alter ebenfalls abnehmen (Swaab et al., 1985; Swaab, 1995). Weiter zeigt der Vasopressingehalt dieser Zellen tageszeitliche Fluktuationen, was bedeutet, dass der Kern in der Nacht niedrige und am Morgen größere Mengen des Neuropeptids produziert. Mit fortschreitendem Alter kommt es zu einer geringer ausgeprägten Amplitude dieser Fluktuationen (Hofman, 2000). Diese Befunde könnten einerseits die gestörte Schlafstruktur im Alter mit verflachter Amplitude des Schlaf-Wach-Rhythmus erklären, andererseits wäre auch durch exogen subchronisch zugeführtes Vasopressin eine Kompensation eines Vasopressinmangels und damit ein positiver Effekt auf die Amplitude des Schlaf-Wach-Rhythmus abzuleiten.

4.2 Die subjektive Schlafqualität

Trotz der objektiv im Schlaflabor nachweisbaren Effekte auf den Schlaf zeigten die ausgewerteten Schlaftagebücher keine nennenswerten Unterschiede in der qualitativen Beurteilung des Schlafes bei beiden Behandlungsgruppen. Die Probanden der Vasopressin-Gruppe gaben auf Nachfragen an, dass sie im Verlauf der Studie keine Veränderungen in ihrem Schlafempfinden bemerkten. Dies spiegelte sich auch in der Auswertung wider. Die Schlafqualität ist in beiden Gruppen vergleichbar bewertet worden. So spiegelte sich die Tiefschlaf- und REM-Zunahme im EEG nicht in subjektiv verbessertem Schlaf wider. Dies lässt sich damit erklären, dass „gemessene“ und „gefühlte“ Schlafqualität divergieren können. So zeigte bereits 1976 eine Studie, dass die 122 untersuchten Teilnehmer, welche über chronische Schlaflosigkeit klagten, ihre Einschlafzeit und ihre Gesamtschlafdauer zu ihren Ungunsten völlig fehl einschätzten (Carskadon et al., 1976). Auch in einer späteren Studie zeigten Vergleiche zwischen an Schlaflosigkeit leidenden Personen und gesunden Probanden nur tendenzielle Unterschiede im EEG bezüglich der Einschlafzeit und der Gesamtschlafdauer, wobei die subjektive Beschreibung ihrer Schlafarchitektur erheblich differierte (Mendelson et al., 1984). Aus diesen Ergebnissen kann man ableiten, dass es einfach ist, das elektrophysiologische Phänomen Schlaf zu messen und zu bewerten, jedoch schwer, den komplexen Vorgang von jedem Betroffenen subjektiv beurteilen zu lassen.

4.3 Nebenwirkungen

Hinsichtlich der antidiuretischen und vasokonstriktiven Wirkung des Peptids führten wir ein umfangreiches Monitoring während der gesamten Studiendauer und in den experimentellen Nächten durch. Bestimmt wurden repetitiv der systolische und diastolische Blutdruck, die Herzfrequenz, das Gewicht, Nykturiefrequenz, das Blutbild mit dem Hämatokritwert, die Elektrolyte und die Osmolalität. Von diesen Parametern fiel der systolische Blutdruck, gemessen nach der Vasopressin-Einnahme, auf. Vermutlich infolge der Resorption einer geringen Menge von Vasopressin wies der Blutdruck in der Vasopressin-Gruppe um 12.3 mmHg höhere Werte als in der Placebo-Gruppe auf. Die Werte lagen aber noch im Normbereich. Die Blutdruck-Messungen kurz vor dem Licht löschen, vor der Einnahme und nach dem Erwachen wiesen keine Unterschiede auf. Die Vasopressin-Wirkung spiegelte sich ebenfalls nicht in den diastolischen Blutdruck-Werten oder der Pulsfrequenz wider. Auch die übrigen bestimmten Werte unterschieden sich in beiden Gruppen nicht wesentlich. Die wöchentlich durchgeführten Blutdruckmessungen während des Behandlungszeitraumes schließen eine Wirkung des Peptids auf die tonische Vasoregulation des Körpers weitgehend aus, weil sich auch hier keine pathologischen Werte ergaben. Ebenfalls nahezu ausschließen lassen sich Auswirkungen des Neuropeptids bei subchronischer Einnahme auf den Wasserhaushalt, da Osmolalität und Hämatokrit in beiden Gruppen nicht wesentlich von einander differieren.

Da sich keine Hinweise einer Langzeitwirkung von Vasopressin, speziell den Kreislauf und die Flüssigkeitshomöostase betreffend, bei intranasaler Einnahme finden ließen, kann man davon ausgehen, dass Vasopressin nach intranasaler Gabe nahezu vollständig das neurozerebrale Kompartiment erreicht. Der fehlende Nachweis von Wirkungen auf Wasserhaushalt und Kreislauf macht es ebenfalls wahrscheinlich, dass die beobachteten Schlafeffekte nicht durch afferente Peptidwirkungen aus der Peripherie des Körpers zustande kamen.

5. Zusammenfassung und Schlussfolgerungen

Aufgrund von Tier- und Humanstudien wurde neben der antidiuretischen und blutdrucksteigernden Funktion von Vasopressin eine schlafverflachende und das Lernverhalten modulierende Wirkung postuliert. Dabei zeigte sich, daß neben den Akuteffekten von Vasopressin auf die neurophysiologischen Vorgänge im Gehirn auch chronische Effekte existieren, die sich anders als die Akutwirkungen äußern. Bei subchronischer Einnahme des Neuropeptids kam es zu einer Zunahme von Tiefschlafstadien und Gesamtschlafdauer.

Diese Arbeit beschäftigte sich mit den Wirkungen von subchronisch intranasal appliziertem Vasopressin auf den gestörten Schlaf alter Menschen, der mit einer Reduktion von Tiefschlaf und einer veränderten Sekretion von Kortisol und hGH einhergeht. Während die Verbesserung des Schlafs durch intranasal appliziertes Vasopressin bereits in Vorstudien gezeigt wurde, interessierte hier die Frage, ob die Schlafeffekte auch mit einer Verbesserung der schlafassoziierten Hormonsekretion einhergehen.

Die erhaltenen Ergebnisse zeigen, dass Vasopressin bei langfristiger Einnahme objektivierbare Veränderungen im Schlaf-EEG alter Menschen bewirkt. Es kommt, im Gegensatz zu seiner Akutwirkung, zur zeitlichen Zunahme der Tiefschlafphasen und der REM-Phasen. Die Schlafphasen im Stadium II nehmen hingegen ab. Die Gesamtschlafperiode einer Nacht zeigt tendenziell auch eine Verlängerung. Jedoch ließen sich die objektiv gemessenen Werte durch das Führen und Auswerten von Schlaftagebüchern nicht im Sinne einer subjektiven Schlafverbesserung reproduzieren. Weiterhin ist als Folge der Einnahme von Vasopressin die Kortisolsekretion vor allem in der ersten Nachthälfte reduziert.

Peripher-systemische Nebenwirkungen hinsichtlich des Salz- und Wasserhaushaltes und der Blutdruckregulation bei subchronischer Einnahme traten bis auf einen kurzfristigen signifikanten Anstieg des systolischen Blutdrucks unmittelbar nach der intranasalen Einnahme der Substanz nicht auf.

Zu den potenziellen Wirkmechanismen lassen sich folgende Hypothesen aufstellen: Vasopressin könnte einerseits eine Induktion der Steroidrezeptorsynthese im Bereich des Hippocampus und der vorderen Hypophyse auslösen und damit zu einer erhöhten Kapazität von diesen Steroidrezeptoren mit verbesserter Suppression der hypothalamo-hypophysären-adrenokortikalen Achse führen. Andererseits könnte

subchronisch exogen zugeführtes Vasopressin einen altersassoziierten Vasopressinmangel im Nucleus suprachiasmaticus kompensieren.

Als alternatives Schlafmittel zu den etablierten Pharmaka kann Vasopressin zum gegenwärtigen Zeitpunkt nicht empfohlen werden. Die fehlende subjektive Schlafverbesserung und die fehlende Langzeiterfahrung mit der intranasalen Applikation der Substanz sprechen dagegen. Mit der Studie konnte jedoch gezeigt werden, dass das Neuropeptid in die Schlafhomöostase regulierend eingreift und sich damit neue Perspektiven hinsichtlich der weiteren Forschung auf dem Gebiet der Neuroendokrinologie des Schlafes eröffnen.

6. Literaturverzeichnis

Adamson U: On the diabetogenic effect of growth hormone in man: effects of growth hormone of glucagon and insulin secretion. *Eur.J.Clin.Invest.* 11, 115-119 (1981)

Akerstedt T: Sleep/wake disturbances in working life.
Electroencephalogr.Clin.Neurophysiol.Suppl. 39, 360-363 (1987)

Alford FP, Baker HW, Burger HG, De Kretser DM, Hudson B, Johns MW, Masterton JP, Patel YC und Rennie GC: Temporal patterns of integrated plasma hormone levels during sleep and wakefulness. I. Thyroid-stimulating hormone, growth hormone and cortisol. *J.Clin.Endocrinol.Metab.* 37, 841-847 (1973)

Arnauld E, Bibene V, Meynard J, Rodriguez F und Vincent JD: Effects of chronic icv infusion of vasopressin on sleep-waking cycle of rats. *Am.J.Physiol.* 256, R674-R684 (1989)

Asplund R: Sleep disorders in the elderly. *Drugs Aging.* 14, 91-103 (1999)

Assan R, Heuclin C, Girard JR, Basdevant A, Predine J und Husson JM: Hormonal and metabolic effects of somatostatin in diabetic patients submitted to an i.v. arginine infusion. *Diabete Metab.* 3, 11-17 (1977)

Axelrod J und Reisine TD: Stress hormones: their interaction and regulation. *Science.* 224, 452-459 (1984)

Balin BJ, Broadwell RD, Salzman M und el Kalliny M: Avenues for entry of peripherally administered protein to the central nervous system in mouse, rat, and squirrel monkey. *J.Comp Neurol.* 251, 260-280 (1986)

Balogh A: Drug for the treatment of sleep disorders - Review.
Z.Arztl.Fortbild.Qualitatssich. 95, 11-16 (2001)

Baylis PH, Zerbe RL und Robertson GL: Arginine vasopressin response to insulin-induced hypoglycemia in man. *J.Clin.Endocrinol.Metab.* 53, 935-940 (1981)

Benca RM, Obermeyer WH, Thisted RA und Gillin JC: Sleep and psychiatric disorders. A meta-analysis. *Arch.Gen.Psychiatry.* 49, 651-668 (1992)

Bierwolf C, Struve K, Marshall L, Born J und Fehm HL: Slow wave sleep drives inhibition of pituitary-adrenal secretion in humans. *J.Neuroendocrinol.* 9, 479-484 (1997)

Bopp J, Dumoulin G, Henriot MT, Nguyen NU, Vincent J, Duvernoy J, Bonnard JM und Berthelay S: Adaptation of blood sugar regulation during muscular activity. Effects of training. *C.R.Seances Soc.Biol.Fil.* 172, 245-250 (1978)

Borbely AA: Das Geheimnis des Schlafs von A. Borbély - Kapitel 5. (1984)

Borbely AA und Achermann P: Ultradian dynamics of sleep after a single dose of benzodiazepine hypnotics. *Eur.J.Pharmacol.* 195, 11-18 (1991)

Born J, DeKloet ER, Wenz H, Kern W und Fehm HL: Gluco- and antimineralocorticoid effects on human sleep: a role of central corticosteroid receptors. *Am.J.Physiol.* 260, E183-E188 (1991)

Born J, Fehm-Wolfsdorf G, Lutzenberger W, Voigt KH und Fehm HL: Vasopressin and electrophysiological signs of attention in man. *Peptides.* 7, 189-193 (1986)

Born J, Kellner C, Uthgenannt D, Kern W und Fehm HL: Vasopressin regulates human sleep by reducing rapid-eye-movement sleep. *Am.J.Physiol.* 262, E295-E300 (1992)

Born J, Steinbach D, Dodt C und Fehm HL: Blocking of central nervous mineralocorticoid receptors counteracts inhibition of pituitary-adrenal activity in human sleep. *J.Clin.Endocrinol.Metab.* 82, 1106-1110 (1997)

Born J, Pietrowsky R und Fehm HL: Neuropsychological effects of vasopressin in healthy humans. *Prog.Brain Res.* 119, 619-643 (1998a)

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

Born J, Lange T, Kern W, McGregor GP, Bickel U und Fehm HL: Sniffing neuropeptides: a transnasal approach to the human brain. *Nat.Neurosci.* 5, 514-516 (2002)

Broglio F, Benso A, Gottero C, Prodam F, Grottoli S, Tassone F, Maccario M, Casanueva FF, Dieguez C, Deghenghi R, Ghigo E und Arvat E: Effects of glucose, free fatty acids or arginine load on the GH-releasing activity of ghrelin in humans. *Clin.Endocrinol.(Oxf).* 57, 265-271 (2002)

Brown MH und Nunez AA: Vasopressin-deficient rats show a reduced amplitude of the circadian sleep rhythm. *Physiol Behav.* 46, 759-762 (1989)

Brunner DP, Dijk DJ, Munch M und Borbely AA: Effect of zolpidem on sleep and sleep EEG spectra in healthy young men. *Psychopharmacology (Berl).* 104, 1-5 (1991)

Cappon JP, Ipp E, Brasel JA und Cooper DM: Acute effects of high fat and high glucose meals on the growth hormone response to exercise. *J.Clin.Endocrinol.Metab.* 76, 1418-1422 (1993)

Carrel AL und Allen DB: Effects of growth hormone on body composition and bone metabolism. *Endocrine.* 12, 163-172 (2000)

Carskadon MA, Dement WC, Mitler MM, Guilleminault C, Zarcone VP und Spiegel R: Self-reports versus sleep laboratory findings in 122 drug-free subjects with complaints of chronic insomnia. *Am.J.Psychiatry.* 133, 1382-1388 (1976)

Carskadon MA, Brown ED und Dement WC: Sleep fragmentation in the elderly: relationship to daytime sleep tendency. *Neurobiol.Aging.* 3, 321-327 (1982)

Collins GB, Brosnihan KB, Zuti RA, Messina M und Gupta MK: Neuroendocrine, fluid balance, and thirst responses to alcohol in alcoholics. *Alcohol Clin.Exp.Res.* 16, 228-233 (1992)

Czeisler CA, Duffy JF, Shanahan TL, Brown EN, Mitchell JF, Rimmer DW, Ronda JM, Silva EJ, Allan JS, Emens JS, Dijk DJ und Kronauer RE: Stability, precision, and near-24-hour period of the human circadian pacemaker. *Science.* 284, 2177-2181 (1999)

Daly MP: Sleep disorders in the elderly. *Prim.Care.* 16, 475-488 (1989)

Danguir J: Sleep deficits in rats with hereditary diabetes insipidus. *Nature.* 304, 163-164 (1983)

De Kloet ER und Reul JM: Feedback action and tonic influence of corticosteroids on brain function: a concept arising from the heterogeneity of brain receptor systems. *Psychoneuroendocrinology.* 12, 83-105 (1987)

De Kloet ER, Vreugdenhil E, Oitzl MS und Joels M: Brain corticosteroid receptor balance in health and disease. *Endocr.Rev.* 19, 269-301 (1998)

De Wied D: Long term effect of vasopressin on the maintenance of a conditioned avoidance response in rats. *Nature.* 232, 58-60 (1971)

Dijk DJ und Lockley SW: Integration of human sleep-wake regulation and circadian rhythmicity. *J.Appl.Physiol.* 92, 852-862 (2002)

Eastman CI, Mistlberger RE und Rechtschaffen A: Suprachiasmatic nuclei lesions eliminate circadian temperature and sleep rhythms in the rat. *Physiol Behav.* 32, 357-368 (1984)

Fehm-Wolfsdorf G, Born J, Voigt KH und Fehm HL: Human memory and neurohypophyseal hormones: opposite effects of vasopressin and oxytocin. *Psychoneuroendocrinology.* 9, 285-292 (1984)

Fehm-Wolfsdorf G, Born J, Elbert T, Voigt KH und Fehm HL: Vasopressin does not enhance memory processes: a study in human twins. *Peptides*. 6, 297-300 (1985)

Fehm-Wolfsdorf G, Bachholz G, Born J, Voigt K und Fehm HL: Vasopressin but not oxytocin enhances cortical arousal: an integrative hypothesis on behavioral effects of neurohypophyseal hormones. *Psychopharmacology (Berl)*. 94, 496-500 (1988)

Feinberg I: Changes in sleep cycle patterns with age. *J.Psychiatr.Res.* 10, 283-306 (1974)

Foote SL, Bloom FE und Aston-Jones G: Nucleus locus ceruleus: new evidence of anatomical and physiological specificity. *Physiol Rev.* 63, 844-914 (1983)

Foote SL, Berridge CW, Adams LM und Pineda JA: Electrophysiological evidence for the involvement of the locus coeruleus in alerting, orienting, and attending. *Prog.Brain Res.* 88, 521-532 (1991)

Gais S, Sommer M, Fischer S, Perras B und Born J: Post-trial administration of vasopressin in humans does not enhance memory formation (vasopressin and memory consolidation). *Peptides*. 23, 581-583 (2002)

Gillies GE, Linton EA und Lowry PJ: Corticotropin releasing activity of the new CRF is potentiated several times by vasopressin. *Nature*. 299, 355-357 (1982)

Hayashi Y und Endo S: All-night sleep polygraphic recordings of healthy aged persons: REM and slow-wave sleep. *Sleep*. 5, 277-283 (1982)

Hofman MA und Swaab DF: Alterations in circadian rhythmicity of the vasopressin-producing neurons of the human suprachiasmatic nucleus (SCN) with aging. *Brain Res.* 651, 134-142 (1994)

Hofman MA: The human circadian clock and aging. *Chronobiol.Int.* 17, 245-259 (2000)

Hooghe R, Delhase M, Vergani P, Malur A und Hooghe-Peters EL: Growth hormone and prolactin are paracrine growth and differentiation factors in the haemopoietic system. *Immunol.Today.* 14, 212-214 (1993)

Jacobson L und Sapolsky R: The role of the hippocampus in feedback regulation of the hypothalamic-pituitary-adrenocortical axis. *Endocr.Rev.* 12, 118-134 (1991)

Kern W, Dodt C, Born J und Fehm HL: Changes in cortisol and growth hormone secretion during nocturnal sleep in the course of aging. *J.Gerontol.A Biol.Sci.Med.Sci.* 51, M3-M9 (1996)

Kimura T, Share L, Wang BC und Crofton JT: The role of central adrenoreceptors in the control of vasopressin release and blood pressure. *Endocrinology.* 108, 1829-1836 (1981)

Kovacs GL, Bohus B, Versteeg DH, De Kloet ER und De Wied D: Effect of oxytocin and vasopressin on memory consolidation: sites of action and catecholaminergic correlates after local microinjection into limbic-midbrain structures. *Brain Res.* 175, 303-314 (1979)

Kripke DF, Garfinkel L, Wingard DL, Klauber MR und Marler MR: Mortality associated with sleep duration and insomnia. *Arch.Gen.Psychiatry.* 59, 131-136 (2002)

Kruisbrink J, Mirmiran M, Van der Woude TP und Boer GJ: Effects of enhanced cerebrospinal fluid levels of vasopressin, vasopressin antagonist or vasoactive intestinal polypeptide on circadian sleep-wake rhythm in the rat. *Brain Res.* 419, 76-86 (1987)

Kupfer DJ, Bulik CM und Jarrett DB: Nighttime plasma cortisol secretion and EEG sleep--are they associated? *Psychiatry Res.* 10, 191-199 (1983)

Lechin F, van der DB und Benaim M: Benzodiazepines: tolerability in elderly patients. *Psychother.Psychosom.* 65, 171-182 (1996)

Loup F, Tribollet E, Dubois-Dauphin M und Dreifuss JJ: Localization of high-affinity binding sites for oxytocin and vasopressin in the human brain. An autoradiographic study. *Brain Res.* 555, 220-232 (1991)

Luboshitzky R: Endocrine activity during sleep. *J.Pediatr.Endocrinol.Metab.* 13, 13-20 (2000)

McEwen BS: The neurobiology of stress: from serendipity to clinical relevance. *Brain Res.* 886, 172-189 (2000)

Mendelson WB, Garnett D, Gillin JC und Weingartner H: The experience of insomnia and daytime and nighttime functioning. *Psychiatry Res.* 12, 235-250 (1984)

Middelkoop HA, Smilde-van den Doel DA, Neven AK, Kamphuisen HA und Springer CP: Subjective sleep characteristics of 1,485 males and females aged 50-93: effects of sex and age, and factors related to self-evaluated quality of sleep. *J.Gerontol.A Biol.Sci.Med.Sci.* 51, M108-M115 (1996)

Mouret J, Coindet J, Debilly G und Chouvet G: Suprachiasmatic nuclei lesions in the rat: alterations in sleep circadian rhythms. *Electroencephalogr.Clin.Neurophysiol.* 45, 402-408 (1978)

Nussey SS, Hawthorn J, Page SR, Ang VT und Jenkins JS: Responses of plasma oxytocin and arginine vasopressin to nausea induced by apomorphine and ipecacuanha. *Clin.Endocrinol.(Oxf).* 28, 297-304 (1988)

Olpe HR und Baltzer V: Vasopressin activates noradrenergic neurons in the rat locus coeruleus: a microiontophoretic investigation. *Eur.J.Pharmacol.* 73, 377-378 (1981)

Perras B, Molle M, Born J und Fehm HL: Sleep and signs of attention during 3 months of intranasal vasopressin: a pilot study in two elderly subjects. *Peptides.* 17, 1253-1255 (1996)

Perras B, Droste C, Born J, Fehm HL und Pietrowsky R: Verbal memory after three months of intranasal vasopressin in healthy old humans. *Psychoneuroendocrinology*. 22, 387-396 (1997)

Perras B, Pannenberg H, Marshall L, Pietrowsky R, Born J und Lorenz FH: Beneficial treatment of age-related sleep disturbances with prolonged intranasal vasopressin. *J.Clin.Psychopharmacol*. 19, 28-36 (1999)

Perras B., Wagner U., Born J und Fehm HL: Improvement of sleep and pituitary-adrenal inhibition after subchronic intranasal vasopressin treatment in elderly humans. *J Clin Psychopharmacol*. 2002)

Phillips PA, Abrahams JM, Kelly JM, Mooser V, Trinder D und Johnston CI: Localization of vasopressin binding sites in rat tissues using specific V1 and V2 selective ligands. *Endocrinology*. 126, 1478-1484 (1990)

Pietrowsky R, Struben C, Molle M, Fehm HL und Born J: Brain potential changes after intranasal vs. intravenous administration of vasopressin: evidence for a direct nose-brain pathway for peptide effects in humans. *Biol.Psychiatry*. 39, 332-340 (1996)

Plotsky PM, Bruhn TO und Otto S: Central modulation of immunoreactive arginine vasopressin and oxytocin secretion into the hypophysial-portal circulation by corticotropin-releasing factor. *Endocrinology*. 116, 1669-1671 (1985)

Prinz PN, Moe KE, Dulberg EM, Larsen LH, Vitiello MV, Toivola B und Merriam GR: Higher plasma IGF-1 levels are associated with increased delta sleep in healthy older men. *J.Gerontol.A Biol.Sci.Med.Sci*. 50, M222-M226 (1995)

Rechtschaffen und Kales: A manual of standardized terminology, techniques and scoring system for sleep of human subjects. [NIH publication no.204].Washington.DC: U.S. Government Printing Office. 1968)

Reynolds CF, Kupfer DJ, Hoch CC und Sewitch DE: Sleeping pills for the elderly: are they ever justified? *J.Clin.Psychiatry*. 46, 9-12 (1985)

Robertson GL und Ganguly A: Osmoregulation and baroregulation of plasma vasopressin in essential hypertension. *J.Cardiovasc.Pharmacol.* 8 Suppl 7, S87-S91 (1986)

Roozendaal B, Van Gool WA, Swaab DF, Hoogendijk JE und Mirmiran M: Changes in vasopressin cells of the rat suprachiasmatic nucleus with aging. *Brain Res.* 409, 259-264 (1987)

Rowe JW, Shelton RL, Helderman JH, Vestal RE und Robertson GL: Influence of the emetic reflex on vasopressin release in man. *Kidney Int.* 16, 729-735 (1979)

Rowe JW, Kilgore A und Robertson GL: Evidence in man that cigarette smoking induces vasopressin release via an airway-specific mechanism. *J.Clin.Endocrinol.Metab.* 51, 170-172 (1980)

Rudman D, Feller AG, Cohn L, Shetty KR, Rudman IW und Draper MW: Effects of human growth hormone on body composition in elderly men. *Horm.Res.* 36 Suppl 1, 73-81 (1991)

Sapolsky RM, Krey LC und McEwen BS: Stress down-regulates corticosterone receptors in a site-specific manner in the brain. *Endocrinology.* 114, 287-292 (1984)

Sapolsky RM: Glucocorticoids, stress, and their adverse neurological effects: relevance to aging. *Exp.Gerontol.* 34, 721-732 (1999)

Sherman B, Wysham C und Pfohl B: Age-related changes in the circadian rhythm of plasma cortisol in man. *J.Clin.Endocrinol.Metab.* 61, 439-443 (1985)

Skene DJ, Lockley SW, Thapan K und Arendt J: Effects of light on human circadian rhythms. *Reprod.Nutr.Dev.* 39, 295-304 (1999)

Snel J, Taylor J und Wegman M: Does DGAVP influence memory, attention and mood in young healthy men? *Psychopharmacology (Berl).* 92, 224-228 (1987)

Spath-Schwalbe E, Fehm HL, Born J und Pfeiffer EF: Combined corticotropin-releasing hormone-vasopressin test: a new test for the evaluation of the pituitary adrenal system. *Horm.Metab Res.* 19, 665-666 (1987)

Spath-Schwalbe E, Uthgenannt D, Voget G, Kern W, Born J und Fehm HL: Corticotropin-releasing hormone-induced adrenocorticotropin and cortisol secretion depends on sleep and wakefulness. *J.Clin.Endocrinol.Metab.* 77, 1170-1173 (1993)

Stopa EG, King JC, Lydic R und Schoene WC: Human brain contains vasopressin and vasoactive intestinal polypeptide neuronal subpopulations in the suprachiasmatic region. *Brain Res.* 297, 159-163 (1984)

Swaab DF, Fliers E und Partiman TS: The suprachiasmatic nucleus of the human brain in relation to sex, age and senile dementia. *Brain Res.* 342, 37-44 (1985)

Swaab DF: Ageing of the human hypothalamus. *Horm.Res.* 43, 8-11 (1995)

Takahashi Y, Kipnis DM und Daughaday WH: Growth hormone secretion during sleep. *J.Clin.Invest.* 47, 2079-2090 (1968)

Timsit-Berthier M, Mantanus H, Devos JE und Spiegel R: Action of lysine-vasopressin on human electroencephalographic activity. Night sleep pattern, auditory evoked potential, contingent negative variation. *Neuropsychobiology.* 8, 248-258 (1982)

Van Cauter E, Plat L und Copinschi G: Interrelations between sleep and the somatotrophic axis. *Sleep.* 21, 553-566 (1998)

Van Cauter E und Copinschi G: Interrelationships between growth hormone and sleep. *Growth Horm.IGF.Res.* 10 Suppl B, S57-S62 (2000a)

Van Cauter E, Leproult R und Plat L: Age-related changes in slow wave sleep and REM sleep and relationship with growth hormone and cortisol levels in healthy men. *JAMA.* 284, 861-868 (2000b)

van Coevorden A, Mockel J, Laurent E, Kerkhofs M, L'Hermite-Baleriaux M, Decoster C, Neve P und Van Cauter E: Neuroendocrine rhythms and sleep in aging men. *Am.J.Physiol.* 260, E651-E661 (1991)

van Leeuwen FW, Swaab DF und de Raay C: Immunoelectronmicroscopic localization of vasopressin in the rat suprachiasmatic nucleus. *Cell Tissue Res.* 193, 1-10 (1978)

Veldhuis HD und De Kloet ER: Vasopressin-related peptides increase the hippocampal corticosterone receptor capacity of diabetes insipidus (Brattleboro) rats. *Endocrinology.* 110, 153-157 (1982)

Ventura MA, Rene P, de Keyzer Y, Bertagna X und Clauser E: Gene and cDNA cloning and characterization of the mouse V3/V1b pituitary vasopressin receptor. *J.Mol.Endocrinol.* 22, 251-260 (1999)

Weaver DR: The suprachiasmatic nucleus: a 25-year retrospective. *J.Biol.Rhythms.* 13, 100-112 (1998)

Webb WB und Agnew HW, Jr.: Sleep efficiency for sleep-wake cycles of varied length. *Psychophysiology.* 12, 637-641 (1975)

Webb WB: Sleep in older persons: sleep structures of 50- to 60-year-old men and women. *J.Gerontol.* 37, 581-586 (1982a)

Webb WB: The measurement and characteristics of sleep in older persons. *Neurobiol.Aging.* 3, 311-319 (1982b)

Weitzman ED, Fukushima D, Nogeire C, Roffwarg H, Gallagher TF und Hellman L: Twenty-four hour pattern of the episodic secretion of cortisol in normal subjects. *J.Clin.Endocrinol.Metab.* 33, 14-22 (1971)

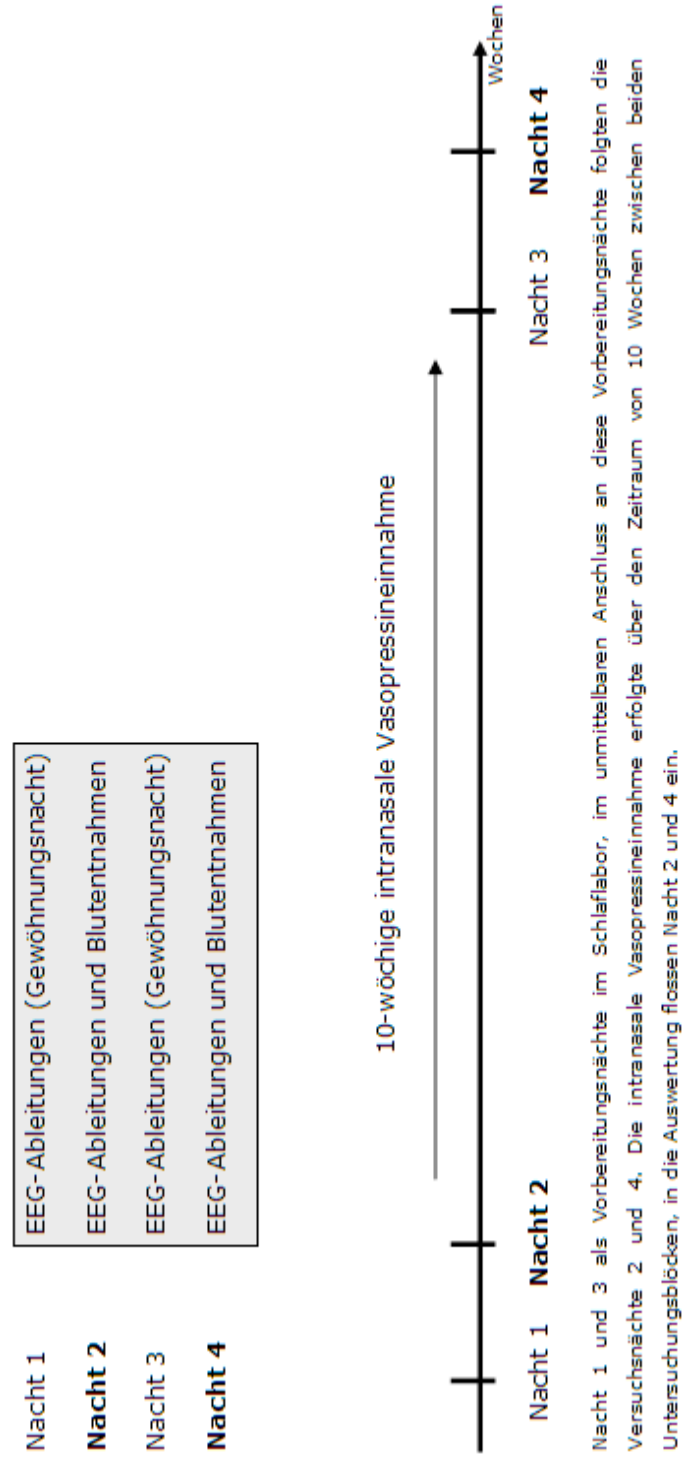
Weitzman ED, Nogeire C, Perlow M, Fukushima D, Sassin J, McGregor P und Hellman L: Effects of a prolonged 3-hour sleep-wake cycle on sleep stages, plasma cortisol, growth hormone and body temperature in man. *J.Clin.Endocrinol.Metab.* 38, 1018-1030 (1974)

Weitzman ED, Zimmerman JC, Czeisler CA und Ronda J: Cortisol secretion is inhibited during sleep in normal man. *J.Clin.Endocrinol.Metab.* 56, 352-358 (1983)

Wolters EC, Riekkinen P, Lowenthal A, Van der Plaats JJ, Zwart JM und Sennef C: DGAVP (Org 5667) in early Alzheimer's disease patients: an international double-blind, placebo-controlled, multicenter trial. *Neurology.* 40, 1099-1101 (1990)

7. Anhang

Abbildung A1: Chronologischer Versuchsablauf



7. Danksagung

Ich danke besonders meinem Doktorvater PD. Dr. B. Perras für die Bereitstellung des Themas, die Überlassung des Arbeitsplatzes und für die freundliche und tatkräftige Unterstützung während der gesamten Betreuungszeit, insbesondere der Unterstützung im Schlaflabor an den Samstagabenden um 23.00 Uhr.

Weiter möchte ich allen Mitarbeitern der Klinischen Forschergruppe des Universitätsklinikums Schleswig-Holstein, Campus Lübeck, für die jederzeit mögliche und gewährte Hilfe bei Fragen hinsichtlich Organisation, Örtlichkeiten und technischer Geräte herzlich danken. Besonders nennen möchte ich in diesem Zusammenhang Anja Otterbein und Steffen Gais. Den Mitarbeitern des endokrinologischen Labors der Medizinischen Klinik I des Universitätsklinikums Schleswig-Holstein, Campus Lübeck, gebührt ebenfalls mein Dank, vor allem Christiane Zinke.

Schließlich möchte ich mich ganz herzlich bei meiner Familie bedanken, die mir mit ihrer familiären und finanziellen Unterstützung dieses Studium und diese Arbeit erst ermöglichten.

8. Lebenslauf

Schulbildung

1982 – 1990 Besuch der Grund- und Realschule in Schwemsal, Tornau, Söllichau

1990 – 1994 Ablegen des Abiturs am Gymnasium Gräfenhainichen

Wehrdienst

07/94 - 06/95 Ableistung des Wehrdienstes als Sanitäter in Perleberg und Burg bei Magdeburg

03/02 Stellung eines Antrages auf Kriegsdienstverweigerung mit nachfolgender Anerkennung

Hochschulbildung

10/95 Beginn des Studiums der Humanmedizin in Halle/Saale

09/97 Ablegen des Physikums

08/98 Ablegen des I. Staatsexamens

10/98 Hochschulwechsel - Immatrikulation am Universitätsklinikum SH, Campus Lübeck

03/01 Ablegen des II. Staatsexamens

06/02 Ablegen des III. Staatsexamens

Promotion

08/99 – 01/00 Durchführung der experimentellen Arbeiten zu dieser Inauguraldissertation

Arzt im Praktikum

11/02 – 04/04 Beginn des AiP in der Klinik für Kinderchirurgie des Universitätsklinikums Schleswig-Holstein, Campus Lübeck

Arzt in Weiterbildung

05/04 Beginn der Assistenzarztzeit in der Klinik für Kinderchirurgie des Universitätsklinikums Schleswig-Holstein, Campus Lübeck