

Aus der Medizinischen Klinik I
der Universität zu Lübeck
komm. Direktor: Prof. Dr. med. T. Wagner

**Der Einfluss kurzfristigen Schlafentzugs auf basale
hormonelle Sekretionsmuster und die Hypoglykämie-
Gegenregulation**

Inauguraldissertation

zur

Erlangung der Doktorwürde
der Universität zu Lübeck

~ Aus der Medizinischen Fakultät ~

vorgelegt von

Sebastian Michael Schmid
aus Deggendorf

Lübeck 2007

1. Berichterstatter: Priv.-Doz. Dr. med. Bernd Schultes
2. Berichterstatterin: Priv.-Doz. Dr. rer. medic. Lisa Marshall
3. Berichterstatter: Prof. Dr. Steiger

Tag der mündlichen Prüfung: 23.11.2007

Zum Druck genehmigt: Lübeck, den 23.11.2007

Gez. Prof. Dr. med. Werner Solbach
- Dekan der Medizinischen Fakultät -

Inhaltsangabe

Abkürzungsverzeichnis	III
Sonderzeichen	IV
Einleitung	1
Schlafphysiologie	1
Polysomnographie	1
Reguläre Schlafarchitektur	3
Hypoglykämie	4
Definition, Ursachen und Symptome einer Hypoglykämie	4
Physiologische Hypoglykämie-Gegenregulation	6
Schlaf und Glukosestoffwechsel	8
Ziele und Fragestellung	10
Methoden	11
Probanden	11
Studiendesign und Versuchsanordnung	12
Blutzucker- und Hormonbestimmungen	15
Schlafstadienauswertung	16
Statistische Auswertung	16
Ergebnisse	17
Schlafstadien	17
Blutglukose, Insulin und C-Peptid	19
Glukoseinfusionsraten	22
Hormone der Hypoglykämie-Gegenregulation	23
Herzfrequenz und Blutdruck	29

Symptome	31
Diskussion	33
Schlafentzug und basale neuroendokrine Sekretionsmuster	33
Schlafentzug und Hypoglykämie-Gegenregulation	35
Schlafentzug und Hungergefühl	36
Methodische Einschränkungen	36
Ausblick	37
Zusammenfassung	39
Literaturverzeichnis	40
Verzeichnis der Abbildungen und Tabellen	49
Abbildungen	49
Tabellen	50
Danksagung	51
Veröffentlichung im <i>Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism (JCEM)</i>	52
Eigenständigkeitserklärung	70
Curriculum vitae	71

Abkürzungsverzeichnis

ACTH	adrenokortikotropes Hormon
ANOVA	Analysis of variance
aS	analytische Sensitivität
BMI	Body Mass Index
BZ	Blutzuckerkonzentration
C-Peptid	Connecting-Peptid
EEG	Elektroenzephalogramm
EMG	Elektromyogramm
EOG	Elektrookulogramm
Hz	Hertz = 1/s
HPA-Achse	Hypothalamus-Hypophysen-Nebennieren-Achse
KI	Konfidenzintervall
KG	Körpergewicht
MT	Movement time = Bewegungsartefakt
mmHg	Millimeter Quecksilbersäule
mIU	Milli-Einheiten(international)
mmol	Millimol
OR	Odds Ratio
REM	Rapid eye movement
S0	Schlafstadium 0
S1	Schlafstadium 1
S2	Schlafstadium 2
S3	Schlafstadium 3
S4	Schlafstadium 4
SWS	Slow wave sleep (S3 + S4) = Tiefschlaf
U	Einheiten
VMH	ventromedialer Hypothalamus
VK	Variationskoeffizient
ZNS	zentrales Nervensystem

Sonderzeichen

$>$	größer als
$<$	kleiner als
\leq	kleiner / gleich als
\pm	plus / minus
$^{\circ}$	Grad
\times	mal
α	Alpha
β	Beta
δ	Delta
θ	Theta
μ	mikro

Einleitung

Schlafen und Energieaufnahme sind zwei wesentliche Grundbedürfnisse des Menschen. Inzwischen wird Schlaf nicht mehr nur als passiver Zustand der körperlichen und geistigen Regeneration, sondern vielmehr als aktiver Prozess, der zur Gedächtnisbildung auf kognitiver, metabolischer und immunologischer Ebene beiträgt, wahrgenommen und intensiv beforscht. Aber auch die Energiehomöostase des menschlichen Organismus stellt ein hoch komplexes System metabolischer Prozesse dar, welches mehr denn je im Focus der Wissenschaft steht.

Vor dem Hintergrund der steigenden Prävalenz der Adipositas und damit assoziierter Erkrankungen auf der einen Seite (1, 2) und einer in den letzten Jahren kontinuierlich abnehmenden durchschnittlichen nächtlichen Schlafdauer in der westlichen Welt andererseits (3-5) liegt es nahe, nach Verbindungen zwischen der nächtlichen Schlafdauer und der Energiehomöostase des Organismus zu fragen.

In der vorliegenden Arbeit wurde der Einfluss von kurzfristiger Verkürzung der nächtlichen Schlafdauer auf die Basalsekretion hormoneller Faktoren des Glukosestoffwechsels und die hormonelle Gegenregulation während insulininduzierter Hypoglykämie (hyperinsulinämischer, hypoglykämischer Clamp) bei jungen, gesunden Männern untersucht. Vor der Beschreibung von Fragestellung und Zielen der Studie wird zunächst ein kurzer Überblick über die Physiologie des Schlafes sowie über die Befundlage zu Hypoglykämien und der gegenregulatorischen Antwort des Körpers gegeben.

Schlafphysiologie

Polysomnographie

Zur Registrierung des Schlafs werden verschiedene Verfahren unter dem Überbegriff der Polysomnographie angewandt (6). Einerseits wird kontinuierlich und standardisiert ein Elektroenzephalogramm (EEG) abgeleitet. Hierfür werden mehrere Elektroden auf der Kopfhaut angebracht und die Hirnströme bipolar (beide Elektroden auf der Schädelkalotte) bzw. unipolar (eine differente Elektrode auf der Schädelkalotte und eine indifferente Referenzelektrode z.B. am Ohrläppchen) abgeleitet. Für die Einteilung der

Schlafstadien werden die Ableitungen C4/A1 oder C3/A2 verwandt. Schließt ein gesunder Erwachsener in Ruhe die Augen, so kann man im EEG vor allem in den okzipitalen Ableitungen sog. α -Wellen (langsame Wellen mit einer Frequenz von 8 bis 13 Hz) registrieren. Beim Öffnen der Augen, bei anderen Sinnesreizen oder bei geistiger Tätigkeit verschwinden die α -Wellen und es treten höherfrequente β -Wellen (14-30 Hz) mit niedrigerer Amplitude auf. Im Schlaf kann man des Weiteren noch langsamere Wellenformen mit höherer Amplitude, sog. θ -Wellen (4-7 Hz) und δ -Wellen (0,3-3,9 Hz) registrieren (7).

Zusätzlich werden bei der Polysomnographie über mehrere bitemporal sowie supra- und infraorbital auf der Gesichtshaut angebrachte Elektroden kontinuierlich ein Elektrookulogramm (EOG) sowie ein Elektromyogramm (EMG) des Musculus masseter abgeleitet und registriert. Die Auswertung aller erhobenen Daten erfolgt standardisiert nach den Kriterien von Rechtschaffen und Kales anhand von Frequenz, Amplitude und Verteilung der gemessenen Potentiale sowie anhand des zeitlichen Zusammentreffens spezifischer Potentialmuster in EEG, EOG und EMG (8). Hierfür erfolgt eine Einteilung in die Stadien „Wach“, „non rapid eye movement-Schlaf (NREM)“ und „rapid eye movement-Schlaf (REM)“. Dabei wird das Stadium NREM weiter in die Einzelschlafstadien 1 bis 4 (S1 – S4) unterteilt. Weiterhin erfolgt eine Zusammenfassung der Schlafstadien 3 und 4 zu „slow wave sleep“ (SWS). Die einzelnen Schlafstadien sind hierbei durch folgende Merkmale gekennzeichnet (8-10):

Stadium Wach:	α -Aktivität und/oder flache Amplituden einer gemischten Aktivität
Stadium 1:	flache, gemischte Aktivität, vorwiegend im Bereich von 2-7 Hz, kein Auftreten von „rapid eye movements“
Stadium 2:	relativ flache, unregelmäßige Aktivität mit Schlafspindeln (12-14 Hz) sowie K-Komplexen
Stadium 3:	zunehmender (20-49 %) Anteil an hoher, langsamer Aktivität (δ -Wellen)
Stadium 4:	überwiegender (> 50 %) Anteil an hoher, langsamer Aktivität (δ -Wellen)
Stadium REM:	flache, unregelmäßige Aktivität im EEG verbunden mit REM-Perioden (5-10 Hz) im EOG sowie flachem EMG durch peripher herabgesetzten Muskeltonus

Am Übergang von einem Schlafstadium zum nächsten findet man oft Phasen erhöhter muskulärer Aktivität, auch „Movement-Time“ (M) genannt.

Reguläre Schlafarchitektur

Der Schlaf des gesunden jungen Erwachsenen ist kein statischer Zustand, sondern eine während der Schlafdauer zyklisch wiederkehrende Abfolge der verschiedenen Schlafstadien (Abb. 1; Ref. (11)). Dabei unterscheiden sich die einzelnen Schlafzyklen im Verlauf einer 7- bis 8-stündigen Nachtruhe in der anteiligen Zusammensetzung der Schlafstadien voneinander. Der erste Schlafzyklus beginnt mit Stadium 1, welches während des Einschlafens normalerweise nur wenige Minuten persistiert. In diesem Stadium ist die Weckschwelle noch sehr niedrig, bereits geringe Reize wie leises Ansprechen oder Schließen der Tür reichen zum Wecken aus. Das Stadium 1 tritt nicht nur initial beim ersten Übergang Wach–Schlaf auf, sondern kann als Übergangsstadium mehrmals im Verlauf des Nachtschlafes beobachtet werden. Es folgt eine 10- bis 25-minütige Episode von Stadium 2, wobei die Weckschwelle bereits höher liegt als in S1. Im Verlauf der S2-Episode nimmt der Anteil an langsamer, hochamplitudiger Aktivität im EEG zu, bis schließlich Stadium 3 erreicht wird; dieses dauert im ersten Zyklus meist nur wenige Minuten und dient als Übergang zu Stadium 4 mit hohem Anteil an δ -Wellen. Stadium 4 dauert während des ersten Zyklus ca. 20-40 Minuten und ist wie S3 durch eine erhöhte Weckschwelle gekennzeichnet. Mit zunehmenden Körperbewegungen erfolgt nun der Übergang in weniger tiefe Schlafstadien, bis von Stadium 2 aus ca. 7-15 Minuten später die erste Episode von REM-Schlaf beginnt, welche meist nur 5-10 Minuten andauert. Während des REM-Schlafes ist der periphere Muskeltonus deutlich reduziert, die Weckschwelle maximal erhöht. In späteren Zyklen finden sich nach REM-Phasen manchmal auch kurze Episoden des Stadiums Wach, welche jedoch am nächsten Morgen nicht erinnert werden.

Während die erste NREM-Phase ca. 70-100 Minuten dauert, nimmt diese Zeit während des 2. und 3. Zyklus auf 100-120 Minuten zu, um schließlich wieder auf 90-110 Minuten abzunehmen. Die Dauer der REM-Phasen nimmt im Verlauf des Nachtschlafes zu, der Anteil des SWS nimmt hingegen bereits im zweiten Zyklus ab und kann in späteren Zyklen gänzlich verschwinden. In diesen Zyklen dominiert zunehmend S2 die NREM-Phasen. Kumulativ hat Stadium 2 dadurch einen Anteil von ca. 50 % an der Gesamtschlafdauer (12).

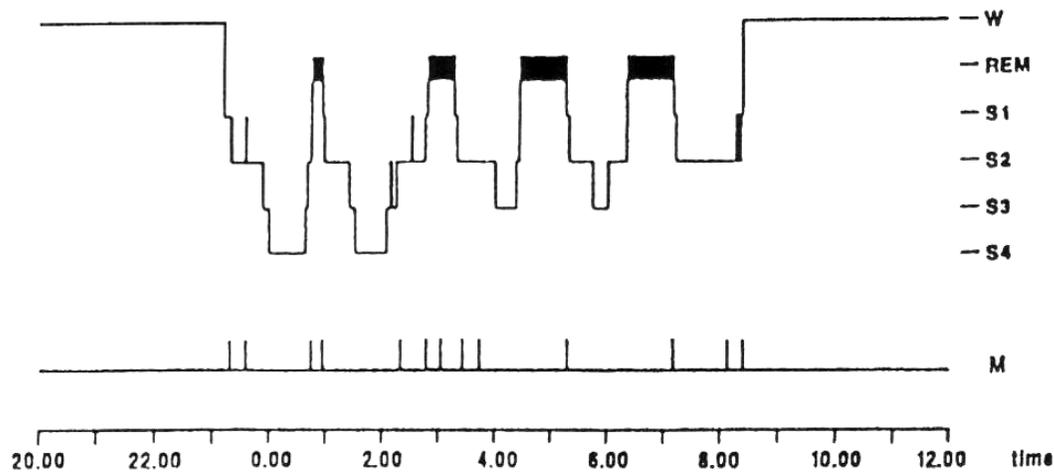


Abb. 1: *Typisches Somnogramm eines gesunden Erwachsenen (13)*

Hypoglykämie

Definition, Ursachen und Symptome einer Hypoglykämie

Hypoglykämie bezeichnet den Zustand einer unter den physiologischen Bereich erniedrigten Blutzuckerkonzentration, wobei in der Literatur die Schwelle teils mit 2,2 mmol/l (14), teils bereits mit 3,3 mmol/l (15) angegeben wird. Zusätzlich liegt klinisch eine Hypoglykämie unabhängig von der aktuellen Blutzuckerkonzentration vor, wenn typische Symptome wie Schwitzen, Zittern, Hunger, Konzentrationsdefizit, Schwindel- und Schwächegefühl auftreten. Dies trägt dem Phänomen Rechnung, dass Hypoglykämiesymptome und Hypoglykämie-Gegenregulation z.B. bei schlecht eingestellten Diabetes-Patienten bereits bei deutlich höheren Blutzuckerkonzentrationen auftreten können (16).

Üblicherweise wird klinisch die Diagnose einer Hypoglykämie mit Hilfe der Whipple-Trias gestellt:

- I) BZ unter 3,3 mmol/l
- II) Hypoglykämische Symptome
- III) Besserung bzw. Verschwinden der Symptome nach Glukosegabe

Die Einteilung der Hypoglykämien erfolgt nach dem Schweregrad, wobei der Patient bei einer leichten Hypoglykämie noch reagieren und sich selbst helfen kann. Im Gegensatz dazu ist der Patient bei einer schweren Hypoglykämie nicht in der Lage, die Hypoglykämie selbst zu beenden, und somit auf Hilfe von anderen angewiesen.

Hypoglykämien treten meist im Rahmen einer Diabeteserkrankung auf und werden häufig durch eine Überdosierung von Insulin bzw. hypoglykämiefördernden Medikamenten wie Sulfonylharnstoffen oder Gliniden ausgelöst (17). Weiterhin können bei diabetischen Patienten körperliche Betätigung, Alkoholkonsum, inadäquate Kohlenhydratzufuhr sowie gastrointestinale Funktionsstörungen im Rahmen einer Infektion Hypoglykämien auslösen (18). Bei Menschen ohne Diabeteserkrankung sind Hypoglykämien bedeutend seltener. Ursache kann auch hier inadäquate Kohlenhydratzufuhr bei übermäßiger körperlicher Betätigung sein. Des Weiteren gehen seltene Erkrankungen wie Insulinome oder eine Insuffizienz der Nebennierenrinde (Morbus Addison) mit Hypoglykämien einher (19, 20).

Fällt die Blutzuckerkonzentration unter 3,3 mmol/l kommt es zu einer stetigen Zunahme kognitiver Funktionsstörungen und schließlich zu Krampfanfällen und Bewusstlosigkeit (21). Bei der Genese der Hypoglykämiesymptome spielen im Wesentlichen zwei Mechanismen eine entscheidende Rolle, wonach sie in der Literatur gemeinhin in neuroglykopenen und autonome Symptome unterteilt werden: Zum einen nutzt das Gehirn im Normalfall fast ausschließlich Glukose als Energiequelle (22). Beim Abfall der Blutglukosekonzentration im Rahmen einer Hypoglykämie kommt es durch den Energiemangel in bestimmten Bereichen des ZNS zu Funktionsstörungen in diesen Arealen, was sich in entsprechenden neuroglykopenen Symptomen äußert (23). Zu diesen Symptomen werden Schwindel, kutane Missempfindungen, verschwommenes Sehen, Schwächegefühl und Konzentrationsdefizite gezählt (24). Andererseits wird die Aktivierung des sympathischen und auch parasympathischen Nervensystems (25) als gegenregulatorische Antwort auf eine Hypoglykämie primär für die Entstehung der autonomen Symptome Angst, Hunger, Schwitzen, erhöhte Herzfrequenz, Nervosität und Zittern (24) verantwortlich gemacht. Diese Einteilung der Hypoglykämiesymptome ist zwar üblich, jedoch wird die Symptomgruppierung nicht einheitlich verwandt und ist daher umstritten.

Physiologische Hypoglykämie-Gegenregulation

Da Glukose im Normalfall der Hauptenergielieferant des Organismus ist und das menschliche Gehirn 95 % seines Energiebedarfs über Glukose deckt (22), ist es für den Organismus von entscheidender Bedeutung, die Blutglukosekonzentration stets im physiologischen Bereich zu halten. In Astrozyten gespeichertes Glykogen, welches als Energiereserve bei kurzfristigen BZ-Schwankungen dient, kann das ZNS im Falle einer Hypoglykämie nur für kurze Zeit mit Energie versorgen (22, 26), bevor es zum Auftreten zentralnervöser Funktionsstörungen kommt (27). Insbesondere kognitive Funktionen sind davon betroffen (28, 29). Andererseits stellen aber auch erhöhte Blutzuckerkonzentrationen kurzfristig (30, 31) und langfristig (32) eine Gefährdung für den Organismus dar. So kommt es bereits bei kurzzeitiger Hyperglykämie zu Polyurie, Durst und Polydipsie und bei weiter steigenden Blutzuckerkonzentrationen gar zum diabetischen Koma. Langzeitkomplikationen von erhöhten Blutzuckerspiegeln manifestieren sich durch die Entstehung einer Makro- und auch Mikroangiopathie in den einzelnen Organsystemen z.B. als diabetische Nephropathie, Retinopathie oder Neuropathie. Um diese unerwünschten Folgen zu vermeiden, ist es für den Organismus essentiell, die Blutglukosekonzentration in einem sehr engen Bereich zu regulieren.

Der wichtigste blutzuckersenkende Faktor ist das Insulin, ein aus 51 Aminosäuren bestehendes, strukturell aus zwei über Disulfidbrücken miteinander verbundenen Peptidketten aufgebautes Hormon. Eine Vorläuferform dieses Hormons wird in den β -Zellen des Pankreas produziert und durch proteolytische Abspaltung eines Peptids schließlich zum aktiven Insulin aktiviert. Das abgespaltene Peptid ist als C-Peptid im Plasma messbar und ermöglicht als Zwischenprodukt der Insulinsynthese einen direkten Rückschluss auf die endogene Insulinproduktion.

Darüber hinaus verfügt der Organismus über ein komplexes hormonelles Netzwerk, um den Blutzuckerspiegel anzuheben. Die Forschung konzentriert sich bislang auf den ventromedialen Hypothalamus (VMH) als entscheidendes Zentrum in der Steuerung der Hypoglykämie-Gegenregulation. So konnte gezeigt werden, dass eine gezielte lokale Glykopenie in diesem Kerngebiet die Hypoglykämie-Gegenregulation aktiviert (33). Des Weiteren wird die Gegenregulation bei systemischer Hypoglykämie durch gleichzeitige lokale Glukoseapplikation in den VMH blockiert (34).

Die Reaktionen des Organismus auf eine Hypoglykämie lassen sich in eine exogene und eine endogene Antwort unterteilen (35). Dabei beschreibt die exogene Antwort die

Wahrnehmung der Hypoglykämiesymptome und anschließende Energieaufnahme in Form von Nahrung. Die endogene Antwort geht mit der Ausschüttung von insulinantagonistischen Substanzen (36) sowie der Reduktion der Insulinproduktion und der Aktivierung des autonomen Nervensystems (37, 38) einher. Primäres Ziel ist eine Erhöhung der verfügbaren Energiemenge im Blut durch Glykogenolyse und Glukoneogenese in Leber (39) und Niere (40), sowie eine Verminderung der Glukoseaufnahme aus dem Blut in periphere Gewebe, um die Energieversorgung des Gehirns sicherzustellen (35, 41). Die Aktivierung der einzelnen hormonellen Mechanismen der Hypoglykämie-Gegenregulation unterliegt dabei in Abhängigkeit von der Blutzuckerkonzentration einer gewissen hierarchischen Abfolge (42, 43). Bei gesunden Probanden spielt Glukagon in der hormonellen Antwort auf eine Hypoglykämie als Gegenspieler des Insulins eine entscheidende Rolle. Glukagon führt durch Abbau von Glykogen und Erhöhung der Glukoneogenese zu einer Steigerung des BZ. Die Aktivierung des autonomen Nervensystems, reflektiert durch eine erhöhte Ausschüttung der Katecholamine Noradrenalin und vor allem Adrenalin aus der Nebennierenrinde, bewirkt ebenfalls eine Steigerung der hepatischen Glukoneogenese, eine Hemmung der Glukoseaufnahme in die Peripherie und zusätzlich eine Hemmung der Insulinsekretion (44). Fällt die Glukagon-Antwort als tragende Säule der Gegenregulation z.B. bei Patienten mit Typ 1 Diabetes aus (45), so wird der größte Teil der Gegenregulation von der Katecholamin-Antwort getragen (46, 47). Als nächste Stufe in der hierarchischen Abfolge der Gegenregulation erfolgt ein Anstieg der Somatotropinkonzentration, der letztlich die Insulinsensitivität in der Peripherie sowie die Glukoseutilisation in der Leber vermindert (48). ACTH und Kortisol als weitere Vertreter der neuroendokrinen Stressachse sind ebenfalls Bestandteil der physiologischen Gegenregulation bei protrahierten Hypoglykämien (49, 50). Kortisol als Glukokortikoid stimuliert die Expression bestimmter Enzyme, wodurch die Glukoneogenese in Leber und Niere sowie die Proteolyse in der Muskulatur zur Bereitstellung von energiereichen Substraten gesteigert werden. Des Weiteren reduzieren Glukokortikoide die Insulinsensitivität bei gleichzeitiger Erhöhung der Sensitivität für Glukagon und Katecholamine (51, 52).

Schlaf und Glukosestoffwechsel

Schlaf wird mehr und mehr als wichtige Einflussgröße in der Regulation des menschlichen Glukosestoffwechsels angesehen (53, 54). Es mehren sich Hinweise aus unterschiedlichen epidemiologischen Studien, dass eine chronische Verkürzung der nächtlichen Schlafdauer die Entwicklung eines Typ 2 Diabetes mellitus fördert. So wurde im Rahmen der Nurses Health Study der Einfluss der durchschnittlichen Schlafdauer auf die spätere Inzidenz eines Typ 2 Diabetes mellitus untersucht (55). Zu Studienbeginn im Jahr 1986 wurden insgesamt 70.026 Krankenschwestern bezüglich ihrer Schlafgewohnheiten befragt und im Rahmen eines Follow-up nach 10 Jahren auf die Entwicklung eines Typ 2 Diabetes mellitus getestet. Dabei zeigte sich für eine verkürzte durchschnittliche Schlafzeit von ≤ 5 h pro Nacht ein um 57 % erhöhtes relatives Risiko für die Entwicklung eines Diabetes im Vergleich zu einer durchschnittlichen Schlafdauer von 8 h pro Nacht. Selbst nach Adjustierung für weitere Einflussfaktoren wie z.B. Alter, Schichtarbeit, Diabetes-Familienanamnese usw. konnte eine signifikante Assoziation zwischen chronisch verkürzter Schlafdauer und Diabetesinzidenz gezeigt werden (Odds Ratio (OR) 1,29; 95 %-Konfidenzintervall (KI) 1,05 – 1,58). Ähnliche Ergebnisse konnten auch in weiteren Studien nachgewiesen werden, welche einen Zusammenhang zwischen Schlafstörungen und der Entwicklung von Diabetes zeigen (56-60).

Dennoch ist die experimentelle Studienlage bezüglich der Kausalität des Zusammenhangs zwischen Schlafdeprivation und der Entwicklung eines Typ 2 Diabetes mellitus noch immer dürftig. Die umfassendste Studie in diesem Zusammenhang wurde von der Gruppe um Spiegel (61) veröffentlicht. In dieser sorgfältig durchgeführten Arbeit konnte gezeigt werden, dass Schlafdeprivation mit 4 Stunden Schlaf pro Tag über 6 Tage hinweg bei jungen gesunden Männern zu einer signifikanten Verschlechterung der Glukosetoleranz führte. Diese Abnahme der Glukosetoleranz war mit einer erhöhten Aktivität des sympathischen Nervensystems sowie mit erhöhten abendlichen Kortisolspiegeln im Serum verbunden, was als Hinweis auf eine neuroendokrine Vermittlung des negativen Einflusses von Schlafdeprivation auf den Glukosestoffwechsel gewertet werden kann.

Neben dem aktivierenden Einfluss auf das neuroendokrine Stresssystem (62, 63) könnte der zerebrale Energiemetabolismus ein weiterer Angriffspunkt sein, über den Schlafdeprivation den Glukosestoffwechsel beeinflusst. Einerseits stellt der Schlaf und

insbesondere der Tiefschlaf (auch „slow wave sleep“, SWS) einen Zeitabschnitt dar, in dem der zerebrale Glukosebedarf auf ein Minimum reduziert ist (64, 65). Andererseits wurde postuliert, dass Schlaf ein Auffüllen der zerebralen Glukosespeicher in Form von astrozytärem Glykogen unterstützt (26, 66, 67). Im Gegensatz dazu leert Schlafdeprivation bzw. Schlafentzug die zerebralen Glykogenspeicher (68) und könnte reaktiv eine Hyperglykämie induzieren, um die Glukosezufuhr zum Gehirn über den Blutstrom zu unterstützen (35). Auswirkungen und potentielle Pathomechanismen, über welche Schlafdeprivation den Glukosestoffwechsel beeinflusst sind schematisch in Abbildung 2 dargestellt.

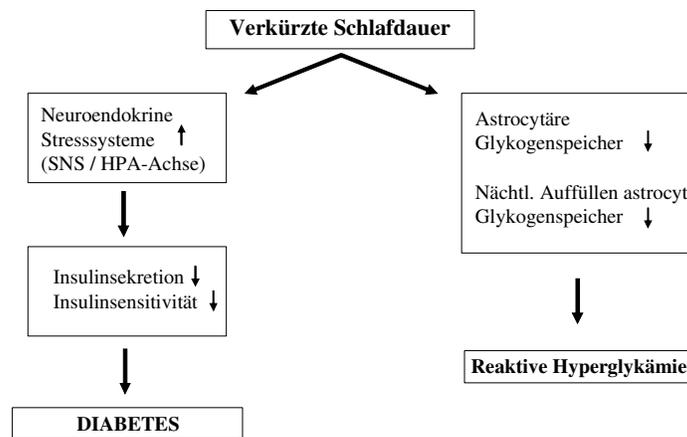


Abb. 2: Schematische Darstellung möglicher Pathomechanismen, über welche verkürzte Schlafdauer den Glukosestoffwechsel beeinflusst.

Ebenso wurde astrozytärem Glykogen eine unterstützende Rolle im Rahmen der Hypoglykämie-Gegenregulation zugesprochen (69). Während in der hypoglykämischen Phase die astrozytären Glykogenspeicher geleert werden, kann man während der post-hypoglykämischen Phase ein Rebound-Phänomen mit erhöhtem zerebralen Glykogengehalt nachweisen (70). Dieses Phänomen wurde zumindest teilweise für den gut etablierten Befund einer abgeschwächten neuroendokrinen Gegenregulation nach wiederholten Hypoglykämien (71-73) verantwortlich gemacht (69). Dieser wiederum ist hochrelevant für das klinisch beobachtete Syndrom der gestörten Hypoglykämie-Gegenregulation, welches häufig bei Patienten mit Typ 1 Diabetes mellitus gefunden wird (45, 74-76).

Ziele und Fragestellung

Basierend auf der Annahme, dass Schlafdeprivation zerebrale Glykogenspeicher entleert sowie eine Neuroglykopenie verschlimmern kann, wurde die Hypothese aufgestellt, dass Schlafdeprivation bzw. Schlafentzug zu einem den Aktivitätszustand der neuroendokrinen Stresssysteme erhöht und zum anderen zu einer verstärkten hormonellen Antwort in der Gegenregulation einer Hypoglykämie führt. Auch wenn eine Bestätigung dieser Hypothese von hoher klinischer Relevanz für Patienten mit Typ 1 Diabetes mellitus wäre, wurde diese Hypothese zunächst an einem Probandenkollektiv von gesunden jungen Männern getestet. Begleitfaktoren wie wiederholte vorangegangene Hypoglykämieepisoden, welche ebenfalls einen Einfluss auf die Hypoglykämie-Gegenregulation haben (71-73), sollten dadurch ausgeschlossen werden.

Da es vor diesem Hintergrund ebenso relevant erschien, welche speziellen Schlafstadien im Zusammenhang mit der Hypoglykämie-Gegenregulation stehen, wurden die Probanden zum einen einem hypoglykämischen hyperinsulinämischen Clampversuch unterzogen, nachdem sie eine Nacht mit komplettem Schlafentzug (kompletter Schlafentzug) verbracht hatten. Ein weiterer Clampversuch wurde nach einer Nacht mit einer Schlafdauer von 4,5 Stunden in der ersten Nachthälfte (partieller Schlafentzug), die typischerweise durch einen hohen Tiefschlafanteil (SWS) gekennzeichnet ist, durchgeführt. Als Kontrollbedingung unterzogen sich die Probanden schließlich einem Clampversuch, nachdem sie eine Nacht mit einer regulären Schlafdauer von 7 Stunden (regulärer Schlaf) im Schlaflabor verbracht hatten.

Folgende Fragestellung wurde dabei eingehend untersucht:

Führt bereits kurzfristige Deprivation (total bzw. partiell) des Schlafes während einer Nacht bei jungen, gesunden Männern zu:

- I) einer Erhöhung der basalen morgendlichen Aktivität der neuroendokrinen Stresssysteme?
- II) einer Veränderung der hormonellen Antwort auf einen nachfolgenden metabolischen Stressor in Form einer Hypoglykämie?

Methoden

Probanden

Zehn gesunde Männer wurden in drei Nächten und an den darauf folgenden Vormittagen untersucht. Die Testpersonen wurden über Aushänge im Universitätsklinikum Schleswig-Holstein Campus Lübeck sowie aus einer Liste von ehemaligen Probanden anderer Studien gewonnen. Bei den Probanden handelte es sich um gesunde Männer im Alter zwischen 20 und 40 Jahren (Durchschnittsalter \pm Standardfehler des Mittelwertes: 25,30 Jahre \pm 1,38 Jahre) und mit einem Body Mass Index von 20,7 kg/m² bis 25,0 kg/m² (23,8 kg/m² \pm 0,5 kg/m²). Der Body Mass Index (BMI) der Probanden zeigte zwischen den einzelnen Versuchen keine signifikanten Unterschiede ($p > 0,38$). Mittels eines standardisierten Fragebogens und eines Anamnesegesprächs wurden Informationen zu Lebens- und insbesondere Schlafgewohnheiten sowie zu Vorerkrankungen und Erkrankungen in der Familie erfasst. Im Anschluss wurden eine körperliche Untersuchung und eine Blutentnahme durchgeführt, wobei routinemäßig ein kleines Blutbild, Nierenretentionswerte, Leberparameter, Blutfettwerte und Elektrolyte bestimmt wurden. Alle Probanden waren gesund und ohne schwerwiegende oder chronische Vorerkrankungen, die untersuchten Blutparameter waren im Normbereich. In der Familienanamnese fand sich kein Hinweis auf Typ 1 Diabetes mellitus oder Typ 2 Diabetes mellitus. Keiner der Probanden nahm regelmäßig Medikamente ein oder war Raucher. Die Probanden hatten einen geregelten Schlaf-Wach-Rhythmus und arbeiteten nicht im Schichtdienst. Alle Testpersonen wurden vor Beginn der Studie ausführlich mündlich sowie schriftlich über die Zielsetzung und den Ablauf der Versuche aufgeklärt. Alle Testpersonen nahmen freiwillig an der Studie teil und gaben schriftlich ihr Einverständnis zur Durchführung der Versuche. Die Probanden nahmen während der Dauer der Studie an keinen weiteren Studien teil und spendeten in diesem Zeitraum kein Blut. Die Studie wurde gemäß der Deklaration von Helsinki vor Durchführung durch die örtliche Ethikkommission geprüft und genehmigt. Jeder Proband erhielt nach Abschluss der Studie eine Aufwandsentschädigung von insgesamt 300.- €.

Studiendesign und Versuchsanordnung

Die Durchführung der Versuchsbedingungen „kompletter Schlafentzug“, „partieller Schlafentzug“, sowie „regulärer Schlaf“ erfolgte randomisiert und balanciert. Der Abstand zwischen den einzelnen Versuchsbedingungen betrug dabei jeweils mindestens 14 Tage. Bei der Versuchsbedingung „partieller Schlafentzug“ wurden die Testpersonen zuvor nicht unterrichtet, dass sie bereits nach 4,5 Stunden Schlaf geweckt würden und den Rest der Nacht bis zu Beginn des Clampversuches wachen müssten. So sollte eine Beeinflussung des Schlafs in der ersten Nachthälfte vermieden werden. Bei der Versuchsbedingung „kompletter Schlafentzug“ verbrachten die Probanden ebenfalls die Nacht im Schlaflabor. Allerdings erfolgte hierbei keine Aufzeichnung der Hirnströme. Während der Wachbedingungen durften die Probanden Illustrierte sowie Zeitungen lesen oder sich mit dem jeweiligen Betreuer unterhalten. Des Weiteren war es erlaubt, aus einem vorsortierten Repertoire an Spielfilmen zu wählen. Nicht gestattet waren körperliche Betätigung oder Nahrungsaufnahme.

Die Probanden wurden instruiert, an den Tagen vor dem Versuch keine schwere körperliche Arbeit zu verrichten und nicht später als 23.00 Uhr zu Bett zu gehen sowie am Abend des Versuchbeginns ein für sie normales Abendessen einzunehmen.

An den Versuchstagen wurden die Testpersonen um 21.00 Uhr ins Schlaflabor der Station 41c des Universitätsklinikums Schleswig-Holstein Campus Lübeck gebeten. Zunächst wurde das Körpergewicht gemessen sowie eine kurze Zwischenanamnese zur aktuellen Befindlichkeit erhoben. Nach dem Eintreffen im Schlaflabor um 21.00 Uhr blieben die Probanden nüchtern, d.h. sie nahmen nur noch Wasser oder ungesüßten Tee zu sich. Den Studienteilnehmern wurden im Anschluss für die polysomnographische Schlafdokumentation standardisiert Elektroden auf die Kopfhaut (Elektroenzephalogramm, EEG), um die Augen (horizontales and vertikales Elektroofokulogramm, EOG), und am Kinn (Elektromyogramm, EMG) angeklebt (8). Die Probanden lagen in einem schallgedämpften Raum, der über eine kleine Öffnung in der Wand mit dem Labor verbunden war, im Bett. Durch diese Öffnung waren die EEG-Elektroden mit dem Verstärker und Aufnahmegerät (EEG-Serie 4400, Nihon Kohden GmbH, Germany) im benachbarten Labor verbunden. Der Schlaf der Probanden wurde zu keinem Zeitpunkt der Studie durch die Laborarbeiten und die dadurch verursachten Geräusche gestört. Zu jedem Zeitpunkt des Versuches konnte der Patient durch eine Infrarotkamera vom Labor aus überwacht werden. Nach Beenden der Vorbereitungen

wurde um 22.00 Uhr das Licht gelöscht. Je nach Versuchsbedingung wurden die Probanden entweder nach 4,5 Stunden oder nach 7 Stunden Schlaf geweckt. Die Probanden hatten die Möglichkeit zur Morgentoilette.

Um 07.00 Uhr wurde jeweils mit dem hyperinsulinämischen hypoglykämischen Clampversuch begonnen, wobei zunächst zu Beginn und am Ende einer 30-minütigen Baselinephase Blutproben gewonnen sowie Symptomscores erhoben wurden. Des Weiteren wurden in der Baselinephase, während der Hypoglykämieplateaus und am Ende des Versuches die Herzfrequenz mittels Palpation sowie der Blutdruck nach der Riva-Rocci-Methode gemessen. Im Anschluss an die Baselinephase wurde über einen Perfusor (Braun Perfusor Secura FT, B. Braun Melsungen AG, Germany) für 2 Minuten ein Insulinbolus von 0,01 IU/kg KG intravenös infundiert und danach kontinuierlich 1,5 mIU/kg KG/min Insulin zugeführt. Während des gesamten Versuches wurde die Blutglukosekonzentration in fünfminütigen Abständen mittels HemoCue (HemoCue B-Glucose-Analyzer, Ängelholm, Schweden) kontrolliert und die intravenöse Glukosezufuhr bedarfsgerecht reguliert.

Die Einstellung der Blutglukosekonzentration über die Zeit erfolgte nach der von DeFronzo (77) ausführlich beschriebenen standardisierten Clamptechnik, wobei es sich in unserer Studie um einen hyperinsulinämischen, hypoglykämischen Clampversuch handelte (Abb. 3). Dazu wurde den Probanden eine Venenverweilkanüle (Braunüle) in eine Unterarmvene des dominanten Arms gelegt. Diese diente der Infusion von Insulin (Insuman rapid, Aventis, Bad Soden, Germany) und bedarfsadaptiert von Glukoselösung (Glukose-Lösung 20%, Delta Pharma, Pfullingen, Deutschland). Eine zweite Braunüle wurde an der gleichen Stelle des kontralateralen Armes angelegt. Dieser Arm wurde mit Hilfe einer beheizten Box (50 – 55°C) erwärmt, wodurch eine „Arterialisierung“ des venösen Blutes erreicht werden sollte (78). Durch diesen Zugang konnte Blut zur Bestimmung des Blutglukosespiegels und der zu untersuchenden Hormone Insulin, C-Peptid, Adrenalin, Noradrenalin, ACTH, Kortisol, Glukagon und Somatotropin aus Serum bzw. Plasma gewonnen werden sowie zur Prävention einer insulininduzierten Hypokaliämie eine kaliumhaltige Lösung (Ringer-Lösung, Berlin-Chemie AG, Germany) verabreicht werden. Die Infusionen und Blutabnahmen wurden über 2 m lange, 1×2 mm dünne Kunststoffinfusionsschläuche (Combidyn Druckschlauch, Pressure Monitoring Tubing PE 1×2 mm, 200 cm, transparent, B. Braun Melsungen A.G., Germany) vorgenommen, welche zusammen mit den EEG-Kabeln durch die Wandöffnung ins Labor geführt wurden. So war es uns

möglich, dem Probanden während des Clampversuches Insulin und Glukose zu verabreichen, ohne dass ihm die aktuelle Blutglukosekonzentration bekannt war.

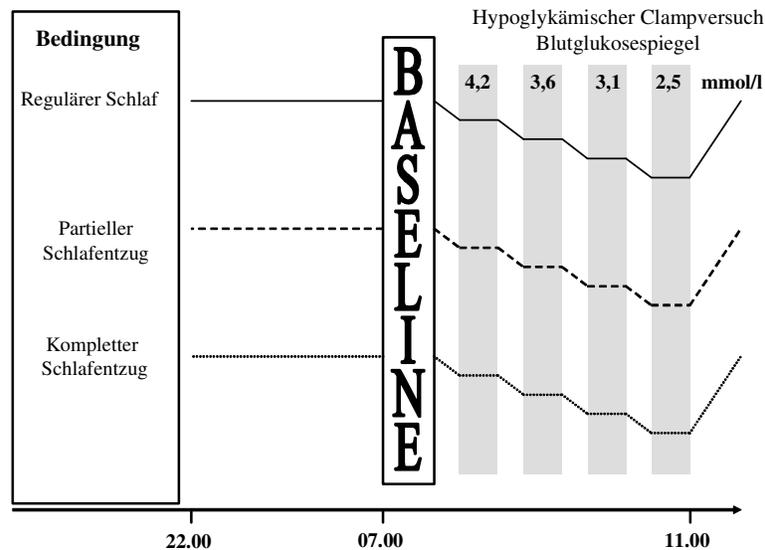


Abb. 3: Organigramm des Studienablaufs

Zunächst wurde innerhalb von 30 Minuten ein Blutglukosewert von 4,2 mmol/l erreicht und dieses Plateau für weitere 30 Minuten aufrechterhalten. Es folgte weiterhin jeweils eine 30-minütige Absenkung auf das nächst niedrigere Plateau (3,6 mmol/l, 3,1 mmol/l, 2,5 mmol/l) mit anschließendem 30-minütigem Aufrechterhalten des Plateaus. Zu Beginn und am Ende eines Plateaus erfolgte die Gewinnung von Blutproben für die Bestimmung der zu untersuchenden Hormone. Das abgenommene Blut wurde in gekühlten Polystyrolröhrchen gesammelt und kühl gelagert. Die gesammelten Blutproben wurden spätestens nach zwanzig Minuten bei 4°C und 2000×g zentrifugiert (Sigma ZK 15, SIGMA Laborzentrifugen GmbH, Germany) und in 1,5 ml große Eppendorfgefäße pipettiert. Die gewonnenen Proben wurden anschließend eingefroren und bis zur Durchführung der Analysen in Kühltruhen bei -80°C gelagert. Während der Plateaus wurden außerdem akustisch evozierte Potentiale, kognitive Funktionstests (N. Bandorf, unveröffentlichte Daten) und Symptomscores erhoben bzw. durchgeführt. Am Ende des letzten Plateaus (2,5 mmol/l) wurde die Insulinzufuhr gestoppt. Die Probanden erhielten nach Beendigung der Insulininfusion ein standardisiertes Frühstück (1800 kcal) und durften ad libitum essen.

Blutzucker- und Hormonbestimmungen

Die Blutglukosekonzentrationen wurden mit Hilfe der Glukose-Dehydrogenase-Methode gemessen (HemoCue B-Glucose-Analyzer, Ängelholm, Schweden). Die intra- und inter-assay Variationskoeffizienten (VK) betragen hierbei <3,5 % bzw. <2,7 %. Die Serumkonzentrationen von Insulin, C-Peptid, Kortisol und Somatotropin wurden mit kommerziell erhältlichen Immunoassays (Immulite, DPC, Los Angeles, USA) bestimmt. Die intra- bzw. inter-assay Variationskoeffizienten und analytischen Sensitivitäten (aS) betragen hierbei: Insulin: VK <5,2 % bzw. <6,1 %, aS 12,0 pmol/l; C-Peptid: <7,6 % bzw. <10,5 %, aS 0,1655 mmol/l; Kortisol: <5,8 % bzw. <6,3 %, aS 5,518 mmol/l; Somatotropin: <5,8 % bzw. <5,5 %, aS 0,05 µg/l. Die Plasmakonzentrationen von ACTH wurden ebenfalls mittels Immunoassay bestimmt (Immulite, DPC, Los Angeles, USA). Hier betrug der intra-assay VK <6,1 % und der inter-assay VK <9,4 %, die analytische Sensitivität lag bei 14,5 ng/l. Die Plasmakonzentrationen von Glukagon wurden mit Hilfe eines Radio-Immunoassay (Adaltis, Montreal, Kanada) bestimmt, wobei der intra-assay VK <8,0 % und der inter-assay VK <8,2 % betrug. Die Plasmaspiegel von Adrenalin und Noradrenalin wurden mittels Hochleistungsflüssigkeitschromatographen mit elektrochemischem Detektor (Chromosystems, München, Deutschland) bestimmt. Die intra- bzw. inter-assay VK betragen <2,9 % bzw. <4,2 % für Adrenalin und <2,6 % bzw. <3,9 % für Noradrenalin.

Schlafstadienauswertung

Die polysomnographischen Aufzeichnungen wurden nach den von Rechtschaffen und Kales veröffentlichten Leitlinien ausgewertet (8). Jede Auswertung wurde zusätzlich durch eine weitere Person überprüft, um Fehler bei der Schlafstadienzuordnung zu vermeiden. Für die Auswertung des Schlafes wurden folgende Parameter definiert: Wach, Schlafstadien S1, S2, S3, S4, SWS (slow wave sleep, zusammengesetzt aus den Schlafstadien S3 und S4) sowie REM-Schlaf.

Statistische Auswertung

Die statistische Auswertung der erhobenen Daten erfolgte mit SPSS 12.0 für Windows. Die Hormondaten wurden mittels Varianzanalyse (ANOVA) nach dem allgemeinen linearen Model mit den Faktoren „Hypo“ (dieser repräsentierte den Verlauf der Messergebnisse der einzelnen Bestimmungen während des hypoglykämischen Clampversuches) und „Schlaf“ (dieser repräsentierte die drei Grundbedingungen regulärer Schlaf, partieller Schlafentzug und kompletter Schlafentzug) ausgewertet. Für paarweise Vergleiche wurde der T-Test für gepaarte Stichproben bzw. der Chi-Quadrat-Test verwandt. Die Ergebnisse wurden, falls notwendig, nach dem Greenhouse-Geisser-Verfahren korrigiert. Alle Ergebnisse werden, soweit nicht anders beschrieben, in Einheiten des Système international (SI) als Mittelwert \pm Standardfehler des Mittelwertes angegeben. P-Werte $\leq 0,05$ wurden als statistisch signifikant angesehen. In der statistischen Auswertung der Baselinewerte werden, falls nicht anders angegeben, immer die Mittelwerte der Baselinephase ($t = 0$ min und $t = 30$ min) berücksichtigt. Die graphische Auftragung der Daten erfolgte mit Sigma Plot 9.0 für Windows.

Ergebnisse

Schlafstadien

Während der Bedingung „regulärer Schlaf“ schiefen die Probanden im Schnitt insgesamt 423 ± 11 Minuten, wobei die Verteilung der einzelnen Schlafstadien im Verlauf der Nacht der Verteilung bei gesunden jungen Menschen entsprach. Dem gegenüber stand die Bedingung mit partiellem Schlafentzug in der zweiten Nachthälfte. Hierbei schiefen die Probanden während der ersten Nachthälfte insgesamt 275 ± 8 Minuten. Da bei einem gesunden Schlafstadienprofil die Tiefschlafstadien (SWS) überwiegend in der ersten Nachthälfte auftreten, die REM-Schlafstadien dagegen bevorzugt in der zweiten Nachthälfte, konnte durch die Deprivation des Schlafes in der zweiten Nachthälfte bei den Probanden eine gezielte Reduktion der REM-Schlafstadien erreicht werden. Die absolute Zeitdauer, zu der sich die Probanden im Tiefschlaf befanden, war in den genannten Bedingungen nahezu identisch (73 ± 9 vs. 73 ± 7 Minuten; $p > 0,99$). Dagegen verbrachten die Probanden während der 7 h Schlaf deutlich mehr Zeit im REM-Schlaf als in der partiellen Schlafentzugs-Bedingung (48 ± 8 vs. 13 ± 3 Minuten, $p < 0,001$). Anteilig an der Gesamtschlafdauer hatten die Probanden somit in der Nacht mit regulärem Schlaf signifikant mehr REM-Schlaf als in der Nacht mit partiellem Schlafentzug ($11,3 \pm 1,7$ vs. $4,8 \pm 1,1$ %; $p < 0,001$), der relative Anteil an SWS in der partiellen Schlafentzugs-Bedingung gegenüber der regulären Schlaf-Bedingung war jedoch signifikant erhöht ($26,3 \pm 3,1$ vs. $17,3 \pm 2,0$ %; $p = 0,041$; Tab. 1).

	regulärer Schlaf	partieller Schlafentzug	p-Wert
TST (min)	423 ± 11	275 ± 8	p<0,001
WASO (min)	4,0 ± 2,8	0,5 ± 0,4	p=0,225
WASO (%)	0,9 ± 0,6	0,2 ± 0,1	p=0,278
S1 (min)	48,4 ± 8,3	52,4 ± 17,4	p=0,758
S1 (%)	11,5 ± 2,0	19,3 ± 6,6	p=0,169
S2 (min)	233,7 ± 11,4	128,1 ± 13,2	p<0,001
S2 (%)	55,2 ± 2,2	45,8 ± 4,2	p=0,048
SWS (min)	72,7 ± 7,7	72,6 ± 8,9	p=0,993
SWS (%)	17,3 ± 2,0	26,3 ± 3,1	p=0,041
REM (min)	47,7 ± 7,8	13,1 ± 2,8	p<0,001
REM (%)	11,3 ± 1,7	4,8 ± 1,1	p<0,001
Movement arousal (min)	16,2 ± 2,7	10,1 ± 2,0	p=0,122
Movement arousal (%)	3,8 ± 0,6	3,6 ± 0,7	p=0,878

Tabelle 1: Schlafparameter während der regulären Schlaf-Nacht und der Nacht mit partiellem Schlafentzug. TST=Gesamtschlafdauer; WASO (wake after sleep onset)=Zeit im Stadium „Wach“ nach Schlafbeginn, S1=Schlafstadium 1; S2=Schlafstadium 2; SWS (slow wave sleep)=Tiefschlaf; REM=rapid eye movement-Schlaf; Movement arousal (M)=Bewegungsartefakte während TST (p-Werte wurden mittels T-Test für gepaarte Stichproben ermittelt).

Blutglukose, Insulin und C-Peptid

Die Mittelwerte der vormittäglichen Blutglukosekonzentrationen (BZ) waren sowohl für die Baselinephase (normale Schlafdauer: $4,7 \pm 0,1$ mmol/l; partieller Schlafentzug: $4,6 \pm 0,1$ mmol/l; kompletter Schlafentzug: $4,6 \pm 0,2$ mmol/l; $p=0,30$) als auch für die Zeit des hypoglykämischen Clampversuches in allen drei Versuchsbedingungen gut vergleichbar ($p=0,63$ für ANOVA über alle Bedingungen; Abb.4).

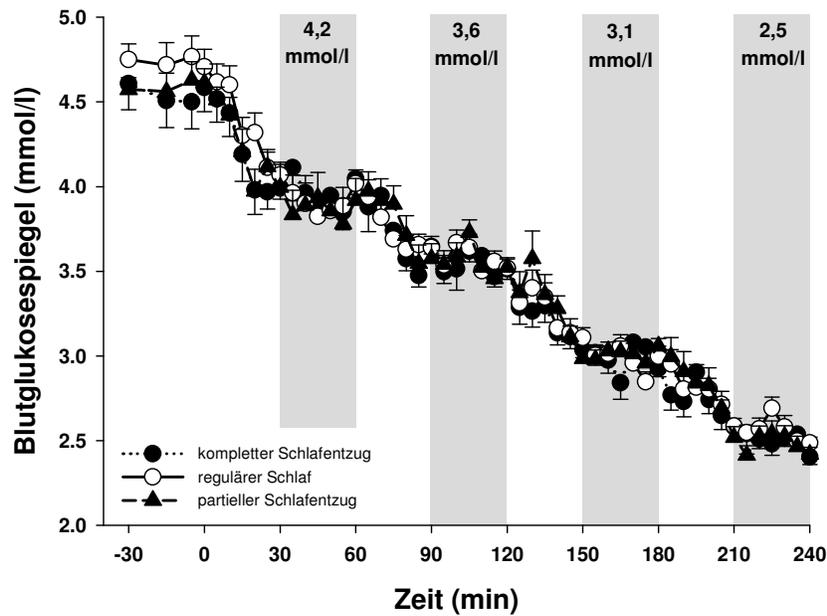


Abb. 4: Verlauf der Blutglukosekonzentrationen in der Baselinephase und während des hypoglykämischen Clampversuches.

Die basalen Insulinkonzentrationen im Serum unterschieden sich nicht zwischen den einzelnen Versuchsbedingungen (normale Schlafdauer: 40 ± 10 pmol/l; partieller Schlafentzug: 43 ± 9 pmol/l; kompletter Schlafentzug: 40 ± 6 pmol/l; $p=0,39$). Zu Beginn des hypoglykämischen, hyperinsulinämischen Clamps konnte in allen drei Bedingungen gleichermaßen ($p=0,45$; Abb. 5) ein steiler Anstieg der Insulinkonzentrationen infolge der Insulinapplikation beobachtet werden.

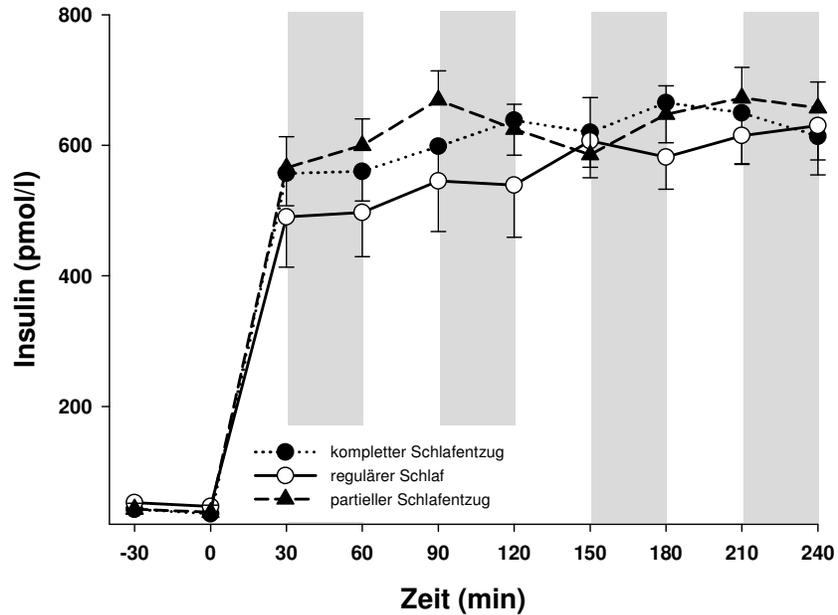


Abb. 5: Insulinkonzentrationen im Serum in der Baselinephase und während des hypoglykämischen Clampversuches.

Die morgendlichen C-Peptid Basalwerte waren nach den jeweiligen Schlafbedingungen tendenziell unterschiedlich ($p=0,062$ ANOVA Baselinewerte). Dabei zeigten sich nach komplettem Schlafentzug tendenziell niedrigere C-Peptid-Spiegel als nach normalem Schlaf ($0,34 \pm 0,04$ vs. $0,47 \pm 0,07$ nmol/l; $p=0,090$) und nach partiellem Schlafentzug ($0,51 \pm 0,07$ nmol/l; $p=0,047$ vs. kompletten Schlafentzug). Die C-Peptid-Verläufe im Serum wurden durch die Schlafdeprivation signifikant verändert ($p<0,015$ für den „Hypo“ x „Schlaf“ Effekt in der ANOVA über alle Bedingungen, Abb. 6) und zeigten während der Hypoglykämie gleichermaßen nach normalem Schlaf wie auch partiellem Schlafentzug einen Abfall auf Werte unterhalb der Nachweisgrenze ($p<0,001$ für den Faktor „Hypo“, $p=0,65$ für den Vergleich zwischen beiden Bedingungen). Auch bei den C-Peptid-Spiegeln nach komplettem Schlafentzug konnte ein Abfall beobachtet werden, dieser verfehlte jedoch knapp das Signifikanzniveau ($p=0,074$). Entsprechend waren die Absolutwerte der C-Peptid-Antwort nach komplettem Schlafentzug höher als die Werte nach normalem Schlaf und partiellem Schlafentzug ($p<0,035$ für die entsprechenden Vergleiche). Einzelpunktvergleiche zeigten hingegen keinerlei signifikante Unterschiede zwischen den einzelnen Bedingungen ($p>0,21$ für alle Vergleiche).

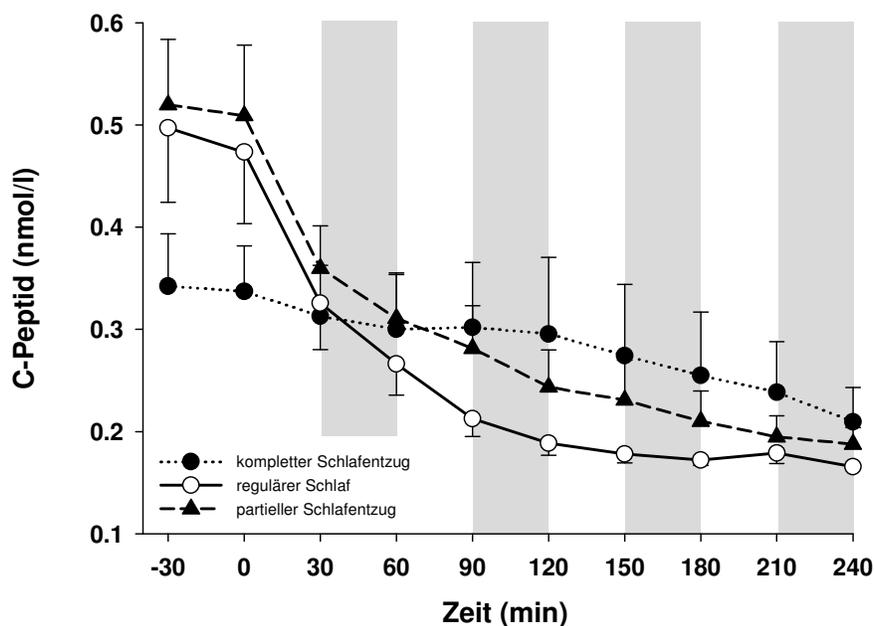


Abb. 6: C-Peptid-Plasma-Konzentrationen während der Baselinephase und während des hypoglykämischen Clampversuches.

Glukoseinfusionsraten

Die Infusionsraten an Glukoselösung während des hypoglykämischen Clampversuches unterschieden sich nicht zwischen den einzelnen Bedingungen. Auch die kumulative Menge an zugeführter Glukose während des Clampversuches war in allen drei Bedingungen annähernd gleich (normaler Schlaf: 128 ± 11 g vs. kompletter Schlafentzug: 131 ± 17 g vs. partieller Schlafentzug: 136 ± 16 g; $p > 0,85$ für alle Vergleiche, Tab. 2).

	normaler Schlaf	kompletter Schlafentzug	partieller Schlafentzug	p-Wert
Mittlere Infusionsrate (g/min)	$0,53 \pm 0,05$	$0,54 \pm 0,07$	$0,57 \pm 0,07$	$P > 0,58$ zwischen allen Bed.
Infundierte Glukose (g/kg KG)	$1,57 \pm 0,14$	$1,61 \pm 0,20$	$1,65 \pm 0,21$	$P > 0,88$ zwischen allen Bed.
Infundierte Glukose (g)	128 ± 11	131 ± 17	136 ± 16	$p > 0,85$ zwischen allen Bed.

Tabelle 2: Infusion einer 20%igen Glukoselösung während des hypoglykämischen Clampversuches.

Hormone der Hypoglykämie-Gegenregulation

Schlafentzug hatte keinen Einfluss auf die AdrenalinKonzentrationen im Plasma ($p=0,61$ für den Interaktionseffekt „Hypo“ x „Schlaf“ in der ANOVA über alle Bedingungen). Weiterhin zeigten sich in Einzelvergleichen keine Unterschiede zwischen den morgendlichen Basalwerten in den einzelnen Bedingungen ($p>0,33$ für alle Vergleiche). Während des hypoglykämischen Clampversuches stiegen die AdrenalinKonzentrationen in allen Bedingungen signifikant an ($p<0,001$), wobei sich dieser Anstieg zwischen den einzelnen Bedingungen nicht unterschied ($p>0,42$ für alle Vergleiche; Abb. 7).

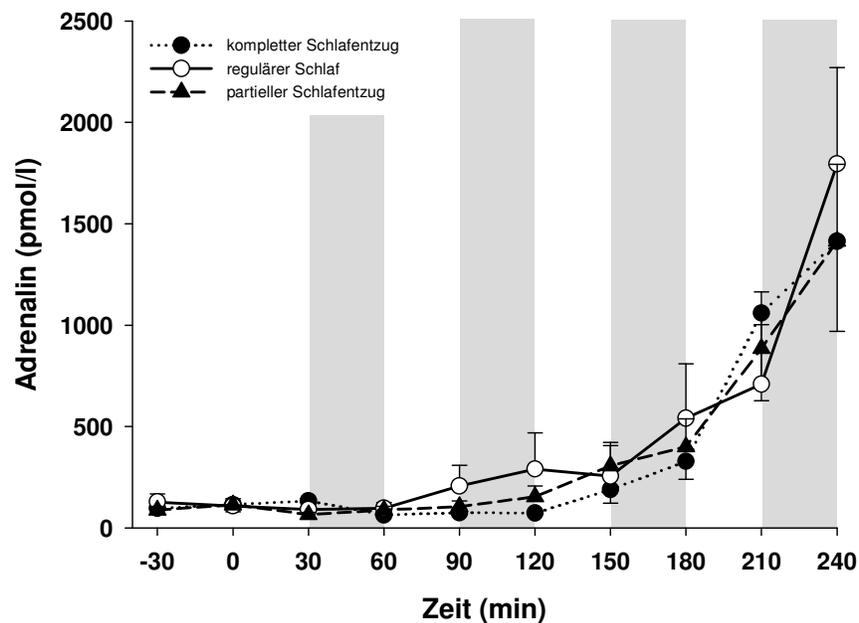


Abb. 7: AdrenalinKonzentrationen im Plasma während der Baselinephase und während des hypoglykämischen Clampversuches.

Die NoradrenalinKonzentrationen im Plasma verhielten sich ähnlich wie die AdrenalinSpiegel: Es gab keine signifikanten Unterschiede in den Basalwerten zwischen den drei Bedingungen ($p > 0.73$ für alle Vergleiche), und auch im Verlauf zeigten sich keine Differenzen ($p > 0.59$ für alle Vergleiche, Abb. 8).

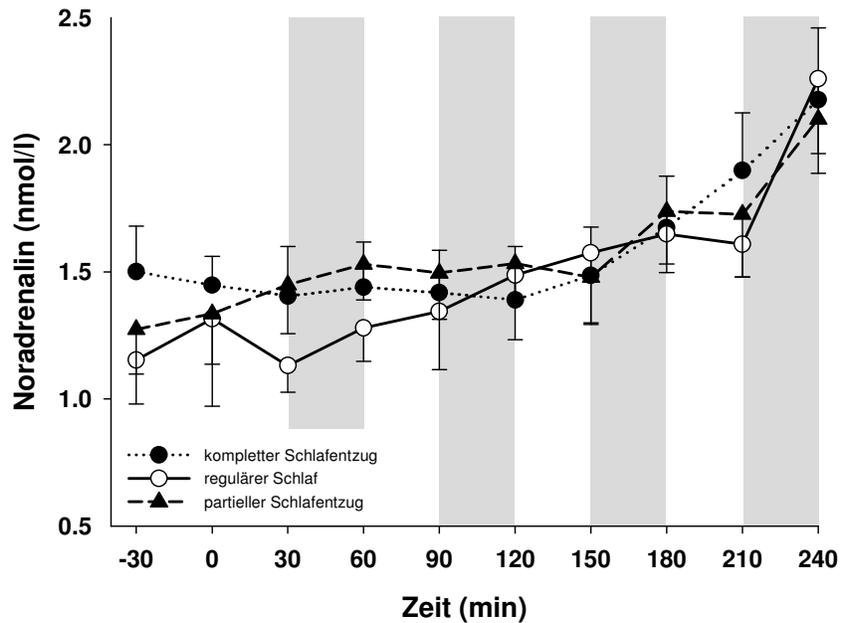


Abb. 8: NoradrenalinKonzentrationen im Plasma während der Baselinephase und während des hypoglykämischen Clampversuches.

Der zeitliche Verlauf der ACTH-Konzentrationen im Plasma unterschied sich nicht zwischen den drei Versuchsbedingungen ($p > 0,17$ für den Interaktionseffekt „Hypo“ x „Schlaf“ in der ANOVA über alle Bedingungen). Nach partiellem Schlafentzug waren die morgendlichen ACTH-Spiegel allerdings signifikant niedriger als nach regulärem Schlaf ($5,2 \pm 1,5$ vs. $9,8 \pm 1,6$ pmol/l; $p = 0,030$) und hielten dieses Niveau während der ersten 210 Minuten des Clampversuches. Die Baselinewerte nach komplettem Schlafentzug waren vergleichbar mit denen nach regulärem Schlaf ($9,8 \pm 3,0$ pmol/l; $p = 0,84$), erreichten wegen erhöhter Varianz jedoch im Vergleich zu den Werten nach partiellem Schlafentzug keine Signifikanz ($p = 0,19$). Sowohl in der regulären Schlaf- als auch in der kompletten Schlafentzugs-Bedingung erfolgte während der ersten 30 Versuchsminuten ein Abfall der ACTH-Spiegel auf das Niveau der partiellen Schlafentzug-Bedingung. Nach 150 Minuten des Clampversuches konnte ein signifikanter Anstieg der ACTH-Spiegel in allen Bedingungen ($p < 0,007$) beobachtet werden, wobei dieser Anstieg in den einzelnen Bedingungen vergleichbar erfolgte ($p > 0,16$ für alle Vergleiche; Abb. 9).

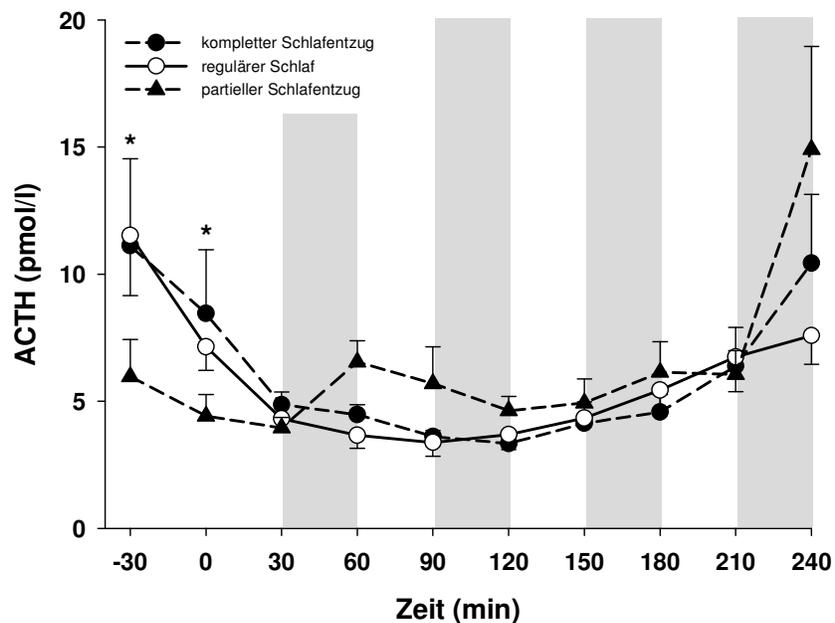


Abb. 9: ACTH-Konzentrationen im Plasma in der Baselinephase und während des hypoglykämischen Clampversuches; * $p < 0,05$ für regulärer Schlaf vs. partieller Schlafentzug.

Die Kortisol-Spiegel im Serum zeigten während des Versuches in den drei Bedingungen unterschiedliche zeitliche Verläufe ($p=0,038$ für den „Hypo“ x „Schlaf“-Effekt in der ANOVA über alle Bedingungen), wobei dieser Interaktionseffekt durch grundlegende Unterschiede in den morgendlichen Kortisolkonzentrationen bedingt ist. Dabei fanden sich nach partiellem Schlafentzug signifikant niedrigere morgendliche Werte als nach regulärem Schlaf (338 ± 63 vs. 602 ± 43 nmol/l, $p<0,001$). Die Werte nach komplettem Schlafentzug lagen zwischen denen der beiden anderen Bedingungen (503 ± 33 nmol/l). In den ersten 150 Minuten des Clampversuches nahmen die Werte nach regulärem Schlaf sowie nach komplettem Schlafentzug auf das morgendliche Niveau nach partiellem Schlafentzug ab, während sich die Werte nach partiellem Schlafentzug nicht veränderten. Im weiteren Verlauf stiegen die Kortisol-Spiegel in allen drei Bedingungen bis zum Ende des Clampversuches signifikant an ($p<0,001$ für alle Bedingungen), ohne dass sich zwischen den Bedingungen Unterschiede in der Dynamik des Anstiegs feststellen ließen ($p>0,23$; Abb. 10).

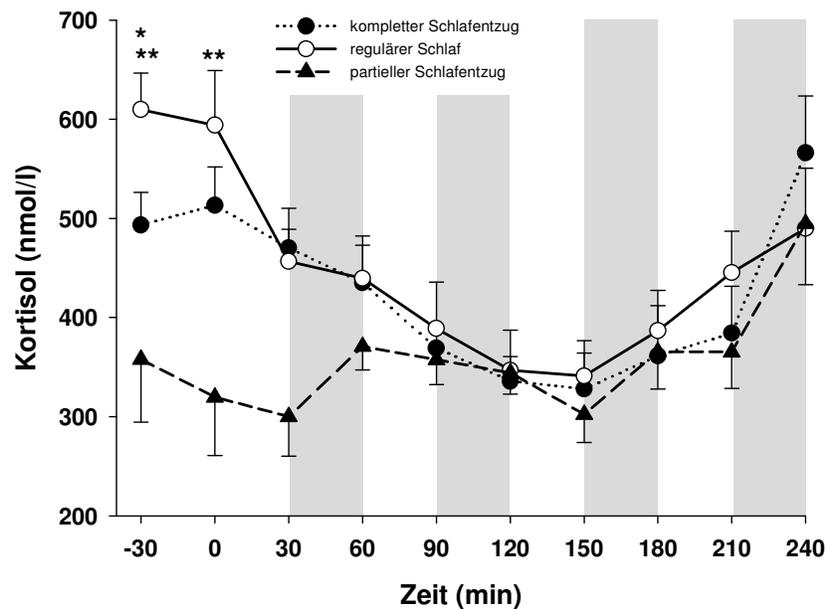


Abb. 10: Kortisol-Spiegel im Serum in der Baselinephase und während des hypoglykämischen Clampversuches; * $p=0,018$ für kompletter Schlafentzug vs. regulärer Schlaf, ** $p<0,001$ für partieller Schlafentzug vs. regulärer Schlaf.

Die Basalwerte von Somatotropin im Serum zeigten für keinen Vergleich zwischen den drei Bedingungen signifikante Unterschiede ($p > 0,18$). Während des Clampversuches stiegen die Werte in allen drei Bedingungen signifikant an ($p < 0,007$), wobei sich zwischen den einzelnen Bedingungen keine Unterschiede in der Dynamik des Anstieges feststellen ließen ($p > 0,18$ für alle Vergleiche; Abb. 11).

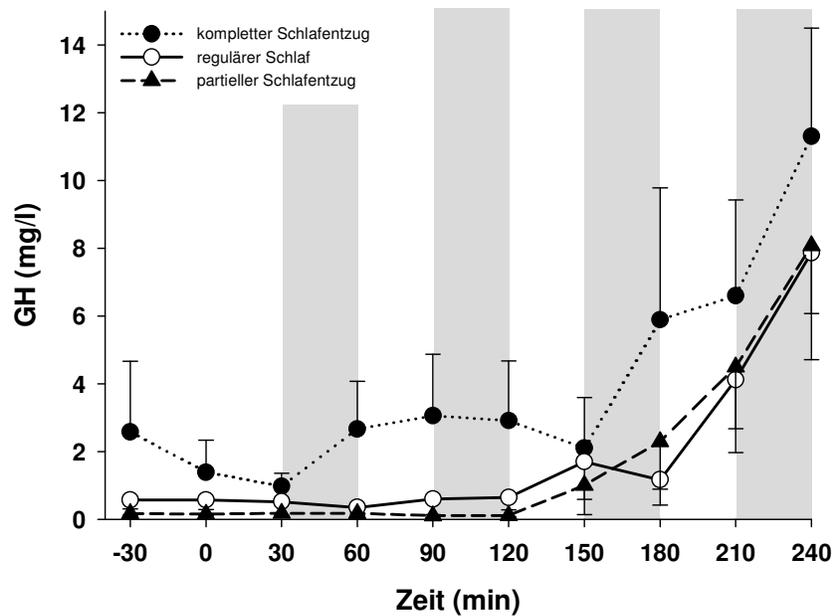


Abb. 11: Somatotropin-Spiegel im Serum in der Baselinephase und während des hypoglykämischen Clampversuches.

Für die Plasmakonzentrationen von Glukagon ergaben sich in der ANOVA über alle Bedingungen ausgeprägte isolierte Effekte für den Faktor „Hypo“ ($p=0,005$) und für den Faktor „Schlaf“ ($p<0,046$). Allerdings konnte kein signifikanter Interaktionseffekt festgestellt werden ($p=0,33$). Nach komplettem Schlafentzug waren die Basalwerte von Glukagon signifikant niedriger als nach regulärem Schlaf (130 ± 18 vs. 155 ± 18 ng/l; $p=0,022$), wobei die Basalwerte nach partiellem Schlafentzug dazwischen lagen (140 ± 21 ng/l). Während der ersten 180 Minuten des Clampversuches fielen die Absolutwerte in allen drei Bedingungen signifikant ab ($p<0,003$). Dabei waren die Werte nach regulärem Schlaf konstant höher als die nach komplettem Schlafentzug ($p<0,025$) bzw. nach partiellem Schlafentzug ($p<0,040$). Am Ende des Clampversuches stiegen die Glukagon-Spiegel in allen drei Bedingungen signifikant an ($p<0,001$), wobei sich diese Dynamik zwischen den Bedingungen nicht unterschied ($p=0,34$; Abb. 12).

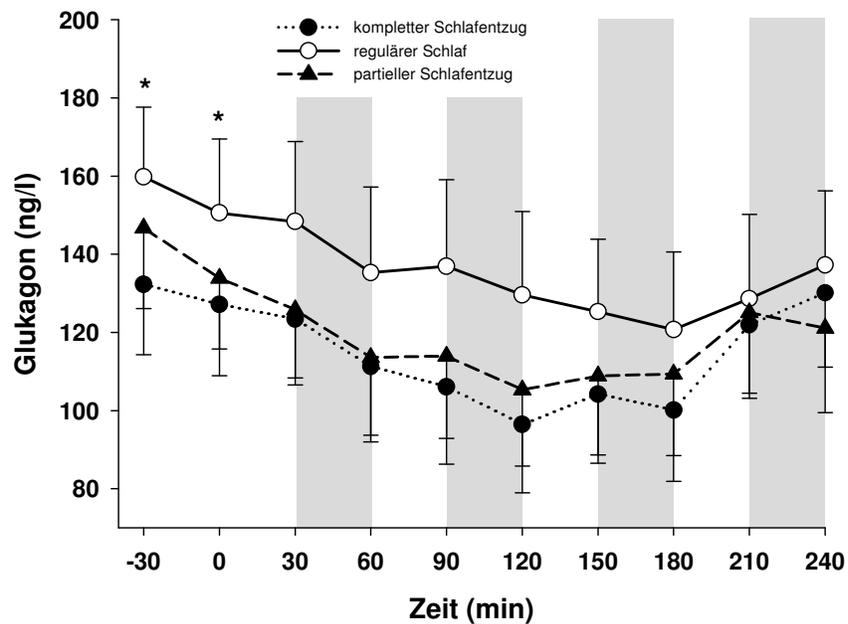


Abb. 12: Glukagon-Spiegel im Plasma in der Baselinephase und während des hypoglykämischen Clampversuches; * $p<0,05$ für regulärer Schlaf vs. kompletter Schlafentzug.

Herzfrequenz und Blutdruck

Die Basalwerte der Herzfrequenz waren nach komplettem Schlafentzug und nach regulärem Schlaf gut vergleichbar ($p=0.50$). Nach partiellem Schlafentzug lagen die morgendlichen Werte jedoch tendenziell niedriger als nach komplettem Schlafentzug (58 ± 2 vs. 63 ± 3 S/min; $p=0.09$). Die Herzfrequenz stieg während des Clampversuches in allen Bedingungen an ($p<0.001$), es konnte jedoch zwischen den einzelnen Bedingungen kein Unterschied im Verlauf nachgewiesen werden ($p=0.87$; Abb. 13).

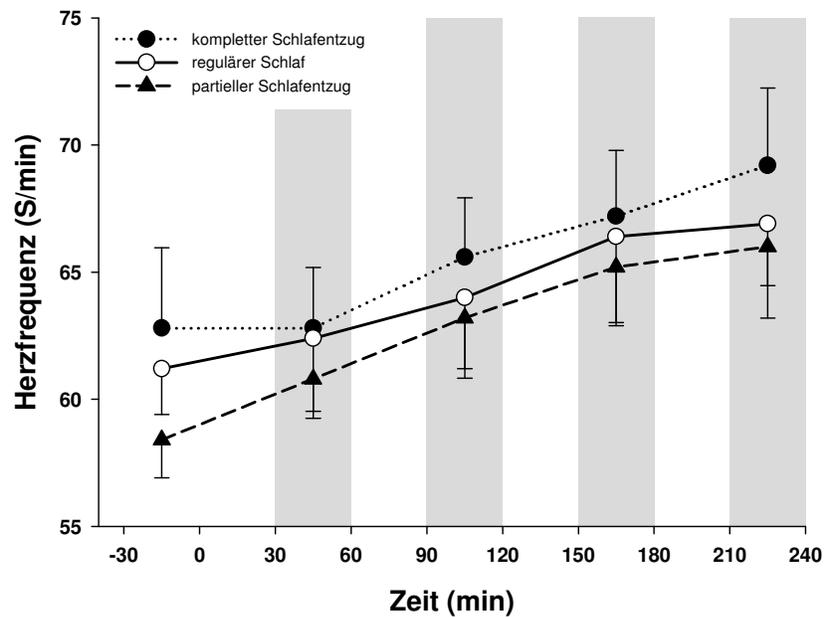


Abb. 13: Herzfrequenzverlauf in der Baselinephase und während des hypoglykämischen Clampversuches.

Bei den systolischen Blutdruckwerten fanden sich weder bei den Basalwerten, noch im Verlauf des Clamps signifikante Unterschiede zwischen den einzelnen Bedingungen ($p > 0,41$), die Hypoglykämie schien nur tendenziell Einfluss zu haben ($p = 0,091$). Auch für die diastolischen Werte ließen sich weder zwischen den Bedingungen noch im Verlauf der Hypoglykämie Unterschiede feststellen ($p > 0,31$; Abb. 14).

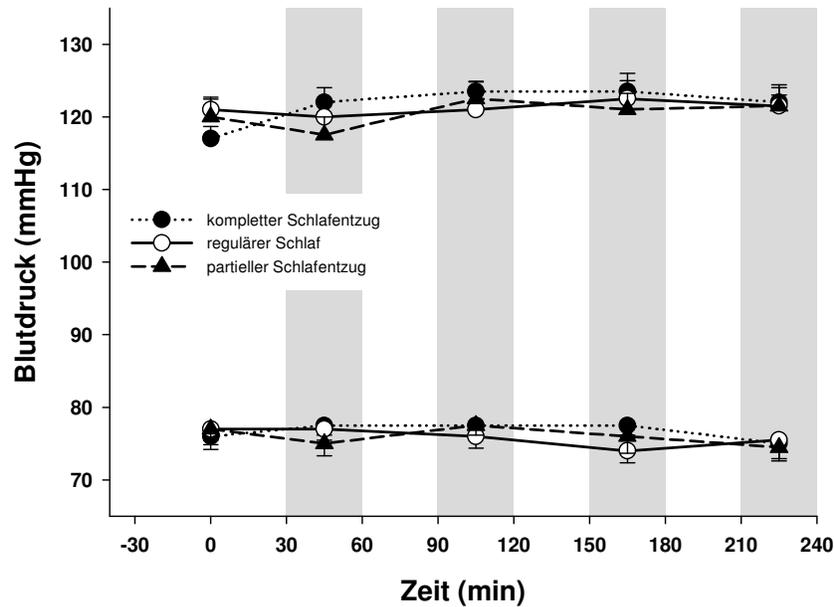


Abb. 14: Blutdruckwerte in der Baselinephase und während des hypoglykämischen Clampversuches.

Symptome

Die mittels Ratingskalen erhobenen autonomen Symptome wurden durch die unterschiedlichen Schlafbedingungen nicht verändert ($p=0,21$ für den Faktor „Schlaf“ in der ANOVA über alle Bedingungen). Die Symptomscores stiegen wie erwartet während der Hypoglykämie an ($p=0,008$; Abb. 15A), wobei es für diesen Anstieg keinen Unterschied zwischen den Bedingungen gab ($p=0,51$ für den „Schlaf“ x „Hypo“ Interaktionseffekt). Im Gegensatz dazu wurde das Empfinden neuroglykopenere Symptome durch die jeweilige Schlafbedingung deutlich beeinflusst ($p=0,005$ für den Faktor „Schlaf“). Diese Unterschiede zeigten sich nicht nur während der morgendlichen Baselinephase, sondern waren auch während der gesamten hypoglykämischen Periode nachweisbar ($p=0,77$ für den „Schlaf“ x „Hypo“ Effekt; Abb. 15B). Einzelvergleiche der morgendlichen Ausgangswerte ergaben deutlich höhere Werte nach komplettem Schlafentzug als nach der Kontrollbedingung ($7,0 \pm 1,7$ vs. $4,7 \pm 1,2$; $p=0,036$). Die Werte nach partiellem Schlafentzug ($5,8 \pm 1,5$) lagen zwischen denen der beiden anderen Bedingungen. Während der anschließenden Hypoglykämie schienen die neuroglykopenen Symptomscores in allen Bedingungen anzusteigen, auch wenn dieser Anstieg kein Signifikanzniveau erreichte ($p=0,11$).

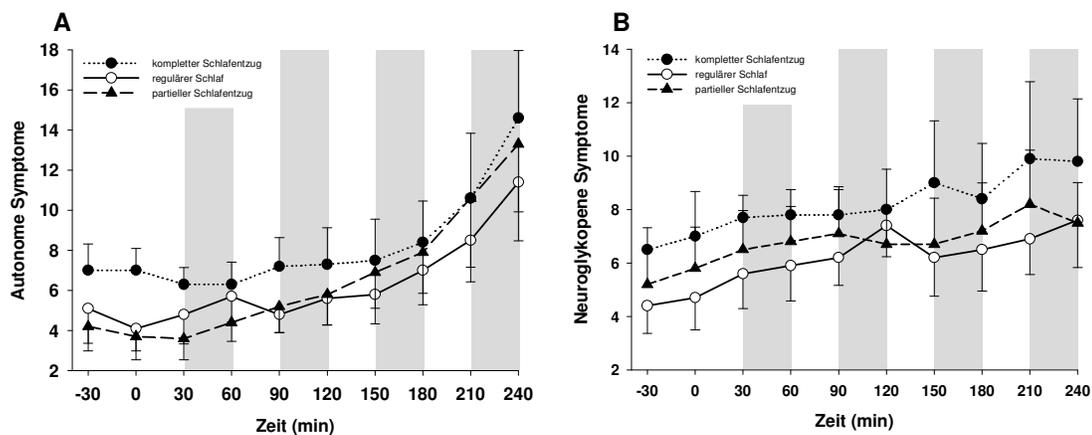


Abb. 15: Autonome (A) und neuroglykopenere (B) Symptome in der Baselinephase und während des hypoglykämischen Clampversuches.

Die statistische Auswertung einzelner Symptome ergab, dass Hunger und Müdigkeit von den erfassten Symptomen als einzige durch die einzelnen Schlafbedingungen beeinflusst wurden ($p < 0,03$ für den Faktor „Schlaf“ in den jeweiligen Vergleichen). Zu Versuchsbeginn am Morgen verspürten die Probanden nach komplettem Schlafentzug deutlich mehr Hunger als nach regulärem Schlaf oder partiellem Schlafentzug ($4,1 \pm 0,6$ vs. $1,5 \pm 0,3$ vs. $1,8 \pm 0,5$; $p < 0,018$ für paarweise Einzelpunktvergleiche). Während der Hypoglykämie stiegen die Hungergefühle an ($p < 0,001$), wobei dieser Anstieg nach den Nächten mit regulärem Schlaf und partiellem Schlafentzug ausgeprägter war als nach komplettem Schlafentzug ($p < 0,034$ für den „Schlaf“ x „Hypo“ Effekt; Abb.16A). Somit war das Niveau der Hungergefühle am Ende der Hypoglykämie in allen Versuchsbedingungen vergleichbar ($p > 0,17$). Erwartungsgemäß war der Grad der Müdigkeit während des gesamten Versuchszeitraumes nach komplettem Schlafentzug am höchsten ($p < 0,001$ für den Faktor „Schlaf“, $p = 0,27$ für den „Schlaf“ x „Hypo“ Interaktionseffekt). Dabei erreichten die Probanden nach komplettem Schlafentzug Müdigkeitslevel von $5,0 \pm 0,4$, sowie $3,6 \pm 0,5$ nach partiellem Schlafentzug und $1,8 \pm 0,4$ nach regulärem Schlaf. Der Grad der Müdigkeit änderte sich dabei nicht während der nachfolgenden Hypoglykämie ($p = 0,10$; Abb. 16B).

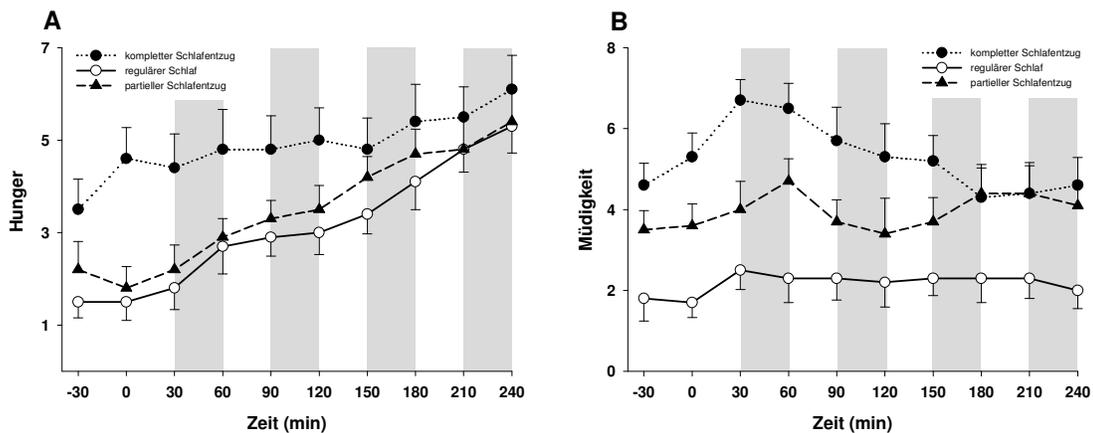


Abb. 16: Hunger (A) und Müdigkeit (B) in der Baselinephase und während des hypoglykämischen Clampversuches.

Diskussion

In der vorliegenden Arbeit wurden der Einfluss von kurzzeitigem komplettem bzw. partiellem Schlafentzug auf die morgendliche sekretorische Aktivität des neuroendokrinen Stress-Systems sowie die hormonelle Hypoglykämie-Gegenregulation bei jungen gesunden Männern untersucht. Ausgangspunkt war die Hypothese, dass Schlafentzug aufgrund erhöhter metabolischer Anforderungen während der verlängerten Wachphase neuroendokrine Systeme aktiviert, welche Glukose mobilisieren und somit die Energieversorgung des Gehirns über den Blutkreislauf sichern. Es konnte gezeigt werden, dass Schlafentzug einen signifikanten Einfluss auf die Basalwerte von Hormonen der Hypoglykämie-Gegenregulation, wie der Hormone der Hypothalamus-Hypophysen-Nebennieren-Achse (HPA-Achse), und auf die Sekretion von Glukagon hat. Die absolute hormonelle Antwort auf eine metabolische Stresssituation in Form einer Hypoglykämie wurde jedoch nicht verändert.

Am deutlichsten zeigten sich die Effekte von Schlafentzug in einer Verringerung der morgendlichen C-Peptid- und Glukagonspiegel, sowie einer Erhöhung des morgendlichen Hungergefühls. Dagegen konnte bei den Insulinkonzentrationen ebenso wie bei den ACTH-, Kortisol-, Noradrenalin- und Adrenalinspiegeln kein Zusammenhang mit der vorhergehenden Schlafdauer nachgewiesen werden. Während der Hypoglykämie kam es in allen Versuchsbedingungen zu einem Anstieg von Glukagon, Wachstumshormon und HPA-Achsen-Aktivität, wobei sich entgegen der Hypothese keine Unterschiede in der gegenregulatorischen Antwort der einzelnen Versuchsbedingungen feststellen ließen.

Schlafentzug und basale neuroendokrine Sekretionsmuster

Nach einer Nacht Schlafentzug konnte eine signifikante Erniedrigung der morgendlichen C-Peptid-Konzentrationen im Plasma festgestellt werden. Man kann annehmen, dass während der verlängerten Wachphase bei Schlafentzug, die noch dazu mit Nahrungskarenz verbunden ist, der Glukoseverbrauch des zentralen Nervensystems (ZNS) und auch anderer Organe im Vergleich zur Schlafbedingung erhöht war (79, 80). Der gesteigerte Energiebedarf wird dabei durch ein Entleeren der körpereigenen Glukosespeicher gedeckt. In diesem Falle könnte eine gesteigerte hepatische

Glukoneogenese, getriggert durch eine Reduktion der sekretorischen β -Zell-Aktivität, wesentlich dazu beitragen, den erhöhten Energiebedarf zu decken. Obwohl die erniedrigten C-Peptidspiegel nach Schlafentzug auf eine Verringerung der sekretorischen β -Zell-Aktivität hindeuten, konnte nach Schlafentzug keine Verringerung der Insulinkonzentrationen gefunden werden. Überdies waren die Plasmakonzentrationen von Glukagon, dem stärksten hormonellen Stimulus der hepatischen Glukoneogenese, nach Schlafentzug nicht erhöht, sondern merklich erniedrigt. Ebenso war nach Schlafentzug die Aktivität zweier weiterer Schlüsselsysteme für die Bereitstellung von Glukose in Stresssituationen, nämlich des sympatho-adrenalen Systems und der HPA-Achse, unverändert oder sogar erniedrigt. Entgegen der Ausgangshypothese wurde die hormonelle Antwort der neuroendokrinen Gegenregulationssysteme auf eine Hypoglykämie durch die untersuchten Schlafentzugsbedingungen in ihrer absoluten Amplitude nicht verändert.

Der bemerkenswerteste Befund dieser Arbeit ist sicherlich der eindeutig inverse Zusammenhang zwischen der Schlafdauer und den morgendlichen Plasmakonzentrationen von Glukagon. Bislang ging man davon aus, dass die Ausschüttung von Glukagon aus den α -Zellen durch den Einfluss von zahlreichen endokrinen und neuronalen Signalen gesteuert wird, welche in erster Linie mit der Aufrechterhaltung der Energiehomöostase in Verbindung gebracht werden (81). Eine derart feste Verknüpfung der Glukagonsekretion mit der nächtlichen Schlafdauer ist in der wissenschaftlichen Literatur bis jetzt nicht beschrieben. Ob dieser Effekt über das autonome Nervensystem oder über andere Mechanismen vermittelt wird, kann anhand der hier erfassten Daten nicht abschließend geklärt werden und bedarf weiterer Forschung. Weiterhin liegt die physiologische Bedeutung dieses neuen und durchaus unerwarteten Befundes noch im Dunkeln.

Es konnte in dieser Arbeit kein Einfluss von Schlafentzug auf die Plasmakonzentrationen von Adrenalin und Noradrenalin nachgewiesen werden. Die basale sekretorische Aktivität der HPA-Achse, welche sich in den Sekretionsmustern von ACTH und Kortisol widerspiegelt, war nach partiellem Schlafentzug sogar vermindert. Die fehlende Aktivierung dieser beiden essentiellen neuroendokrinen Stresssysteme deutet darauf hin, dass Schlafentzug von einer Nacht für den menschlichen Körper im Hinblick auf metabolische Bedürfnisse keinen nachhaltigen Stressreiz darstellt. Anscheinend ist das Ausmaß der Depletion zerebraler Energieressourcen durch eine Nacht Schlafentzug per se nicht ausreichend, um eine

entsprechende gegenregulatorische Antwort der hormonellen Stresssysteme hervorzurufen.

Besonders nach partiellem Schlafentzug war die sekretorische Aktivität der HPA-Achse erniedrigt, was jedoch weniger als Konsequenz der verkürzten Schlafdauer, sondern vielmehr als eine veränderte zeitliche Dynamik der HPA-Antwort auf das Erwachen zu interpretieren ist. Die Probanden wurden in der Bedingung mit partiellem Schlafentzug 2,5 Stunden früher (ca. gegen 03.30 Uhr) geweckt als in der Kontrollbedingung mit regulärer Schlafdauer. Es ist gut belegt, dass Erwachen einen starken Einfluss auf die sekretorische Aktivität der HPA-Achse hat. Frühere Studien konnten eine deutliche Abschwächung der endogenen morgendlichen Aktivierung des HPA-Systems durch verfrühtes Wecken mit nachfolgender Wachheit zeigen (82, 83). Weiterhin induziert unerwartetes Wecken einen steilen Anstieg der Kortisolkonzentration, welchem ein rapider Abfall folgt (84). Nach partiellem Schlafentzug repräsentieren die basalen Messungen um 07.00 Uhr somit den Zustand maximaler HPA-Suppression nach dem Erwachen. Diese Sichtweise wird zudem von der Tatsache gestützt, dass die morgendliche HPA-Aktivität nach komplettem Schlafentzug, also ohne Aufwachreaktion der Probanden, vergleichbar ist mit dem Aktivitätslevel nach der Kontrollbedingung.

Schlafentzug und Hypoglykämie-Gegenregulation

Auch wenn Schlafentzug deutlichen Einfluss auf die basalen Sekretionsmuster der beschriebenen neuroendokrinen Systeme hat, wurde die absolute Amplitude ihrer gegenregulatorischen Antwort auf eine Hypoglykämie durch die einzelnen Schlafbedingungen nicht verändert. Dieses Resultat steht im Gegensatz zur Ausgangshypothese, dass eine durch Schlafentzug herbeigeführte Depletion zentralnervöser Glykogenspeicher die gegenregulatorische Hormonantwort auf eine Hypoglykämie verstärken würde. Andererseits könnten diese Daten auch gegen die Beteiligung zentralnervöser Glykogenspeicher an der Hypoglykämie-Gegenregulation sprechen. Ferner deuten die beschriebenen Unterschiede zwischen den basalen und stressinduzierten neuroendokrinen Sekretionsmustern nach Schlafentzug an, dass es durch moderaten Schlafentzug primär zu einer adaptiven Modulation im Grundtonus neuroendokriner Regulationssysteme kommt. Im Gegensatz dazu wird die dynamische Antwort auf einen starken Stressreiz, wie hier auf eine Hypoglykämie, wohl durch

inhärente Mechanismen geregelt. Diese phasischen Reaktionsmuster sind offensichtlich nicht durch schwache Schwankungen im tonischen Sekretionsmuster beeinflussbar. Das Phänomen, dass Modulationen im basalen Tonus nicht zwingend mit Veränderungen der dynamischen Antwort auf einen starken Stressstimulus verknüpft sind, ist aus der Stressforschung bekannt (85, 86). Die dynamische Stressantwort als „Notfallreaktion“ auf einen potentiell bedrohlichen Stimulus läuft dabei offenbar als äußerst stabiles Muster ab, ohne in der Antwortamplitude wesentlich durch die Ausgangslage des Systems beeinflusst zu werden. Kurzfristiger Schlafentzug scheint ein Faktor zu sein, der zwar in der Lage ist, den basalen Tonus der Stressachse zu verändern, nicht aber die dynamische Antwort auf eine Hypoglykämie, welche für den Organismus einen potentiell bedrohlichen Stimulus darstellt.

Schlafentzug und Hungergefühl

Erhöhte Hungergefühle nach Schlafentzug sind ein weiterer beachtenswerter Befund. Im Gegensatz zu den oben beschriebenen hormonellen Sekretionsmustern spricht die beobachtete Steigerung des Hungergefühls für die Hypothese, dass Schlafentzug zu einer Depletion zentralnervöser Glykogenspeicher führt, welche anschließend durch eine erhöhte Nahrungsaufnahme kompensiert werden muss. Dieser Befund deckt sich auch mit Beobachtungen aus der Gruppe um Spiegel, nach denen zwei Tage Schlafentzug bei jungen Männern zu einer Steigerung von Hunger und Appetit führten (87). In meiner Arbeit zeigte sich darüber hinaus, dass das Hungergefühl der Probanden nach Schlafentzug nur während der euglykämischen Baselinephase höher war als in der Kontrollbedingung. Während der Hypoglykämie, welche per se zu einem starken Anstieg des Hungergefühls führte, verschwand dieser Effekt. Somit war die Erhöhung des Hungergefühls nach Schlafentzug analog zu den hormonellen Veränderungen lediglich während der Baselinephase vorhanden und wurde anschließend durch den Hypoglykämie-induzierten Anstieg des Hungergefühls überdeckt.

Methodische Einschränkungen

Einige methodische Einschränkungen der vorliegenden Untersuchung sollten erwähnt werden. Die These, dass Schlafentzug nicht nur ein Auffüllen der astrozytären Glykogenspeicher verhindert, sondern diese vielmehr weiter entleert (26), konnte mangels der direkten Messung dieser zentralnervösen Speicher weder bestätigt noch

widerlegt werden. Ebenso ist es daher auch nicht möglich, eine abschließende Beurteilung über die Beteiligung astrozytärer Glykogenspeicher an der Gegenregulation während einer Hypoglykämie zu treffen (69, 70). Die (hier fehlende) Auswirkung von Schlafentzug auf dynamische Veränderungen des neuroendokrinen Systems als Antwort auf eine Hypoglykämie mag unter Umständen auch vom Zeitpunkt der Hypoglykämie beeinflusst werden. Der Einfluss von Schlafentzug unterliegt zumindest im Bereich der Vigilanz und subjektiven Müdigkeit tageszeitlichen Schwankungen (88), sodass nicht auszuschließen ist, dass eine später am Tag induzierte Hypoglykämie mit einer anderen hormonellen Antwort einhergegangen wäre, bzw. dass Schlafentzug das metabolische Antwortmuster des Stresssystems zu einem anderen Zeitpunkt durchaus destabilisieren könnte. Des Weiteren wurde in diesen Experimenten ein sehr moderater Schlafentzug von lediglich einer Nacht bei jungen, gesunden und belastbaren Probanden induziert. Es ist durchaus möglich, dass diese Intervention zu schwach war, um eine deutliche Destabilisierung des Stresssystems, d.h. eine Steigerung der basalen Katecholaminausschüttung und eine damit verbundene Erhöhung von Herzfrequenz und Blutdruck, herbeizuführen.

Die Daten dieser Arbeit belegen dennoch, dass kurzzeitiger Schlafentzug zu ausgeprägten Veränderungen in metabolischen Hormonsystemen und im Empfinden von Hunger am nachfolgenden Morgen führt, auch wenn die Antwort auf einen starken metabolischen Stressreiz in Form einer Hypoglykämie unverändert bleibt. Da die Dauer des Schlafentzugs in dieser Arbeit auf lediglich eine Nacht beschränkt war, lassen sich aus den dargestellten Ergebnissen keine Aussagen über Veränderungen von Hormonsystemen oder das Verhalten bei langfristigem Schlafentzug treffen. Entgegen der Erwartungen hatte Schlafentzug keinen Einfluss auf die Spiegel von Insulin sowie der Stresshormone. Die Konzentrationen von C-Peptid und Glukagon waren bisher noch nicht in Zusammenhang mit Schlafentzug gebracht worden, zeigten jedoch eine deutliche Abhängigkeit von der Schlafdauer.

Ausblick

Wie in dieser Arbeit gezeigt, haben Schlaf bzw. sein Ausbleiben deutlichen Einfluss auf basale Sekretionsmuster neuroendokriner Hormone zur Regulation des Glukosestoffwechsels. Da der Glukosestoffwechsel wesentlicher Bestandteil der Energiehomöostase ist, wird Schlafmangel auch zunehmend als Einflussfaktor auf die Gewichtsregulation wahrgenommen (89). So wurde in einer Reihe epidemiologischer

Studien eine Assoziation von kurzer Schlafdauer und Adipositas sowohl bei Erwachsenen (90, 91) als auch bei Kindern (92, 93) gezeigt. Die Mechanismen, über welche Adipositas, Hungergefühle und Schlafdauer verknüpft sind, sind Gegenstand aktueller Forschung. Die hier aufgezeigten Veränderungen im Glukosestoffwechsel sind eine von vielen Möglichkeiten, über welche Schlaf Einfluss auf die Gewichtsregulation nehmen kann. Aber auch direkte Einflüsse von Schlaf auf die Sekretion von Hormonen, welche die Nahrungsaufnahme beeinflussen, sind beschrieben worden (87, 94). Bis zum heutigen Zeitpunkt gibt es jedoch keine Untersuchung zum Einfluss des Schlafs auf das spontane Nahrungsaufnahmeverhalten. Möglicherweise können Daten aus solch einer Studie in Verbindung mit Ergebnissen aus Untersuchungen zum Einfluss des Schlafs auf metabolische Faktoren in Zukunft weitere Einblicke in die Regulation von Körpergewicht und Energiestoffwechsel geben.

Zusammenfassung

Eine steigende Anzahl an Studien deutet auf mögliche adipogene und diabetogene Auswirkungen von verkürzter nächtlicher Schlafdauer hin, wobei Modulationen neuroendokriner Mechanismen als mögliche Vermittler dieser Effekte diskutiert werden. In der vorliegenden Studie wurden die Auswirkungen kurzfristigen Schlafentzugs auf die neuroendokrine Regulation des Blutzuckerspiegels in Ruhe und während Hypoglykämie vor der Hypothese untersucht, dass Schlafentzug über die Aktivierung von neuroendokrinen Signalwegen zu einer Erhöhung des Energieangebots an das ZNS führt.

Bei 10 jungen, gesunden Männern wurden je 3 stufenweise, hyperinsulinämisch-hypoglykämische Clampversuche durchgeführt. In der Nacht vor dem jeweiligen Clampversuch mussten die Probanden einmal die komplette Nacht wach bleiben („kompletter Schlafentzug“), einmal durften sie 4,5 Stunden in der ersten Nachthälfte („partieller Schlafentzug“) und einmal regulär 7 Stunden schlafen („regulärer Schlaf“).

Die morgendlichen Plasmaspiegel von C-Peptid und Glukagon waren nach komplettem Schlafentzug deutlich niedriger als nach regulärem Schlaf, die Konzentrationen nach partiellem Schlafentzug lagen dazwischen. Weiterhin waren die morgendlichen Konzentrationen von ACTH und Kortisol nach partiellem Schlafentzug deutlich vermindert, wobei davon auszugehen ist, dass durch das verfrühte Aufwecken lediglich eine zeitliche Verschiebung der Stressachsen-Antwort in die frühen Morgenstunden stattgefunden hat und die Aufwachreaktion per se analog zur Kontrollbedingung abgelaufen ist. Die Basalwerte von Adrenalin, Noradrenalin und Wachstumshormon waren in allen Bedingungen gut vergleichbar. Wider Erwarten wurde die absolute neuroendokrine Hypoglykämie-Gegenregulation durch Schlafentzug nicht beeinflusst.

Zusammenfassend kann festgehalten werden, dass kurzfristiger Schlafentzug die basalen Sekretionsmuster Blutzucker-regulierender Hormone deutlich beeinflusst, wobei die morgendlichen Glukagonspiegel überraschenderweise vermindert werden. Die absolute Reagibilität der neuroendokrinen Stressantwort auf eine Hypoglykämie wird jedoch nicht erhöht. Die ausgeprägten Veränderungen im basalen Sekretionsmuster von C-Peptid und Glukagon deuten auf eine besondere Rolle dieser endokrinen Parameter im Zusammenspiel von Schlaf und hormoneller Regulation des Energiehaushaltes hin.

Literaturverzeichnis

1. Wyatt SB, Winters KP, Dubbert PM: Overweight and obesity: prevalence, consequences, and causes of a growing public health problem. *Am.J.Med.Sci.* 331:166-174, 2006
2. Ford ES, Giles WH, Mokdad AH: Increasing prevalence of the metabolic syndrome among u.s. Adults. *Diabetes Care* 27:2444-2449, 2004
3. National Sleep Foundation. "Sleep in America" Poll. 2000. National Sleep Foundation, Washington DC.
4. National Sleep Foundation. "Sleep in America" Poll. 2001. National Sleep Foundation, Washington DC.
5. National Sleep Foundation. "Sleep in America" Poll. 2002. National Sleep Foundation, Washington DC.
6. Thomas SJ: Basic principles of polysomnography including electrical concepts. *Respir.Care Clin.N.Am.* 11:587-95, vii, 2005
7. Christian W: *Klinische Enkelektroencephalographie. Lehrbuch und Atlas. 3. überarbeitete und erweiterte Auflage.* Stuttgart und New York, Thieme; 15-43, 1982
8. Rechtschaffen A, Kales A: A manual for standardized terminology, techniques, and scoring system for sleep stages of human subjects. *Neurological Information Network* 1993
9. Jovanovic' UJ: *Normal Sleep In Man: An experimental contribution to our knowledge of the phenomenology of sleep.* Stuttgart, Hippokrates, 1971
10. Koella WP: *Physiologie des Schlafes.* Stuttgart, Urban Taschenbücher, 174, 1973
11. Voss U: Functions of sleep architecture and the concept of protective fields. *Rev.Neurosci.* 15:33-46, 2004
12. Zee PC, Turek FW: *Introduction to sleep and circadian rhythm. In: Regulation of sleep and circadian rhythm (Zee PC, Turek FW, eds).* New York, Marcel Dekker, Inc.; 1-18, 1999

13. Born J, Pietrowsky R, Plihal W, Fehm HL: *Forum Streß- und Schlafforschung. Aktuelle psychophysiologische Schlafforschung. Beiträge zur Stress- und Schlafforschung.* Münster, Lit-Verlag; 68-96, 1995
14. Pourmotabbed G, Kitabchi AE: Hypoglycemia. *Obstet. Gynecol. Clin. North Am.* 28:383-400, 2001
15. Field JB: Hypoglycemia. Definition, clinical presentations, classification, and laboratory tests. *Endocrinol. Metab Clin. North Am.* 18:27-43, 1989
16. Boyle PJ, Schwartz NS, Shah SD, Clutter WE, Cryer PE: Plasma glucose concentrations at the onset of hypoglycemic symptoms in patients with poorly controlled diabetes and in nondiabetics. *N. Engl. J. Med.* 318:1487-1492, 1988
17. Chan JC, Cockram CS, Critchley JA: Drug-induced disorders of glucose metabolism. Mechanisms and management. *Drug Saf* 15:135-157, 1996
18. Banarer S, Cryer PE: Hypoglycemia in type 2 diabetes. *Med. Clin. North Am.* 88:1107-xiii, 2004
19. de Herder WW: Insulinoma. *Neuroendocrinology* 80 Suppl 1:20-22, 2004
20. Ten S, New M, Maclaren N: Clinical review 130: Addison's disease 2001. *J. Clin. Endocrinol. Metab* 86:2909-2922, 2001
21. Gerich JE, Mokan M, Veneman T, Korytkowski M, Mitrakou A: Hypoglycemia unawareness. *Endocr. Rev.* 12:356-371, 1991
22. Donald D Clarke, Louis Sokoloff: *Circulation and Energy Metabolism of the Brain. In Basic Neurochemistry.* Eds. Philadelphia, Lippincott Williams & Wilkins, 1998
23. Towler DA, Havlin CE, Craft S, Cryer P: Mechanism of awareness of hypoglycemia. Perception of neurogenic (predominantly cholinergic) rather than neuroglycopenic symptoms. *Diabetes* 42:1791-8., 1993
24. Veneman T, Mitrakou A, Mokan M, Cryer PE, Gerich J: Induction of hypoglycemia unawareness by asymptomatic nocturnal hypoglycemia. *Diabetes* 42:1233-1237, 1993
25. Cryer PE, Fisher JN, Shamon H: Hypoglycemia. *Diabetes Care* 17:734-755, 1994

26. Brown AM: Brain glycogen re-awakened. *J Neurochem* 89:537-552, 2004
27. Strachan MW, Deary IJ, Ewing FM, Ferguson SS, Young MJ, Frier BM: Acute hypoglycemia impairs the functioning of the central but not peripheral nervous system. *Physiol Behav.* 72:83-92, 2001
28. Rosenthal JM, Amiel SA, Yaguez L, Bullmore E, Hopkins D, Evans M, Pernet A, Reid H, Giampietro V, Andrew CM, Suckling J, Simmons A, Williams SC: The effect of acute hypoglycemia on brain function and activation: a functional magnetic resonance imaging study. *Diabetes* 2001.Jul;50(7):1618-26. 50:1618-26., 2001
29. Evans ML, Pernet A, Lomas J, Jones J, Amiel SA: Delay in onset of awareness of acute hypoglycemia and of restoration of cognitive performance during recovery. *Diabetes Care* 23:893-897, 2000
30. Draelos MT, Jacobson AM, Weinger K, Widom B, Ryan CM, Finkelstein DM, Simonson DC: Cognitive function in patients with insulin-dependent diabetes mellitus during hyperglycemia and hypoglycemia. *Am.J.Med.* 98:135-144, 1995
31. Charfen MA, Fernandez-Frackelton M: Diabetic ketoacidosis. *Emerg.Med.Clin.North Am.* 23:609-28, vii, 2005
32. Squadrito G, Cucinotta D: The late complications of diabetes mellitus. *Ann.Ital.Med.Int.* 6:126-136, 1991
33. Borg WP, Sherwin RS, Daring MJ, Borg MA, Shulman GI: Local ventromedial hypothalamus glucopenia triggers counterregulatory hormone release. *Diabetes* 44:180-184, 1995
34. Borg MA, Sherwin RS, Borg WP, Tamborlane WV, Shulman GI: Local ventromedial hypothalamus glucose perfusion blocks counterregulation during systemic hypoglycemia in awake rats. *J Clin Invest* 99:361-365, 1997
35. Peters A, Schweiger U, Pellerin L, Hubold C, Oltmanns KM, Conrad M, Schultes B, Born J, Fehm HL: The selfish brain: competition for energy resources. *Neurosci.Biobehav.Rev.* 28:143-180, 2004
36. Lager I: The insulin-antagonistic effect of the counterregulatory hormones. *J.Intern.Med.Suppl* 735:41-47, 1991
37. Cryer PE, Davis SN, Shamoon H: Hypoglycemia in diabetes. *Diabetes Care* 26:1902-1912, 2003

38. Cryer PE: Glucose counterregulation: prevention and correction of hypoglycemia in humans. *Am.J.Physiol* 264:E149-E155, 1993
39. Dinneen S, Gerich J, Rizza R: Carbohydrate metabolism in non-insulin-dependent diabetes mellitus. *N.Engl.J.Med.* 327:707-713, 1992
40. Cersosimo E, Garlick P, Ferretti J: Renal glucose production during insulin-induced hypoglycemia in humans. *Diabetes* 48:261-266, 1999
41. Peters A, Schweiger U, Fruhwald-Schultes B, Born J, Fehm HL: The neuroendocrine control of glucose allocation. *Exp.Clin.Endocrinol.Diabetes* 110:199-211, 2002
42. Mitrakou A, Ryan C, Veneman T, Moka M, Jenssen T, Kiss I, Durrant J, Cryer P, Gerich J: Hierarchy of glycemic thresholds for counterregulatory hormone secretion, symptoms, and cerebral dysfunction. *Am.J.Physiol.* 260:E67-74, 1991
43. Schwartz NS, Clutter WE, Shah SD, Cryer PE: Glycemic thresholds for activation of glucose counterregulatory systems are higher than the threshold for symptoms. *J.Clin.Invest* 79:777-781, 1987
44. Paramore DS, Fanelli CG, Shah SD, Cryer PE: Hypoglycemia per se stimulates sympathetic neural as well as adrenomedullary activity, but, unlike the adrenomedullary response, the forearm sympathetic neural response is not reduced after recent hypoglycemia. *Diabetes* 48:1429-1436, 1999
45. Dagogo-Jack SE, Craft S, Cryer PE: Hypoglycemia-Associated Autonomic Failure in Insulin-Dependent Diabetes Mellitus. Recent Antecedent Hypoglycemia Reduces Autonomic Response to, Symptoms of, and Defense Against Subsequent Hypoglycemia. *J Clin Invest* 91:819-828, 1993
46. Gerich J, Cryer P, Rizza R: Hormonal mechanisms in acute glucose counterregulation: the relative roles of glucagon, epinephrine, norepinephrine, growth hormone, and cortisol. *Metabolism* 29:1164-1175, 1980
47. Popp DA, Shah SD, Cryer PE: Role of epinephrine-mediated beta-adrenergic mechanisms in hypoglycemic glucose counterregulation and posthypoglycemic hyperglycemia in insulin-dependent diabetes mellitus. *J.Clin.Invest* 69:315-326, 1982
48. Berneis K, Keller U: Metabolic actions of growth hormone: direct and indirect. *Baillieres Clin.Endocrinol.Metab* 10:337-352, 1996

49. Bolli GB, Gottesman IS, Cryer PE, Gerich JE: Glucose counterregulation during prolonged hypoglycemia in normal humans. *Am.J.Physiol* 247:E206-E214, 1984
50. Gerich J, Cryer P, Rizza R: Hormonal mechanisms in acute glucose counterregulation: the relative roles of glucagon, epinephrine, norepinephrine, growth hormone, and cortisol. *Metabolism* 29:1164-1175, 1980
51. Andrews RC, Walker BR: Glucocorticoids and insulin resistance: old hormones, new targets. *Clin.Sci.(Lond)* 96:513-523, 1999
52. Vranic M, Miles P, Rastogi K, Yamatani K, Shi Z, Lickley L, Hetenyi G, Jr.: Effect of stress on glucoregulation in physiology and diabetes. *Adv.Exp.Med.Biol.* 291:161-183, 1991
53. Spiegel K, Knutson K, Leproult R, Tasali E, Van CE: Sleep loss: a novel risk factor for insulin resistance and Type 2 diabetes. *J Appl Physiol* 99:2008-2019, 2005
54. Schultes B, Schmid S, Peters A, Born J, Fehm HL: Sleep loss and the development of diabetes: a review of current evidence. *Exp Clin Endocrinol Diabetes* 113:563-567, 2005
55. Ayas NT, White DP, Al Delaimy WK, Manson JE, Stampfer MJ, Speizer FE, Patel S, Hu FB: A prospective study of self-reported sleep duration and incident diabetes in women. *Diabetes Care* 26:380-384, 2003
56. Nilsson PM, Roost M, Engstrom G, Hedblad B, Berglund G: Incidence of diabetes in middle-aged men is related to sleep disturbances. *Diabetes Care* 27:2464-2469, 2004
57. Kawakami N, Takatsuka N, Shimizu H: Sleep disturbance and onset of type 2 diabetes. *Diabetes Care* 27:282-283, 2004
58. Mallon L, Broman JE, Hetta J: High incidence of diabetes in men with sleep complaints or short sleep duration: a 12-year follow-up study of a middle-aged population. *Diabetes Care* 28:2762-2767, 2005
59. Meisinger C, Heier M, Loewel H: Sleep disturbance as a predictor of type 2 diabetes mellitus in men and women from the general population. *Diabetologia* 48:235-241, 2005

60. Resnick HE, Redline S, Shahar E, Gilpin A, Newman A, Walter R, Ewy GA, Howard BV, Punjabi NM: Diabetes and sleep disturbances: findings from the Sleep Heart Health Study. *Diabetes Care* 26:702-709, 2003
61. Spiegel K, Leproult R, van Cauter E: Impact of sleep debt on metabolic and endocrine function. *Lancet* 354:1435-1439, 1999
62. Leproult R, Copinschi G, Buxton O, van Cauter E: Sleep loss results in an elevation of cortisol levels the next evening. *Sleep* 20:865-870, 1997
63. Born J, Lange T, Hansen K, Molle M, Fehm HL: Effects of sleep and circadian rhythm on human circulating immune cells. *J.Immunol.* 158:4454-4464, 1997
64. Maquet P, Dive D, Salmon E, Sadzot B, Franco G, Poirrier R, von Frenckell R, Franck G: Cerebral glucose utilization during sleep-wake cycle in man determined by positron emission tomography and [18F]2-fluoro-2-deoxy-D-glucose method. *Brain Res.* 513:136-143, 1990
65. Maquet P: Sleep function(s) and cerebral metabolism. *Behav.Brain Res.* 69:75-83, 1995
66. Palladin A.V.: *Biochemistry of the Nervous System.* 1965
67. Karnovsky ML, Reich P, Anchors JM, Burrows BL: Changes in brain glycogen during slow-wave sleep in the rat. *J.Neurochem.* 41:1498-1501, 1983
68. Benington JH, Heller HC: Restoration of brain energy metabolism as the function of sleep. *Prog.Neurobiol.* 45:347-360, 1995
69. Gruetter R: Glycogen: the forgotten cerebral energy store. *J Neurosci Res* 74:179-183, 2003
70. Choi IY, Seaquist ER, Gruetter R: Effect of hypoglycemia on brain glycogen metabolism in vivo. *J.Neurosci.Res.* 72:25-32, 2003
71. Fruehwald-Schultes B, Kern W, Deininger E, Wellhoener P, Kerner W, Born J, Fehm HL, Peters A: Protective effect of insulin against hypoglycemia-associated counterregulatory failure. *J.Clin.Endocrinol.Metab.* 84:1551-1557, 1999
72. Heller SR, Cryer PE: Reduced neuroendocrine and symptomatic responses to subsequent hypoglycemia after 1 episode of hypoglycemia in nondiabetic humans. *Diabetes* 40:223-226, 1991

73. Davis SN, Shavers C, Mosqueda-Garcia R, Costa F: Effects of differing antecedent hypoglycemia on subsequent counterregulation in normal humans. *Diabetes* 46:1328-1335, 1997
74. Dagogo-Jack S: Hypoglycemia in type 1 diabetes mellitus: pathophysiology and prevention. *Treat.Endocrinol.* 3:91-103, 2004
75. Cryer PE: Mechanisms of hypoglycemia-associated autonomic failure and its component syndromes in diabetes. *Diabetes* 54:3592-3601, 2005
76. Cryer PE: Mechanisms of sympathoadrenal failure and hypoglycemia in diabetes. *J.Clin.Invest* 116:1470-1473, 2006
77. DeFronzo RA, Tobin JD, Andres R: Glucose clamp technique: a method for quantifying insulin secretion and resistance. *Am.J.Physiol* 237:E214-E223, 1979
78. Liu D, Moberg E, Kollind M, Lins PE, Adamson U, Macdonald IA: Arterial, arterialized venous, venous and capillary blood glucose measurements in normal man during hyperinsulinaemic euglycaemia and hypoglycaemia. *Diabetologia* 35:287-290, 1992
79. Boyle PJ, Scott JC, Krentz AJ, Nagy RJ, Comstock E, Hoffman C: Diminished brain glucose metabolism is a significant determinant for falling rates of systemic glucose utilization during sleep in normal humans. *J.Clin.Invest* 93:529-535, 1994
80. Nofzinger EA, Buysse DJ, Miewald JM, Meltzer CC, Price JC, Sembrat RC, Ombao H, Reynolds CF, Monk TH, Hall M, Kupfer DJ, Moore RY: Human regional cerebral glucose metabolism during non-rapid eye movement sleep in relation to waking. *Brain* 125:1105-1115, 2002
81. Dunning BE, Foley JE, Ahren B: Alpha cell function in health and disease: influence of glucagon-like peptide-1. *Diabetologia* 48:1700-1713, 2005
82. Spath-Schwalbe E, Gofferje M, Kern W, Born J, Fehm HL: Sleep disruption alters nocturnal ACTH and cortisol secretory patterns. *Biol.Psychiatry* 29:575-584, 1991
83. Spath-Schwalbe E, Scholler T, Kern W, Fehm HL, Born J: Nocturnal adrenocorticotropin and cortisol secretion depends on sleep duration and decreases in association with spontaneous awakening in the morning. *J.Clin.Endocrinol.Metab* 75:1431-1435, 1992

84. Born J, Hansen K, Marshall L, Molle M, Fehm HL: Timing the end of nocturnal sleep. *Nature* 397:29-30, 1999
85. Ockenfels MC, Porter L, Smyth J, Kirschbaum C, Hellhammer DH, Stone AA: Effect of chronic stress associated with unemployment on salivary cortisol: overall cortisol levels, diurnal rhythm, and acute stress reactivity. *Psychosom.Med.* 57:460-467, 1995
86. Cohen H, Kotler M, Matar MA, Kaplan Z, Loewenthal U, Miodownik H, Cassuto Y: Analysis of heart rate variability in posttraumatic stress disorder patients in response to a trauma-related reminder. *Biol.Psychiatry* 44:1054-1059, 1998
87. Spiegel K, Tasali E, Penev P, van Cauter E: Brief communication: Sleep curtailment in healthy young men is associated with decreased leptin levels, elevated ghrelin levels, and increased hunger and appetite. *Ann.Intern.Med.* 141:846-850, 2004
88. Dinges DF, Pack F, Williams K, Gillen KA, Powell JW, Ott GE, Aptowicz C, Pack AI: Cumulative sleepiness, mood disturbance, and psychomotor vigilance performance decrements during a week of sleep restricted to 4-5 hours per night. *Sleep* 20:267-277, 1997
89. Schmid S, Schultes B: Schlafmangel - Risikofaktor für Diabetes und Adipositas? *Diabetologie und Stoffwechsel* 1: 2006
90. Taheri S, Lin L, Austin D, Young T, Mignot E: Short Sleep Duration Is Associated with Reduced Leptin, Elevated Ghrelin, and Increased Body Mass Index. *PLoS.Med.* 1:e62, 2004
91. Vorona RD, Winn MP, Babineau TW, Eng BP, Feldman HR, Ware JC: Overweight and obese patients in a primary care population report less sleep than patients with a normal body mass index. *Arch Intern Med* 165:25-30, 2005
92. Sekine M, Yamagami T, Handa K, Saito T, Nanri S, Kawaminami K, Tokui N, Yoshida K, Kagamimori S: A dose-response relationship between short sleeping hours and childhood obesity: results of the Toyama Birth Cohort Study. *Child Care Health Dev.* 28:163-170, 2002
93. Locard E, Mamelie N, Billette A, Miginiac M, Munoz F, Rey S: Risk factors of obesity in a five year old population. Parental versus environmental factors. *Int J Obes Relat Metab Disord* 16:721-729, 1992

94. Gangwisch JE, Malaspina D, Boden-Albala B, Heymsfield SB: Inadequate sleep as a risk factor for obesity: analyses of the NHANES I. *Sleep* 28:1289-1296, 2005

Verzeichnis der Abbildungen und Tabellen

Abbildungen

Abb. 1: <i>Typisches Somnogramm eines gesunden Erwachsenen (13)</i>	4
Abb. 2: <i>Schematische Darstellung möglicher Pathomechanismen, über welche verkürzte Schlafdauer den Glukosestoffwechsel beeinflusst.</i>	9
Abb. 3: <i>Organigramm des Studienablaufs</i>	14
Abb. 4: <i>Verlauf der Blutglukosekonzentrationen in der Baselinephase und während des hypoglykämischen Clampversuches.</i>	19
Abb. 5: <i>Insulinkonzentrationen im Serum in der Baselinephase und während des hypoglykämischen Clampversuches.</i>	20
Abb. 6: <i>C-Peptid-Plasma-Konzentrationen während der Baselinephase und während des hypoglykämischen Clampversuches.</i>	21
Abb. 7: <i>Adrenalinkonzentrationen im Plasma während der Baselinephase und während des hypoglykämischen Clampversuches.</i>	23
Abb. 8: <i>Noradrenalinkonzentrationen im Plasma während der Baselinephase und während des hypoglykämischen Clampversuches.</i>	24
Abb. 9: <i>ACTH-Konzentrationen im Plasma in der Baselinephase und während des hypoglykämischen Clampversuches.</i>	25
Abb. 10: <i>Kortisol-Spiegel im Serum in der Baselinephase und während des hypoglykämischen Clampversuches.</i>	26
Abb. 11: <i>Somatotropin-Spiegel im Serum in der Baselinephase und während des hypoglykämischen Clampversuches.</i>	27
Abb. 12: <i>Glukagon-Spiegel im Plasma in der Baselinephase und während des hypoglykämischen Clampversuches.</i>	28

Abb. 13: <i>Herzfrequenzverlauf in der Baselinephase und während des hypoglykämischen Clampversuches.</i>	29
Abb. 14: <i>Blutdruckwerte in der Baselinephase und während des hypoglykämischen Clampversuches.</i>	30
Abb. 15: <i>Autonome (A) und neuroglykopene (B) Symptome in der Baselinephase und während des hypoglykämischen Clampversuches.</i>	31
Abb. 16: <i>Hunger (A) und Müdigkeit (B) in der Baselinephase und während des hypoglykämischen Clampversuches.</i>	32

Tabellen

Tabelle 1: <i>Schlafparameter während der regulären Schlaf-Nacht und der Nacht mit partiellem Schlafentzug.</i>	18
Tabelle 2: <i>Infusion einer 20%igen Glukoselösung während des hypoglykämischen Clampversuches.</i>	22

Danksagung

Ich bedanke mich herzlich bei Herrn **Prof. Dr. H.L. Fehm** für die Bereitstellung aller erforderlichen Mittel und Räumlichkeiten.

Mein ganz besonderer Dank gilt Herrn **PD Dr. Bernd Schultes** für die Überlassung des Themas, die hervorragende Betreuung dieser Studie und die sehr gute wissenschaftliche Zusammenarbeit, ohne die diese Arbeit nicht möglich gewesen wäre.

Dr. Manfred Hallschmid bin ich für stete Hilfestellung bei Fragen zur Statistik zu besonderem Dank verpflichtet und auch **Dr. Volker Merl** gilt mein Dank für die gute Zusammenarbeit. **Christiane Otten** und **Ingrid von Lützu** danke ich für die Bestimmung der Hormonkonzentrationen und ihre stete Hilfsbereitschaft. Für die organisatorische Hilfestellung im Schlaflabor bedanke ich mich an dieser Stellung ebenso ausdrücklich.

Nicht zuletzt gilt mein besonderer Dank **Nadine Bandorf**, ohne deren Hilfe die Durchführung der Studie nicht möglich gewesen wäre.

Veröffentlichung im *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism (JCEM)*

View Final Author Letter

MS Title:	Sleep loss alters basal metabolic hormone secretion and modulates the dynamic counterregulatory response to hypoglycemia
MS Number:	06-2788 Version 3
MS Type:	Original Studies
Section:	No section assigned.

Author Letter:

Bernd Schultes
University of Luebeck
Internal medicine 1
Ratzeburger Allee 160
Luebeck
Germany

Dear Dr. Schultes:

We are pleased to inform you that your manuscript, # 06-2788 Version 3: "Sleep loss alters basal metabolic hormone secretion and modulates the dynamic counterregulatory response to hypoglycemia", has been accepted for publication in *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. Your paper will be published online within a few days and can be viewed at: <http://jcem.endojournals.org>.

The print version of your manuscript will appear in approximately three months. You will receive page proofs by email as a PDF attachment one month before publication. If you do not, please contact Erin Richardson at Cadmus Professional Communications to inquire (richardson@cadmus.com). The page proofs will be accompanied by an invoice for publication charges.

Congratulations on acceptance of your manuscript. Thank you for giving us the opportunity to review and publish your paper.

Sincerely,

Paul W. Ladenson, M.D.
Editor-in-Chief

**Sleep loss alters basal metabolic hormone secretion and modulates the
dynamic counterregulatory response to hypoglycemia**

Short title: Sleep loss and glucose regulation

Sebastian M. Schmid¹, Manfred Hallschmid², Kamila Jauch-Chara¹,

Nadine Bandorf¹, Jan Born², Bernd Schultes^{1,3}

Departments of ¹Internal Medicine I and ²Neuroendocrinology, University of Luebeck,
D-23538 Luebeck, Germany; ³Interdisciplinary Obesity Center East-Switzerland,
Kantonsspital St. Gallen, CH-9400 Rorschach, Switzerland

Address correspondence to:

Bernd Schultes, M.D.

Interdisciplinary Obesity Center East-Switzerland

Kantonsspital St. Gallen

CH-9400 Rorschach

Switzerland

Phone: 0041-(0)71-858 3624

Fax: 0041-(0)71-858 3629

Email: schultes@kfg.uni-luebeck.de

DISCLOSURE STATEMENT: The authors have nothing to disclose

Keywords: sleep loss, hunger, neuroendocrine counterregulation, brain glucose
metabolism, cerebral glycogen

Word count: 250 (Abstract); 3567 (Main text); 5 figures

Abstract

Context: Sleep loss has immediate effects on metabolic function which in the long run may contribute to the development of obesity and type 2 diabetes.

Objective: To explore the neuroendocrine mechanisms mediating the acute effects of sleep deprivation on blood glucose regulation under basal and hypoglycemic conditions.

Methods: In a randomized, cross-over study in 10 healthy young men, plasma concentrations of relevant hormones were examined during basal rest, a subsequent stepwise hypoglycemic clamp following one night of total sleep deprivation ('SD') and one night of regular sleep.

Results: Basal glucagon concentrations were decreased ($P=0.022$) and C-peptide levels were slightly reduced after SD ($P=0.085$), compared with regular sleep. During hypoglycemia after SD, the glucagon increase relative to baseline was enhanced ($P=0.034$) and the relative decrease in C-peptide was reduced ($P=0.013$). Also, the relative increase in norepinephrine was reduced ($P=0.031$). SD did not affect epinephrine, ACTH, cortisol, lactate, β -hydroxy-butyrate, nor non esterified fatty acid (NEFA) during hypoglycemia, but overall plasma NEFA levels were reduced after SD ($P=0.009$). SD markedly increased rated hunger during basal rest ($P<0.008$), resulting in a dampened relative increase during hypoglycemia ($P<0.009$). Unexpectedly, despite distinct alterations in basal secretory activity, the absolute amplitude of hormonal counterregulation and hunger responses to hypoglycemia was not affected by SD.

Conclusion: Short-term SD distinctly alters hormonal glucose regulation, affecting especially pancreatic islet secretion and also increases hunger. Immediate perturbations in the dynamic regulation of energy metabolism caused by acute sleep curtailment may contribute to the association between chronic sleep loss and metabolic disorders.

Introduction

A growing body of data indicates that sleep considerably impacts the regulation of glucose metabolism (1; 2). Epidemiological studies (3-8) suggest that a chronic sleep deficit can promote the development of type 2 diabetes. Experimental attempts to enlighten the causality of this relationship are still rare. A most compelling study on this issue was performed by Spiegel et al. in healthy young men (9). In these experiments, a limitation of sleep to 4 hours per night for 6 consecutive days markedly impaired glucose tolerance. The effect was accompanied by increased activity of the sympathetic nervous system (SNS) and by increased evening plasma cortisol levels, suggesting a neuroendocrine mediation of the detrimental influence of sleep loss on glucose metabolism.

Beside its activating influence on neuroendocrine stress systems, sleep loss may affect glucose regulation by influencing cerebral glucose utilization and storage. Sleep, and especially slow wave sleep (SWS), i.e., the deepest form of non-rapid eye movement (NonREM) sleep, represents a state when the brain's glucose demand is at a minimum (10; 11). Although data are not unequivocal (12), it has been proposed that brain glucose stores, in form of astrocytic glycogen, are replenished during sleep (13; 14). Sleep loss characterized by a wake-associated globally increased energy demand may thus prevent replenishment and induce further depletion of energy stores. Accordingly, sleep loss is expected to promote neuroendocrine regulation towards hyperglycemia, thereby enhancing the supply of glucose to the brain via the blood stream (15). Specifically, availability of blood glucose to the brain can be enhanced by reducing the release of insulin and increasing the release of glucagon and neuroendocrine stress hormones such as cortisol and catecholamines (16). In

addition to these neuroendocrine adaptive processes, increases in hunger and food intake after sleep loss may serve to ensure sufficient energy supply to the brain (17). Such hormonal and behavioral responses to sleep loss may not only occur during basal rest conditions, but might be particularly pronounced when the organism is challenged by additional metabolic stress such as hypoglycemia enforcing acute counterregulation.

Based on the assumption that sleep loss depletes brain glycogen stores and aggravates neuroglycopenia, we hypothesized that depriving subjects of sleep during a single night enhances basal activity of metabolic neuroendocrine systems as well as the counterregulatory response to hypoglycemia on the following day. In order to test this hypothesis, 10 healthy men were tested during a baseline period and a subsequent stepwise hypoglycemic clamp following one night of total sleep deprivation (SD) or a control night with 7 h of regular sleep.

Research design and methods

Subjects

We studied 10 healthy young men aged 20 to 40 years (mean \pm SEM: 25.3 ± 1.4 years) with a mean body mass index between 20.7 and 25.0 kg/m² (23.8 ± 0.5 kg/m²). All subjects had a regular sleep-wake cycle during the last four weeks before the experiment. Exclusion criteria were chronic or acute illness, current medication of any kind, smoking, alcohol or drug abuse, obesity and diabetes in first degree relatives. The study protocol was approved by the ethics committee of the University of Luebeck and all participants gave written informed consent.

Study Design and Procedure

Participants were tested after a night of total sleep deprivation ('SD') and after a night with 7 h regular sleep ('regular

sleep'). Conditions were spaced at least 2 weeks apart and performed in a randomized and balanced order. After each night, subjects were exposed to a stepwise hypoglycemic clamp experiment performed as described below. Results of a further experimental condition including partial sleep deprivation (4.5 h sleep) are not reported since this condition essentially yielded intermediate effects that appear to be of minor relevance.

Participants arrived at the research unit at 2100 h. Before arriving subjects had eaten a light dinner and after 2100 h they were only allowed to drink water. Following preparation of polysomnographical recordings participants went to bed. In the regular sleep condition, lights were turned off at 2200 h and subjects were allowed to sleep until 0600 h with concomitant polysomnographic sleep recordings that were scored offline according to standard criteria (18). During the SD condition, subjects were allowed to read and watch movies in a sitting position while brisk physical activities and food intake were not allowed, and participants were monitored by the experimenter throughout the night. In the morning following both SD and regular sleep, participants went outside the building for a standardized 5-min walk in the company of an experimenter.

Subsequently, preparations for the hypoglycemic clamp started (0630 h) with the subjects again sitting on the bed.

Hypoglycemic clamp procedure

The stepwise hypoglycemic clamp procedure followed a standardized protocol previously described in detail (19). Briefly, after a 30-min baseline period starting at 0700 h, a bolus of 0.01 IU per kg body weight (BW) human insulin (Insuman Rapid, Aventis, Strasbourg, France) was given over 2 min. Thereafter, insulin was infused at a constant rate of 1.8 mIU per kg BW per

min. A 20% dextrose solution was simultaneously infused at a variable rate to control blood glucose levels. Arterialized blood was drawn at 5 minute intervals to measure blood glucose concentration (HemoCue B-Glucose-Analyzer, Ängelholm, Sweden). Blood glucose levels were reduced in a stepwise fashion to achieve 4 plateaus of 75, 65, 55, and 45 mg/dl [4.2, 3.6, 3.1, and 2.5 mmol/l], respectively. Each plateau was maintained for a 30-min period with the next lower plateau gradually induced within the subsequent 30 minutes.

Blood samples were drawn twice during baseline and at the beginning and end of each hypoglycemic plateau. Insulin, C-peptide, glucagon, ACTH, cortisol and growth hormone were measured by enzyme-linked immunoassays, non estified fatty acid (NEFA) concentrations were measured by enzymatical assays, and plasma catecholamines were measured by standard high-performance liquid chromatography as previously described (20; 21). Plasma β -hydroxy-butyrate and lactate concentrations were measured by commercial enzymatical assays (Randox Laboratories Ltd., Co. Antrim, United Kingdom and Abbott, Wiesbaden, Germany) with the following intra-assay and inter-assay coefficients of variation (CV): β -hydroxy-butyrate: < 1.4 %; lactate: < 1.3% and < 1.7%; limit of sensitivity (LOS) was 0.1mmol/l and 0.005 mg/dl, respectively. Subjective responses to hypoglycemia were assessed at the beginning and end of each hypoglycemic plateau by standard questionnaire (22). Subjects rated from 0 (not at all) to 9 (severely) on the following 11 symptoms: dizziness, tingling, blurred vision, difficulty in thinking, faintness, anxiety, palpitation, hunger, sweating, irritability, and tremor. Consistent with categories used by previous investigators (23) the first five symptoms are considered

neuroglycopenic, the latter six autonomic symptoms.

Statistical analyses

Values are expressed as mean \pm SEM. Analyses were generally based on analyses of variance (ANOVA) for repeated measures, including the factors 'sleep' (for 'regular sleep' vs. 'SD') and 'hypo' (for the repeated measurements during the clamps). Baseline values were compared using Student's t-tests. To compare changes of hormone levels and symptom scores between conditions during the clamp with respect to potential baseline differences data were transformed to relative changes from baseline (as percentage) and then included in the ANOVA models. A *P*-value less than 0.05 was considered significant. All calculations were done with SPSS 12.0 for Windows.

Results

Sleep, blood glucose, insulin, and dextrose infusion rates

On the regular sleep condition, subjects slept on average 423 ± 11 min (Range: 374 – 462 min), while they stayed completely awake on the SD condition. During baseline, blood glucose levels were similar after SD and regular sleep (82 ± 3 mg/dl [4.6 ± 0.2 mmol/l] vs. 85 ± 2 mg/dl [4.7 ± 0.1 mmol/l], *P* = 0.22). Basal serum insulin levels were likewise not affected (6.5 ± 1.0 μ U/ml [39.1 ± 5.7 pmol/l] vs. 6.7 ± 1.6 μ U/ml [40.4 ± 9.8 pmol/l], *P* = 0.88). During the hypoglycemic clamp, the stepwise decrease in glucose levels was very similar in the two study conditions (Fig. 1A). As expected, serum insulin levels markedly increased during the hypoglycemic clamp without significant difference between conditions (*P* = 0.77; Fig. 1B). As shown in Figure 1C, dextrose infusion rates required to achieve target glucose levels during the hypoglycemic clamp also did not differ between conditions. Thus, the total

amount of dextrose infused during the clamp was almost identical between the SD and the regular sleep condition (131 ± 17 g vs. 128 ± 11 g; *P* = 0.85).

C-peptide and glucagon

During baseline, C-peptide levels tended to be lower after SD than after regular sleep (1.03 ± 0.15 ng/ml [0.34 ± 0.04 nmol/l] vs. 1.42 ± 0.21 ng/ml [0.47 ± 0.07 nmol/l]; *P* = 0.085; Fig. 2A). Here, due to the relatively large interindividual variability in insulin levels, the C-peptide/insulin ratio, reflecting hepatic insulin clearance (24; 25), did not differ between the two conditions (10.5 ± 1.4 vs. 11.7 ± 2.2 ; *P* = 0.68). During the hypoglycemic clamp, C-peptide levels decreased (*P* = 0.005) with this decrease being distinctly less pronounced after SD than after regular sleep (*P* = 0.013 for the 'sleep x hypo' interaction; Fig. 2A).

Basal glucagon levels were significantly reduced after SD in comparison to the regular sleep condition (130 ± 18 pg/ml [130 ± 18 ng/l] vs. 155 ± 18 pg/ml [155 ± 18 ng/l]; *P* = 0.022; Fig. 2B) This difference persisted during the entire hypoglycemic clamp (*P* = 0.048 for the main effect 'sleep'). Analyses of baseline-adjusted relative changes in plasma concentrations during hypoglycemia revealed that after an initial decrease in both conditions, plasma glucagon levels showed a stronger increase after SD than after regular sleep (*P* = 0.034 for the interaction 'sleep x hypo'; Fig. 2B').

Epinephrine, norepinephrine, ACTH, cortisol, and GH

Overall, there was no influence of SD on plasma epinephrine or norepinephrine concentrations during baseline and hypoglycemia (all *P* > 0.10, Fig 3A,B). However, baseline adjustment of the data revealed a reduced norepinephrine response to hypoglycemia after SD (*P* = 0.031 for

the interaction 'sleep x hypo'; Fig. 3B'). While basal ACTH levels were similar after SD and regular sleep (44.5 ± 13.6 pg/ml [9.8 ± 3.0 pmol/l] vs. 42.2 ± 7.3 pg/ml [9.3 ± 1.6 pmol/l]; $P = 0.84$; Fig. 3C), cortisol concentrations were significantly reduced after SD (18.24 ± 1.19 μ g/dl [503 ± 33 mmol/l] vs. 21.82 ± 1.54 μ g/dl [602 ± 43 mmol/l]; $P = 0.048$; Fig. 3D). ACTH and cortisol responses to hypoglycemia were not affected by SD (both $P > 0.43$ for the interaction 'sleep x hypo'; Fig 3C',D')

Basal serum growth hormone concentrations did not significantly differ after SD and regular sleep (2.0 ± 1.5 μ g/l [ng/ml] vs. 0.6 ± 0.3 μ g/l [ng/ml]; $P = 0.33$). During hypoglycemia, GH levels showed the expected increase in both conditions ($P = 0.010$; Fig. 3E). Baseline-adjusted relative changes in GH levels during hypoglycemia revealed a tendency towards a more pronounced increase after SD that was apparently due to an earlier start of the response in this condition ($P = 0.054$ for the condition main effect; Fig. 3E').

Lactate, NEFA, and β -hydroxy-butyrate

Figure 4 shows the plasma levels of lactate, NEFA, and β -hydroxy-butyrate at baseline and at the end of the hypoglycemic clamp. SD had no effect on basal plasma lactate levels (0.99 ± 0.11 mmol/l vs. 1.19 ± 0.15 mmol/l; $P = 0.27$). During hypoglycemia, lactate levels increased ($P = 0.004$) with no difference between conditions ($P = 0.19$ for the interaction 'sleep x hypo'; Fig. 4A). Also, SD had no significant effect on basal β -hydroxy-butyrate levels (0.87 ± 0.21 mg/dl [84.0 ± 20.3 μ mol/l] vs. 1.60 ± 0.63 mg/dl [153.9 ± 60.7 μ mol/l]; $P = 0.33$). During hypoglycemia, β -hydroxy-butyrate levels decreased ($P = 0.015$ for the main effect 'hypo') in both conditions ($P = 0.41$ for the interaction 'sleep x hypo'; $P = 0.26$ for the main effect 'sleep'). Pairwise comparison of β -hydroxy-

butyrate levels at the end of the hypoglycemic clamp revealed significantly lower levels in the SD than regular sleep condition (0.31 ± 0.03 mg/dl [29.8 ± 3.1 μ mol/l] vs. 0.47 ± 0.06 mg/dl [44.7 ± 5.7 μ mol/l]; $P = 0.013$; Fig. 4B). Overall, NEFA levels were significantly lower after SD than regular sleep ($P = 0.009$ for the main effect 'sleep') with this difference reaching significance at the end of the hypoglycemic clamp (Fig. 4C). During hypoglycemia NEFA levels generally decreased ($P = 0.002$) with the extent of this decrease being similar in both conditions ($P = 0.77$ for the interaction term 'sleep x hypo').

Symptoms

The pooled autonomic symptoms score during the baseline period tended to be higher after SD than after regular sleep (7.0 ± 1.1 vs. 4.6 ± 1.4 ; $P = 0.084$; Fig. 4A). However, the respective increase during hypoglycemia ($P = 0.022$ for the main effect 'hypo') was not affected by SD ($P = 0.65$ for the interaction term 'sleep x hypo'; Fig. 4A'). The pooled neuroglycopenic symptoms score was higher after SD than regular sleep at baseline (6.8 ± 1.2 vs. 4.6 ± 1.0 ; $P = 0.032$), with this difference persisting throughout the hypoglycemic clamp ($P = 0.008$ for the main effect 'sleep'; $P = 0.61$ for the interaction term 'sleep x hypo'; Fig. 4B,B') which in both conditions was accompanied by a trend towards enhanced neuroglycopenic symptom perception ($P = 0.097$ for the main effect 'hypo').

Separate analysis of individual symptoms, all of which were included in the pool scores of autonomic and neuroglycopenic symptoms, revealed that feelings of hunger and fatigue were particularly affected by SD (both $P < 0.04$ for the main effect 'sleep'). At baseline, subjects reported more hunger after SD than regular sleep (4.1 ± 0.6 vs. 1.5 ± 0.3 ; $P < 0.008$; Fig. 4C). During hypoglycemia, hunger scores increased

($P < 0.001$ for the main effect 'hypo') with this increase being markedly reduced after SD ($P < 0.009$ for the interaction 'sleep x hypo'; Fig. 4C'). However, absolute values of hunger scores were similar at the end of hypoglycemia (6.1 ± 0.7 vs. 5.3 ± 0.6 ; $P = 0.27$; Fig. 4C). Fatigue, as expected, was markedly increased after SD during baseline (5.0 ± 0.4 vs. 1.8 ± 0.4 ; $P < 0.001$) and throughout the hypoglycemic epoch ($P < 0.001$ for the main effect 'sleep', $P = 0.24$ for the interaction 'sleep x hypo'; Fig. 4D). During hypoglycemia per se, fatigue scores merely showed a slight decline ($P = 0.10$ for the main effect 'hypo'; Fig. 4D').

Discussion

We assessed the influence of one night of SD on basal morning secretory activity of glucose regulatory neuroendocrine systems as well as on the counterregulatory hormonal response to hypoglycemia in healthy men. We hypothesized that due to increased metabolic demands during extended periods of wakefulness, SD stimulates neuroendocrine stress systems that mobilize glucose and thereby ensure energy supply to the brain via the circulation. However, the observed alterations in different hormone levels after SD do not concur with this hypothesis. SD significantly decreased basal glucagon and tended to reduce basal C-peptide levels. Basal cortisol levels were even lower after SD than after awakening from regular sleep. Basal glucose, insulin, ACTH, catecholamines, lactate, β -hydroxybutyrate and NEFA levels remained unaffected by SD. While relative counterregulatory responses of glucagon and growth hormone to hypoglycemia were increased after SD, relative C-peptide and norepinephrine responses were reduced. After SD,

subjects reported distinctly more hunger and fatigue, but the relative increase in rated hunger during hypoglycemia was reduced by SD. Contrary to our expectations absolute amplitudes of hormonal and hunger responses to hypoglycemia were not changed after SD. Although the present results in sum do not support our initial hypothesis of an increased activity of neuroendocrine stress systems after SD, the observed endocrine, metabolic, and neurocognitive effects of SD shed new light on the regulatory influence of sleep on metabolic functions by pointing toward a particular sensitivity of pancreatic islet secretion to the immediate effect of SD.

A most remarkable finding of our study is the clear-cut reduction of glucagon levels after SD. The release of this hormone by the pancreatic α -cells is well-known to depend on endocrine and neuronal signals primarily related to energy homeostasis (26). To the best of our knowledge this is the first observation indicating a dependence of glucagon release on prior sleep. As a consequence of lowered basal glucagon levels, the relative counterregulatory response to hypoglycemia was enhanced after SD. This finding is particularly surprising in conjunction with the attenuated decrease in C-peptide levels during hypoglycemia which reflects that the suppression of endogenous insulin secretion is reduced. Since the acute reduction in β -cell insulin secretion during hypoglycemia is a crucial signal for counterregulatory α -cell glucagon release (27-30), glucagon levels should be expected to be attenuated rather than enhanced in the presence of markedly elevated C-peptide levels during hypoglycemia. Hence, our data point to a differential influence of SD on α - and β -cell secretory activity and presumably also on the interplay between both cell types. Whether this surprising effect of sleep loss on pancreatic islet functions is

established via autonomic nervous system pathways or relies on other mediators remains to be investigated.

Contrary to expectations, SD exerted only weak influences on the activity of neuroendocrine stress systems, i.e., the sympathico-adrenal system and the hypothalamic-pituitary-adrenal (HPA) axis. Rather than being increased, basal cortisol levels were reduced after SD. In this context, it has to be considered that in the regular sleep condition, the first cortisol sample was collected approximately 30 min after awakening. As awakening is tightly associated with a strong rise in circulating cortisol levels (31; 32), reduced basal cortisol levels after SD most probably reflect the missing sleep-wake transition, i.e., there was no awakening in this condition. Norepinephrine levels showed a slightly attenuated response to hypoglycemia after SD. However, absolute levels at the end of the hypoglycemic clamp were comparable between conditions (Fig. 3B), suggesting that the diminished response was largely due to the slightly elevated ($P = 0.10$) baseline levels after SD. At first glance, our findings revealing essentially similar activity of the neuroendocrine stress systems after SD are at odds with those of previous studies indicating increased neuroendocrine stress system activity (9; 33; 34). However, in contrast with these studies, in our experiments the neuroendocrine stress response was not assessed in the evening, but in the morning when effects of sleep loss may not have fully developed. Also, our data do not rule out that sleep restriction for a longer period might amplify counterregulatory activity. Despite these limitations, the present data suggest that the HPA response to a strong stressor like hypoglycemia is regulated by mechanisms independent of slight fluctuations in the basal tone. It is well known that a modulation of baseline activity of the stress systems is not

obligatorily linked to changes in the acute response to strong stressors (35; 36). Short-term sleep loss appears to be a metabolic stressor strong enough to modulate the basal tone, but its effects become blurred if a strong stressor calls for an immediate response, as in the case of an imminent lack of brain energy supply during hypoglycemia.

Effects of SD on lactate, NEFA, and β -hydroxy-butyrate have so far not been investigated. Lactate levels in general as well as basal levels of NEFA and β -hydroxy-butyrate were not affected by SD, but there was a reduction of NEFA levels in response to hypoglycemia following SD. Plasma β -hydroxy-butyrate levels revealed a comparable, although less pronounced pattern. This result may be taken as an indication that already decreased lipolysis after SD is further promoted by hypoglycemia. Alternatively, hypoglycemia after SD might trigger increased utilization of lipolytic products. Clearly, these observations are in need of further investigation.

The distinct increase in rated hunger assessed after SD, unlike the hormonal changes, is in line with the view of central nervous energy depletion after sleep loss that has to be compensated for by increased food intake. This finding also fits well with previous observations by Spiegel and coworkers of increased hunger and appetite in healthy men after sleep curtailment during 2 nights (17). Notably, although absolute values in response to hypoglycemia reached the same level, the relative increase in rated hunger during the clamp period was flattened after SD. This finding may be of clinical relevance assuming that it also pertains to diabetic patients who are at high risk of severe hypoglycemia episodes (37). Hunger represents an important warning signal of emerging hypoglycemia, eliciting food intake that counteracts a further decline in circulating glucose levels. A reduced

ability to adequately perceive hypoglycemia triggered increases in hunger that add to the orexigenic impact of sleep loss per se might thus elevate the risk of severe hypoglycemia in these patients under conditions of sleep debt.

In sum, the present data show distinct alterations in metabolic endocrine signaling and feelings of hunger due to short-term sleep loss that are particularly manifest under basal rest conditions. While maximal neuroendocrine responses to hypoglycemia are not affected, relative changes with regard to baseline levels are likewise modulated by SD. Contrasting with the minor changes in activity of neuroendocrine stress system after SD, our results reveal a particular sensitivity of glucagon secretion to sleep loss that has not been scrutinized in previous studies. The physiological significance of our findings and their relationship to the interplay between chronic sleep debt and metabolic disorders like obesity and type 2 diabetes remain to be established. However, our results strongly support the notion that sleep plays a pivotal role in the regulation of metabolic functions in humans.

Acknowledgments

We are grateful to Christiane Otten and Ingrid von Lützau for their expert and invaluable laboratory assistance. Experiments were supported by the Deutsche Forschungsgemeinschaft (SFB – 654 “Plasticity and Sleep”).

References

1. Spiegel K, Knutson K, Leproult R, Tasali E, Van CE. Sleep loss: a novel risk factor for insulin resistance and Type 2 diabetes. *J Appl Physiol* 2005; 99(5):2008-2019.
2. Schultes B, Schmid S, Peters A, Born J, Fehm HL. Sleep loss and the development of diabetes: a review of current evidence. *Exp Clin Endocrinol Diabetes* 2005; 113(10):563-567.
3. Mallon L, Broman JE, Hetta J. High incidence of diabetes in men with sleep complaints or short sleep duration: a 12-year follow-up study of a middle-aged population. *Diabetes Care* 2005; 28(11):2762-2767.
4. Ayas NT, White DP, Al Delaimy WK, Manson JE, Stampfer MJ, Speizer FE, Patel S, Hu FB. A prospective study of self-reported sleep duration and incident diabetes in women. *Diabetes Care* 2003; 26(2):380-384.
5. Nilsson PM, Roost M, Engstrom G, Hedblad B, Berglund G. Incidence of diabetes in middle-aged men is related to sleep disturbances. *Diabetes Care* 2004; 27(10):2464-2469.
6. Kawakami N, Takatsuka N, Shimizu H. Sleep disturbance and onset of type 2 diabetes. *Diabetes Care* 2004; 27(1):282-283.
7. Meisinger C, Heier M, Loewel H. Sleep disturbance as a predictor of type 2 diabetes mellitus in men and women from the general population. *Diabetologia* 2005; 48(2):235-241.
8. Resnick HE, Redline S, Shahar E, Gilpin A, Newman A, Walter R, Ewy GA, Howard BV, Punjabi NM. Diabetes and sleep disturbances: findings from the Sleep Heart Health Study. *Diabetes Care* 2003; 26(3):702-709.
9. Spiegel K, Leproult R, van Cauter E. Impact of sleep debt on metabolic and endocrine function. *Lancet* 1999; 354(9188):1435-1439.
10. Maquet P, Dive D, Salmon E, Sadzot B, Franco G, Poirrier R, von Frenckell R, Franck G. Cerebral glucose utilization during sleep-wake cycle in man determined by positron emission tomography and [¹⁸F]2-fluoro-2-deoxy-D-glucose method. *Brain Res* 1990; 513(1):136-143.
11. Maquet P. Sleep function(s) and cerebral metabolism. *Behav Brain Res* 1995; 69(1-2):75-83.
12. Franken P, Gip P, Hagiwara G, Ruby NF, Heller HC. Glycogen content in the cerebral cortex increases with sleep loss in C57BL/6J mice. *Neurosci Lett* 2006; 402(1-2):176-179.
13. Brown AM. Brain glycogen re-awakened. *J Neurochem* 2004; 89(3):537-552.
14. Gruetter R. Glycogen: the forgotten cerebral energy store. *J Neurosci Res* 2003; 74(2):179-183.
15. Peters A, Schweiger U, Pellerin L, Hubold C, Oltmanns KM, Conrad M, Schultes B, Born J, Fehm HL. The selfish brain: competition for energy resources. *Neurosci Biobehav Rev* 2004; 28(2):143-180.
16. Peters A, Schweiger U, Fruhwald-Schultes B, Born J, Fehm HL. The neuroendocrine control of glucose allocation. *Exp Clin Endocrinol Diabetes* 2002; 110(5):199-211.
17. Spiegel K, Tasali E, Penev P, van Cauter E. Brief communication: Sleep curtailment in healthy young men is associated with decreased leptin levels, elevated ghrelin levels, and increased hunger and appetite. *Ann Intern Med* 2004; 141(11):846-850.
18. Rechtschaffen A, Kales A. A manual for standardized terminology, techniques, and scoring system for sleep stages of human subjects. *Neurological Information Network* 1993.

19. Schultes B, Peters A, Kern W, Gais S, Oltmanns KM, Fehm HL, Born J. Processing of food stimuli is selectively enhanced during insulin-induced hypoglycemia in healthy men. *Psychoneuroendocrinology* 2005; 30(5):496-504.
20. Bremer JP, Baron M, Peters H, Oltmanns KM, Kern W, Fehm HL, Born J, Schultes B. Hormonal, subjective, and neurocognitive responses to brief hypoglycemia in postmenopausal women and age-matched men with type 2 diabetes mellitus. *Metabolism* 2006; 55(3):331-338.
21. Shimizu S, Tani Y, Yamada H, Tabata M, Murachi T. Enzymatic determination of serum-free fatty acids: a colorimetric method. *Anal Biochem* 1980; 107(1):193-198.
22. Fruehwald-Schultes B, Kern W, Oltmanns KM, Sopke S, Toschek B, Born J, Fehm HL, Peters A. Metformin does not adversely affect hormonal and symptomatic responses to recurrent hypoglycemia. *J Clin Endocrinol Metab* 2001 Sep;86(9):4187-92 2001; 86(9):4187-92.
23. Mitrakou A, Fanelli C, Veneman T, Perriello G, Calderone S, Platanisiotis D, Rambotti A, Raptis S, Brunetti P, Cryer P, Gerich J, Bolli G. Reversibility of Unawareness of Hypoglycemia in Patients with Insulinomas. *The New England Journal of Medicine* 1993; 329(12):834-839.
24. Polonsky KS, Pugh W, Jaspan JB, Cohen DM, Karrison T, Tager HS, Rubenstein AH. C-peptide and insulin secretion. Relationship between peripheral concentrations of C-peptide and insulin and their secretion rates in the dog. *J Clin Invest* 1984; 74(5):1821-1829.
25. Polonsky KS, Rubenstein AH. C-peptide as a measure of the secretion and hepatic extraction of insulin. Pitfalls and limitations. *Diabetes* 1984; 33(5):486-494.
26. Dunning BE, Foley JE, Ahren B. Alpha cell function in health and disease: influence of glucagon-like peptide-1. *Diabetologia* 2005; 48(9):1700-1713.
27. Banarar S, McGregor VP, Cryer PE. Intraislet hyperinsulinemia prevents the glucagon response to hypoglycemia despite an intact autonomic response. *Diabetes* 2002; 51(4):958-965.
28. Gosmanov NR, Szoke E, Israelian Z, Smith T, Cryer PE, Gerich JE, Meyer C. Role of the decrement in intraislet insulin for the glucagon response to hypoglycemia in humans. *Diabetes Care* 2005; 28(5):1124-1131.
29. Israelian Z, Gosmanov NR, Szoke E, Schorr M, Bokhari S, Cryer PE, Gerich JE, Meyer C. Increasing the decrement in insulin secretion improves glucagon responses to hypoglycemia in advanced type 2 diabetes. *Diabetes Care* 2005; 28(11):2691-2696.
30. Raju B, Cryer PE. Loss of the decrement in intraislet insulin plausibly explains loss of the glucagon response to hypoglycemia in insulin-deficient diabetes: documentation of the intraislet insulin hypothesis in humans. *Diabetes* 2005; 54(3):757-764.
31. Born J, Hansen K, Marshall L, Molle M, Fehm HL. Timing the end of nocturnal sleep. *Nature* 1999; 397(6714):29-30.
32. Wilhelm I, Born J, Kudielka BM, Schlotz W, Wust S. Is the cortisol awakening rise a response to awakening? *Psychoneuroendocrinology* 2007; 32(4):358-366.
33. Spiegel K, Leproult R, L'Hermite-Baleriaux M, Copinschi G, Penev PD, van Cauter E. Leptin levels are dependent on sleep duration: relationships with sympathovagal balance, carbohydrate regulation, cortisol, and thyrotropin. *J Clin Endocrinol Metab* 2004; 89(11):5762-5771.
34. Leproult R, Copinschi G, Buxton O, van Cauter E. Sleep loss results in an elevation of cortisol levels the next evening. *Sleep* 1997; 20(10):865-870.
35. Ockenfels MC, Porter L, Smyth J, Kirschbaum C, Hellhammer DH, Stone AA. Effect of chronic stress associated with unemployment on salivary cortisol: overall cortisol levels, diurnal rhythm, and acute stress reactivity. *Psychosom Med* 1995; 57(5):460-467.

36. Cohen H, Kotler M, Matar MA, Kaplan Z, Loewenthal U, Miodownik H, Cassuto Y. Analysis of heart rate variability in posttraumatic stress disorder patients in response to a trauma-related reminder. *Biol Psychiatry* 1998; 44(10):1054-1059.
37. Cryer PE. Hypoglycemia in diabetes: pathophysiological mechanisms and diurnal variation. *Prog Brain Res* 2006; 153:361-365.

Figure Legends

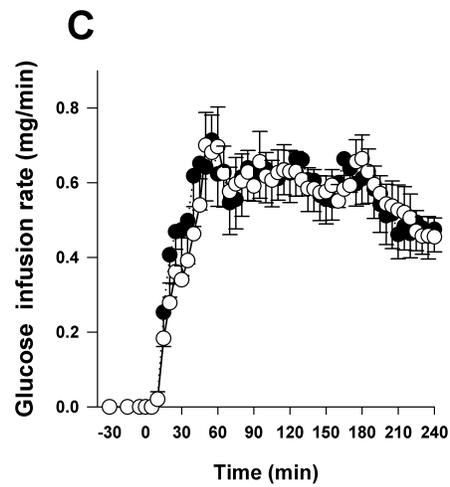
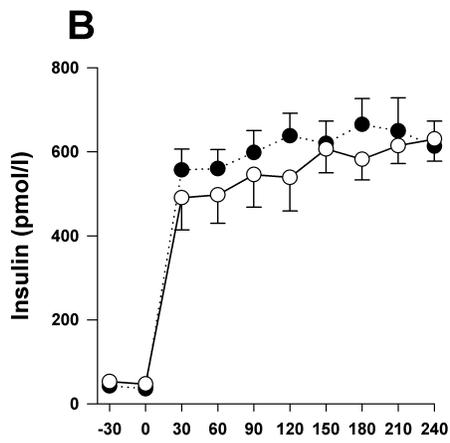
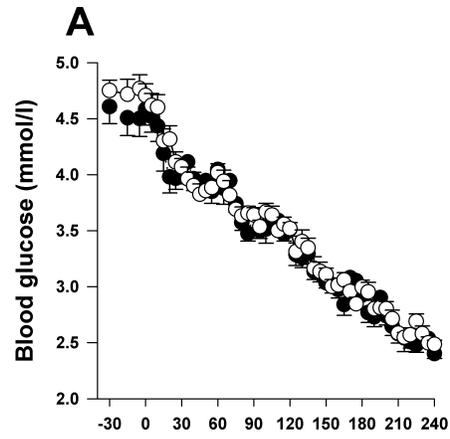
Figure 1. Mean \pm SEM concentrations of blood glucose (A), serum insulin (B) and glucose infusion rate (C) during a 30-minute baseline period and the subsequent 240-minute stepwise hypoglycemic clamp. The clamps were performed in 10 healthy men after a night of regular (7 h) sleep (white circles) and after one night with sleep deprivation (black circles). Target blood glucose plateaus were 4.2 mmol/l (30-60 min), 3.6 mmol/l (90-120 min), 3.1 mmol/l (150-180 min), 2.5 mmol/l (210-140 min). (To convert values for blood glucose to mg/dl, multiply by 18.01; to convert values for insulin to μ U/ml, multiply by 0.167)

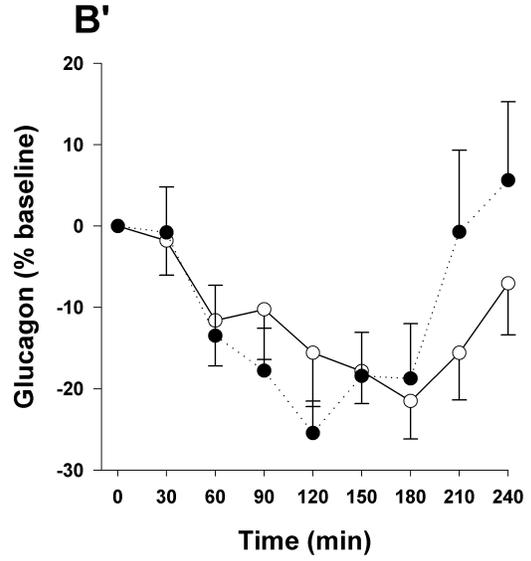
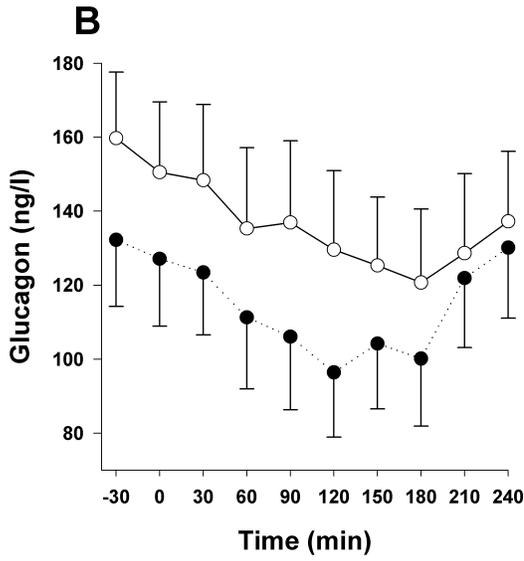
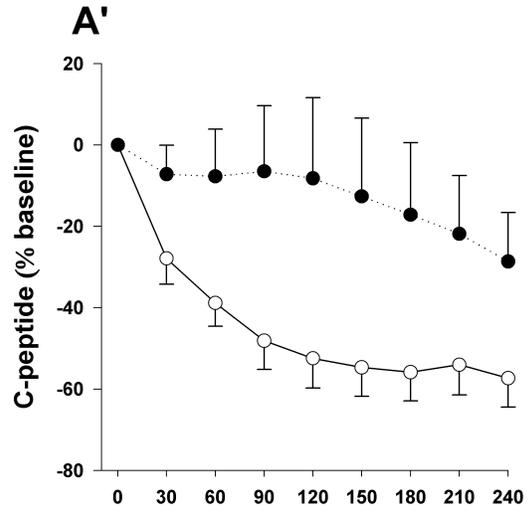
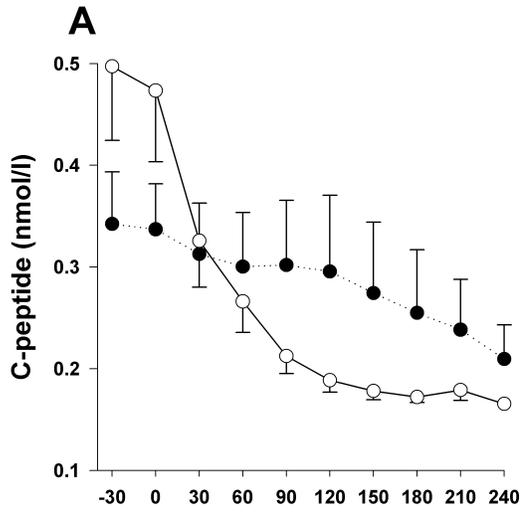
Figure 2. Mean \pm SEM concentrations of plasma C-peptide (A) and plasma glucagon (B) during a 30-minute baseline period and the subsequent 240-minute stepwise hypoglycemic clamp. Panels A' and B' show relative changes during the clamp with regard to respective baseline values. The clamps were performed in 10 healthy men after a night of 7 h sleep (white circles) and after one night with sleep deprivation (black circles). (To convert values for C-peptide to ng/ml, multiply by 3.021; to convert values for glucagon to pg/ml, multiply by 1.0)

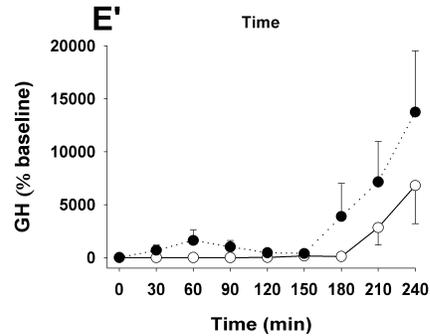
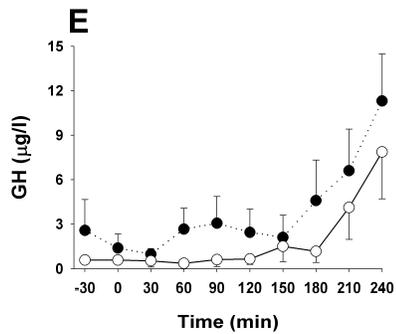
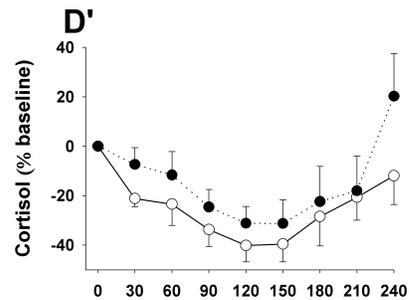
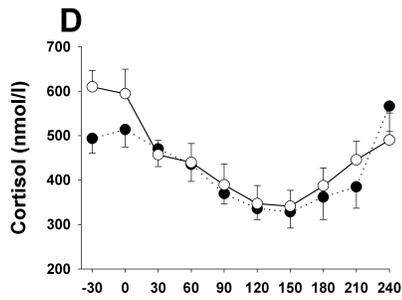
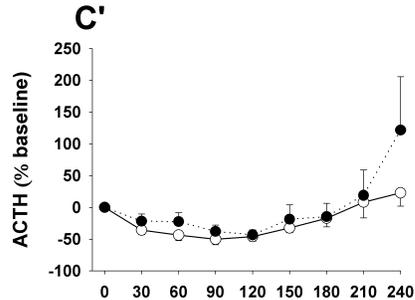
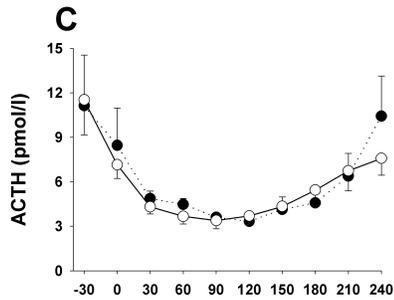
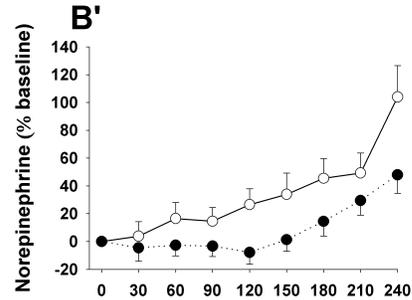
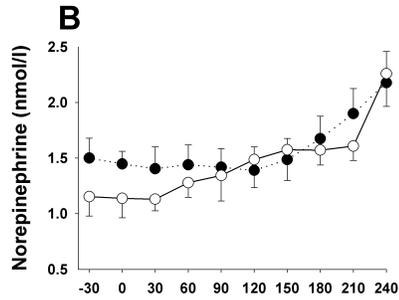
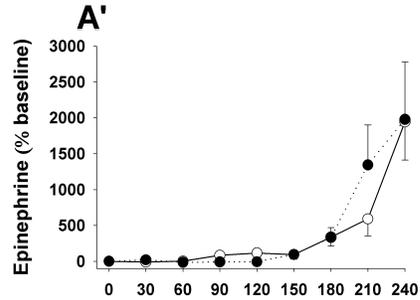
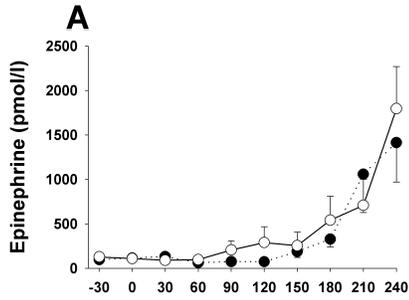
Figure 3. Mean \pm SEM concentrations of plasma epinephrine (A), plasma norepinephrine (B), plasma ACTH (C), serum cortisol (D), and serum growth hormone (E) during a 30-minute baseline period and the subsequent 240-minute stepwise hypoglycemic clamp. The responses to hypoglycemia expressed as changes relative to baseline are depicted in panels A'-E'. The clamps were performed in 10 healthy men after a night of regular (7 h) sleep (white circles) and after one night with sleep deprivation (black circles). (To convert values for epinephrine to pg/ml, multiply by 0.183; to convert values for norepinephrine to pg/ml, multiply by 169.18; to convert values for ACTH to pg/ml, multiply by 4,54; to convert values for cortisol to μ g/dl, multiply by 0.0362; to convert values for growth hormone to ng/ml, multiply by 1.0)

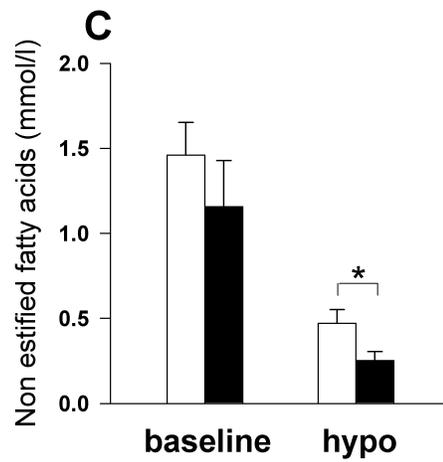
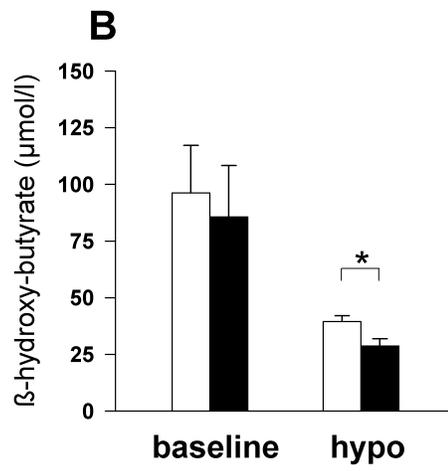
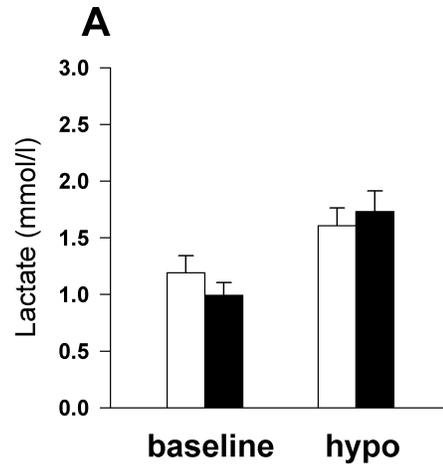
Figure 4. Mean \pm SEM concentrations of lactate (A), β -hydroxy-butyrate (B), and NEFA (C) during a 30-minute baseline period (Baseline) and at the end of a subsequent 240-minute stepwise hypoglycemic clamp (Hypo). The clamps were performed in healthy men after a night of regular (7 h) sleep (white bars) and after one night with sleep deprivation (black bars). (To convert values for lactate to mEq/l, multiply by 1.0)

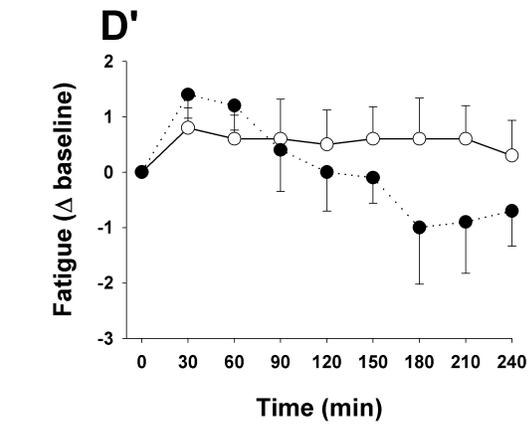
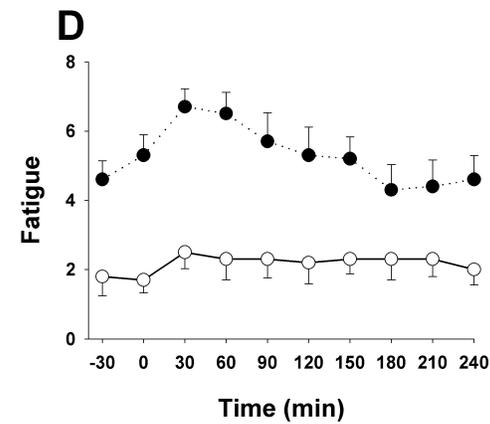
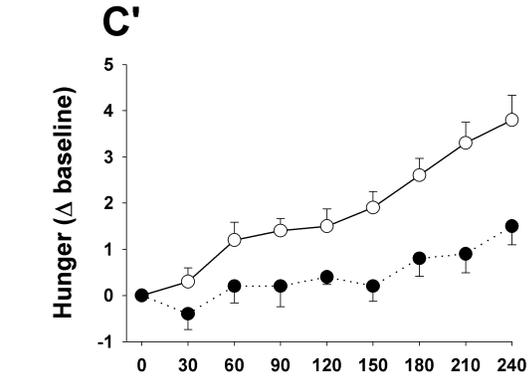
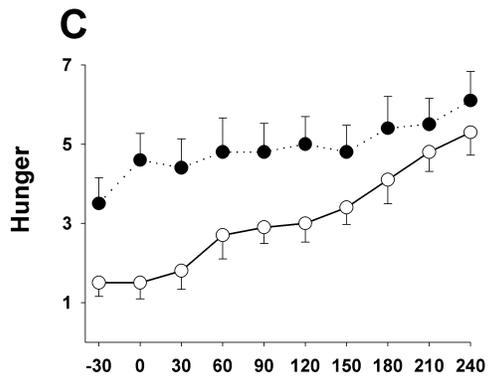
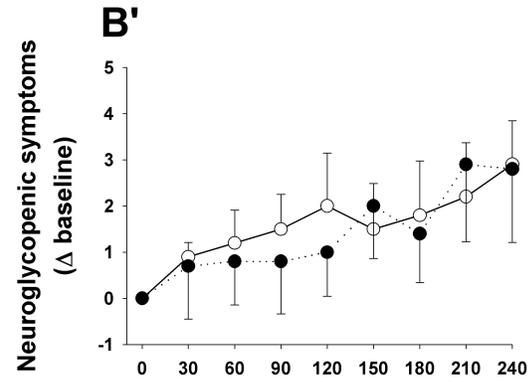
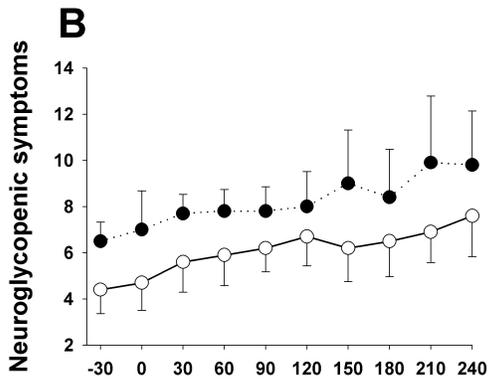
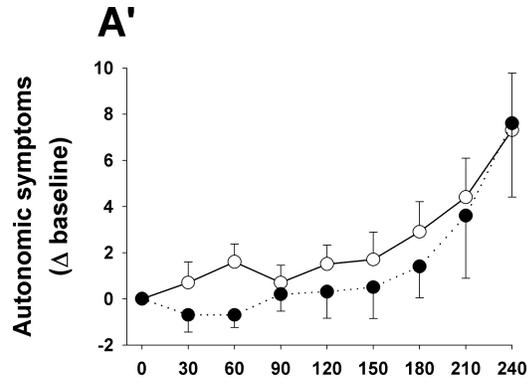
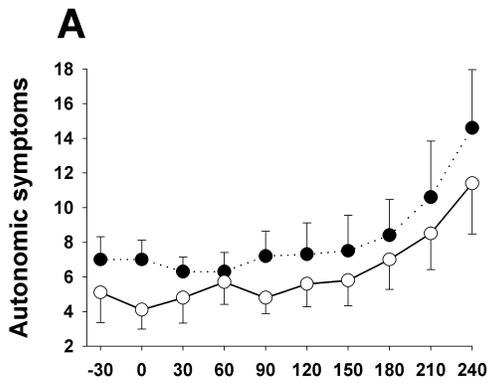
Figure 5. Mean \pm SEM scores of autonomic symptoms (A), neuroglycopenic symptoms (B), feelings of hunger (C), and fatigue (D) during a 30-minute baseline period and the subsequent 240-minute stepwise hypoglycemic clamp. The responses to hypoglycemia expressed as difference values with regard to baseline levels are depicted in panels A'-D'. The clamps were performed in 10 healthy men after a night of regular (7 h) sleep (white circles) and after one night with sleep deprivation (black circles).











Eigenständigkeitserklärung

Hiermit versichere ich, Sebastian Michael Schmid, an Eides statt, dass ich die vorliegende Dissertationsschrift mit dem Titel: „Der Einfluss kurzfristigen Schlafentzugs auf basale hormonelle Sekretionsmuster und die Hypoglykämie-Gegenregulation“ selbstständig verfasst habe und die Literaturquellen vollständig angegeben sind. Als Hilfsmittel bei der Durchführung der Studie und Verfassung der Schrift dienten mir die darin angegebenen Materialien und Geräte.

Sebastian Michael Schmid

Curriculum vitae

Persönliche Daten

Name	Sebastian Schmid
Adresse	Amselweg 1 23562 Lübeck Tel.: +49-451-280 446 2
Geburtsdatum	25.10.1977
Geburtsort	Deggendorf
Familienstand	ledig
Eltern	Irene Schmid-Jungkunz, Studienrätin (Mathematik, Physik) Dr. med. Volker Schmid, Internist & Radiologe

Schulbildung

1984–1988	Grundschule Salzweg
1988–1997	Maristen-Gymnasium Fürstenzell
1997	Abitur

Fremdsprachliche Ausbildung

Englisch, Latein, Altgriechisch

Universitätsausbildung

04/1999–10/2002	Studium der Humanmedizin an der Johann-Wolfgang-Goethe Universität Frankfurt/Main
04/2001	Physikum
04/2002	Erstes Staatsexamen
ab 10/2002	Studium der Humanmedizin an der Universität zu Lübeck

09/2004 Zweites Staatsexamen
12/2005 Drittes Staatsexamen

Klinische Praktika und Famulaturen

11/1998-03/1999 Krankenpflegepraktikum (Krankenhaus Vilshofen),
Intensivstation

08/2001-10/2001 Famulatur Kardiologie (Praxis Dr. med. M. Fischer, Passau),
Kreislauflabor

08/2002-09/2002 Famulatur Innere Medizin (Krankenhaus Vilshofen),
Allgemeinstation

03/2003-04/2003 Famulatur Chirurgie (UKSH Campus Lübeck), Notaufnahme

10/2004-02/2005 PJ Anästhesie (UKSH Campus Lübeck)

02/2005-06/2005 PJ Chirurgie (Kantonsspital St. Gallen, Schweiz)

06/2005-09/2005 PJ Innere Medizin (UKSH Campus Lübeck, Endokrinologie,
Notaufnahme)

zusätzliche fachspezifische Ausbildung und Tätigkeit

09/1997-08/1998 Ausbildung zum Rettungssanitäter und Dienst auf den
Rettungswägen des Malteser Hilfsdienst Passau

04/2001-10/2002 Anstellung als studentische Nachtwache auf chirurgischen
Stationen der Universitätsklinik Frankfurt/Main

04/2001-10/2001 Fortbildung: Sportmedizin und Rehabilitationskardiologie

04/2001-10/2002 Anstellung als Lehrassistent im Institut für Physiologie der
Universität Frankfurt/Main

03/2004-12/2005 Anstellung als studentische Hilfskraft in der klinischen
Forschergruppe „Schlaf & Gedächtnis“

10/2005-03/2006 Weiterbildung Fachkunde Ernährungsmedizin

Beruflicher Werdegang

- ab 02/2006 Anstellung als Arzt in der Arbeitsgruppe „Selfish Brain“,
Medizinische Klinik I – Endokrinologie; UKSH – Campus
Lübeck
- ab 09/2006 Nebenberuflich Anstellung als Dozent (Innere Medizin) an der
Schule für Krankenpflege und Krankenpflegehilfe am UK-SH
Campus Lübeck

Promotion

*Der Einfluss kurzfristigen Schlafentzugs auf basale hormonelle Sekretionsmuster
und die Hypoglykämie-Gegenregulation*

Doktorvater: PD Dr. med. Bernd Schultes,
Medizinische Klinik I am Universitätsklinikum
Schleswig-Holstein – Campus Lübeck

01/2003 – 06/2004 Durchführung des experimentellen Teils

Publikationen (Stand April 2007)**Originalarbeiten:**

1. Kamila Jauch-Chara, Manfred Hallschmid, **Sebastian M. Schmid**, Kerstin M. Oltmanns, Achim Peters, Jan Born, Bernd Schultes: Plasma glucagon decreases during night-time sleep in type 1 diabetic patients and healthy control subjects
Diabet Med. 2007 Mar 22; [Epub ahead of print]
2. Isabel Pais, Manfred Hallschmid, Kamila Chara, **Sebastian M. Schmid**, Kerstin M. Oltmanns, Achim Peters, Jan Born, Bernd Schultes: Mood and cognitive functions during acute euglycemia and mild hyperglycaemia in type 2 diabetic patients
Exp Clin Endocrinol Diabetes. 2007 Jan;115(1):42-6.
3. **Sebastian M. Schmid**, Manfred Hallschmid, Kamila Jauch-Chara, Nadine Bandorf, Jan Born, Bernd Schultes: Sleep loss alters basal metabolic hormone secretion and modulates the dynamic counterregulatory response to hypoglycemia
J Clin Endocrinol Metab., *in press*
4. Kamila Jauch-Chara, Manfred Hallschmid, Steffen Gais; **Sebastian M. Schmid**; Kerstin Oltmanns; Caterina Colmorgen; Jan Born; Bernd Schultes: Hypoglycemia during sleep impairs consolidation of declarative memory in type 1 diabetic and healthy humans
Diab. Care, *in press*

Übersichtsarbeiten:

1. Schultes B, **Schmid S**, Peters A, Born J, Fehm HL (2005): Sleep loss and the development of diabetes: A review of current evidence
Exp Clin Endocrinol Diabetes. 2005 Dec;113(10):563-7.
2. **Schmid S.** und **Schultes B** (2006): Schlafmangel – Risikofaktor für Adipositas und Diabetes?
Diabetologie & Stoffwechsel 2006, 1: 1-6.

Abstracts:

1. **Schmid S**, Bandorf N, Peters A, Kern W, Oltmanns K, Born J, Schultes B (2005):
Einfluss von kurzzeitigem Schlafentzug auf die hormonelle Hypoglykämie-Gegenregulation.
Diabetologie & Stoffwechsel. 14 (Suppl.1), 2006: P 250
2. **Schmid S**, Chara K, Bandorf N, Peters A, Oltmanns KM, Born J, Schultes B (2006):
Effects of short-term sleep deprivation on hormonal counter-regulation against hypoglycaemia.
Experimental and Clinical Endocrinology & Diabetes, S 1, 2006: P 09
3. **Schmid S**, Chara K, Hallschmid M, Frost N, Johnsen J, Born J, Schultes B (2006):
Laktat und Glukose als Modulatoren der Nahrungsaufnahme.
Aktuelle Ernährungsmedizin; 03, 2006
4. **Schmid S**, Chara K, Hallschmid M, Born J, Schultes B (2006):
Laktat und Glukose als Modulatoren der Nahrungsaufnahme.
Diabetologie & Stoffwechsel; S 1, 2006
5. **Schmid S**, Chara K, Hallschmid M, Schultes B (2006):
Influence of sweet perception during glucose ingestion on subsequent food intake.
Experimental and Clinical Endocrinology & Diabetes; 08, 2006
6. Chara K, Hallschmid M, **Schmid S**, Born J, Schultes B (2006):
Hypoglycemia during sleep impairs the consolidation of declarative memory in type 1 diabetic and healthy humans.
Journal of Sleep Research 2006, 15 P:187
7. Hallschmid M, **Schmid S**, Chara K, Bandorf N, Born J, Schultes B (2006):
Impact of short-time sleep-deprivation on hormonal hypoglycemia counterregulation.
Journal of Sleep Research 2006, 15 P: 56

8. Manfred Hallschmid, Christian Benedict, **Sebastian M. Schmid**, Bernd Schultes, Horst L. Fehm, Jan Born, Werner Kern: Obesity in humans is associated with central nervous insulin resistance.
Frontiers of Neuroendocrinology Suppl 2, 2006

9. Chara K, Hallschmid M, Gais S, **Schmid S**, Born J, Schultes B (2006):
Increased secretory activity of hypothalamo-pituitary-adrenocortical (HPA) axis during early night-time sleep in patients with type 1 diabetes.
Frontiers of Neuroendocrinology Suppl 2, 2006

10. **Schmid S**, Bandorf N, Jauch-Chara K, Pais I, Peters A, Oltmanns KM, Born J, Schultes B (2006):
Impact of short-time sleep-deprivation on hormonal hypoglycaemia counter-regulation.
Frontiers of Neuroendocrinology Suppl 2, 2006

11. **Schmid SM**, Jauch-Chara K, Born J, Schultes B, Hallschmid M (2007):
Modulating effects of lactate and blood glucose levels on spontaneous food intake
Experimental and Clinical Endocrinology & Diabetes; S1, 2007, P01_142