## Aus dem Institut für Neuroendokrinologie der Universität zu Lübeck

Direktor: Prof. Dr. J. Born

# Die Veränderungen der Typ1/Typ2-Zytokine von Monozyten durch nächtlichen Schlaf

Inauguraldissertation

zur

Erlangung der Doktorwürde
der Universität zu Lübeck
- aus der Medizinischen Fakultät –
vorgelegt von
Eicke-Christian Böschen
aus Bremen

Lübeck 2010

1. Berichterstatter:	Prof. Dr. rer. soc. Jan Born
2. Berichterstatter:	Prof. Dr. med. Bernd Schultes
Tag der mündlichen Prüfung	31.03.2011
Zum Druck genehmigt,	
Lübeck, den	31.03.2011
gezeichnet	
	Dekan der Medizinischen Fakultät

### Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung	1
1.1	Das Immunsystem	1
1.1.1	Zellen des Immunsystems	1
1.1.2	Zytokine	6
1.2	Schlafstadien und Schlafarchitektur	9
1.3	Ursache und Funktion des Schlafes	10
1.4	Vegetatives Nervensystem und Endokrinium	12
1.5	Circadiane Rhythmen	17
1.6	Schlaf und Immunsystem – Stand der Forschung	19
1.6.1	Klinische Aspekte	20
1.7	Fragestellung	21
2	Material und Methoden	24
2.1	Versuchspersonen	24
2.2	Versuchsablauf	25
2.3	Schlaf	27
2.4	Laboranalyse	29
2.4.1	Durchflusszytometrie und In-Vitro-Stimulation	29
2.4.2	Hormonbestimmungen	34
2.5	Statistik	34
2.5.1	Deskriptive Statistik	34
2.5.2	Die Cosinormethode	34
2.5.3	Varianzanalysen	35
2.5.4	Korrelationsanalysen	36
3	Ergebnisse	37
3.1	Schlaf	37
3.2	Rhythmen	37
3.3	Schlaf versus Schlafentzug	38
3.3.1	Veränderungen von IL-12 und IL-10	38
3.3.2	Hormone und Veränderungen von IL-12 und IL-10	42
4	Diskussion	46
4.1	Interleukin 12 und Interleukin 10	46
4.2	Hormone	56

4.3	Klinische Bedeutung bei Erkrankungen mit Zytokindysregulationen	61
4.3.1	Humanes Immundefizienz-Virus (HIV)	62
4.3.2	Rheumatoide Arthritis	65
5	Ausblick	69
6	Zusammenfassung	72
7	Verzeichnisse	73
7.1	Abkürzungsverzeichnis	73
7.2	Literaturverzeichnis	74
8	Anhang	86
8.1	Danksagung	86
8.2	Tabellarischer Lebenslauf	87

#### 1 Einleitung

Müdigkeit ist ein zentrales Symptom bei Infektionskrankheiten. Demzufolge ist nahezu jedem die Müdigkeit bekannt, die einen auch bei mitunter harmlosen Infekten befällt. Die Ansicht, dass sich Schlaf einerseits positiv auf den Krankheitsverlauf auswirkt und andererseits Schlafentzug die Anfälligkeit für Infektionskrankheiten erhöht, ist in der Gesellschaft weit verbreitet.

Mit Hilfe dieser Studie möchten wir aufzeigen, in welcher Art und Weise bestimmte Parameter des Immunsystems auf Schlafentzug reagieren, in dem Veränderungen von Monozyten und ihrer sezernierten Botenstoffe und immunoaktive Hormone bei Schlafentzug im Vergleich zum normalen Schlaf analysiert werden.

#### 1.1 Das Immunsystem

Das Immunsystem hat die Aufgabe, den Körper gegen Infektion zu schützen. Der Mensch ist täglich mit Bakterien, Viren, Pilzen und Parasiten einer Vielzahl von Erregern ausgesetzt. Grundlage dieser Fähigkeit ist die Unterscheidung zwischen körpereigenen und körperfremden Stoffen. Mit Hilfe der zum Immunsystem zugehörigen Zellen gelingt es, körperfremde Substanzen zu erkennen und den Organismus vor Infektionen und den daraus resultierenden Krankheiten zu schützen. Seine beiden Grundpfeiler sind das spezifische und das unspezifische Immunsystem. Spezifische Immunität entsteht erst, nachdem es zum Kontakt mit einem Pathogen gekommen ist, daher wird diese Art der Abwehr auch als "erworben" bezeichnet. Die Komponenten des unspezifischen Immunsystems sind dagegen bereits bei Erstkontakt sofort wirksam und werden daher auch "angeboren" genannt. Traditionell wird das Immunsystem außerdem in einen zellulären und einen humoralen Anteil unterteilt.

#### 1.1.1 Zellen des Immunsystems

Die Zellen des Immunsystems, die Leukozyten, werden je nach Zugehörigkeit ebenfalls in Zellen der unspezifischen oder spezifischen Abwehr eingeteilt. Ein charakteristisches Merkmal unspezifischer Abwehrzellen ist. dass sie mit immer gleichen unterschiedliche Abwehrmechanismen auf Pathogene reagieren. Diese Zytokinen Abwehrmechanismen die Sekretion anderer können von oder

Entzündungsmediatoren, die Phagozytose eingedrungener Pathogene sein oder die Sezernierung von Sauerstoffradikalen, die zur Lyse pathogener Zellen führt. Sie sind auch imstande Aufgaben zu übernehmen, die im Verlauf einer spezifischen Immunantwort von Bedeutung sind: Dies ist die Präsentation von Antigenen und die Regulation der Immunantwort. Zellen des unspezifischen Immunsystems sind einerseits die Granulozyten (neutrophile, eosinophile und basophile) und andererseits die Zellen des Mononukleärphagozytären Systems (MPS; frühere Bezeichnung: retikuloendotheliales System – RES). Zellen des mononukleär-phagozytären Systems sind in erster Linie die Monozyten und die spezialisierten Antigen-präsentierenden Zellen.

Monozyten entstammen dem Knochenmark und entwickeln sich aus undifferenzierten Knochenmarkstammzellen. Unter dem Einfluss von Zytokinen und bestimmten Wachstumsfaktoren entwickeln sie sich im Knochenmark von Monoblasten über Promonozyten zu Monozyten. Monozyten gehören mit 10-11 µm zu den größten Immunzellen des Menschen. Sie bestehen aus einem charakteristisch großen Kern (griech.: monos = einzig) und im Zytosol liegenden Lysosomen. In diesen finden sich katalytische Enzyme wie Peroxidasen, Phosphatasen, Esterasen und Proteasen, mit denen sie in der Lage sind, in den Körper eingedrungene Pathogene nach Phagozytose zu lysieren. Die Monozyten zirkulieren nach Verlassen des Knochenmarks in der Blutbahn des Menschen. Sie haben eine Lebensdauer von wenigen Stunden bis zu drei Tagen. Dabei treten sie kontinuierlich auch in Abwesenheit einer Entzündung aus der Blutbahn in das benachbarte Gewebe ein – dieser Prozess wird als Extravasation bezeichnet. Durch Entzündungen und Entzündungsmediatoren angelockt, können zahlreiche Monozyten aus der Blutbahn in das jeweilige Gewebe rekrutiert werden. Dabei differenzieren sie zu Makrophagen. Diese nun ortsständigen Makrophagen können mehrere Wochen überleben und sind in vielen Geweben des menschlichen Körpers zu finden. Insbesondere Gewebe, die erste mit Fremdkörpern in Kontakt treten, haben bedeutende Makrophagenpopulationen. Genannt seien hier die Alveolarmakrophagen in der Lunge, die Kupferschen Sternzellen in der Leber oder die Makrophagen in der Haut. Während der Differenzierung zu Makrophagen nehmen die Zellen an Größe zu (15-80 µm Durchmesser). Die Hauptaufgaben bestehen nun in der kontinuierlichen Phagozytose und der Produktion von Entzündungsmediatoren, sowie der Präsentation phagozytierter Zellbestandteile an die spezifischen Zellen des Immunsystems. Makrophagen bilden damit eine wichtige Schnittstelle zur Initiierung und Aufrechterhaltung einer Immunantwort und zur Synchronisation mit anderen Zellen des Immunsystems. Eine Aktivierung von Gewebemakrophagen kann beispielsweise durch bakterielles Antigen oder durch Zytokine ausgelöst werden. Obgleich Monozyten bei ihrer Differenzierung zu Makrophagen weitere Funktionen hinzu erlangen, besitzen auch Monozyten bereits vor der Differenzierung wichtige Funktionen innerhalb des Immunsystems. Sie haben ebenfalls schon die Fähigkeit körperfremde Strukturen aufzunehmen und zu verarbeiten und sind zur Antigenpräsentierung befähigt. Die Fertigkeit zwischen körperfremden und körpereigenen Molekülen unterscheiden zu können, wird durch Rezeptoren an ihrer Oberfläche vermittelt. Ein wichtiger Rezeptor hierfür ist der Oberflächenmarker CD14 (clusters of differentiation), der in der Lage ist bakterielles Lipopolysaccharid (LPS) zu erkennen. Durch Binden von LPS an diesen Rezeptor wird eine Phagozytose dieses Pathogens ausgelöst und somit die weitere Abtötung innerhalb der Zelle. Solche Oberflächenmarker finden sich auf vielen Immunzellen und sind einerseits für die jeweilige Funktion der Zelle unabdingbar, andererseits dienen sie als charakteristisches Merkmal zur Unterscheidung der Zellen (Siehe auch "Material und Methoden").

Eine weitere wichtige Funktion ist die Antigenpräsentation an Zellen des spezifischen Immunsystems, den Lymphozyten. Diese wird mittels spezialisierter Proteinkomplexe erreicht. Diese Proteinkomplexe, das Human Leucocyte Antigen (HLA), sind an fast allen menschlichen Zellen vorhanden und eine individuelle Signatur der Zelle – sie bestehen aus einer Mischung von Glykoproteinen, die in einem Genkomplex, dem Major Histocompatibility Complex (MHC), kodiert werden. Körpereigene und körperfremde intrazelluläre Antigene werden mit Hilfe der HLA-Proteinkomplexe an der Zelloberfläche exprimiert und können so vom Immunsystem erkannt und gegebenenfalls bekämpft und abgetötet werden (Siehe "Material und Methoden").

Des Weiteren sind Monozyten Produzenten verschiedener Botenstoffe, mit deren Hilfe sie in der Lage sind, Immunprozesse zu mediieren und Abläufe zwischen den Zellen zu synchronisieren. Ihre Bedeutung innerhalb des Gleichgewichts von Typ1- und Typ2-Zytokinen wurde seit einigen Jahren hervorgehoben (Lucey et al. 1996). Beispielsweise werden die in der vorliegenden Studie untersuchten Interleukine IL-12 und IL-10 zum großen Teil von Makrophagen und Monozyten sezerniert. Deren Funktion soll am Ende des Kapitels eingehender beleuchtet werden.

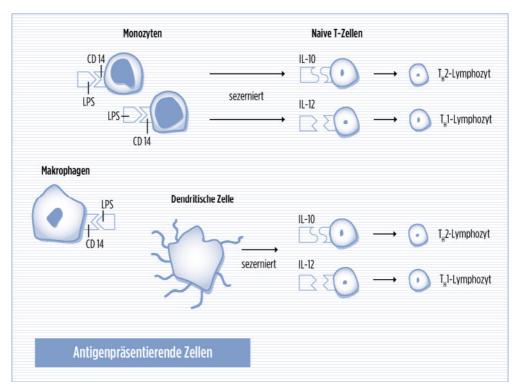


Abbildung 1: Zellen des Immunsystems

Die bedeutendste Zellpopulation der Gruppe der Antigen-präsentierenden Zellen sind die hochspezialisierten Dendritischen Zellen. Funktion und Morphologie sind darauf ausgerichtet körperfremde Pathogene zu erkennen, aufzunehmen und anderen Zellen des Immunsystems, vornehmlich T-Zellen des spezifischen Immunsystems, zu präsentieren. Sie sind nach ihrer typischen morphologischen Struktur benannt (lat.: dendriticus = verzweigt). Dendritische Zellen besitzen eine Vielzahl fingerartiger Ausläufer, die ein Netzwerk von Ästen zwischen den T-Zellen bilden. Sie sind die stärksten bisher bekannten Aktivatoren von T-Zellen. Unreife Dendritische Zellen befinden sich in fast allen Oberflächenepithelien und in den meisten inneren Organen, wie beispielsweise in Herz und Niere. Dort besitzen sie jedoch noch nicht die Fähigkeit T-Zellen aktivieren zu können. Ihre Funktion besteht vielmehr darin eine Fülle von Antigenen aufzunehmen. Dafür stehen ihnen die Ingestation von Pathogenen mit Hilfe von Rezeptoren genauso zur Verfügung, wie auch eine Aufnahme durch Phagozytose. Dabei können sie auch durch unspezifische Makropinozytose große Volumen umgebender Flüssigkeiten einhüllen. Im Rahmen einer Infektion werden die Dendritischen Zellen stimuliert, zu den lymphatischen Organen zu wandern (Lymphknoten, Milz, Schleimhaut-assoziiertes lymphatisches Gewebe). Die Dendritischen Zellen verlieren damit die Fähigkeit Antigene aufzunehmen, sind aber nunmehr in der Lage die bereits aufgenommenen Pathogene naiven T-Zellen, die ihr spezifisches Antigen noch nicht gefunden haben, zu präsentieren. Den Dendritischen Zellen wird zugesprochen virale, bakterielle und fungioide Pathogene präsentieren zu können. Neben den Dendritischen Zellen werden auch bestimmte B-Zellen und Makrophagen zu den Antigen-präsentierenden Zellen gerechnet. Monozyten besitzen, als Vorläufer der Makrophagen, ebenfalls Bedeutung für die Präsentierung von Antigenen und haben dementsprechend viele Ähnlichkeiten mit den Dendritischen Zellen, wie die Phagozytose von Antigenen, die Sekretion gleicher Botenstoffe (IL-12 und IL-10) und die Exprimierung ähnlicher Rezeptoren (gesamtes Kapitel: Janeway 2007).

Ein Großteil der in den Körper eindringenden Pathogene kann bereits vom unspezifischen Immunsystem unschädlich gemacht werden. Haben die Pathogene jedoch Mechanismen entwickelt, sich diesen Angriffen zu entziehen oder zu widersetzen, kommt das phylogenetisch jüngere spezifische Immunsystem zum Tragen. Lymphozyten stellen die zentralen Komponenten des spezifischen Immunsystems dar, sie bestehen aus einer heterogenen Population von Zellen, die sich in vielen Bereichen wie Morphologie, Herkunft und Aufgabe unterscheiden. Nach ihrer Funktion werden als große Klassen die B- und T- Lymphozyten unterschieden.

Die B- und T-Lymphozyten (B-Zellen, T-Zellen) reifen in primären lymphatischen Organen heran, die T-Lymphozyten im Thymus, die B-Lymphozyten im Knochenmark (bone marrow). Dort entwickelt jeder einzelne Lymphozyt durch Rekombination von Gensegmenten einen spezifischen Rezeptor, der auf später präsentierte Antigene passt. Die Fähigkeit des Immunsystems auf nahezu alle Fremdkörper einen spezifischen Lymphozyten bilden zu können, liegt in der großen Anzahl verschiedener Lymphozyten begründet. B-Lymphozyten produzieren Antikörper, die spezifisch an ein Antigen binden können und sind somit entscheidende Repräsentanten der humoralen (löslichen) Immunantwort. T-Lymphozyten unterteilen sich in zwei große Populationen durch die verschiedenen charakteristischen Oberflächenmarker (clusters of differentiation): T-Helferzellen (CD4) und zytotoxische T-Zellen (CD8), die infizierte Zellen mit Hilfe der HLA-Komplexe erkennen und sie direkt lysieren. CD4-positive T-Helferzellen sind darauf spezialisiert, andere Zellen zu aktivieren und deren Aktivität zu modulieren. Sie lassen sich wiederum in zwei große Klassen einteilen. Einerseits T<sub>H</sub>1-Lymphozyten, die durch Ausschüttung von Zytokinen eine zellulär betonte Richtung der Immunantwort unterstützen (Aktivierung von Makrophagen, Proliferation zytotoxischer T-Zellen oder Erhöhung der Peptidpräsentation). Auf diese Weise unterhalten die T<sub>H</sub>1-Zellen eine effiziente und aggressive Immunantwort und werden daher auch Entzündungszellen genannt. T<sub>H</sub>2-Lymphozyten dagegen unterstützen eine humoral betonte Immunantwort (Aktivierung von B-Lymphozyten zur Antikörperproduktion, Hemmung von Makrophagen), sie sorgen zudem dafür, dass eine übermäßige Entzündungsreaktion durch die T<sub>H</sub>1-Lymphozyten unterdrückt wird. Grundsätzlich bewirken die sezernierten Botenstoffe beider Zellpopulationen eine Hemmung der Entwicklung der jeweils anderen Helferzellpopulation. Inwieweit eine T-Helferzelle sich im menschlichen Körper in eine T<sub>H</sub>1-Zelle oder T<sub>H</sub>2-Zelle differenziert ist bisher nicht vollständig geklärt. Das Milieu der sie umgebenden Botenstoffe durch Antigen-präsentierende Zellen scheint hierbei eine herausgehobene Bedeutung zu besitzen (Kalinski et al. 1999a).

#### 1.1.2 Zytokine

Mittlerweile ist eine große Anzahl von kleinen Proteinen (um 25 kDa) bekannt, die unter dem Überbegriff *Zytokine* zusammengefasst werden. Zytokine werden von verschiedenen Zellen des Körpers ausgeschüttet mit dem Ziel, die Kommunikation von Immunzellen untereinander und von Immunzellen und Zielzellen zu forcieren. Ihre Synthese erfolgt entweder dauerhaft (konstitutiv) oder nach Aktivierung (induktiv), ihre Funktion ist gekennzeichnet durch Redundanz (gleiche Wirkung verschiedener Zytokine) und Pleotropismus (Wirkung auf verschiedene Zellen). Zytokine können ihre Wirkung autokrin (Wirkung auf die eigene Zelle), parakrin (Wirkung auf die benachbarten Zellen) und sogar teilweise endokrin (Wirkung auf weiter entfernt liegende Zellen) entfalten.

Allgemein ist die Aufgabe von Zytokinen die Modulation einer Entzündung. Sie können deren Unterhaltung und Initialisierung bewirken, aber auch die Unterdrückung einer Entzündungsreaktion. Zu ihrem Wirkungsspektrum gehört die Vermehrung von zur Phagozytose befähigten Zellen, aber auch die Verstärkung ihrer Aktivität. Sie induzieren Fieber und die Aktivierung von Akute-Phase-Proteinen (Entzündungsproteine). Schließlich beeinflussen sie das Wachstum und die Differenzierung von Lymphozyten zu B- und T-Lymphozyten.

#### Interleukin-12 / Interleukin-10

Zytokine besitzen eine Vielzahl verschiedener Funktionen und Charakteristika. Funktionell lassen sich viele Zytokine gut in zwei große verschiedene Gruppen einteilen: Einerseits Zytokine, die eine zellulär betonte starke Entzündungsreaktion des Immunsystems auf ein Pathogen unterstützen. Dies wird über eine Aktivierung von  $T_H1$ -

Lymphozyten erreicht, die - wie oben beschrieben – ihrerseits durch verschiedene Mechanismen eine zelluläre Abwehrreaktion verstärken. Zytokine, die zu diesem Funktionskreis gehören, werden auch Typ1-Zytokine oder proinflammatorische Zytokine genannt. Ihre wichtigsten Vertreter sind IL-12, IL-2, TNF- $\alpha$  (Tumornekrosefaktor- $\alpha$ ) und IFN- $\gamma$  (Interferon- $\gamma$ ).

Andererseits können Zytokine auch eine humorale Immunantwort fördern. Eine zentrale Rolle spielen hierbei T<sub>H</sub>2-Lymphozyten. Solche Zytokine werden als Typ2-Zytokine oder als antiinflammatorische Zytokine (IL-4, -5, -10, -13) bezeichnet, da sie in der Lage sind eine überschießende proinflammatorische Reaktion zu hemmen.

Typ1-Zytokine			Typ2-Zytokine		
Eigenschaften	Ursprungszellen	''T <sub>H</sub> 1-like''	Eigenschaften	Ursprungszellen	''T <sub>H</sub> 2-like''
proinflammatorisch  Unterstützung einer starken zellulären Immunantwort	DZ, Mo/Ma, Neu TH1, NK TH1, CD8+ TH1, Mo/Ma, Eos Mo/Ma, DZ, B, TH1, EOS	IL-12 IFN-γ IL-2 TNF-α IL-6	antiinflammatorisch Reduktion einer zellulären Immunantwort Unterstützung einer humoralen Immunantwort	Mo/Ma, DZ, TH2 TH2, CD8+, Eos TH2, CD8+, Eos TH2	IL-10 IL-4 IL-5 IL-13

Tabelle 1: Typ1 / Typ2 Zytokine

DZ=Dendritische Zellen, Mo/Ma= Monozyten/Makrophagen, Neu=Neutrophile Granulozyten, TH1= $T_H$ 1-Lymphozyten, NK=Natürliche Killerzellen, CD8+=Zytotoxische T-Lymphozyten, B=Lymphozyten, TH2= $T_H$ 2-Lymphozyten, Eos=Eosinophile Granulozyten

Aus Gründen der Übersichtlichkeit möchte ich im Folgenden lediglich auf die Interleukine IL-12 und IL-10 eingehen, da sie wichtige Repräsentanten ihrer jeweiligen Gruppe sind und für diese Studie eine besondere Bedeutung besitzen.

Interleukin-12 gehört zu den proinflammatorischen Zytokinen, die in der ersten Phase einer Immunantwort auf bestimmte Pathogene sezerniert werden. Neben einer starken Aktivität gegen Viren oder intrazelluläre Erreger, spielt IL-12 vor allem eine wichtige Rolle im Rahmen einer ersten Immunantwort auf in den Körper eingedrungene bakterielle Erreger (gemeinsam mit IL-1β, TNF-α, IL-6 und IL-8). IL-12 wird zu den Zytokinen gerechnet, deren bedeutendste Aufgaben die Anstoßung und Fortdauer einer T<sub>H</sub>1-Antwort ist. Dabei wirkt IL-12 durch die Induktion der Bildung und Entwicklung von T<sub>H</sub>1-Zellen auf das Gleichgewicht zwischen T<sub>H</sub>1- und T<sub>H</sub>2-Zellen (O'Garra et al. 2009). Produziert wird es hauptsächlich von Monozyten, Makrophagen und Dendritischen Zellen, die dazu nötige Stimulation kann von vielen aktivierten Zellen oder Botenstoffen, wie IFN-γ (positiver Feedback Mechanismus mit IL-12) oder Prostaglandin E2 kommen. Sind beim Menschen Mutationen bei IL-12, seinem Rezeptor oder Teilen der Signalkaskade

vorhanden, so kann dies zu schwerwiegenden und unkontrollierbaren Infektionen führen (Janeway 2007).

Interleukin-10 wird zu den antiinflammatorischen Zytokinen gezählt; die zentrale Aufgabe ist die Unterdrückung einer überschießenden Immunantwort. Gebildet wird IL-10 in erster Linie von T<sub>H</sub>2-Zellen, Monozyten und Makrophagen. Die immunsuppressiven Effekte übt es über eine Reduzierung der Produktion der proinflammatorischen Zytokine von T-Zellen aus und indirekt über die Verhinderung der Bildung kostimulativer Faktoren von Antigen-präsentierenden Zellen. Auch konnte zuletzt eine direkte inhibitorische Wirkung auf die Entwicklung von T<sub>H</sub>1-Zellen nachgewiesen werden (O`Garra et al. 2009). Außerdem wirkt es antiinflammatorisch durch eine potente Unterdrückung von Makrophagen- und Monozytenfunktionen.

Der funktionelle Antagonismus zwischen diesen beiden Zytokinen lässt sich auf verschiedenen Ebenen beobachten. Einerseits ist der dominierende Effekt jeweils konträr: Während IL-12 proinflammatorisch wirkt, reguliert IL-10 die Immunantwort und hat eine ausgeprägte immunsuppressive Komponente. Andererseits ist ein Teil des jeweiligen Wirkspektrums die Unterdrückung des jeweils anderen Interleukins oder verwandter Interleukine. So unterdrückt IL-12 die Expression antiinflammatorischer Zytokine wie IL-10 und umgekehrt. Des Weiteren sind sie gegensätzlich in die Funktion der beiden T-Helferzellenpopulationen integriert. IL-12 wird von Antigen-präsentierenden Zellen sezerniert und fördert die Ausdifferenzierung und Aktivität von T<sub>H</sub>1-Lymphozyten. IL-10 wirkt dagegen im oben dargestellten Funktionskreis der T<sub>H</sub>2-Zellen (Typ2-Zytokine). Der diesbezügliche Antagonismus von IL-12 und IL-10 wird deutlich bei der Entwicklung von T<sub>H</sub>1- und T<sub>H</sub>2-Zellen: Bei der Anwesenheit von IL-12 tendieren undeterminierte CD4positive T-Zellen zur Differenzierung zu T<sub>H</sub>1-Zellen, bei der Anwesenheit von IL-10 dagegen zu T<sub>H</sub>2-Zellen (Kalinski et al. 1999a). Für den menschlichen Organismus macht dieser Antagonismus durchaus Sinn: Für die meisten Infektionen wird eine ausgeprägte Typ1-Immunantwort benötigt, um den Erreger wirksam zu bekämpfen (lediglich bestimmte Wurminfektionen benötigen eine Typ2-betonte Immunantwort). Die Zytokine kontrollieren sich durch die gegenseitige Hemmung und verhindern so überschießende Reaktionen eines Typs. Denn Störungen der Balance von pro- und antiinflammatorischen Zytokinen können zu schwerwiegenden Folgen für den Organismus führen. Bei einer exzessiven Produktion einer der beiden Antagonisten kann es einerseits zu schwerwiegenden Entzündungsreaktionen mit nachfolgenden Gewebeschädigungen bis hin zum septisch-toxischen Schock kommen (Typ1) oder es andererseits für den Körper zu gefährlichen Infektanfälligkeiten oder ausgeprägten Allergien kommen (Typ2).

#### 1.2 Schlafstadien und Schlafarchitektur

Wer arbeitet, dem ist der Schlaf süß

Bibel

Der Schlaf ist ein zentralnervöser Zustand, in dem der Körper eine Veränderung der Bewusstseinslage und der Körperfunktionen durchläuft. Ähnlich der unterschiedlichen Aufmerksamkeit im Wachen beim Menschen, ist auch der Schlaf kein einheitlicher Zustand. Mit Hilfe eines Elektroenzephalogramms (EEG) besteht die Möglichkeit, die elektrische Aktivität des Gehirns zu messen und mit entsprechenden Bewusstseinszuständen, beispielsweise der Schlaftiefe zu korrelieren. Zur Bestimmung der verschiedenen Schlafstadien werden in der Schlafforschung als Standard weiterhin ein Elektromyogramm (EMG) und ein Elektrookulogramm (EOG) benutzt. Die Einteilung der Schlafstadien wurde 1968 durch Rechtschaffen und Kahles standardisiert und bildet auch heute noch die Grundlage der Einordnung polysomnographischer Aufzeichnungen. Es werden neben dem Wachstadium (W) fünf verschiedene Schlafstadien unterschieden, die sich u.a. in Schlaftiefe und der Schwelle des zum Wecken benötigen Reizes unterscheiden. Das Einschlafstadium (S1) und das Schlafstadium 2 (S2) bilden gemeinsam den leichten Schlaf. Die Schlafstadien 3 und 4 (S3, S4) werden als Tiefschlafphasen oder als "slow-wave-sleep" (SWS) bezeichnet. Die englische Bezeichnung bezieht sich auf besondere Charakteristika dieser Schlafphasen in den Aufzeichnungen des EEGs, da in diesen Stadien langsame Wellen mit hoher Amplitude, die so genannten Delta-Wellen, vorherrschend sind. Die Schlafstadien eins bis vier werden auch zusammengefasst unter dem Begriff Non-REM-Schlaf (Rapid Eye Movement) und dem REM-Schlaf gegenübergestellt. Der REM-Schlaf wird als Traumschlaf oder als paradoxer Schlaf bezeichnet und ist dem Wachzustand physiologisch und psychologisch in vielerlei Hinsicht ähnlich. Sein Name resultiert aus dem Phänomen, dass es während des REM-Schlafes zu schnellen Augenbewegungen kommt. Der normale Schlafrhythmus des Menschen beinhaltet einen charakteristischen Zyklus von Non-REM- und REM-Schlaf. Schlaf beginnt mit oberflächlichem Schlaf (S1, S2) und geht dann in die tieferen Schlafstadien über (S3, S4). Anschließend kommt es zum REM-Schlaf, der einen Zyklus abschließt. Beim gesunden Menschen dauert diese Abfolge ungefähr 100 Minuten. Innerhalb einer Nacht durchläuft der Mensch 4-5 solcher Zyklen, wobei der Anteil des REM-Schlafes zum Morgen hin zunimmt während der Anteil der Tiefschlafphasen abnimmt, siehe Abbildung 2.

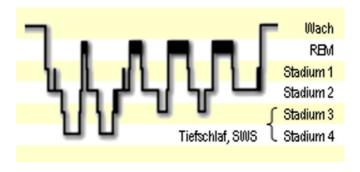


Abbildung 2: Hypnogramm mit Schlafzyklen

Typisches Hypnogramm mit mehreren Schlafzyklen, die sich aus der Abfolge von Schlafstadium 1 bis 4 und einer anschließenden REM-Phase (Rapid Eye Movement) zusammensetzen. SWS=Slow Wave Sleep

Die Dauer des nächtlichen Schlafes ist intraindividuell sehr stabil, jedoch im interindividuellen Vergleich sehr unterschiedlich. Im Mittel dauert die nächtliche Schlafperiode des jungen Erwachsenen 7,5 Stunden und am Wochenende 8,5 Stunden (Steinberg et al. 2000). (Zur genaueren Beschreibung der Schlafstadien S.a. Kapitel 2.3).

#### 1.3 Ursache und Funktion des Schlafes

Wird der Wachzustand lange Zeit aufrechterhalten, so wird das Schlafbedürfnis immer vorherrschender, bis es schließlich unüberwindlich ist. Dieses Phänomen geht mit einer Vergiftung durch eine hypothetische Substanz einher, die die Eigenschaften von Toxinen hat Piéron 1913

Die Diskussionen bei der Erforschung von Ursache und Funktion des Schlafes werden bereits zu Beginn des 20. Jahrhunderts kontrovers geführt. Wegleitende Experimente zur Ursache des Schlafes gelangen dem Franzosen Piéron 1913, in denen durch Injektionen von Liquor Schlaf deprivierter Hunde, bei Kontrolltieren Schlaf ausgelöst wurde. Diese Experimente bildeten die Grundlage der "Hypnotoxin-Theorie". Diese postuliert eine Anhäufung toxischer Substanzen während der Wachphase als Ursache für die Schlafinduktion, da sie der Theorie zur Folge eine somnogene Wirkung haben und während des Schlafes eliminiert werden. Piérons Konzept führte über die Jahrzehnte zu vielzähligen weiteren Experimenten. Heutzutage stehen mehrere Faktoren im Verdacht Schlaf zu induzieren.

Bislang existieren keine eindeutigen Erklärungen für die Funktion des Schlafes. In den letzten Jahren ist diese Frage zunehmend in den Fokus der Neurowissenschaften gerückt. Weitgehend anerkannt und durch eine Vielzahl von Studien belegt ist die These, dass

Schlaf für die Gedächtnisbildung wichtig ist und es während des Schlafes zu einer Verfestigung von Gedächtnisspuren kommt (Maquet et al. 2003, Walker et al. 2006). Diese schlafabhängige Gedächtnisprozessierung konnte in neueren Studien deutlich gemacht werden (Wagner et al. 2004b), wobei die Mechanismen solch einer Prozessierung vermutlich durch eine strukturelle und funktionelle Veränderung auf Ebene der Neuronen erreicht werden und so zu plastischen Veränderungen im Gehirn führen (Stickgold et al. 2007, Walker et al. 2004). Daraus könnte gefolgert werden, dass ein gestörter Schlafrhythmus die Mechanismen der Hirnplastizität stört, die mit Gedächtnisbildung einhergehen. In den letzten Jahren hat sich zunehmend die Hypothese durchgesetzt, dass diese plastischen Prozesse der Gedächtnisbildung nicht allein auf kognitive Funktionen beschränkt sind, sondern als allgemeiner biologischer Prozess verstanden werden, der in vielen Systemen - so auch zum Beispiel innerhalb des Immunsystems – stattfindet. Schlaf würde somit allgemein adaptive plastische Prozesse fördern, die eine langfristige stabile Regulation und Synchronisation verschiedener Organsysteme ermöglicht. Das Immunsystem besitzt mit seinem adaptiven spezifischen Arm, wie oben beschrieben, eine ausgeprägte immunologische Gedächtnisbildung, beispielsweise bei der Erkennung von Antigenen, mit denen das Immunsystem bereits in Kontakt getreten ist.

In diesem Kontext ist die nähere Betrachtung der Funktion der im obigen Kapitel erläuterten Antigen-präsentierenden Zellen von Bedeutung. Sie verarbeiten von außen eingedrungene Erreger und präsentieren sie den spezifischen Immunzellen. Wenn ein gestörter Schlafrhythmus einen Einfluss auf die Gedächtnisbildung hat, so kann angenommen werden, dass innerhalb des Immunsystems ebenso Einfluss auf die Aktivität der Antigen-präsentierenden Zellen genommen wird und damit auch auf die von ihnen sezernierten Zytokine. Antigen-präsentierende Zellen führen einerseits "Reizverarbeitung" durch und sind andererseits durch die fortwährende Präsentierung an der immunologischen Gedächtnisbildung beteiligt. Ein mögliches Erklärungsmodell ist, dass Schlafentzug zu einer gestörten Plastizität des Immunsystems führt. Dies geschieht in Teilen aufgrund einer Verringerung der Aktivität der Antigen-präsentierenden Zellen. IL-12, das in erster Linie von Antigen-präsentierenden Zellen sezerniert wird, müsste dem Modell folgend, bei Schlafentzug deutlich geringe Konzentrationen zeigen, während ein normaler Schlaf-Wach-Rhythmus im Sinne der nächtlichen Gedächtnisbildung zu vergleichbar höheren Konzentrationen führen müsste. Dieser Punkt wird in der vorliegenden Arbeit näher untersucht.

Für andere Systeme - wie beispielsweise das metabolische System - konnten beim Menschen in Studienergebnissen Störungen bei der Verarbeitung von "Reizen" durch Schlafentzug nachgewiesen werden: So führt Schlafentzug zu einer Reihe von Stoffwechselveränderungen, besonders des Glukosestoffwechsels (Scheen et al. 1998) und der Plasmakonzentrationen von Leptin (an der Regulierung des Fettstoffwechsels beteiligt) (Mullington et al. 2003). Probanden unter Schlafentzug reagierten auf den Konsum kohlenhydratreicher Kost wie Patienten im Frühstadium eines Diabetes mellitus. Nach Einhalten eines normalen Schlaf-Wach-Rhythmus stellten sich die physiologischen Regulierungsmechanismen wieder ein (Spiegel et al. 1999).

#### 1.4 Vegetatives Nervensystem und Endokrinium

Die Veränderungen immunologischer Parameter während des Schlafes sind in den letzten Jahren zunehmend Gegenstand von Untersuchungen. Mit dem Endokrinium und dem vegetativen Nervensystem sind zwei Systeme bekannt, die diesbezüglich auf vielfältige Weise modulierend eingreifen können. Im Folgenden sollen beide Systeme, ihre Bedeutung auf das Immunsystem und auf das Schlaf-Wach-Verhalten näher erläutert werden.

Das Endokrinium ist neben dem Nervensystem das zweite zentrale Steuersystem des Körpers. Sein Mittel der Kommunikation sind Botenstoffe, lösliche Substanzen, die von Zellen als Amine, Lipide oder Peptide sezerniert werden. Andere Zellen "verstehen" diese Information mit Hilfe ihrer Rezeptoren, die membranständig sind oder im Zytosol liegen. Die bekanntesten Botenstoffe, die Hormone, werden von Zellen des Endokriniums sezerniert und gelangen über den Blutweg zu ihren Erfolgszellen. Dabei legen sie teilweise große Distanzen zurück - diese Art der Wirkungsweise wird *endokrin* genannt. Auch eine *parakrine* oder *autokrine* Wirkung durch Sekretion des Botenstoffes in die unmittelbare Umgebung der sezernierenden Zelle ist möglich. Sowohl für das endokrine System als auch für das vegetative Nervensystem ist der im Diencephalon liegende Hypothalamus die oberste Kontrollinstanz. Für seine neuroendokrinen Aufgaben ist er in einen Regelkreis mit Hypophysenvorderlappen und Nebennierenrinde (hypothalamohypophyseo-adrenaler Regelkreis) eingebunden. Über die Ausschüttung des Corticotropin Releasing Hormons (CRH) fördert der Hypothalamus die Freisetzung des Adrenocorticotropen Hormons (ACTH) aus dem Hypophysenvorderlappen (HVL),

welches wiederum die Sezernierung und Produktion von Cortisol aus der Nebennierenrinde erhöht. Über einen negativen Feedback-Mechanismus reguliert wiederum das Cortisol die Ausschüttung von CRH und ACTH.

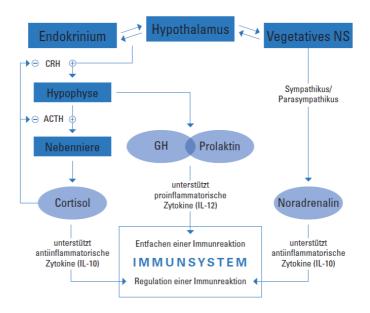


Abbildung 3: Hypothalamus-Hypophyse-Nebennierenrinden-Achse / Vegetatives Nervensystem

Cortisol besitzt sehr viele Wirkungen auf den gesamten Organismus, so auch auf das Immunsystem. Über Stereoidrezeptoren entfaltet Cortisol eine immunsupressive Wirkung. Es hemmt unter anderem die Entwicklung von Monozyten und die Proliferation von Makrophagen, sowie die Expression von Rezeptoren auf diesen Zellen und es unterdrückt zudem die Bildung proinflammatorischer Zytokine. Auch konnte zuletzt ein direkter hemmender Effekt auf die Aktivität von IL-10 nachgewiesen werden (Yeager et al. 2008). Mit dem Prolaktin und dem Wachstumshormon GH (engl.: Growth Hormon) entstammen neben dem Cortisol zwei weitere bedeutende Hormone aus Zellen des endokrinen Systems, die nicht nur innerhalb des Gesamtorganismus vielfältige Wirkungen entfalten, sondern auch auf Parameter des Immunsystems Einfluss nehmen. Beide Hormone werden von Zellen produziert, die im Hypophysenvorderlappen zu finden sind und werden ähnlich wie beim Cortisol über Hormone des Hypothalamus (Growth Hormone Releasinghormon-GH-RH und Prolaktin-Releasinghormon-PRL-RH) mit beeinflusst. Die bekannteste Wirkung des Prolaktins ist die Entwicklung der weiblichen Brustdrüse während der Schwangerschaft und die Aufrechterhaltung der Laktation postpartal. Daneben nimmt Prolaktin jedoch auch wichtige Funktionen in der Unterstützung einer proinflammatorischen Immunantwort wahr: Es fördert die Sekretion von

proinflammatorischen Zytokinen durch Antigen-präsentierende Zellen und verstärkt die Aktivität und Stimulationsfähigkeit von Dendritischen Zellen (Yang et al. 2006). Prolaktin besitzt strukturelle Ähnlichkeiten mit dem proinflammatorischen IL-2 (Hinterberger-Fischer 2000). Entsprechend wirken sich Veränderungen der Prolaktinkonzentrationen auch auf die Immunfunktionen aus – so sind bei einigen Autoimmunerkrankungen wie der rheumatoiden Arthritis oder der Multiplen Sklerose Prolaktinwirkungen beschrieben (Orbach et al. 2007). Umgekehrt werden Organtransplantationen bei erniedrigten Prolaktinspiegeln besser toleriert (Hinterberger-Fischer et al. 1994).

Die bekannteste Wirkung des GH ist der Einfluss auf das Längenwachstum des Menschen. Menschen mit zu geringen Hormonspiegeln in der Kindheit leiden unter Minderwuchs, zu hohe Spiegel führen zu Riesenwuchs bzw. zu einer Akromegalie bei ausgewachsenen Personen. GH unterstützt eine Immunantwort durch Mechanismen wie die Ausbildung von Rezeptoren auf immunkompetenten Zellen oder die Förderung der Sekretion von Antikörpern durch B-Zellen (Auernhammer et al. 1995). Insgesamt bestehen deutliche Ähnlichkeiten von Prolaktin und GH in Produktion – strukturelle Ähnlichkeiten gemeinsames Ursprungsorgan, Hormonund Rezeptorstruktur – und Funktion – Unterstützung einer Immunantwort, Förderung proinflammatorischer Zytokine. In den letzten Jahren konnte zudem nachgewiesen werden, dass GH direkt die Sekretion von proinflammatorischen Zytokinen durch Monozyten fördert (Tripathi et al. 2009).

Das vegetative Nervensystem ist ein weiteres zentrales Steuersystem des Körpers. Es ist der Teil des Nervensystems, der entscheidend an der Modulation der vegetativen Funktionen des Menschen beteiligt ist, wie die Steuerung von Blutkreislauf, Herztätigkeit, Atemfrequenz oder Körpertemperatur und ist somit in der Lage, den Körper an wechselnde Umweltbedingungen anzupassen. Das vegetative Nervensystem besteht aus zwei Teilen, die gegensätzliche Funktionen haben und durch ihr Zusammenspiel das vegetative Gleichgewicht des Körpers aufrechterhalten. Vereinfachend kann gesagt werden, dass der *Sympathikus* Leistung und Aktivität fördert ("Fluchtreaktion"), während der *Parasympathikus* für Erholung und Energieaufbau zuständig ist. Ein großer Teil der Wirkung des vegetativen Nervensystems – wie auch die Modulation des Immunsystems – werden über die enge Verschaltung mit dem endokrinen System erreicht. Das oberste Kontrollorgan ist wie beim endokrinen System der Hypothalamus. Während zwischen Hypothalamus und Endokrinium eine Kommunikation weitestgehend durch Hormone

erfolgt, bestehen zwischen dem vegetativen Nervensystem und dem Hypothalamus direkte Nervenverbindungen. Für die "Sprache" des Nervensystems fungieren Neurotransmitter und Neuropeptide als Botenstoffe. Sie werden von Nervenzellen bei Eintreffen eines Aktionspotentials an den Nervenendigungen und Synapsen freigesetzt. Diese Art der Informationsübertragung vollzieht sich bei Nervenzellen untereinander und von Nervenzelle zu Peripherie. Dabei werden die Botenstoffe in die unmittelbare Umgebung freigesetzt (und nicht über den Blutweg).

Noradrenalin fungiert überwiegend als ein Neurotransmitter des Sympathikus (es ist auch ein Hormon des Nebennierenmarks) und wird zu den Katecholaminen gezählt. Die Funktion von Katecholaminen ist die Einstellung des Körpers auf eine Stressreaktion ("Alarmreaktion"). So führen Angst, Stress oder Aufregung zu einer erhöhten Katecholaminfreisetzung, die wiederum durch ihre Wirkungen Energiereserven des Körpers bereitstellt und die vegetativen Funktionen des Körpers auf "Höchstleistung" einstellt. Hierbei aktiviert das Noradrenalin die Ausschüttung von Glukokortikoiden wie Cortisol aus der Nebennierenrinde. Ziel der Cortisolausschüttung ist die Umstellung des Körpers von einer schnellen neuronalen Leistungsreaktion auf eine längerfristige andauernde Leistungsbereitschaft. Noradrenalin nimmt somit über die immunsuppressiven Wirkungen des Cortisols Einfluss auf das Immunsystem. Daneben besitzt Noradrenalin aber auch direkte Wirkungen: Es stimuliert die Sekretion von IL-10 und hemmt die von IL-12 durch Monozyten (Elenkov et al. 2008), hemmt die IL-12-Sekretion durch 2008). Auch die Produktion Dendritische Zellen (Goyarts et al. proinflammatorischer Zytokine durch T-Zellen oder Antigen-präsentierende Zellen wird gehemmt (IL-12, TNF-α, IFN-γ) (Elenkov et al. 2002). Noradrenalin wirkt somit synergistisch mit Cortisol (Siehe Tabelle 2).

Der Steuerzentrale Hypothalamus als Kontrollinstanz für die Funktionen des vegetativen Nervensystems und des Endokriniums kommt somit eine wesentliche Funktion zur Synchronisation der einzelnen Systeme untereinander und der Anpassung der Systeme an Umweltbedingungen zu. Zahlreiche Faktoren, die an der Etablierung des circadianen Rhythmus und der Schlafregulation beteiligt sind (z.B. der Hell-Dunkel-Rhythmus) werden innerhalb des Hypothalamus verarbeitet. Er erhält somit stetig Informationen über circadiane, vegetative und endokrine Funktionsabläufe und kann wiederum Einfluss auf das vegetative Nervensystem und das Endokrinium nehmen.

Die enge Beziehung, die zwischen Schlaf und Immunsystem besteht, kann funktionell am Netzwerk dieser Organe veranschaulicht werden: Der Hypothalamus nimmt über Afferenzen den Zustand des Körpers und der Umwelt war (Schlaf/Wach oder Hell/Dunkel) und reguliert über die Ausschüttung von Hormonen oder über direkte Nervenverbindungen die Aktivität der Hypophyse. Diese wiederum sezerniert direkt oder über zwischengeschaltete Systeme Hormone, die einen Einfluss auf das Immunsystem nehmen. Des Weiteren besitzen alle vier genannten Hormone (Cortisol, Prolaktin, GH und Noradrenalin) charakteristische Rhythmen ihrer Serumspiegel und Sekretionsmuster während des Schlafes. Wird ein normaler Schlaf-Wach-Rhythmus eingehalten, so zeigen sich bereits zu Beginn des Schlafes Höchstwerte der Sekretion von Prolaktin und GH (Miyatake et al. 1980), während die Konzentrationen von Noradrenalin und Cortisol vergleichsweise geringe Werte aufweisen (Haus et al. 1999).

	Hormone	Allgemeine Wirkung	Wirkungen auf das Immunsystem	Autoren	
nng	Prolaktin	Wachstum der Brustdrüse	Produktion proinflammatorischer Zytokine ↑(IL-2, IFN-γ, TNF-α)	Dimitrov <sup>2004</sup> Matera <sup>2000</sup> Petreovsky <sup>2001</sup>	
Virk	aus Laktotropen	während der Schangerschaft. Milchsekretion während der Stillzeit	Sekretion von IL-6 durch DZ ↑	Yang <sup>2006</sup>	
e	Zellen des		Lebensdauer und Potenz von DZ ↑	Yang <sup>2006</sup>	
isch	Hypophysen-		Makrophagenaktivität ↑	Petrovsky <sup>2001</sup>	
ıtori	vorderlappens		Proliferation von T-Zellen ↑	Petrovsky <sup>2001</sup>	
nma	GH	_	Aktiviert Makrophagen	Petrovsky <sup>2001</sup>	
ıflar	aus α-Zellen des	Längenwachstum –	Sekretion von IL-12, IFN-γ, TNF-α ↑ durch Monozyten	Tripathi <sup>2009</sup>	
proinflammatorische Wirkung	Hypophysen- vorderlappens		Rezeptoren auf immunkompetenten Zellen ↑	Auernhammer <sup>1994</sup>	
			Antikörpersekretion von B-Zellen ↑	Auernhammer <sup>1994</sup>	
	Noradrenalin		Sekretion von IL-12 durch DZ ↓	Goyarts <sup>2008</sup>	
	Noragrenalin	Energiebereitstellung	Monozytensekretion von IL-12 ↓von IL-10 ↑	Petrovsky <sup>2001</sup>	
E I	aus dem		Aktivitätssteigerung von IL-10	Elenkov <sup>2002+2005</sup>	
Nir	Nebennierenmark und Transmitter des	Stressreaktion →	Hemmt Aktivität und Produktion von IL-12	Elenkov <sup>1996 +2005</sup>	
he \			Hemmung der Makrophagenaktivität	Elenkov <sup>2002</sup>	
isc	Sympathikus		Hemmung von IFN-γ	Hellstrand <sup>1989</sup>	
ator	Cortisol Stresshormon		Sekretion von IL-10 duch Monozyten ↑	Yeager <sup>2008</sup>	
Ĕ	Cortisor	_	Produktion von IL-12 ↓	Elenkov <sup>2005</sup>	
flar	K Nebennierenrinde	Einfluß auf	Reduktion von Monozyten am Infektionsort	Petrovsky <sup>2001</sup>	
antiinflammatorische Wirkung		Kohlenhydratstoffwechsel, pennierenrinde Fettstoffwechsel und Proteinumsatz —	Proliferation von Makrophagen,	Petrovsky <sup>2001</sup>	
			Granulozyten und NK-Zellen ↓	1 Guovaky	
		FIOLEIIIUIIISALZ	Sekretion proinflammatorischer Zytokine	Boumpas <sup>1993</sup>	
			Zytokine TNF-α, IFN-γ und IL-2 ↓	200	

Tabelle 2: Wirkungen der Hormone

DZ=Dendritische Zellen; NK=Natürliche Killerzellen

In neueren Studien konnte nachgewiesen werden, dass diese Hormone Einfluss auf das Verhältnis proinflammatorischer zu antiinflammatorischen Zytokinen nehmen. Zahlreiche Untersuchungen haben sich mit den Wirkungen der Glukokortikoide befasst. In ihnen zeigte sich weitestgehend einheitlich, dass Cortisol zu einer Verschiebung der Balance in Richtung antiinflammatorischer Zytokine führt. So zeigte sich beispielsweise bei erhöhten Konzentrationen eine Stimulation Typ2-Zytokin produzierender Zellen (Ramirez et al. 1996) und bei erniedrigten Cortisolkonzentrationen eine verstärkte Entwicklung Typ1-produzierender Zellen (Brinkmann et al. 1995).

Noradrenalin lenkt einerseits ebenfalls zu einer Ausrichtung des Zytokingleichgewichts hin zu einer Typ2-Zytokindominanz (Petrovsky 2001). Zudem besitzt es die Fähigkeit, die Cortisolausschüttung zu fördern, was indirekt eine weitere Typ2-Dominanz verstärkt.

Prolaktin hat dagegen, neben anderen Wirkungen auf Parameter des Immunsystems, die Fähigkeit, die Zytokinbilanz in Richtung proinflammatorischer Zytokine zu verschieben. Dies wird unter anderem durch eine Stimulation der Expression von Rezeptoren für IL-2 auf verschiedenen immunkompetenten Zellen erreicht (Matera et al. 2000).

Die Wirkungen des GH auf die Zytokinbalance sind bisher in Untersuchungen nicht vergleichbar deutlich wie für das Prolaktin, jedoch existieren auch hier Hinweise, dass es durch GH zu einer Unterstützung von Typ1-Zytokinen kommt (Barbano et al. 2001).

All diese Untersuchungen machen deutlich, dass es vermutlich während des nächtlichen Schlafes zu einer Modulation des Immunsystems kommt, mit dem Ziel, über verschiedene Organe und Hormone, eine Unterstützung proinflammatorischer Zytokine zu gewährleisten. Diese wiederum würden eine Entzündungsreaktion des Körpers entfachen, wobei über den Tag in den Körper eingedrungene Pathogene bekämpft werden können. Demnach ist ein regelmäßiger Schlaf-Wach-Rhythmus für das Funktionieren des Immunsystems essentiell. In diesem Zusammenhang ist von Interesse, dass proinflammatorische Zytokine sogar selbst schlafinduzierend wirken können, während antiinflammatorische im Verdacht stehen diesen zu hemmen (Bryant et al. 2004).

#### 1.5 Circadiane Rhythmen

In der gesamten belebten Natur sind Tagesrhythmen weit verbreitet. Für gewöhnlich stimmen bei Mensch und Tier diese Rhythmen mit dem Tag-Nacht-Zyklus überein. Versuchspersonen, die vollständig von äußeren Zeitgebern isoliert werden (Uhr, Tageslicht, Umweltgeräusche) entwickeln einen freilaufenden Rhythmus ihrer

Körperfunktionen. Diese Periodik beträgt im Mittel 25 Stunden (24,7 – 25,2) und wird von jeder Person über längere Zeit exakt beibehalten (Aschoff und Wever 1981). Aufgrund der leicht abweichenden Dauer vom 24-Stunden-Tag wurde die heute allgemein übliche Bezeichnung circadianer Rhythmus (circa = ungefähr; dies = Tag) eingeführt, die von Rhythmusforschern lediglich für den freilaufenden Rhythmus angewandt wird. Der an den 24-Stunden-Tag angepasste Rhythmus, soll in der vorliegenden Arbeit Schlaf-Wach-Rhythmus genannt werden. Eine Anpassung erfolgt beim Menschen durch die Synchronisation oben genannter äußerer Zeitgeber mit dem endogenen Rhythmus. Der wichtigste endogene Oszillator befindet sich im Nucleus suprachiasmaticus, einem anterioren Anteil des Hypothalamus, der über dem Chiasma opticum liegt. Er erhält seine Afferenzen über Kollateralen des Tractus opticus von der Retina und vom Corpus geniculatum laterale (Schaltzentrale der zentralen Sehbahn), wodurch die Information von Hell-Dunkel-Phasen mit dem endogenen Rhythmus synchronisiert werden können. Menschen, die sich in einem regulären Schlaf-Wach-Rhythmus befinden, zeigen typische Rhythmen von Hormonspiegeln und bestimmten Körperfunktionen. Wie die Ausschüttung vieler Hormone festgelegten inneren Zeitabläufen folgt, so zeigen beispielsweise die Körpertemperatur oder die Schlafbereitschaft des Menschen bekannte, über den Tag verteilte Schwankungen. Bleiben Probanden jedoch durchgehend wach (dem sog. 24-Stunden-Rhythmus) zeigen sich deutliche Veränderungen dieser Rhythmen. Zum Teil werden die Kurven nur unwesentlich durch Schlafentzug verändert, sind also hauptsächlich circadian reguliert (z.B. Cortisol), während die Rhythmik anderer Hormone hauptsächlich durch den Schlaf bedingt ist und durch Schlafentzug verloren geht (z.B. GH). Hormone wie Prolaktin und Noradrenalin wiederum stellen Mischbilder dar und werden sowohl durch den Schlaf als auch durch den circadianen Schrittmacher reguliert. Den aktuellen Daten zur Folge scheint es auch bei Zytokinen klare tageszeitliche Rhythmen zu geben, mit einer Dominanz von Typ1-Zytokinen in der Nacht, die eine starke nächtliche Immunantwort mit sich bringen, und vermehrten Typ2-Zytokinen über den Tagesverlauf. Dies konnte beispielsweise in einer Studie von Petrovsky für das proinflammatorische IFN-y und das antiinflammatorische IL-10 nachgewiesen werden (Petrovsky et al. 1998a). Diese rhythmischen Veränderungen können daher sowohl auf eine schlafabhängige Regulation hindeuten, als auch ein Indiz für circadian kontrollierte Parameter sein. Dies muss durch Schlafentzugsexperimente verifiziert werden. Im folgenden Kapitel sollen die bisherigen Erkenntnisse zu dieser Fragestellung näher untersucht werden.

#### 1.6 Schlaf und Immunsystem – Stand der Forschung

Die Organisation des Immunsystems ist vielen Rhythmen unterworfen und für viele Parameter des Immunsystems konnten charakteristische tageszeitliche Schwankungen in ihrer Aktivität nachgewiesen werden. Insbesondere die nächtliche Synchronisation von proinflammatorischen Typ1-Zytokinen und antiinflammatorischen Typ2-Zytokinen hin zu einer verstärkten Dominanz von Typ1-Zytokinen scheint einen bedeutenden Einfluss für eine effiziente Immunantwort zu haben (Haus et al. 1999). Aufgrund der herausgehobenen Bedeutung einer funktionierenden Balance von Typ1- und Typ2-Zytokinen für das Immunsystem, ist ihre Regulierung in ein komplexes Netzwerk eingebunden. Innerhalb dieses Netzwerkes gibt es diverse Faktoren, die auf die Produktion der Zytokine Einfluss nehmen können. Nicht zuletzt besteht neben einer übergeordneten neuroendokrinen Kontrolle der Balance, die bereits angesprochene Fähigkeit der jeweiligen Zytokine seinen Gegenspieler durch gegenseitige Hemmung zu kontrollieren, um eine Überaktivität des entsprechenden Antagonisten zu verhindern (Romagnani 1996).

Wie erwähnt konnten tagesabhängige Zytokinveränderungen festgestellt werden. Sind die erkennbaren Rhythmen der pro- und antiinflammatorischen Zytokine durch einen circadianen Rhythmus bedingt oder sind sie direkt abhängig von einem regulären Schlaf-Wach-Rhythmus? Vielzählige Untersuchungen haben verstärkt Hinweise gegeben, dass die nächtlichen Veränderungen des Immunsystems durch einen ausgewogenen Schlaf bedingt sind und dass, sollte dieser ausbleiben, dies auch messbare Auswirkungen auf das Immunsystem hat. Schlafstudien, in denen Parameter des Immunsystems nach einer Impfung gemessen wurden, zeigten deutlich abgeschwächte Reaktionen bei durchwachten Probanden (Lange et al. 2003, Spiegel et al. 2002). Die Produktion von proinflammatorischen Zytokinen wie IL-2 durch T-Zellen war in der Nacht nur bei Probanden stark erhöht, die einen regulären Schlaf einhielten (Born et al. 1997). Gleichwohl ist die Studienlage zu dieser Fragestellung nicht ganz einheitlich, was vor allem daran liegt, dass zu früheren Zeitpunkten noch nicht sensitive Messverfahren wie die Messung mit Hilfe der Durchflusszytometrie zur Verfügung standen. Bei einer neueren Studie von Dimitrov et al. mit durchflusszytometrischen Untersuchungsmethoden konnte nachgewiesen werden, dass die Zytokinproduktion von T-Zellen eine Dominanz proinflammatorischer Typ1-Zytokine in der Nacht aufwies – jedoch nur wenn Probanden einen regulären Schlaf-Wach-Rhythmus einhielten (Dimitrov et al. 2004b).

#### 1.6.1 Klinische Aspekte

In den letzten Jahren gibt es zunehmend Ergebnisse aus klinischen Studien, die einen Zusammenhang zwischen gesundem Schlaf und funktionierendem Immunsystem postulieren. So zeigten Studien, die sich mit Patienten unter chronischem Schlafentzug befassten, deutliche immunologische Auffälligkeiten, die eine Schwächung des Immunsystems andeuten. Sakami et al. untersuchte Patienten, die unter verschiedenen Störungen des Schlaf-Wach-Rhythmus litten. Dabei wurde sichtbar, dass sich bei Patienten mit primärer Insomnie deutlich geringere Spiegel von proinflammatorischen Zytokinen nachweisen lassen. Auch der Quotient von Typ1- zu Typ2-Zytokinen war deutlich in Richtung Typ2-Zytokine verschoben (Sakami et al. 2003). Bei Patienten, mit Schlafstörungen aufgrund chronischen Alkoholismus, zeigten sich entsprechend deutlich erhöhte Level von antiinflammatorischem IL-10 (Redwine et al. 2003). Diese und andere Studien machen deutlich, dass ein chronisches Schlafdefizit unabhängig der Ätiologie vermutlich über eine Desynchronisation der wichtigen Balance von pro- und antiinflammatorischen Zytokinen zu einer Schwächung des Immunsystems führt.

Auch wenn ein eindeutiger Nachweis, dass die Verschiebung hin zu einer Dominanz antiinflammatorischer Zytokine auch gleichbedeutend mit einer Schwächung des Immunsystems ist, bisher nicht vollständig geführt werden konnte, gibt es doch weitere sehr deutliche Hinweise für diese These. Beispielsweise konnte Kimata nachweisen, dass es zu einer Verstärkung allergisch bedingter Hautsymptome bei Patienten mit einer Typ2-Zytokin vermittelten allergischer Rhinitis kam, wenn diese Patienten eine Nacht durchwachten (Kimata 2002). Auch konnte an weiblichen Probandinnen nachgewiesen werden, dass Schlafentzug signifikante Einschränkungen von Abwehrfunktionen der Haut nach sich zog (Altemus et al. 2001). In einer Untersuchung an amerikanischen Arbeitern, die im Schichtdienst arbeiten und damit starke Einschränkungen der physiologischen Schlafmuster haben, konnte ebenfalls eine signifikante Erhöhung von Erkrankungen aufgezeigt werden (Mohren et al. 2002). In den letzten Jahren hat sich die Liste der Autoren, die einen Zusammenhang zwischen gesundem Schlaf und effizientem Immunsystem postulieren zunehmend erweitert, über die Ursachen für diesen möglichen Zusammenhang und welche Mediatoren dabei entscheidend sein könnten, bestehen jedoch weiterhin einige Kontroversen (Bryant 2004). Dies soll in der Diskussion eingehender beleuchtet werden.

einer umfassenden Übersichtsarbeit von Lucey wurden diverse bekannte Krankheitsbilder im Hinblick auf einen Zusammenhang mit jener beschriebenen Inbalance von Typ1- und Typ2-Zytokinen untersucht. Es konnte nachgewiesen werden, dass sowohl bei Erkrankungen, die mit einer erhöhten Infektanfälligkeit einhergehen, als auch bei Personen mit einer erhöhten Prädisposition für Allergien, eine Dominanz von Typ2-Zytokinen vorlag (Lucey et al. 1996). Eine HIV-Infektion (Humanes Immundefizienz-Virus) bis hin zu Ihrer klinischen Ausprägung als Acquired Immune Deficiency Syndrome (AIDS) zeigt in ihrem Verlauf massive Einschränkungen der Immunfunktion, sowie Veränderungen immunoaktiver Hormone und Schlafstörungen. In den letzten Jahren hat sich zunehmend die These durchgesetzt, dass innerhalb dieses komplexen Krankheitsbildes Zytokindysregulationen im Sinne einer Typ2-Dominanz einen wichtigen Anteil an dieser Erkrankung haben. Andere Erkrankungen wie die Rheumatoide Arthritis bsw. korrelieren dagegen mit einer Dominanz von Typ1-Zytokinen. Im Zuge der rheumatoiden kommt. chronischen **Arthritis** es zu und ungebremsten Entzündungsreaktionen, die sukzessive, körpereigene Strukturen zerstören. Die Bedeutungen und Zusammenhänge dort festgestellter Zytokindysregulationen werden im Hinblick auf Veränderungen immunologischer Parameter durch Schlafentzug ebenfalls in der Diskussion eingehender besprochen.

#### 1.7 Fragestellung

Wie die vorangegangenen Kapitel zeigen sind in den letzten Jahren große Anstrengungen unternommen worden, um die Rolle des Schlafes bei der Organisation des Immunsystems zu untersuchen. Unabhängig von der verbreiteten Annahme, dass Schlaf ein infektiöses Geschehen positiv beeinflusst oder umgekehrt Schlafentzug die Anfälligkeit für Infektionen erhöht, steht der wissenschaftliche Beweis, dass Schlaf ein immunsupportiver Verhaltenszustand ist, noch aus.

Die eminente Bedeutung des Zusammenspiels von proinflammatorischen Typ1-Zytokinen und antiinflammatorischen Typ2-Zytokinen für die Funktionalität des Immunsystems wurde in vielerlei Untersuchungen deutlich gemacht. Zum einen setzt sich aus immunologischer Sicht immer mehr die These durch, dass es bei einer Reihe von Erkrankungen zu einer Dominanz eines der beiden Gegenspieler kommt und dies vermutlich die Ursache der zugrunde liegenden Erkrankung ist. Zum anderen konnte in der Schlafforschung gezeigt werden, dass Schlafentzug zu einer abgeschwächten

Immunantwort führt, wie beispielsweise die angesprochenen Erfahrungen nach Influenzaoder Hepatitisimpfungen. Die Untersuchungen an Patienten mit chronischem Schlafdefizit
wiederum zeigen, dass ein gestörter Schlaf zu einer Verschiebung des Zytokinmileus
führt, nämlich zu einer verstärkten Dominanz antiinflammatorischer Typ2-Zytokine. In
Anbetracht der Tatsache, dass von einigen Autoren eine verstärkte proinflammatorische
Zytokinantwort während der Nacht für eine effiziente Immunantwort postuliert wird,
könnte hierin der mögliche Ansatzpunkt für die Bedeutung des Schlafes auf das
Immunsystem liegen.

Als weitere wichtige bekannte Einflussgrößen auf das Immunsystem sind das Endokrinium und das vegetative Nervensystem bekannt, die mit Hormonen vielfältig auf Parameter des Immunsystems eingreifen und wiederum von diesen modifiziert werden können. Eine schlafabhängige Aktivität wichtiger Hormone dieser beiden Systeme könnte an diesen Veränderungen beteiligt sein. So könnten hohe proinflammatorische GH- und Prolaktinspiegel bei niedrigen antiinflammatorischen Cortisol- und Katecholaminspiegeln zu einer Typ1-Zytokin-Dominanz und damit einer effektiven zellulären Immunabwehr während des nächtlichen Schlafes beitragen.

Spezialisierte Antigen-präsentierende Zellen wie die Dendritischen Zellen sind durch die Präsentation von Antigenen und der Sekretion wichtiger Botenstoffe die potentesten Modulatoren hin zu einer Typ1- oder Typ2-Zytokindominanz. Monozyten stellen gute Repräsentanten Antigen-präsentierender Zellen dar und bieten den Vorteil, dass sie im peripheren Blut gut nachgewiesen werden können.

In der vorliegenden Arbeit sollen an elf gesunden männlichen Probanden die Veränderungen bestimmter immunologischer Parameter bei Schlafentzug gegenüber normalem Schlaf-Wach-Rhythmus geprüft werden. Für die Messung der pro- und antiinflammatorischen Zytokine untersuchten wir die von Monozyten sezernierten Interleukine IL-12 (proinflammatorisch) und IL-10 (antiinflammatorisch), zwei typische und bedeutende Repräsentanten ihrer jeweiligen Gruppe. Mit Cortisol, Prolaktin, GH und Noradrenalin evaluierten wir immunoaktive Hormone, für die ein Einfluss auf das Zytokinmilieu beschrieben ist.

Diese Hypothesen sollen im Folgenden evaluiert werden:

- 1. Welche natürlichen Rhythmen besitzt die Interleukin-12- und Interleukin-10-Sekretion von Monozyten?
- 2. Folgen diese Sekretionen feststehenden circadianen Rhythmen oder lässt sich die Monozytenfunktion durch experimentellen Schlafentzug beeinflussen?
- 3. Bewirkt nächtlicher Schlaf synchrone Veränderungen mit einerseits hoher Aktivität von proinflammatorischen IL-12, GH und Prolaktin und andererseits niedriger Aktivität von antiinflammatorischem IL-10, Cortisol und Noradrenalin?

#### 2 Material und Methoden

#### 2.1 Versuchspersonen

An der Studie nahmen elf geistig und körperlich gesunde junge Männer im Alter von 21 bis 30 Jahren teil. Das Durchschnittsalter lag bei 25 Jahren. Alle teilnehmenden Probanden waren Nichtraucher, hatten keine Schlafstörungen und nahmen während des Zeitraumes der Versuche keine Medikamente ein. In einer ausführlichen Anamnese wurde ausgeschlossen, dass die Probanden eine medizinische Vorgeschichte hatten oder bestehende chronische Erkrankungen physischer oder psychischer Natur vorlagen. Vor den Versuchen wurde eine medizinische Untersuchung vorgenommen, sowie ein Routinelabor abgenommen mit dem Ziel eine akute Erkrankung, sowie Malignome und immunologische Störungen auszuschließen.

Mindestens 6 Wochen vor Beginn der Studie hielten alle Probanden einen geregelten Schlaf-Wach-Rhythmus ein. Sie waren zwischen 23:00 und 01:00 Uhr eingeschlafen und zwischen 06:30 und 08:30 Uhr aufgestanden. Eine Woche vor Versuchsbeginn wurden die Probanden angehalten gegen 23:00 und 23:30 Uhr einzuschlafen und um 07:00 Uhr aufzustehen, um die Synchronisation des Schlafes weiter zu verbessern. Während dieser Woche wurden die Probanden ebenfalls gebeten, auf Mittagsschlaf und Ruhezeiten während des Tages zu verzichten.

Zur Feststellung eventueller Formen der Insomnie, wie Einschlaf- und Durchschlafstörungen oder morgendliches Früherwachen wurde mit allen Probanden eine Eingewöhnungsnacht im Schlaflabor durchgeführt. Die Absenz weiterer Schlafstörungen, wie das Schlaf-Apnoe-Syndrom und das Restless-Legs-Syndrom wurde so ebenfalls sichergestellt. In der Eingewöhnungsnacht wurde den Probanden eine Venenverweilkanüle gelegt und Elektroden für die polysomnographische Ableitung angelegt.

Die Probanden wurden vor Beginn über Sinn und Ziel des Versuches aufgeklärt und gaben ihr schriftliches Einverständnis. Die Studie ist von der Ethikkommission der Universität zu Lübeck genehmigt worden.

#### 2.2 Versuchsablauf

Die Schlafversuche starteten Anfang Februar 2004 und wurden Ende März des gleichen Jahres abgeschlossen. Jeder Proband erschien am Versuchstag um 18:00 Uhr, um in ruhiger Atmosphäre die Blutentnahmen und die Ableitungen des EEGs vorbereiten zu können. Der Untersuchungszeitraum für die Studie begann 20:00 Uhr und dauerte bis 20:00 Uhr des Folgetages an. Die Probanden mussten jeweils 2 Versuchsnächte durchführen. Die Abbildung 4 verdeutlicht den Versuchsablauf.

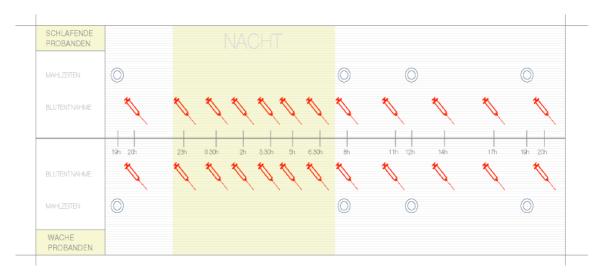


Abbildung 4: Versuchsablauf

Bei der Kondition Schlaf wurde ein normaler Schlaf-Wach-Rhythmus eingehalten. Die Probanden konnten zwischen 23:00 und 7:00 Uhr schlafen.

Bei der Versuchsbedingung Schlafentzug verbrachten die Probanden die Nacht zwischen 23:00 Uhr und 7:00 Uhr wach in sitzender Position im Bett. In dieser Zeit konnten sie Fernsehfilme schauen, Musik hören und mit den Versuchsmitarbeitern sprechen. Toilettengänge waren erlaubt, lediglich kurz vor einer Blutentnahme nicht, um orthostatische Einflüsse auf die verschiedenen Parameter auszuschließen. Im Versuchsraum befand sich normales Raumlicht (ca. 300 Lux). Während der gesamten Zeit waren die Probanden unter Kontrolle eines Versuchsmitarbeiters, so dass sichergestellt werden konnte, dass die Probanden nicht ungewollt in den Schlaf fielen.

Zwischen den beiden Konditionen mussten die Probanden eine Pause von mindestens vier Wochen einhalten, um auszuschließen, dass bsw. Nachwirkungen des vorherigen Schlafentzuges mit gemessen wurden. Weiterhin wurden die Startbedingungen für die

jeweiligen Probanden ausgeglichen. 5 Probanden starteten mit der Versuchsbedingung Schlafentzug und 6 begannen mit der Kondition normaler Schlaf-Wach-Rhythmus.

Um mögliche psychologische Effekte auszuschließen, die daraus resultieren können, dass die Probanden eine Nacht des Schlafentzugs oder das Schlafens bereits erwarteten, wurden die Testpersonen grundsätzlich bis ca. 21:00 Uhr im Unklaren darüber gelassen, welche der beiden Konditionen am Versuchstag für sie gelten würde.

In beiden Konditionen wurde zu festen Zeiten das gleiche standardisierte Krankenhausessen um 8:00 Uhr zum Frühstück, um 12:00 Uhr zum Mittagessen und um 18:00 zum Abendbrot ausgegeben. Alkohol und koffeinhaltige Getränke waren untersagt.

Die Blutentnahmen folgten einem festen Schema. Die erste Blutentnahme war um 20:00 und dann ab 23:00 in einem 90-minütigen Rhythmus bis morgens 8:00 Uhr (20:00, 23:00, 0:30, 2:00, 3:30, 5:00, 6:30, 8:00 Uhr). Danach wurde den Testpersonen alle 3 Stunden Blut abgenommen (11:00, 14:00, 17:00, 20:00 Uhr).

Für die Blutentnahmen wurden den Probanden Venenverweilkanülen gelegt. Um eine Thrombosierung zu verhindern, lief eine Kochsalzinfusion mit einer Menge von insgesamt 700 ml. War eine weitere Blutentnahme über die Verweilkanüle im Laufe des folgenden Tages nicht mehr möglich, konnten sich die Probanden entscheiden, ob sie die restlichen Blutentnahmen mittels "Butterfly" oder einer neuen Venenverweilkanüle abgenommen bekommen wollten.

Über Nacht erfolgte die Entnahme des Blutes über einen dünnen Perfusorschlauch aus dem benachbarten Versuchsraum heraus, damit die Probanden im Schlaf nicht gestört wurden. Insgesamt wurden den untersuchten Personen 250 ml Blut abgenommen. Die Blutproben wurden jedes Mal sofort nach Entnahme verarbeitet.

Zeitgleich mit den Blutentnahmen haben wir uns bei den Probanden mit Hilfe einer Eigenschaftswörterliste einen Überblick über die Befindlichkeit der Testpersonen verschafft. Diese Liste besteht aus 161 Adjektiven; der Proband kreuzt die Wörter an, die seine Befindlichkeit am ehesten charakterisieren. Die Adjektive beschreiben die anhand 14 psychische Stimmung verschiedener Dimensionen (Aktiviertheit. Desaktiviertheit. Müdigkeit, Benommenheit, Extrovertiertheit, Introvertiertheit,

Selbstbewusstsein, Stimmung, Erregtheit, Empfindlichkeit, Ärgerlichkeit, Ängstlichkeit, Depressivität, Verträumtheit).

Zwischen den Blutentnahmen konnten die Probanden ihren Tätigkeiten nachgehen, mit der Einschränkung, dass sie keine körperlich und geistig anstrengenden Aktivitäten vornehmen und das Krankenhausgelände nicht verlassen sollten.

#### 2.3 Schlaf

Der Schlaf wurde von 23:00 Uhr bis 7:00 Uhr (zu dieser Uhrzeit wurden die Probanden geweckt) polysomnographisch aufgezeichnet. Dies erfolgte durch einen 24-Kanal-Schreiber (Neurofax Nihon Kohden). Alle Schlafaufzeichnungen konnten während der Nacht visuell auf dem Computer verfolgt werden und wurden elektronisch aufgezeichnet und gesichert. Es wurden zwei Kanäle für das Elektroenzephalogramm (EEG), zwei für das Elektrookulogramm (EOG) und einer für das Elektromyogramm (EMG) abgeleitet. Die Ableitung des EEGs wurde mittels Elektroden über den zentralen Regionen des Kortex (C3 bzw. C4) platziert und gegen die Nase (seitlicher Nasenflügel) als Referenz abgeleitet. Die Elektroden für die Aufzeichnungen des EOGs wurden oberhalb und unterhalb eines Auges, sowie an den beiden Orbitarändern angebracht, so konnten vertikale und horizontale Eigenbewegungen registriert werden. Das EMG wurde durch zwei Elektroden auf dem M.masseter bipolar abgeleitet. Eine in der Mitte der Stirn platzierte Elektrode diente als Erdungselektrode. Die Elektroden für das Gesicht wurden mit Elektrodengel (Conductive Electrode Cream, SYNAPSE®, Arcadia, USA) gefüllt und auf die mit Alkohol gereinigte und mit Aufrauhpaste (Omni Prep®, OMNI, Aurora, USA) behandelte Haut geklebt. Für die Kopfelektroden wurde adhäsive Elektrodenpaste (Electrode Adhesive Paste, TECA® Vickers Medical, Pleasantville, NY, USA) benutzt. Die Elektroden wurden zusätzlich mit Pflaster fixiert, so dass sie sich bei Bewegungen im Schlaf nicht lösen konnten.

Verwendet wurden gesinterte Silber/Silber-Chloridelektronen. Grenzwert für die Übergangswiderstände der EEG-Signale war 5 k $\Omega$ . Es wurde ein 50hz Notchfilter verwendet.

Nach Aufzeichnung wurden die polysomnographischen Daten klassifiziert. Es wurden 30-Sekundenintervalle herangezogen, welche einem Schlafstadium zugeordnet wurden. Grundlage waren hier die Kriterien von *Rechtschaffen und Kales* (Rechtschaffen et al.

1968). Im Folgenden sollen die Einteilung und Eigenschaften der verschiedenen Schlafstadien erläutert werden:

Im entspannten Wachzustand (W) mit geschlossenen Augen finden wir α-Wellen mit einer Amplitude von 20-50 µV und einer Frequenz von 9-12 Hertz (Hz). Das sich daran anschließende Einschlafstadium Schlafstadium 1 (S1) ist dadurch gekennzeichnet, dass die im Wachzustand vorherrschenden α-Wellen auf unter 50% reduziert sind. Es kommen langsamere Wellen mit einer Frequenz von 2-7 Hz hinzu (Theta-Wellen). Die schnellen Augenbewegungen, die noch im Wachstadium zu finden sind, verschwinden. An ihrer statt sind langsame rollende Augenbewegungen zu registrieren. Der Muskeltonus ist zumeist geringer als im Wachen. Beim Übergang zum nächsten Schlafstadium treten häufig sogenannte Vertexzacken (Scheitelwellen) mit einer Amplitude von 200 µV auf. Diese auch als "physiologisches Einschlafmoment" bezeichnet. Das zweite Schlafstadium (S2) ist durch das Auftreten von K-Komplexen und Schlafspindeln gekennzeichnet. K-Komplexe setzen sich zusammen aus einer steilen negativen Welle auf die eine positive Komponente folgt. Sie haben eine hohe Amplitude und dauern mindestens 0,5 Sekunden. Schlafspindeln dagegen sind Wellen höherer Frequenz (12-14 Hz), so dass 6 oder 7 Perioden einer Spindel innerhalb von 0,5 Sekunden auftreten. Gegenüber Schlafstadium 1 nehmen Muskeltonus und Augenbewegungen Schlafstadium 1 und 2 werden zusammen als leichter Schlaf bezeichnet. Als Schlaflatenz bezeichnet man die Dauer zum Erreichen des 2.Schlafstadiums nach Zubettgehen. Sie dauert im Regelfall 10-15 Minuten. Anschließend folgen die tieferen Schlafstadien 3 und 4 (S3, S4), die auch "Slow-Wave-Sleep" (SWS) genannt werden, aufgrund der im EEG sichtbaren langsamen Wellen. Diese Delta-Wellen besitzen eine Amplitude von 75µV und eine Frequenz von weniger als 2 Hz. In diesen Stadien ist der Muskeltonus weiter gesunken und es werden keine Augenbewegungen mehr detektiert. Die Unterscheidung von Schlafstadium 3 und 4 richtet sich nach der Menge vorkommender Delta-Wellen: In einem Intervall von 30 Sekunden wird die Dauer der Deltawellen gezählt. Liegt der Anteil der Delta-Wellen dabei bei 20-50% handelt es sich um Schlafstadium 3, bei einem Anteil von über 50% um Schlafstadium 4. Die Übergänge zwischen diesen Stadien können fließend sein. Im Anschluss an die Tiefschlafphasen folgt der REM-Schlaf. Er wird auch als paradoxer Schlaf bezeichnet, da er Ähnlichkeiten mit dem Wachzustand aufweist. Sein Namen hat dieses Schlafstadium aufgrund der mit dem EOG darstellbaren sekundenlagen Gruppen von 1-4 Hz schnellen Augenbewegungen der schlafenden Person. Die Weckschwelle ist gegenüber den Tiefschlafphasen stark erniedrigt. In dieser Schlafphase

wird emotional und aktiv-handelnd geträumt. Insgesamt sind im REM-Schlaf niedrige Amplituden und gemischte Frequenzen sichtbar. Im Gegensatz zum Wachstadium ist der Muskeltonus maximal erniedrigt. Mit dem Ende des REM-Schlafes ist ein Schlafzyklus abgeschlossen. Physiologisch dauert ein Zyklus um die 90 Minuten, innerhalb einer Nacht werden im Normalfall 4-5 Schlafzyklen durchlaufen.

Schlafstadien	Wach	REM	1	2	3	4
EEG	α*	θ	θ	θ	δ > 20%	δ > 50%
Amplitude μV	20-50				> 75	> 75
Frequenz Hz	9-12	4-7	4-7	4-7	0,5-2	0,5-2
Besonderes		Sägezahn-	Vertex-	K-Komplex		
		wellen	zacken	Schlafspindeln		
EOG	Blickbewegungen	schnelle Be	Augen-			
		wegungen	rollen		kaum messbar	
EMG	Aktiv	kaum messbar		mit zunehmender Schlaftiefe abnehmend		

Tabelle 3: Schlafstadien

EEG=Elektroenzephalogramm:  $\alpha$ =alpha-,  $\theta$ =theta-,  $\delta$ =delta-Aktivität. \*=bei geschlossenen Augen. Sägezahnwellen = Sägezahnförmige Wellen im  $\theta$ -Bereich; Vertexzacken: steile Wellen im  $\theta$ -Bereich mit maximaler Amplitude über dem Scheitel; K-Komplex = biphasische initial negative Welle mit einer Frequenz von 0,5-2 Hz; Schlafspindeln = 11,5-14 Hz-Spindel mit wechselnder Amplitude: EOG = Elektrookulogramm; EMG = Elektromyogramm; REM = Rapid Eye Movement

Für jeden Probanden wurden der Schlafbeginn, die Gesamtschlafdauer sowie die Dauer der einzelnen Schlafphasen ermittelt. Basierend auf dieser Einteilung konnten verschiedene Daten zur Beschreibung der Schlafqualität und –quantität ermittelt werden. (Siehe auch Tabelle 4, Kapitel Ergebnisse)

#### 2.4 Laboranalyse

#### 2.4.1 Durchflusszytometrie und In-Vitro-Stimulation

Die Entwicklung der Durchflusszytometrie und insbesondere die Entwicklung der Fluoreszenz-aktivierten Zellsortierung (FACS) ist die Folge steter Weiterentwicklung immunologischer Untersuchungsmethoden. Die FACS-Technik ermöglicht es Subpopulationen von Zellen zu charakterisieren und ihre Funktion zu untersuchen. Die analytische Potenz der Durchflusszytometrie basiert auf der raschen quantitativen und multiparametrischen Messung von großen Zellzahlen. So ist es möglich Zellpopulationen oder Komponenten ihrer Subpopulationen anhand ihrer unterschiedlichen Eigenschaften zu definieren. Diese Methode wird meistens bei Zellen des Blutes und des Knochenmarks vorgenommen. Dabei fließen die Zellen hintereinander durch eine dünne Messkammer.

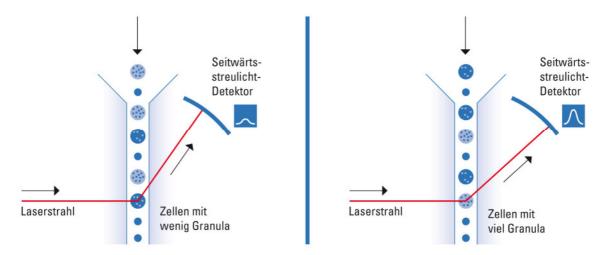


Abbildung 5: Durchflusszellenblock eines Durchflusszytometers

Die Zellen kommen von oben (schwarzer Pfeil) und fließen hintereinander durch die eigentliche Flusszelle Dabei werden die Zellen von einem Laser von der Seite bestrahlt (rote Linie). Abhängig von den innerhalb der Zelle vorkommenden Strukturen wirft jede Zelle ein charakteristisches Streulicht aus. Der dargestellte Block ist etwa 4 cm x 7 cm groß.

Jede Zelle, die mit von einem Laserstrahl gekreuzt wird, verursacht ein charakteristisches Streulicht. Dieses ist u.a. abhängig von der Größe der Zelle und von den Strukturen innerhalb der Zelle. So enthält jedes gemessene Streulicht einige wichtige Informationen der jeweiligen Zelle.

Durch die Messung eines Fluoreszenzlichtes ist die Durchflusszytometrie in der Lage eine Vielzahl von Merkmalen der Blutzelle zu erfassen. Dies geschieht nach folgendem Prinzip: Will man ein bestimmtes Merkmal der Zelle untersuchen muss dieses Merkmal zunächst einmal markiert werden. Dies geschieht mit Hilfe von Antikörpern, die mit einem Fluoreszenzmolekül gekoppelt sind. Ein Fluoreszenzmolekül leuchtet auf, wenn es mit einem Laser oder einer anderen Lichtquelle bestrahlt wird. Bringt man Zellen zusammen mit Antikörpern, die beispielsweise gegen ein bestimmtes CD-Merkmal gerichtet sind (in unserem Fall waren dies Antikörper gegen CD14 und HLA-DR), so setzen sich die Antikörper auf die Zellen, die ein solches Merkmal besitzen. Diese Zellen leuchten entsprechend auf, wenn sie in der Durchflusszytometrie von einer Lichtquelle getroffen werden.

Die Messung der Zytokine unterliegt dem Problem, dass ihre Informationsübertragung zumeist parakrin oder autokrin erfolgt, daraus resultieren jedoch sehr geringe Serumkonzentrationen, wodurch eine direkte Messung im Blut erschwert wird. Um ausreichende Spiegel der Zytokine im Blut zu erhalten, kann man Antigene oder Mitogene (Mitogene führen zu einer unspezifischen - weil nicht Rezeptor gebundenen - Aktivierung) zuführen, da diese die Zytokinproduktion der Immunzellen stimulieren. Für weitergehende Laboruntersuchungen stehen die Methoden der In-Vitro-Stimulation zur Verfügung: Je nachdem welche Zellen des Immunsystems zur Stimulation angeregt werden sollen, kann man Vollblutassays und die Bestimmung an isolierten peripheren mononukleären Zellen unterscheiden (Monozyten, Lymphozyten, NK-Zellen = peripheral blood mononuclear cells = PBMC). Die Untersuchungen an isolierten peripheren mononukleären Zellen wurden vor Verwendung der Durchflusszytometrie und der Zellsortierung mittels FACS häufig durchgeführt. Entnommene Proben werden dabei durch zugeführte Stimuli behandelt und die Konzentrationen der Zytokine werden im Überstand der Probe gemessen. Die Nachteile dieser Methode liegen darin, dass zum Teil unphysiologische Stimulationen vonnöten sind, es zu unterschiedlichen und teilweise sehr langen Stimulationszeiten kommt und vor allem, dass die Zusammensetzung der Zellen unphysiologisch sein kann, wie bei PBMC. Die im Überstand gemessenen Zytokinkonzentrationen konnten nicht mehr den Zellen zugeordnet werden, die für die Produktion verantwortlich waren.

Vollblutproben spiegeln am besten die natürlichen Bedingungen des Menschen wider, da hier Zytokine und Hormone enthalten sind, die die Funktion der Leukozyten entscheidend beeinflussen können. Weiterhin sind die Zellinteraktionen, die zur Bildung der Zytokine führen in ihrer Komplexität nur in einer Vollblutprobe gegeben. Der Vorteil der Durchflusszytometrie liegt darin, dass mit ihrer Hilfe solche Vollblutproben verwendet werden können. Zudem können die Ursprungszellen der Zytokine detektiert werden. Ein weiterer Vorteil ist die Tatsache, dass physiologischere Stimuli verwendet werden können. In unserem Versuch beispielsweise konnte mit Hilfe des Lipopolysaccharids (LPS) ein passender Stimulus für Monozyten genutzt werden. Lipopolysaccharide sind relativ wärmeunempfindliche Verbindungen aus fettähnlichen (Lipo-) und Zucker-Bestandteilen (Polysacchariden). Sie sind in der äußeren Membran bestimmter Bakterien enthalten und wirken auf immunkompetente Zellen des Körpers als Antigen. Diese Lipopolysaccharide binden im menschlichen Körper an ein Serumprotein, das Lipopolysaccharid-bindende Protein (LBP). Der nun entstandene Komplex wird mit Hilfe des Oberflächenrezeptors CD14 von Monozyten erkannt und phagozytiert und führt im Verlauf zur Sekretion von Zytokinen. Da der Oberflächenmarker CD14 wie erwähnt in erster Linie bei Monozyten und Makrophagen exprimiert wird, kann mit LPS ein natürlicher und selektiver Stimulus verwendet werden.

Zur Bestimmung der Zytokin-positiven Monozyten wurde heparinisiertes Blut direkt nach der Blutentnahme 1:1 mit RPMI 1640 Medium (Sigma-Aldrich Co., St. Louis, Minnesota) verdünnt. Dafür wurden 15ml große kegelförmige Röhrchen verwendet (BD Biosciences, San Jose, California). Diese Proben wurden stimuliert mit LPS (Sigma-Aldrich Co., St. Louis, Minnesota) in Konzentrationen von 20 ng/ml für IL-12 und 10 ng/ml für IL-10. Daraufhin wurden sie für 6 Stunden (IL-12) bzw. 24 Stunden (IL-10) bei 37° Celsius in einer 5 % Kohlendioxidatmosphäre inkubiert.

Um zu verhindern, dass Zytokine bereits sezerniert werden, wurde Brefeldin A (BFA) in einer Konzentration von 10  $\mu$ g/ml (Sigma-Aldrich Co., St. Louis, Minnesota) für die letzten 4 (IL-12) beziehungsweise 9 Stunden (IL-10) der Inkubation dazugegeben. Brefeldin verhindert den intrazellulären vesikulären Proteintransport der Zelle. Die Verhinderung des Transports von Vesikeln vom Endosplasmatischen Retikulum zum Golgi-Apparat führt auf diese Weise zu einer Akkumulation von Zytokinen in der Zelle.

Die oben genannte mulitparametrische Durchflusszytometrie wurde nun gezielt zur Bestimmung von zwei Parametern eingesetzt: Zum einen war die Art der Zytokinproduktion Gegenstand der Untersuchung. Zum anderen war eine Phänotypisierung der einzelnen Zellen gewünscht. Dafür wurden Antikörper und Reagenzien gekauft (BD Bioscience, San Jose, California) und exakt nach Herstellerangaben verarbeitet.

Die Auswahl der Antikörper und der jeweiligen fluoreszierenden Markierungslösung wurde so ausgewählt, dass möglichst gezielt die Monozyten gefiltert werden konnten, welche die gesuchten Interleukine produzieren. Für die Erkennung der entsprechenden Monozyten macht man sich folgendes Prinzip zu Nutze: Mit Hilfe der HLA-Komplexe können Zellen gezielt detektiert werden, da sich die HLA-Komplexe in verschiedene Klassen einteilen lassen. Diese Unterteilung resultiert aus unterschiedlichen Genorten an denen sie kodiert werden und ihnen damit unterschiedliche Eigenschaften verleihen. HLA-Klasse I-Moleküle finden sich auf nahezu allen Körperzellen, während HLA-Klasse II-Moleküle lediglich von Antigen-präsentierenden Zellen exprimiert werden (Monozyten, Makrophagen, spezialisierte Antigen-präsentierende Zellen). Lymphozyten können somit körpereigene von körperfremden Zellen und Antigen-präsentierende immunkompetente Zellen (HLA-DR, -DP, -DQ, HLA II) von gewöhnlichen Körperzellen (HLA-A, -B und – C, HLA I) unterscheiden. Eine weitere Unterscheidung von HLA-Antigenen bezieht sich

auf weitere Subregionen der Genorte, die für die jeweilige Kodierung verantwortlich sind. HLA-DR wird typischerweise von Antigen-präsentierenden Zellen - wie Monozyten - exprimiert und kann somit zur Identifizierung dieser herangezogen werden.

Ein weitere wichtige Kennzeichnung sind die Oberflächenmarker – clusters of differentiation (CD). Dies sind Oberflächenbestandteile, die verschiedene Aufgaben für die jeweilige Zelle übernehmen können. Immunkompetente Zellen sind mit ihrer Hilfe in der Lage, ihr Antigen oder ihre Zielzelle zu erkennen und zu bekämpfen und somit für ihre Funktion elementar. Sie können aber auch umgekehrt zur Unterscheidung der verschiedenen Zellen herangezogen werden, da jede Zelle durch ihre spezifischen CD-Moleküle charakterisiert ist. So besitzen beispielsweise T-Helferzellen den Obeflächenmarker CD4 und zytotoxische T-Zellen den Marker CD8. Der charakteristische Marker für Monozyten und Makrophagen ist der Rezeptor CD14. Er ist zur Identifizierung von Monozyten besonders gut geeignet, da sich viele Oberflächenmarker dieser Zelle erst durch die Umwandlung zu Makrophagen entwickeln. CD14 dagegen ist bereits vor der Umwandlung zu Makrophagen auf diesen Zellen exprimiert. Zudem wird der CD14-Rezeptor überwiegend nur von Monozyten und Makrophagen ausgebildet und nur zu einem geringen Teil von anderen immunkompetenten Zellen.

Die in unseren Laboranalysen zugeführten Antikörper waren: CD 14 / FITC und HLA-DR / PE oder HLA-DR / APC für die Messung von IL-10. Hierbei entsprechen FITC, PE und APC den Fluoreszenzen, die für die Detektierung der Eigenschaften vonnöten sind (FITC= Fluoreszeinisothiocyanat Isomer I, PE= Phycoerythrin, APC= Allophycocyanin).

Danach wurden die Erythrozyten lysiert. (2ml Lyselösung für die Dauer von 10 Minuten). Nach der darauffolgenden Zentrifugierung (5 Min, 500g), sowie der Pipettierung des Überstandes, wurden die Proben fixiert und permeabilisiert (BD Cytofix/CytopernTM Buffer® und BD Perm/Wash Buffer®), um das Eintreten der Zytokinantikörper zu ermöglichen.

Anschließend wurden die Proben mit gewaschenen Antikörpern versehen – IL-12 / APC mit p40/p70, Klon C11,5 und IL-10 / PE mit Klon JES3.19 F1 – um die Zytokin-positiven Zellen zu kennzeichnen. Monozyten, die sowohl positiv für IL-12- und IL-10 sind, sind schwer zu detektieren und wurden nicht mit analysiert. Nach der Zellwaschung wurden die Zellen wieder in Phosphat gepufferter Salzlösung mit 1% Formaldehyd gegeben und innerhalb von 2 Stunden analysiert. Mindestens 10 000 CD14- und HLA-DR-positive Zellen wurden mit Hilfe der Durchflusszytometrie unter Verwendung der Software

CellQuest, BD Bioscience, auf die Art ihrer Zytokinproduktion analysiert. Dargestellt werden die Zytokin-positiven Zellen in Prozent der Gesamtmonozyten.

# 2.4.2 Hormonbestimmungen

Die Serum-Monovetten (Sarstedt, Nümbrecht, Deutschland) wurden direkt nach Abnahme eingefroren und bis zur Bearbeitung bei -70° Celsius gehalten. Die Serumspiegel der Hormone Prolaktin, Cortisol, Noradrenalin und GH lassen sich direkt mit Hilfe herkömmlicher Assays ermitteln.

GH, Prolaktin und Cortisol wurden mit Hilfe des Immulite (DPC Biermann GmbH, Bad Nauheim, Deutschland) untersucht, während für Noradrenalin eine Hochdruckflüssigkeitschromatographie mit elektronischer Detektierung verwendet wurde. Die Sensitivität beziehungsweise. die Inter- und Intraassay-Variationskoeffizienten lauten folgend:

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

GH:  $0.01 \mu g / L; < 6.5 \%$ 

Prolaktin:  $0.16 \, \mu g / L; < 8.2 \, \%$ 

Noradrenalin: 6,03 pg/mL; < 6,1 %

#### 2.5 Statistik

# 2.5.1 Deskriptive Statistik

Zur Darstellung der Daten wurden die Kennwerte des arithmetischen Mittels und des Standardfehlers eingesetzt (standard error of mean, SEM). Auch für die graphischen Bearbeitungen und Tabellen wurden sie durchgehend verwendet.

#### 2.5.2 Die Cosinormethode

1979 beschrieb *Nelson* die Cosinormethode, welche zur Evaluation von Rhythmen geeignet ist (Nelson et al. 1979). Zur Anpassung des kurvenförmigen Verlaufs eines Parameters verwenden wir die Methode der kleinsten Quadrate (least square) mit Hilfe folgender Cosinusfunktion:

$$F_{(t)} = M + A \cos (\omega t + \varphi)$$

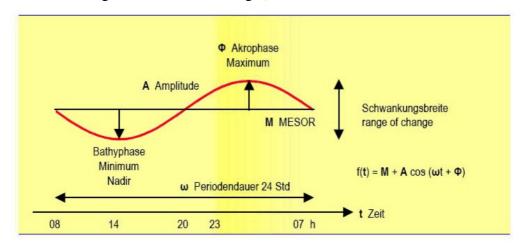
ώ = Periodendauer (in diesem Fall: 24 Stunden)

M = MESOR (Midline Estimating Statistic of Rhythm, 24-Stunden-Mittelwert)

A = Amplitude (entspricht Abstand des Minimums bzw. Maximums von M)

φ = Acrophase (Zeitpunkt des Maximums)

# (Zur Verdeutlichung siehe auch Abbildung 6)



#### Abbildung 6: Cosinormethode

Zeigt sich die Amplitude im F-Test mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit von p < 0,05 von Null verschieden, so kann die Null-Amplitudenhypothese verworfen werden und ein 24-Stunden-Rhythmus des Parameters angenommen werden. Cosinoranalysen bei der Bedingung Schlafentzug geben über eventuelle 24-Stunden-Rhythmen Aufschluss, die keine Abhängigkeit vom Wach-Schlaf-Rhythmus haben. Berechnungen der beiden verschiedenen Bedingungen lassen zudem Aussagen über die Art des Einflusses des Schlafes auf die Rhythmen zu.

### 2.5.3 Varianzanalysen

Um Unterschiede zwischen den Bedingungen Schlaf vs. Schlafentzug statistisch evaluieren zu können, zieht man Varianzanalysen mit Messwiederholungen (ANalysis Of VAriance, ANOVA) heran. Messwiederholungsfaktoren waren dabei die Versuchsbedingung (*Kondition*, Schlaf vs. Schlafentzug), die Tagesperiode (*Periode*, Nacht vs. Tag) und die einzelnen Messzeitpunkte (*Zeit*). Prüfgröße war hierbei der F-Wert Wilks' Lambda. Als signifikant wurde eine Irrtumswahrscheinlichkeit von p < 0,05 festgelegt. Wurde ein

signifikanter Bedingungs- oder Interaktionseffekt (Kondition x Zeit, Kondition x Periode oder Kondition x Periode x Zeit) festgestellt, wurden paarweise Vergleiche der korrespondierenden Zeitpunkte (post-hoc Vergleiche oder gepaarte t-Tests) gerechnet. Für die Wach-Schlaf- beziehungsweise 24-Stunden-Rhythmen galt ein Zeit-Effekt als zusätzliche Bestätigung zur Cosinoranalyse. Falls nötig wurden die Freiheitsgrade (degrees of freedom, df) nach Greenhouse-Geisser korrigiert.

## 2.5.4 Korrelationsanalysen

Mit Hilfe von Korrelationsanalysen (auch Pearson-Korrelation oder Produkt-Moment-Korrelation genannt) ist es möglich zwei Merkmale auf ihren linearen Zusammenhang zu überprüfen. Die Pearson-Korrelation ist für intervallskalierte und dichotome Merkmale zugelassen. Der Korrelationskoeffizient kann Werte zwischen -1 und +1 annehmen. Bei +1 besteht ein vollkommen positiver linearer Zusammenhang (je mehr, desto mehr), bei -1 ein vollkommender negativer linearer Zusammenhang (je mehr, desto weniger). Ist der Korrelationswert Null besteht kein linearer Zusammenhang zwischen den Merkmalen. Im unserem Fall wurden als Merkmale die prozentualen Anteile der IL-10-positiven bzw. der IL-12-positiven Monozyten genommen und eine mögliche Korrelation zum "Hormonniveau" errechnet, sowie eine mögliche Korrelation zueinander. Einzelne fehlende Daten wurden durch lineare Interpolation ermittelt, dies war jedoch in weniger als 2% der Fälle notwendig.

# 3 Ergebnisse

#### 3.1 Schlaf

In den Versuchsnächten, in denen die Probanden einen regulären Schlaf-Wach-Rhythmus einhielten, wurde eine Polysomnographie abgleitet. Dies diente in erster Linie dazu, einen Nachweis zu erhalten, dass die Probanden gut schliefen. Die Auswertung ergab die typischen Muster von Schlaf bei jungen gesunden Probanden. Tiefschlafphasen waren dominierend in der ersten Hälfte der Nacht, wohingegen in der zweiten Nachthälfte REM-Schlaf überwiegte. Der Schlafeintritt begann durchschnittlich 21 Minuten (21,4 +/- 5,0 min) nach Löschen des Lichtes, die Gesamtschlafdauer betrug 443 min (443,3 +/- 17,2 min). Zur genauen Ansicht siehe Tabelle 4.

Schlafstadium	Schlafdauer
Gesamtschlafdauer	443,3 ± 17,2
Schlafstadium 1	32, 7 ± 7,9
Schlafstadium 2	236,8 ± 17,4
Tiefschlafphasen	76,9 ± 6,7
REM-Schlaf	$73,7 \pm 6,7$
Schlaflatenz	21,4 ± 5,0
Eintritt REM-Schlaf	125,7 ± 18,6

Tabelle 4: Schlafstadienauswertung (Dauer der Schlafstadien in Minuten mit Standardfehler)

#### 3.2 Rhythmen

Die folgende Tabelle zeigt die Acrophasen, den Mesor und die Amplitude der verschiedenen Monozytenzahlen für die Bedingung Schlafentzug. Für die Veränderungen der IL-12-positiven Monozyten konnten in der Nacht signifikante Rhythmen lediglich bei Probanden in der regulären Schlafbedingung nachgewiesen werden. Für durchwachte Probanden zeigten sich dagegen keine signifikanten Rhythmen. Für IL-10-positive Monozyten waren ebenfalls nur in der Schlafbedingung signifikante Rhythmen nachvollziehbar. Während die Zellzahlen bei durchwachten Probanden deutlich stieg, konnte daraus jedoch aufgrund der ausgeprägten Varianz der Messungen kein signifikanter Rhythmus nachgewiesen werden und somit kein sicherer Nachweis eines

sichtbaren circadianen Rhythmus erbracht werden, siehe Tabelle 5.

	Mesor [%]	Amplitude [%]	Akrophase	Signifikanz
<b>IL-12-positive Monozyten</b>	$16,39 \pm 2,05$	$9,41 \pm 2,5$	02:20 Uhr ±38 min	p=0,020
IL-10-positive Monozyten	$3,76 \pm 0,68$	$1,28 \pm 0,5$	11:53 Uhr ±71 min	p=0,026
Verhältnis IL-12/IL-10	$10,38 \pm 3,78$	$4,41 \pm 1,30$	01:31 Uhr ±53 min	p=0,029

Tabelle 5: Cosinoranalysen

# 3.3 Schlaf versus Schlafentzug

Unterschiede der Zytokin-positiven Zellen und der Hormone im Vergleich der beiden Konditionen Schlaf und Schlafentzug sind ersichtlich in der ANOVA (Effekte *Kondition* oder Interaktionseffekte *Kondition x Periode*). Dabei wurden die Nacht- und Tagesmittelwerte und die korrespondierenden Zeitpunkte im paarweisen Vergleich gegenübergestellt, vergleiche Tabelle 6.

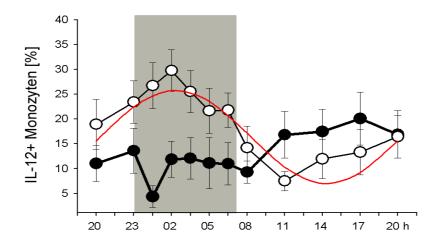
	Effekt Kondition x Periode		Effekt <i>Periode</i>	
	F-Wert	Signifikanz	F-Wert	Signifikanz
IL-12	12,25	p = 0,006	1,71	p = 0.22
IL-10	7,42	p = 0,02	0,41	p = 0.84
IL12 / IL-10	8,43	p = 0.02	0,23	p = 0.64
GH	18,98	p = 0,001	22,58	p = 0.001
Prolaktin	27,23	p = 0,001	17,19	p = 0.02
Cortisol	0,39	p = 0.55	59,7	p = < 0,001
Noradrenalin	0,89	p = 0.38	8,25	p = 0,02

Tabelle 6: ANOVA-Ergebnisse - fettgedruckte Werte zeigen nachweisbare Signifikanz

#### 3.3.1 Veränderungen von IL-12 und IL-10

Die Auswertung der IL-12 und der IL-10 produzierenden Monozyten ergibt signifikante Unterschiede beim Vergleich der beiden Konditionen. Probanden, die sich in einem regulären Schlaf-Wach-Rhythmus befinden, zeigen eine deutliche Steigerung der IL-12 produzierenden Monozyten während des Schlafes. Die gemessenen Zellen steigen in den ersten 3 Stunden an, und erreichen ihren Gipfel um 02:00 Uhr in der Nacht, um danach wieder zu fallen. Ihren tiefsten Wert erreichen sie durchschnittlich um 11:00 Uhr; danach steigen sie wieder leicht an. Sie folgen dabei einem deutlich sichtbaren Rhythmus, der in der Cosinoranalyse bestätigt werden konnte. Sowohl der deutliche Anstieg der IL-12-positiven Monozyten in der Nacht, als auch der sichtbare Rhythmus sind dagegen bei Probanden, die sich in der Kondition Schlafentzug befinden, nicht mehr nachweisbar, so

dass sich signifikante Unterschiede in der ANOVA ( $F_{1, 10} = 12,25$ ; p =0,006 für die Interaktion *Bedingung* x *Periode*) bei den nächtlichen Mittelwerten und um 00:30, 02:00 und 06:30 Uhr ergeben. Bei durchwachten Probanden bleiben die IL-12-positiven Monozyten in der Nacht im allgemeinem auf einem Niveau, mit einem sichtbaren Ausschlag nach unten um 00:30 Uhr. Ab 8:00 Uhr steigen die Werte an, zeigen jedoch tagsüber keine signifikanten Unterschiede zur Schlafbedingung und in der Cosinoranalyse keinen Rhythmus. Abbildung 7 und 8 zeigt anschaulich die Unterschiede der Durchschnittswerte zur Nachtzeit und an den einzelnen Messpunkten.



#### Abbildung 7

Durchschnittswerte und Standardfehler von IL-12 produzierenden Monozyten während regulärem Schlaf-Wach-Rhythmus (weiß) und bei Schlafentzug (schwarz). Die rote Linie veranschaulicht eine adaptierte Cosinuskurve für den bestätigten Rhythmus in der Kondition Schlaf; Die grauschraffierte Fläche verdeutlicht die Schlafzeit

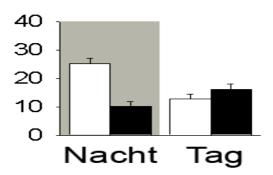


Abbildung 8

Die Balkengrafik zeigt zusammenfassend die Durchschnittswerte und Standardfehler für die Nacht und während des Tage; p < 0.05, IL-12-positive Monozyten in Prozent.

Der steigernde Effekt des Schlafes auf die IL-12 produzierenden Monozyten konnte in der ANOVA ebenfalls bestätigt werden, wenn bei der Analyse die leichten, aber nicht signifikanten, Unterschiede in der Basislinie (20:00 und 23:00 Uhr) angeglichen wurden (p=0,1). Die Analyse mit Hilfe der Cosinormethode bestätigte einen signifikanten Rhythmus lediglich bei einem regulärem Schlaf-Wach-Rhythmus (p=0,02), mit einem Höchstwert um 02:20 in der Nacht (+/- 38 Min) und einer Amplitude von 9,4 % (+/- 2,5 %).

Im Gegensatz zu den beschriebenen Veränderungen der IL-12-positiven Monozyten, sinkt die Zahl der IL-10 produzierenden Monozyten während des Schlafes im Vergleich zur durchwachten Nacht, so dass sich signifikante Unterschiede in der ANOVA ( $F_{1,10} = 7,42$ ; p = 0,02 für die Interaktion Bedingung x Periode), in den nächtlichen Mittelwerten und um 0:30 Uhr ergeben. Die Unterdrückung von IL-10 während des Schlafes folgt sichtbar dem Verlauf einer Cosinuskurve, bei der die IL-10-positiven Monozyten bis 02:00 Uhr sinken und danach langsam ansteigen. Um 11:53 Uhr (+/- 71 Min) erreichen sie ihren Höchstwert, wobei sie danach wieder abfallen. Cosinoranalysen bestätigen diesen Rhythmus und zeigen eine Amplitude von 1,3 % (+/- 0,5%). Die Probanden, die sich in der Bedingung Schlafentzug befinden, haben in der Nacht einen deutlichen Anstieg der IL-10 produzierenden Monozyten. Dieser Anstieg ist jedoch zu variabel und ergibt keinen erkennbaren Rhythmus in der Cosinoranalyse (p = 0,06). Mit Beginn des Tages fallen die Werte wieder ab und erreichen ein vergleichbares Niveau, wie bei Probanden in regulärem Schlaf-Wach-Rhythmus. Abbildung 9 veranschaulicht die sichtbare Rhythmik bei schlafenden Probanden, sowie die Balkengrafik in Abbildung 10 die insgesamt deutlich erhöhten Werte der IL-10 produzierenden Monozyten bei wachen Probanden.

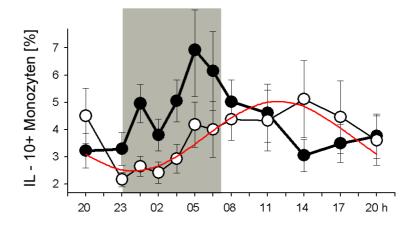
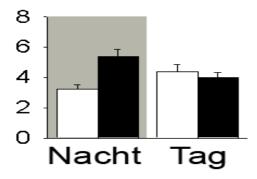


Abbildung 9

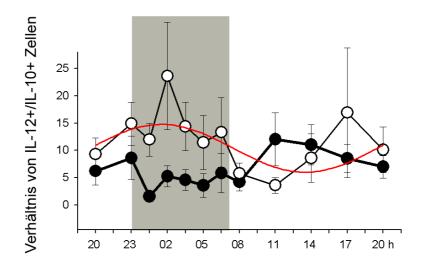
Durchschnittswerte und Standardfehler von IL-10 produzierenden Monozyten während regulärem Schlaf-Wach-Rhythmus (weiß) und bei Schlafentzug (schwarz). Grauschraffierte Fläche Schlafzeit; Die rote Linie veranschaulicht die adaptierte Cosinuskurve für den vorhandenen circadianen Rhythmus in der Kondition Schlaf.



**Abbildung 10** 

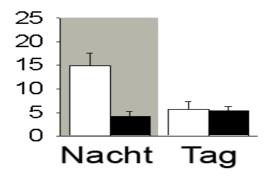
Balkengrafik mit Durchschnittswerten und Standardfehler für die Nacht und während des Tages; p < 0.05, IL-10-positive Monozyten in Prozent.

Der unterschiedliche Effekt des Schlafes auf IL-12 und IL-10 produzierende Monozyten ergibt ein stark divergentes Verhältnis der Zytokine während des nächtlichen Schlafes zueinander. Der Quotient von IL-12 zu IL-10 zeigt folglich auch einen vierfach erhöhten Wert für Messungen in der Nacht bei Probanden, die in der Versuchsnacht schliefen gegenüber jenen, die nachts wach blieben ( $F_{1, 10} = 8,43$ ; p = 0,02 für die Interaktion Bedingung x Periode). Auch in diesem Fall ergeben die Cosinoranalysen lediglich für Probanden in einem regulären Schlaf-Wach-Rhythmus einen signifikanten 24-Stunden-Rhythmus (Höchstwert 1:31 Uhr +/- 53 min; Amplitude 4,4 % +/- 1,3 %; p = 0,03). Bei durchwachten Probanden konnte hingegen in der Cosinoranalyse kein Rhythmus mehr nachgewiesen werden (p = 0,37). Siehe auch Abbildung 11 und 12.



**Abbildung 11** 

Durchschnittswerte und Standardfehler des Quotienten aus IL-12/IL-10 produzierenden Monozyten während regulärem Schlaf-Wach-Rhythmus (weiß) und bei Schlafentzug (schwarz). Grauschraffierte Fläche Schlafzeit; Die rote Linie veranschaulicht die adaptierte Cosinuskurve für den vorhandenen circadianen Rhythmus in der Kondition Schlaf.



**Abbildung 12**  $Balkengrafik \ mit \ Durchschnittswerten \ und \ Standardfehler \ für \ die \ Nacht \ und \ während \ des \ Tages; \ p < 0.05.$ 

#### 3.3.2 Hormone und Veränderungen von IL-12 und IL-10

Die Plasmaspiegel der untersuchten Hormone Cortisol, Prolaktin, GH und Noradrenalin zeigen bei den schlafenden Versuchspersonen die bereits bekannten typischen Muster von gesunden Individuen, die sich in einem regulären Schlaf-Wach-Rhythmus befinden. Prolaktin und GH haben einen nächtlichen Anstieg, während Cortisol und Noradrenalin in der Nacht ihre Tiefstwerte erreichen. Verglichen mit den Werten in der Schlafentzugsbedingung, ergeben sich während der Nachtzeit (für GH, Prolaktin und Noradrenalin) und zum Teil auch am Tage (für Prolaktin) Unterschiede:

So zeigen die Werte für GH bei Probanden in der Schlafentzugsbedingung (schwarz) auffällig niedrigere Werte als während des Schlafes (weiß) und der deutliche Gipfel der GH-Werte in den ersten Nachtstunden ist nahezu vollständig verschwunden (ANOVA  $F_{1,10} = 18.9$ ; p = 0.02 für die Interaktion *Bedingung* x *Periode*).

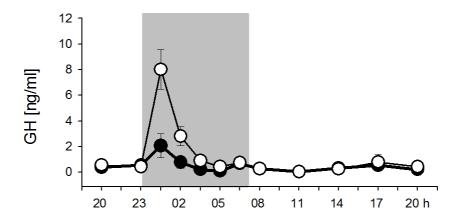


Abbildung 13: GH-Spiegel

Ebenfalls deutlich höhere Werte zeigen sich auch für Prolaktin während der gesamten Nachtphase bei Probanden in der Schlafbedingung (weiß). ( $F_{1, 10} = 27.2$ ; p = 0.02 für die Interaktion *Bedingung* x *Periode*), die sich mit Beginn des Tages anzunähern beginnen, um dann im Tagesverlauf signifikant unter die Prolaktinspiegel in der Bedingung Schlafentzug (schwarz) zu sinken (p < 0.05 *Bedingung* x *Periode*), siehe Abbildung 14.

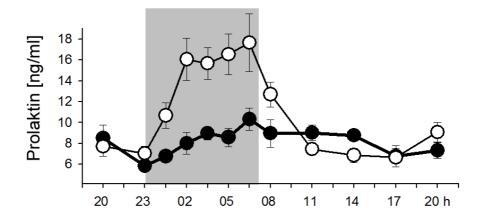
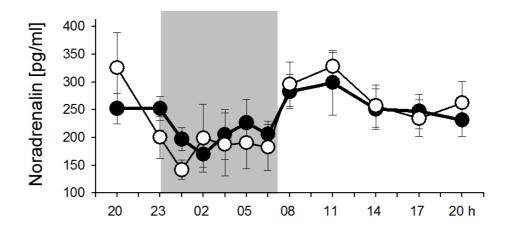


Abbildung 14: Prolaktinspiegel

Im Gegensatz dazu finden sich bei Noradrenalin geringere Spiegel bei Vergleich Schlaf versus Schlafentzug ( $F_{1, 10} = 5,4$ ; p = 0,04). Die niedrigeren Noradrenalinlevel in der Nachtzeit bei schlafenden Versuchsteilnehmern (weiß) steigen im Tagesverlauf auf

vergleichbare Werte an. Zudem zeigen sich im Vergleich der Nacht mit den Tagesmittelwerten höhere Werte während des Tagesverlaufs gegenüber der Nacht für beide Konditionen, siehe Abbildung 15.



#### Abbildung 15:Noradrenalinspiegel

Die Unterschiede in den Cortisolspiegeln dagegen sind nicht signifikant und zeigen in beiden Bedingungen bekannte 24-Stunden-Schwankungen. Insgesamt waren die Cortisollevel, wie es zu erwarten war, in den Nachtstunden geringer als am Tage (p < 0,001; für den 24-Stunden-Rhythmus nachgewiesen mit Hilfe der Cosinoranalyse, siehe Abbildung 16.

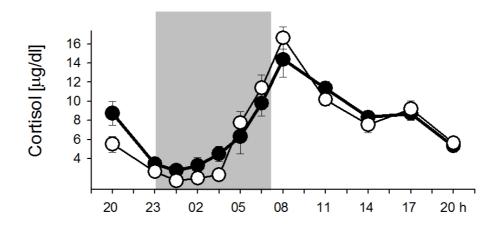


Abbildung 16: Cortisolspiegel

Dass zwischen Schlaf und der Produktion von IL-12- und IL-10-positiven Monozyten ein eindeutiger Zusammenhang besteht, haben die oben angeführten Ergebnisse eindrucksvoll nachgewiesen. Um herauszufinden, inwieweit dieser Zusammenhang mit den

Veränderungen der Hormonproduktion während des Schlafes korreliert ist, wurden weitere Berechnungen durchgeführt. Dabei wurden bei beiden Bedingungen die Hormonspiegel zu den Messzeitpunkten mit den entsprechenden Prozentzahlen der jeweiligen Monozyten in Beziehung gesetzt.

Die Berechnungen ergeben eine positive Korrelation von IL-12 produzierenden Monozyten mit den Prolaktinspiegeln. Für die Cortisollevel zeigt sich ein negativer Zusammenhang für IL-12-positive Monozyten. Wenn man bei den Cortisolwerten eine Zeitspanne von 3 Stunden zugrunde legt, die Cortisol benötigt, um seine Wirkung über Rezeptoren im Zytosol auf die Monozyten entfalten zu können, erhöht sich die positive Korrelation auf r = 0.38 (p < 0.01). Auch konnten die Korrelationsanalysen zudem eine signifikante negative Korrelation zwischen IL-12 und IL-10 produzierenden Monozyten nachweisen (r = -0.47; p < 0.001).

Die Werte von IL-10 produzierenden Monozyten korrelierten positiv mit den Spiegeln von Noradrenalin. Für die Verhältnisse der gemessenen Hormone mit den beiden Typen von Monozyten siehe auch Tabelle 7.

	IL-12 positive Monozyten	IL-10 positive Monozyten
GH	+0,16	-0,12
Prolaktin	+0,19 <sub>1</sub>	-0,12
Noradrenalin	-0,16	+0,23 <sub>1</sub>
Cortisol	-0,25 <sub>2</sub>	+0,08
Cortisol -3h	-0,38 <sub>3</sub>	+0,1
IL-12 positive	Monozyten	-0,47 <sub>3</sub>

Tabelle 7. Korrelationsanalysen

Koeffizienten der Produkt-Moment-Korrelation zwischen den Hormonspiegeln und dem Prozentsatz der IL-12- und IL-10-positiven Monozyten zu den untersuchten Messzeitpunkten, sowie zwischen den IL-12 und IL-10 produzierenden Monozyten untereinander. Untersuchte Werte für die Kondition eines normalen Schlaf-Wach-Rhythmus. Für Cortisol wurden zusätzlich Berechnungen für eine angenommene Wirklatenz von 3 Stunden vorgenommen.  $_1 = p < 0.05$ ;  $_2 = p < 0.01$ ;  $_3 = p < 0.001$ 

## 4 Diskussion

Die vorliegenden Ergebnisse unterstreichen einen regulatorischen Einfluss des Schlafes auf das Immunsystem. Diese Studie zeigt, dass Schlaf, im Vergleich zu Schlafentzug, den Anteil IL-12-positiver Monozyten deutlich ansteigen lässt, so dass ein ausgeprägter Gipfel in den Nachtstunden resultiert. Der Anteil der IL-10-positiven Monozyten dagegen sinkt während des Schlafes signifikant. Diese Veränderungen der beiden Zellpopulationen folgen bei Probanden im regulären Schlaf-Wach-Rhythmus deutlich nachvollziehbaren Kurven und lassen eine schlafabhängige Synchronisation der Zytokinaktivität erkennen. Während eines Schlafentzugs sind nicht nur keine erkennbaren Rhythmen der Zytokinaktivität mehr nachweisbar, auch der Anteil der IL-12 und IL-10 produzierenden Monozyten unterliegt starken Veränderungen. Die Ergebnisse unterstützen die These, dass das Immunsystem während des nächtlichen Schlafes eine Dominanz proinflammatorischer Zytokine in der Nacht herstellt. Die Konzentrationen der von uns untersuchten immunoaktiven Hormone folgen während des Schlafes den allseits bekannten Mustern, insbesondere die bereits in anderen Studien detektierten schlafabhängigen Erhöhungen von GH und Prolaktin. Darüber hinaus konnten auch deutliche Parallelitäten nachgewiesen werden zwischen den Konzentrationskurven von IL-12-positiven Monozyten, GH und Prolaktin einerseits und IL-10 produzierenden Monozyten, Cortisol und Noradrenalin andererseits. Dies erhärtet den Verdacht, dass während des nächtlichen Schlafes auch das Endokrinium und das vegetative Nervensystem durch Anpassung der Hormonlevel eine Verstärkung der Immunantwort in der Nacht herbeiführt. In der Diskussion möchte ich deutlich machen in wieweit diese messbaren Veränderungen vermutlich einem grundsätzlichem Prinzip folgen, in dem der Körper, durch nächtlichen Schlaf ein funktionierendes und effizientes Immunsystem unterstützt. Mit Hilfe der aktuellen Datenlage soll diskutiert werden, ob der nächtliche Schlaf durch Veränderungen der Zytokinbalance und entscheidender immunoaktiver Hormone seine Wirkungen auf das Immunsystem entfaltet.

#### 4.1 Interleukin-12 und Interleukin-10

Diese Arbeit zeigt deutlich, dass es während des nächtlichen Schlafes zu charakteristischen Veränderungen der Zytokine kommt. Zum einen konnte für IL-12 und IL-10 nachgewiesen werden, dass es während des Schlafes zu einer Dominanz

proinflammatorischer Zytokine kommt. Zum anderen präsentierte sich während des regulären Schlaf-Wach-Rhythmus eine sichtbare Rhythmik der Zytokinaktivität. Diese Ergebnisse stimmen überein mit vorangegangen Ergebnissen zu Untersuchungen von Zytokinen während eines regulären Schlaf-Wach-Rhythmus. So konnte die Gruppe um Petrovsky für IL-12 Aktivitätsgipfel in der Nacht und in den frühen Morgenstunden bei schlafenden Probanden finden (Petrovsky et al. 1998b). In diesen Untersuchungen zeigten sich vergleichbare Ergebnisse für andere proinflammatorische Zytokine: IFN-γ, ein proinflammatorisches Zytokin, das die Fähigkeit besitzt die Produktion von IL-12 zu stimulieren und umgekehrt selbst durch dessen Anwesenheit verstärkt wird, zeigte beispielsweise synchrone Verlaufskurven wie IL-12. Übereinstimmende Ergebnisse zu den Rhythmen der Aktivität von IFN-y wurden von dieser Gruppe bereits im Jahre 1997 (Petrovsky et al. 1997). Korrespondierende Ergebnisse proinflammatorischen Zytokine IL-1 (Gudewill et al. 1992), IL-6 (Gudewill et al. 1992, Sothern et al. 1995a und1995b), TNF-α (Gudewill et al. 1992, Zabel et al. 1993) und den IL-2-Rezeptor (Jones et al. 1994) bekräftigen die These, dass es während des nächtlichen Schlafes zu einer Verstärkung der proinflammatorischen Zytokinantwort kommt. Tabelle 8 zeigt eine Auswahl wichtiger Arbeiten über die tageszeitlichen Veränderungen von wichtigen Zytokinen. Die Gruppe um Petrovsky untersuchte in der Vergangenheit auch die Veränderungen der Balance von pro- und antiinflammatorischen Zytokinen und kam zu vergleichbaren Ergebnissen. Bei Probanden, die einen regulären Schlaf-Wach-Rhythmus eingehalten hatten, wurden die tageszeitlichen Veränderungen des proinflammatorischen Typ1-Zytokins IFN-y und des antiinflammatorischen Typ2-Zytokins IL-10 ausgewertet. Es zeigte sich ebenfalls eine nächtliche Verstärkung des Typ1-Anteils mit einem Gipfel des IFN-y/ IL-10- Quotienten um 04:00 Uhr (Petrovsky et al. 1998a). Obgleich sich in dieser Studie ein divergentes Maximum der IL-10-Aktivität um 21:00 Uhr zeigt, unterstützt auch diese Untersuchung die Annahme, dass es während nächtlichen des Schlafes zu einer gezielten Verstärkung der Aktivität proinflammatorischer Zytokine kommt.

	Zytokin	Maximun	Methode	Zelle	Autoren
	IL-12	nachts nachts	Durchflusszytometrie Vollblutstimulation	APC	Dimitrov et al. 2007 Petrovsky et al. 1998a+b
		keine Rhythmik	Serummessungen		Lissoni et al. 1998
	IFN-γ	23:00 Uhr	Durchflusszytometrie	T-Zellen	Dimitov et al. 2004
		23:00 Uhr	Serummessungen		Lange et al. 2002
Ę		nachts	Vollblutstimulation		Petrovsky et al. 1998a+b
proinflammatorisch		23:00 Uhr	Vollblutstimulation		Petrovsky and Harrisson <sup>1997</sup>
ıma	TNF-α	23:00 Uhr	Durchflusszytometrie	Monozyten	Irwin et al. 2006
am		23:00 Uhr	Durchflusszytometrie	T-Zellen	Dimitov et al. 2004
inf		21:00 Uhr	Vollblutstimulation		Petrovsky et al. 1998a+b
pro		nur nachts messbar	Serum		Gudewill et al. 1992
		4:00 Uhr	Vollblutstimulation		Zabel et al. 1993
		12:00 Uhr	Serum		Zabel et al. 1993
	IL-2	nachts messbar	Serummessungen		Lange et al. 2002
		2:00 Uhr	PBMC		Born et al. 1997
		0:00 Uhr	PBMC		Palm et al. 1996
	IL-10	22:00 Uhr	Vollblutstimulation		Petrovsky and Harrisson 1997
isch		21:00 Uhr	Vollblutstimulation		Petrovsky et al. 1998
ttori		keine Rhythmik	Serum		Lissoni et al. 1998
ımme		7:30 + 19:30 Uhr	Serum		Young et al. 1995
antiinflammatorisch	IL-4	21:00 Uhr	Durchflusszytometrie	T-Zellen	Dimitov et al. <sup>2004</sup>

Tabelle 8.: Studienlage zu pro- und antiinflammatorischen Zytokinen

Diese beschriebenen circadianen Aktivitätsschwankungen der Zytokine zeigten sich jedoch in unserer Studie nur bei den Probanden in der Bedingung Schlaf. Blieben die Probanden in der Nacht wach, unterlag die Zytokinaktivität weitreichenden Veränderungen: Die IL-12-positiven Monozyten reduzierten sich auf durchschnittlich nahezu 40% und die IL-10-positiven Monozyten stiegen auf durchschnittlich 170% an, verglichen mit den Werten der schlafenden Probanden. Von besonderem Interesse ist in diesem Zusammenhang eine Studie von Dimitrov et al. Hierbei wurden Vorläuferzellen der Dendritischen Zellen untersucht, die sich in der Blutbahn befinden und noch nicht ortsständig im Gewebe verbleiben. In dieser Studie konnte ebenfalls deutlich nachgewiesen werden, dass die Sekretion von IL-12 signifikant höher war, wenn die Probanden nachts schlafen konnten. Diese Studie bekräftigt zudem unseren Versuchsaufbau, in dem wir voraussetzten, dass die von uns untersuchten Monozyten Vorgänge widerspiegeln können, wie sie auch bei den Dendritischen Zellen zu beobachten sind. Die Ergebnisse weitere Schlafstudien unterstützen die These proinflammatorischen Veränderung des Zytokinmilieus in der Nacht: Die Gruppe um Born untersuchte in einer Schlafstudie, mit einem dem unseren vergleichbaren Versuchsaufbau, die Zytokinschwankungen von Probanden während des Schlafes im Vergleich zu Schlafentzug. Es zeigte sich eine schlafabhängige Steigerung der Produktion des proinflammatorischen IL-2 durch T-Zellen (Born et al. 1997). Ebenfalls vereinbar mit dieser These sind die Ergebnisse von Dimitrov et al., die anhand der Untersuchung der Zytokinproduktion von T-Zellen eine Verstärkung der Typ1-Zytokinantwort während des nächtlichen Schlafes nachweisen konnten. Bei ihren Versuchen zeigte sich eine schlafabhängige signifikante Steigerung der Produktion des Typ1-Zytokins IFN-γ im Verhältnis zum Typ2-Zytokin IL-4 während des frühen nächtlichen Schlafes (Dimitrov et al. 2004b). In einem weiteren Versuch der Gruppe um Dimitrov konnten durch Schlafentzug zwar keine Effekte auf die Produktion des Typ1-Zytokins IL-6 nachgewiesen werden, jedoch eine deutliche Zunahme der Aktivität eines Ko-Rezeptors, den IL-6 benötigt, um Wirkungen entfalten zu können (Dimitrov et al. 2007).

Zu den tageszeitlichen Veränderungen von Zytokinen liegen einige Studien vor, manche von Ihnen zeigen auch abweichende Ergebnisse, beispielsweise eine Studie von Lissoni et al., in der sich keine Rhythmik der IL-10-Aktivität nachweisen lies (Lissoni et al. 1998). Die Tatsache, dass in anderen Studien unterschiedliche und teilweise widersprüchliche Ergebnisse beschrieben wurden oder sogar gar keine Rhythmen nachweisbar waren, während sich bei uns eine klare und signifikante Rhythmik zeigt, lässt sich durch die verbesserten Messmöglichkeiten mit Hilfe der Durchflusszytometrie durch unsere Arbeitsgruppe erklären: Da Zytokine zumeist eine parakrine oder sogar autokrine Wirkungsweise besitzen, besteht das Problem, dass die Konzentrationen unterhalb der Nachweisgrenze üblicher Methoden liegt. Messungen der Zytokinserumkonzentrationen haben daher deutliche methodische Probleme, was eine mögliche Erklärung für eine fehlende nachweisbare Rhythmik in anderen Versuchen darstellt. Die in der Vergangenheit daraufhin eingeführten Methoden der Stimulation von Vollblut oder der Stimulation von peripheren mononukleären Zellen – also Lymphozyten und Monozyten – beinhalten ebenfalls systematische Probleme. Um ausreichende Zytokinkonzentrationen zu erhalten, die vermittels üblicher Nachweismethoden feststellbar sind, werden die Immunzellen im Blut mit Hilfe von Stimulantien angeregt Zytokine zu produzieren. Diese wiederum können nach einer Zentrifugation im Überstand gemessen werden. Auf diese Weise kann jedoch keine Aussage über die genuine Funktion der Ursprungszelle gemacht werden. Es ist lediglich die Gesamtheit des jeweiligen Zytokins messbar, welches von

allen, sich in der Probe befindlichen Zellen, produziert worden sein kann. Zudem sind für diese Methodik häufig sehr starke und sehr lange Stimuli notwendig, um messbare Ergebnisse zu erhalten. Die Vergleichbarkeit von Ergebnissen nach Stimulation von Vollblut oder von peripheren mononukleären Zellen (PBMC) beinhaltet zudem das Problem, dass bei PBMC-Stimulationen veränderte Zellzusammensetzungen zu finden sind – beispielsweise konnte nachgewiesen werden, dass bei Isolierungen von peripheren mononukleären Zellen im Vergleich zu Vollblutproben die Zahl der Monozyten auf ein Zehntel reduziert ist (De et al. 1992). Diese Zellen spielen jedoch insbesondere für die von uns untersuchten IL-12 und IL-10 eine bedeutende Rolle. Zuletzt ist die quantitative Messung von Zytokinen insgesamt innerhalb dieser beiden Methoden starken Unterschieden unterworfen (De et al. 1992).

Dagegen wurde innerhalb unseres Versuchsaufbaus eine Messung auf Zellebene mit Hilfe der Durchflusszytometrie unternommen. So konnten die Veränderungen einzelner Zellpopulationen wie der Monozyten im Verlauf der Zeit untersucht werden, sowie deren Zytokinsekretionen nach Stimulation zum jeweiligen Messzeitpunkt. Ein weiterer Vorteil der Messung auf zellulärer Ebene besteht darin, spezifischere und physiologische Stimuli verwenden zu können. In unserem Versuch wurde LPS verwendet, welches ein spezifischer Stimulus für Monozyten unter physiologischen Bedingungen ist. Im Falle des IL-12 konnten zudem sehr geringe Stimulationszeiten angewendet werden (Inkubation mit Stimulus LPS bei IL-12: 6 Stunden). Der entscheidende Vorteil der Durchflusszytometrie besteht neben dem bereits angeführtem zudem darin, dass im Anschluss an eine Stimulation so die spezifische Aktivität einer Zellpopulation herausgefiltert werden kann und nicht lediglich Messungen der insgesamt nach Stimulation produzierten Zytokine vorgenommen werden müssen. Schließlich können bei Messungen mit Hilfe der Durchflusszytometrie ebenfalls Vollblutproben verwendet werden. Vollblutproben stellen am ehesten einen Zustand in vivo dar, da in Ihnen der physiologische Einfluss von Hormonen und die Möglichkeit der Kommunikation von Zellen untereinander bestehen. Ein weiterer Punkt ist, dass bei manchen Ergebnissen vorangegangener Studien zuweilen sehr große Intervalle zwischen den Blutentnahmezeitpunkten gewählt worden sind und daher eine Evaluation circadianer oder tageszeitlicher Rhythmen kaum möglich ist.

Neben den erwähnten Unterschieden in labor- und versuchstechnischer Methodik wurden in den meisten Versuchen T-Zellen anstelle von Monozyten als entsprechende Ursprungszellen der Zytokine untersucht (Dimitrov et al. 2004a und 2004b). Neuere Untersuchungen zeigen jedoch, dass insbesondere die erste Interaktion von Antigen-

präsentierenden Zellen und jungen T-Zellen (also T-Zellen ohne vorherigen Kontakt zu Antigenen) den entscheidenden Mechanismus darstellen, ob die Immunantwort des Körpers in erster Linie von Typ1- oder Typ2-Zytokinen dominiert wird (Kalinski et al. 1999a). Wie im obigen Teil bereits ausgeführt, ist gerade die Fähigkeit des Immunsystems auf verschiedene Pathogene unterschiedlich reagieren zu können eine entscheidende Ursache der ausgeprägten Effizienz des Immunsystems. Einerseits ist je nach eingedrungenem Pathogen entweder eine aggressive Typ1-Zytokin dominierte zelluläre Immunantwort oder eine Typ2-Zytokin vermittelte humorale Immunantwort der wirkungsvollere Abwehrmechanismus des Körpers (beispielsweise scheint bei Wurmerkrankungen eine Typ2-Zytokindominanz wirkungsvoller zu sein). Andererseits ist die bereits angesprochene gegenseitige Synchronisation der beiden Gegenspieler von entscheidender Bedeutung. Die Schnittstelle nehmen hier nach aktueller Studienlage die Antigen-präsentierenden Zellen ein. Dabei scheint von herausgestellter Bedeutung zu sein, ob die noch ungereiften T-Zellen auf ein Typ1- oder Typ2-Zytokin-dominiertes Zytokinmilieu treffen. Zudem legen diverse Studien nahe, dass insbesondere IL-12 in diesem Zusammenhang eine entscheidende Rolle übernimmt (Elenkov et al. 2005, Kalinski et al. 1998a, Kalinski et al. 1999b, Janeway 2007). In diesem Wechselspiel der Zytokine, das zur entsprechenden Reifung der T-Zellen führt, spielt auch IL-10 eine herausgehobene Bedeutung. Neben der allgemein antagonistischen Wirkung auf IL-12 kann es speziell die Sekretion von IL-12 durch Antigen-präsentierende Zellen senken, sowie die Aktivität und eigene weitere Reifung dieser Zellen beeinflussen (Buelens et al. 1997, De et al. 1997, Kalinski et al. 1998b).

Da Monozyten nicht nur bedeutende Produzenten dieser Zytokine sind, sondern auch unter bestimmten Voraussetzungen Vorläufer Antigen-präsentierender Zellen darstellen, bietet ihre Untersuchung vermutlich einen weitaus gezielteren Blick auf die zugrundeliegenden Mechanismen der Veränderung von Zytokinbalancen und Modifikationen einer Immunantwort innerhalb des Immunsystems. In diesem Sinne erscheint eine direkte Untersuchung der Dendritischen Zellen, den wichtigsten Vertretern der Antigen-präsentierenden Zellen, sicherlich als der gradlinigste Weg. Aufgrund der Tatsache, dass Dendritische Zellen jedoch in erster Linie ortsständig in den Geweben des Körpers zu finden sind und nicht frei im Blut zirkulieren, hat sich unsere Arbeitsgruppe zu Nutze gemacht, dass Monozyten - die im Blut sehr gut nachweisbar sind - als verwandte Zellen ein gutes Modell für die Mechanismen auch bei ortsständigen Zellen abgeben. Insbesondere eine Studie der Gruppe um Dimitrov unterstützt hierbei diese These, da für

die geringen Konzentrationen im Blut zirkulierender Dendritischer Zellen vergleichbare Ergebnisse wie für die Monozyten aufzeigbar waren: Die im Blut nachweisbaren Dendritische Zellen zeigten ebenso einen schlafabhängigen nächtlichen Anstieg der IL-12-Produktion, wie es in unserem Versuch für die Monozyten nachgewiesen werden konnte (Dimitrov et al. 2007). Studienergebnisse konnten im Tierversuch zudem nachweisen, dass bei einer Aktivierung des Immunsystems die messbaren Veränderungen innerhalb des Blutes vergleichbar sind mit anderen Geweben (Bonacho et al. 2001).

Die bemerkenswerte und neue Erkenntnis dieser Studie ist der klare Nachweis, dass es unter normalem Schlaf-Wach-Verhalten zu einer sichtbaren und nachvollziehbaren Rhythmik der Zytokinaktivität kommt und dass diese abhängig von einem regulären nächtlichen Schlafverhalten ist, da bei Probanden bereits bei einer durchwachten Nacht jedwede Rhythmik ausbleibt. Zudem konnte in dieser Studie nachgewiesen werden, dass es durch nächtlichen Schlaf zu einer deutlichen Verschiebung des Typ1/Typ2-Zytokinverhältnisses hin zu einer Typ1-Dominanz kommt.

Inwieweit diese unter experimentellen Bedingungen bei gesunden Probanden gewonnenen Ergebnisse auch auf die Situation eines Patienten übertragbar sind und in welcher Form die willkürliche experimentelle Stimulation von Zellen mittels LPS auch eine immunologische Situation des Körpers widerspiegelt ist per se nicht sicher zu klären. Immunologischen Untersuchungen an Menschen zur Klärung von Mechanismen innerhalb des menschlichen Körpers sind folgerichtig Grenzen gesetzt. Diverse wichtige klinische Studien über immunologische Veränderungen beim Menschen in Zusammenhang mit einem gestörten Schlafverhalten, lassen sich jedoch mit unseren Ergebnissen in Einklang bringen und deuten damit an, dass unsere experimentellen Werte auch immunologische Zustände reflektieren. So zeigten Sakami et al. in einer großen klinischen Studie vergleichbare Zytokinveränderungen bei Patienten, die an Schlafstörungen litten: In einer Gruppe von rund 600 Männern fanden sich bei Patienten, die eine primäre Insomnie, Durchschlafstörungen oder Einschlafstörungen hatten, signifikante Reduzierungen des proinflammatorischen Zytokins IFN-γ und eine signifikante Reduktion im Verhältnis zum antiinflammatorischen Zytokin IL-4 (Sakami et al. 2003). Hieran ist ersichtlich, dass ein gestörter Schlaf, mit einer ausbleibenden Typ1-Zytokindominanz in der Nacht korreliert. Vergleichbare Zusammenhänge konnten Untersuchungen an Alkoholismus erkrankten Patienten aufzeigen. Eine gestörte Schlafarchitektur mit einer Verringerung des Gesamtschlafs, häufigem Aufwachen, einer Verringerung des erholsamen Tiefschlafs und einer Verstärkung des REM-Schlafes sind bei Alkoholikern bekannt (Gillin et al. 1990b,

Gillin et al. 1990a, Irwin et al. 2000). Die immunologischen Untersuchungen der Gruppe um Redwine konnten zeigen, dass bei Alkoholikern auch eine deutliche Verstärkung der Typ2-Zytokine in der Nacht nachweisbar ist – das Verhältnis von IFN-γ zu IL-10 und von IL-6 zu IL-10 ist bei ihnen im Vergleich zur Kontrollgruppe deutlich reduziert (Redwine et al. 2003). In Anbetracht der These, dass eine starke Typ1-Zytokinreaktion in der Nacht für ein effizientes Immunsystem von elementarer Bedeutung ist, wäre hier auch eine mögliche Erklärung für bekannte klinische Begleiterscheinungen bei Alkoholikern zu finden, wie eine erhöhte Infektanfälligkeit (Cook 1998), eine erhöhte Inzidenz und verstärkte Erkrankung an Tuberkulose (Buskin et al. 1994) und Hepatitis C (Balasekaran et al. 1999), sowie vermutlich auch beim Fortschreiten der immunsuppressiven Veränderungen bei HIV-infizierten Patienten (Crum et al. 1996).

Eine klinische Studie an gesunden weiblichen Probanden zeigte, dass Frauen mit einer Nacht Schlafentzug signifikante dermatologische Veränderungen im Sinne einer reduzierten Hautabwehr zeigen (Altemus et al. 2001). Ein weiteres Beispiel für klinische Auswirkungen einer unphysiologischen Veränderung des nächtlichen Zytokinmusters durch gestörten nächtlichen Schlaf konnte von der Gruppe um Kimata gezeigt werden. Patienten mit einer allergischen Rhinitis und einer bekannten Allergie gegen japanische Zederblüten wurden nach einer durchwachten Nacht diesem Allergen ausgesetzt. Schlafdefiziente Patienten hatten in dieser Untersuchung bedeutend stärkere urtikarielle Reaktionen als die vergleichbare Kontrollgruppe (Kimata et al. 2002). Diese Symptome gingen einher mit einer signifikanten Erhöhung der Serumlevel von IgE-Antikörpern. Unter Berücksichtigung, dass diese Antikörper verstärkt über T<sub>H</sub>2-Zellen vermittelt und damit über den Typ2-Zytokinweg induziert werden, ist damit ein weiteres Beispiel gegeben, wie Schlafentzug eine nächtliche Typ1-Dominanz blockiert und somit zu klinischen Auswirkungen führt.

Schließlich seien an dieser Stelle auch die Schlafstudien erwähnt, die mit Hilfe von Impfungen versucht haben, eine gezielte subklinische Infektion beim Menschen auszulösen, um im Anschluss schlafabhängige Unterschiede der Immunantworten beobachten zu können. So zeigte die Gruppe um Lange, dass es bei Probanden mit einem regelmäßigem Schlaf-Wach-Rhythmus zu einer deutlich stärkeren Immunantwort auf eine Hepatitis A-Impfung kam, als bei Probanden, denen nach der Impfung versuchsweise Schlaf entzogen wurde (Lange et al. 2003). Probanden mit regulärem Schlaf hatten auch vier Wochen nach Impfung doppelt so hohe Titer von Hepatitisantikörpern gegenüber den durchwachten Testpersonen. Zu vergleichbaren Ergebnissen kam auch eine Studie, in der

sich Probanden einer Influenzaimpfung unterzogen. Eine Gruppe dieser Probanden wurde anschließend einem Schlafentzug ausgesetzt und einer Kontrollgruppe gegenübergestellt, die einen regelmäßigen Schlaf-Wach-Rhythmus einhielt (Spiegel et al. 2002). In Studien konnte gezeigt werden, dass die Bildung der entsprechenden Antikörper durch Typ1-Zytokine vermittelt wird (Powers 1994, Wang et al. 2004). Damit wären die in unserer Studie zu beobachten Veränderungen der Zytokinverhältnisse bei Schlafentzug eine Erklärung für die verringerte Immunantwort der geimpften Probanden.

Während in dieser Studie deutlich gezeigt werden konnte, dass Monozyten nur während des Schlafes eine Dominanz von IL-12 in der Nacht herstellen können, stellt sich im weiteren die Frage, ob diese Tatsache auch gleichbedeutend mit einem "proinflammatorischem Zustand" ist. Auch wenn ein solcher Beweis bisher noch nicht erbracht werden konnte, lässt die aktuelle Studienlage diese Vermutung doch aus folgenden Gründen als sehr wahrscheinlich erscheinen: Zum einen besitzt IL-12 eine besondere Bedeutung in der frühen Regulation von jungen T-Zellen zu T<sub>H</sub>1-Zellen und stellt somit vermutlich den wichtigsten Protagonisten in der Verschiebung zu einer T<sub>H</sub>1dominierten Antwort dar (Hsieh et al. 1993, Manetti et al. 1993). Neben weiteren allgemeinen Mechanismen, wie die Anregung natürlicher Killerzellen, ist zum anderen die Verstärkung weiterer proinflammatorischer Zytokine (wie IFN-γ) eine der wichtigen Aufgaben des IL-12 (Trinchieri 2003). IFN-γ ist ebenfalls eines der zentralen proinflammatorischen Zytokine. Die Tatsache einer gegenseitigen Aktivitätsverstärkung unterstreicht die anzunehmende Potenz von IL-12 einen "proinflammatorischen Zustand" herstellen zu können. In der Literatur hat aufgrund dieser Tatsachen zunehmend IL-12 die Rolle als bedeutendster Repräsentant proinflammatorischer Zytokine eingenommen (Lucey et al. 1996). Aus Tierversuchen ist bekannt, dass eine unkontrollierte und ungehemmte IL-12-Aktivität zu letal verlaufenden systemischen Entzündungsprozessen führen kann (Gazzinelli et al. 1996). Es wird angenommen, dass die Unterdrückung ungehemmter proinflammatorischer Aktivität mit schädigenden Wirkungen für den Organismus, in erster Linie von IL-10 als Repräsentant antiinflammatorischer Zytokine übernommen wird (Trinchieri 2003). Die Ergebnisse unserer Studie unterstützen diese These. Die Verlaufskurven dieser beiden Zytokine zeigen signifikante negative Korrelationen. Dies spricht neben dem bekannten funktionellem Antagonismus für eine direkte Mitwirkung der Zytokine auf die Aktivität des Gegenspielers und wäre ein Erklärungsmodell für die sichtbaren inversen Aktivitätsprofile bei regulärem Schlaf-Wach-Rhythmus.

In der Zusammenschau der Befunde ergibt sich das Bild einer gezielten nächtlichen Veränderung des Zytokinmilieus, mit dem Ziel, in der Nacht eine starke und aggressive zelluläre Immunantwort zu forcieren. Die anhaltende Belastung des Körpers während des Tages durch Stress und die Aufnahme von Reizen, könnten eine adäquate Verarbeitung dieser Stimuli verhindern, so dass die ausreichende Verarbeitung und Gedächtnisbildung während des Schlafes vorgenommen werden müsste. Wie einleitend angedeutet, hat sich im letzten Jahrzehnt zunehmend die These durchgesetzt, dass Schlaf nicht ausschließlich zur Gedächtnisbildung auf psychologischer und kognitiver Ebene dient (Born et al. 2001, Born et al. 2004, Fischer et al. 2002, Gais et al. 2000, Wagner et al. 2001, Wagner et al. 2004a). Auch die Synchronisation metabolischer Prozesse im Sinne einer Einstellung auf Normwerte wird aller Wahrscheinlichkeit nach durch einen regulären nächtlichen Schlaf erreicht (Spiegel et al. 1999). Als zentraler Faktor ist das Ausbilden einer Gedächtnisfunktion auch für das Immunsystem von elementarer Bedeutung. Für Zellen des spezifischen erworbenen Immunsystems, wie den T- und B-Lymphozyten, ist bekannt, dass sie ein Gedächtnis entwickeln können (memory cells) – diese Erfahrung machen wir, wenn wir uns mit einem Erreger infizieren, der bereits zuvor eine Infektion ausgelöst hatte. In diesem Falle vervielfältigen sich die Zellen, die ein "Gedächtnis" für diesen Erreger haben und können ihn so weitaus effizienter und rascher unschädlich machen. Dieses Prinzip macht man sich bei einer Impfung zu Nutze. Vermutlich gibt es innerhalb des Immunsystems noch weitaus mehr Prozesse und Bestandteile, für die eine Gedächtnisbildung von Bedeutung ist. Insbesondere die Antigen-präsentierenden Zellen spielen aufgrund ihrer Aufgabe der Prozessierung und anschließenden Präsentation von eingedrungenen Pathogenen eine spezielle Rolle bei der "Reizverarbeitung". Denkbar wäre, dass während des Schlafes gezielt ein Milieu geschaffen wird, um die Voraussetzungen einer Gedächtnisbildung zu unterstützen: Die auffällige neuroendokrine Konstellation von erhöhten Konzentrationen immunstimulierender Hormone und erniedrigtem Level immunsuppressiver Substanzen wie Cortisol und Noradrenalin, bietet den Zellen des Immunsystems die Möglichkeiten einer maximalen Aktivitätssteigerung. Da für das Erzielen einer hinreichenden Wirkung bei der Verarbeitung von Antigenen ein örtliches und räumliches Zusammentreffen der Zellen vonnöten ist (Ottaway et al. 1992), führt vermutlich gerade jene Konstellation bei der Interaktion von Lymphozyten und

Antigen-präsentierenden Zellen zu einer maximalen Aktivität und entsprechend zu Proliferation, Differenzierung und Gedächtnisbildung (Lange et al. 2010). Da während des Schlafes die Menge in den Körper eindringender Pathogene deutlich reduziert ist, können die Lymphozyten vermehrt die Blutbahn verlassen und in den lymphatischen Organen mit den Antigen-präsentierenden Zellen interagieren, was für die Prozessierung der "Reize" ebenfalls von Vorteil wäre. Aus klinischen Erfahrungen und aus Tierversuchen ist bekannt, dass die Unfähigkeit des Körpers eine wirkungsvolle Typ1-Reaktion zu initiieren, mit schwerwiegenden Infektionen einhergeht, die im weiteren Verlauf letal enden können (Janeway 2007).

Diese Studie zeigt, dass eine physiologische 24-Stunden-Rhythmik bei Monozyten existiert und dass diese durch nächtlichen Schlaf hervorgerufen wird. Da diese klaren Muster der Zytokinaktivität in einem regulärem Schlaf-Wach-Rhythmus deutlich nachweisbar sind, während sie bereits während einer durchwachten Nacht komplett aufgelöst sind, ist für die Monozyten bestätigt, dass diese Rhythmik nicht durch einen circadianen Schrittmacher hervorgerufen wird, sondern durch nächtlichen Schlaf. Auch wenn nach aktueller Datenlage die Abhängigkeiten der Produktion von IL-12 und IL-10 von Schlaf und Schlafentzug noch nicht vollständig erforscht sind, so lassen doch die oben erwähnten Studien über vergleichbare Zytokine, sowie klinische und immunologische Veränderungen folgende Hypothese als sehr wahrscheinlich erscheinen: Regulärer nächtlicher Schlaf ist vermutlich der Grundstein und Schrittmacher einer nächtlichen Typ1-Zytokindominanz, welche wiederum für eine effektive Immunantwort und ein funktionierendes Immunsystem unabdingbar ist.

#### 4.2 Hormone

Die beschriebenen Veränderungen der Zytokine innerhalb des nächtlichen Schlafes, aber auch während einer durchwachten Nacht unterliegen vielen Einflussfaktoren. Wie eingangs erwähnt, besitzen das endokrine System und das vegetative Nervensystem vielfältige Mechanismen, um auf Parameter des Immunsystems einzuwirken, genauso wie das Immunsystem umgekehrt auf diese Systeme einwirken kann. Um weiter zu eruieren, inwieweit neuroendokrine Mechanismen diesen sichtbaren schlafabhängigen Zytokinveränderungen hin zu einer nächtlichen Typ1-Dominanz während des Schlafes zu

Grunde liegen, untersuchten wir Hormone, für die eine Wirkung auf das Typ1/Typ2-Zytokinverhältnis beschrieben ist.

Die Verlaufskurven von Cortisol und Noradrenalin zeigten in unserem Versuch die allseits bekannten tageszeitlichen Muster: Cortisol wies einen Abfall der Konzentration zu Beginn der Nacht, einen Anstieg in den Morgenstunden und insgesamt höhere Werte gegenüber der Nacht im weiteren Tagesverlauf aus. Diese Verlaufskurven waren vom Schlaf unabhängig und zeigten dementsprechend in beiden Konditionen keine signifikanten Unterschiede. Auch für Noradrenalin ergaben sich die bekannten Aktivitätsmuster mit geringeren Werten in der Nacht und leicht erhöhten Werten im weiteren Tagesverlauf. Die Sekretionsmuster von Prolaktin und GH zeigten dagegen die bekannten schlafabhängigen Verläufe: Prolaktin zum einen mit höheren Konzentrationen in der Nacht und reduzierten Werten während des Tages bei schlafenden Probanden. Bei den Probanden mit nächtlichem Schlafentzug blieben die Konzentrationen annähernd gleich zwischen Tag und Nacht, insbesondere konnten keine zyklischen Veränderungen mehr beobachtet werden. Der Konzentrationsverlauf von GH zum anderen ist gekennzeichnet von einem deutlichen Aktivitätsgipfel in den ersten Stunden des von Tiefschlafphasen dominierten Schlafes. Bei Probanden im Schlafentzug ist dieser Gipfel komplett verschwunden. Diese Ergebnisse wurden bereits auch schon von vorherigen Schlafstudien in dieser Form beschrieben (Dimitrov et al. 2004a, Lange et al. 2006a).

Für Cortisol ist innerhalb der hier untersuchten Hormone sicherlich die ausgiebigste Studienlage in Bezug auf Immunparameter vorhanden, welche bekanntermaßen relativ einheitlich eine Unterdrückung der proinflammatorischen Typ1-Reaktion mit Hilfe verschiedener Mechanismen beschreibt. Einerseits unterdrückt Cortisol die Sekretion der proinflammatorischen Zytokine wie TNF-α, IFN-γ und IL-2 (Boumpas et al. 1991, Homo-Delarche et al. 1993, Kelso et al. 1984), endogene Level von Cortisol unterdrückten in Untersuchungen die Produktion von proinflammatorischem IL-6 durch Monozyten (Breuninger et al. 1993) und die Zufuhr von Cortisol in Proben führte zur Reduktion der Konzentrationen von IL-12 (Lange et al. 2006b). Cortisol scheint seinen Einfluss auf die Zytokinaktivität zum großen Teil über die Balance der in unserer Studie untersuchten IL-12 und IL-10 auszuüben (Visser et al. 1998). Von Interesse sind in diesem Zusammenhang die Befunde, dass Cortisol direkt über seine Rezeptoren die Produktion von IL-12 durch die Antigen-präsentierenden Zellen unterdrückt (Blotta et al. 1997, Elenkov et al. 1996), welche die wichtigsten und potentesten Mediatoren hin zu einer starken zellulären Typ1-Antwort sind. Während die Studienlage zu Wirkungen von

Glukokortikoiden wie Cortisol auf IL-10 nicht ganz einheitlich sind – keine Wirkung von Glukokortikoiden auf IL-10 in einigen Versuchen (Elenkov et al. 1996), leichte Reduktion, die im Verhältnis zu proinflammatorischen Zytokinen jedoch deutlich geringer ausfällt (Lange et al. 2006b) – zeigte sich doch in einigen Studien eine Steigerung der Aktivität von IL-10 (Brinkmann et al. 1995, van der et al. 1996) und anderer antiinflammatorischer Zytokine wie beispielsweise für IL-4 (Daynes et al. 1989). Zudem konnte in einer Studie aus dem Jahr 2008 auch ein direkter stimulierender Einfluss auf von Monozyten produziertes IL-10 nachgewiesen werden (Yeager et al. 2008). Insgesamt unterstützen die Ergebnisse, dass Cortisol die Unterstützung einer antiinflammatorisch dominierten Typ2-Zytokindominanz forciert (Petrovsky et al. 2001). Die Wirkungen von Katecholaminen wie Noradrenalin sind diesbezüglich vergleichbar und die Studienlage zu ihrem Einfluss auf das Zytokinmilieu ist einheitlich. Noradrenalin unterstützt ebenfalls eine antiinflammatorische Typ2-vermittelte Immunantwort. In den letzten Jahren konnte nachgewiesen werden, dass Noradrenalin direkt auf die Zytokinsekretion von Monozyten einwirkt und dabei IL-12 hemmt und umgekehrt IL-10 stimuliert (Elenkov et al. 2008). Auch die Wirkung von Noradrenalin auf die bedeutenden Dendritischen Zellen wurde zuletzt untersucht, wobei sich ebenfalls eine Inhibierung der IL-12 Sekretion durch die Anwesenheit von Noradrenalin nachweisen lies (Goyarts et al. 2008). Zuvor konnte bereits in Serummessungen nachgewiesen werden, dass Noradrenalin zum einen die Produktion von IL-12 unterdrückt (Hasko et al. 1998, Panina-Bordignon et al. 1997), während es hingegen die Aktivität von IL-10 fördert (Elenkov et al. 1996). Auch auf andere proinflammatorische Zytokine wie IFN-y nehmen die Katecholamine einen hemmenden Einfluss (Borger et al. 1998). Interessanterweise scheinen die Wirkungen bei T-Zellen über spezielle Rezeptoren erreicht zu werden, die sich nur auf T<sub>H</sub>1-Zellen und nicht auf T<sub>H</sub>2-Zellen befinden. Auf diese Weise haben die Katecholamine vermutlich eine weitere Möglichkeit in unterschiedlicher Form auf die T<sub>H</sub>1- bzw. T<sub>H</sub>2-Funktionen einzuwirken (Sanders et al. 1997).

Prolaktin und GH dagegen forcieren der Studienlage zur Folge einheitlich eine proinflammatorische zelluläre Typ1-Zytokindominanz. Dendritische Zellen sezernieren vermehrt proinflammatorische Zytokine in Anwesenheit von Prolaktin (Yang et al. 2006), Monozyten bei Anwesenheit von GH (Tripathi et al. 2009). In der Studie von Yang et al. wurden die Veränderungen der Dendritischen Zellen durch Prolaktin genauer untersucht. Dabei führte Prolaktin zu einer verlängerten Lebensdauer der Dendritischen Zellen und zu einer Veränderung von Morphologie und Aktivitätsmuster der Zelle, im Sinne einer

deutlich erhöhten Leistungsfähigkeit (Yang et al. 2006). Die Arbeitsgruppe um Dimitrov konnte in einem Schlafversuch eine positive Korrelation zwischen beiden Hormonen und der Aktivität proinflammatorischer Zytokine ermitteln (Dimitrov et al. 2004a). In gezielteren in-vitro Untersuchungen konnte seine Arbeitsgruppe zudem nachweisen, dass stimulierte Vollblutkulturen in Gegenwart von Prolaktin verstärkt proinflammatorische Zytokine produzierten (IFN-γ, TNF-α und IL-2), während hingegen dieser Effekt ausblieb wenn Prolaktin durch Antikörper geblockt wurde. Auch die Anwesenheit von GH führte zur Verstärkung der proinflammatorischen Zytokine in dieser Studie (Dimitrov et al. 2004a). Vereinbar mit den vorgestellten Ergebnissen ist eine Studie von Lange et al. Hier wurde Probanden Blut in den frühen Nachtstunden entnommen, wo die schlafbedingten Veränderungen am stärksten ausgeprägt sind. Durch die Blockierung von Prolaktin durch Antikörper konnte die schlafbedingte Verstärkung von IL-12 ebenfalls unterdrückt werden (Lange et al. 2006b).

Die neuere Studienlage unterstützt deutlich die These, dass Prolaktin und GH einerseits eine zelluläre Immunantwort durch Verstärkung der Aktivität von Typ1-Zytokinen anstoßen, während hingegen Noradrenalin und Cortisol im Gegenzug eine solche Reaktion unterdrücken und die Wirkung der Typ2-Zytokine unterstützen. Tatsächlich konnten in unserer Versuchsreihe auffallend parallele Verlaufskurven von IL-12 und GH und Prolaktin gesehen werden und umgekehrt sehr ähnliche Aktivitätsverläufe von IL-10 und Cortisol und Noradrenalin. Die asynchron verlaufenden Rhythmen dieser Gegenspieler könnten ein Anzeichen dafür sein, dass sie sich gegenseitig inhibieren. Eine statistische Analyse zeigte zudem folgende Zusammenhänge: IL-12-Konzentrationen und Prolaktinlevel besaßen genauso positive Korrelationen wie die IL-10-Aktivität mit Noradrenalinleveln. Weiterhin bestanden negative Korrelationen der IL-12-Aktivität mit den Konzentrationen von Cortisol. Für Cortisol ist beschrieben, dass es seine Wirkung über seine im Zytosol liegenden Rezeptoren, mit einem Aktivitätsgipfel nach 1-4 Stunden präsentiert (Breuninger et al. 1993, Petrovsky et al. 1998a). Die negative Korrelation von Cortisol und IL-12-Aktivität steigt auch innerhalb unseres Versuches nach 3 Stunden merklich an. Unsere Ergebnisse - sowohl die sichtbare gemeinsame Rhythmik und die Asynchronizität der funktionellen Gegenspieler – lassen sich gut mit den oben angeführten bisherigen Studienergebnissen in Einklang bringen. Sie verdeutlichen, dass die nächtlichen schlafabhängigen Zytokinveränderungen hin zu einer Typ1-Dominanz vermutlich unter anderem durch diese Hormone bewirkt werden.

Zu erwähnen sei diesem Zusammenhang, dass auch andere immunoaktive Hormone diskutiert werden, an diesen Veränderungen beteiligt zu sein. Beispielsweise steht auch Melatonin im Verdacht, eine Verstärkung der Typ1-Zytokine bewirken zu können (Petrovsky et al. 2001). Dieser Einfluss könnte aufgrund der Tatsache, dass die Aktivität des Melatonins von der Stärke der Lichtexposition beeinflussbar zu sein scheint und unsere Probanden in der Schlafentzugsbedingung sich während der Nacht in einem normal erleuchteten Raum befanden, unterdrückt worden sein. Dieser These widerspricht jedoch eine Studie der Arbeitsgruppe um Dimitrov, die in einem gleichen Versuchsaufbau wie dem unseren (mit gleichen Lichtbedingungen), keine Unterschiede Melatoninkonzentrationen von schlafenden und wachen – und dabei Licht ausgesetzten -Probanden während der Nacht finden konnten (Dimitrov et al. 2006). Daher ist es meines Erachtens unwahrscheinlich, dass Melatonin für die Verschiebung der Monozytenaktivität hin zu einer proinflammatorischen Typ1-Reaktion verantwortlich ist.

Anhand der Ergebnisse der Hormonmessungen kann zudem ein weiterer Einflussfaktor entkräftet werden: Von einigen Autoren wird als Ursache, für die durch Schlafentzug vermutlich verringerte Effizienz des Immunsystems, die Tatsache diskutiert, dass Schlafentzug als solcher einer Stresssituation gleichkommt und diese Stressreaktion die Ursache der zu beobachtenden Phänomene sei. Unsere Hormonmessungen zeigten jedoch in der Schlafentzugsbedingung keine signifikanten Veränderungen der Cortisollevel, die aber physiologisch eine Stressreaktion begleiten. Auch das zu Beginn einer Stressreaktion ("Fluchtreaktion") ausgeschüttete Katecholamin Noradrenalin, zeigte im Vergleich zwischen den Bedingungen kaum signifikante Konzentrationsunterschiede. Zudem hatten die Probanden in der Schlafentzugsbedingung in der Nacht geringere Konzentrationen von Noradrenalin als sie während des weiteren Tagesverlaufs zeigten. Dies spricht gegen Schlafentzug als Stressreaktion per se als Ursache.

In einer weiteren Studie konnten zudem Veränderungen der Prolaktin- und GH-Konzentrationen im Rahmen der hormonellen Reaktion auf eine Stressreaktion ausgemacht werden. Dabei zeigte sich ein signifikanter Anstieg dieser Hormone als frühe Reaktion auf einen Stressreiz (Black 1994). In unserem Versuch hatten jedoch die schlafenden Probanden höhere Werte als die wachen Probanden.

Somit ist es unwahrscheinlich, dass ein durchgemachter Schlafentzug ein ausreichendes "Stressereignis" ist, um die ausbleibende forcierte proinflammatorische Immunantwort in der Nacht zu unterdrücken. Wenngleich wohl die meisten Menschen den Umstand einer

durchwachten Nacht als "stressig" erleben können, ist dies aus neuroendokrinologischer und immunologischer Sicht vermutlich kein ausreichender Stimulus, um im Körper eine "Stressreaktion" zu entfachen.

In der Zusammenschau der Ergebnisse ergibt sich ein stimmiges nächtliches Bild, bei dem vermehrt Hormone ausgeschüttet werden, mit dem Ziel eine starke proinflammatorische Zytokinantwort zu forcieren und sich in diesem Zusammenhang das Zytokinmilieu deutlich in die entsprechende Richtung verschiebt. Hormone, die diese Prozesse unterdrücken können, zeigen in der Nacht geringe Aktivität und unterstützen somit diese Vorgänge. Im weiteren Tagesverlauf übernehmen die antiinflammatorischen Hormone jedoch wieder die Kontrolle, um eine überschießende, potentiell den Körper attackierende, Entzündungsreaktion zu verhindern. Ein regulärer nächtlicher Schlaf scheint diese Veränderungen zu unterstützen, da bestimmte Prozesse einen nächtlichen Schlaf bedürfen, und es während des Schlafes zu einer Synchronisation der ineinander wirkenden Prozesse zu kommen scheint.

### 4.3 Klinische Bedeutung bei Erkrankungen mit Zytokindysregulationen

In den letzten 25 Jahren ist der Zeitraum, in dem die Menschen in den westlichen Gesellschaften schlafen kontinuierlich gesunken (Jean-Louis et al. 2000). Eine verringerte Schlafmenge hat einen Einfluss auf die Gesundheit und spiegelt sich wider in einer erhöhten Rate an Unfällen und Krankheiten und einer Verringerung der Produktivität (Mohren et al. 2002). Auch die National Sleep Association in den Vereinigten Staaten propagierte im Jahre 2004 die Bedeutung eines gesunden und ausreichenden Schlafes für eine gute Gesundheit. Dass eine Schlafminderung und ein gestörter Schlafrhythmus einen Einfluss auf die Gesundheit des Menschen haben, wird bsw. deutlich in einer Studie, die die gesundheitlichen Bedingungen zwischen Arbeitern mit normalen Arbeitszeiten und Arbeitern, die Nachtdienst leisten, untersuchte. Es zeigte sich eine deutliche erhöhte Infektionsrate, Ermüdungsrate und ein veränderter Schlaf bei den Arbeitern mit einem Schichtdienst (Dijk et al. 2002, Rajaratnam et al. 2001).

Auf der anderen Seite ist eine Vielzahl von Krankheiten bekannt, bei denen eine Inbalance des  $T_H1/T_H2$ -Gleichgewichts ursächlich an Ausbruch und Fortschreiten der Erkrankungen beteiligt ist (Lucey et al. 1996). Vor dem Hintergrund eines durch Schlafentzug vermutlich gestörten Zytokinmilieus sollen im Folgenden zwei Erkrankungen eingehender diskutiert werden, für die ein Missverhältnis pro – zu antiinflammatorischen Zytokinen

bekannt ist: Die Infektion mit dem HI-Virus, die im Krankheitsverlauf zu einem deutlichen Übergewicht antiinflammatorischer Zytokine führt und die rheumatoide Arthritis, für die eine verstärkte Entzündungsreaktion durch proinflammatorische Zytokine beschrieben ist.

### **4.3.1** Humanes Immundefizienz-Virus (HIV)

Das Humane Immundefizienz-Virus wird in die Familie der Retroviridae subsumiert und wird mit HIV-1 und HIV-2 in zwei Subgruppen unterteilt. Hinsichtlich des klinischen Verlaufes und der pathogenen Eigenschaften sind sich diese beiden Arten ähnlich, da sich jedoch nur HIV-1 in Form einer Pandemie ausbreitet, bezieht sich die bestehende Datenlage zumeist auf diesen Typus.

Eine Ansteckung erfolgt direkt über den Kontakt mit kontaminiertem Blut erkrankter Personen oder durch Geschlechtsverkehr (durch Mikroläsionen der Haut). Die Pathogenese der mit einer HIV-Infektion assoziierten AIDS-Erkrankung (aquired immundeficiency syndrome) ist nicht vollständig geklärt. In der am häufigsten vertretenen Hypothese wird das Virus nach Eindringen in den menschlichen Körper von Antigenpräsentierenden Zellen prozessiert und in den regionalen Lymphknoten den T-Helfer-Zellen präsentiert. Da das Virus den Oberflächenmarker CD4 der T-Helfer-Zellen als Korezeptor nutzt, kommt es in den lymphatischen Organen zur massiven Infektion von Zellen, die dieses Oberflächenmolekül exprimieren, also T<sub>H</sub>-Zellen, Monozyten und Makrophagen, Dendritische Zellen und anderen Immunzellen.

Bereits 1982 wurde von einer Arbeitsgruppe um Mildvan die These aufgestellt, dass es sich bei einer AIDS-Erkrankung vielmehr um eine Dysregulation des Immunsystems handele als um eine wirkliche Immundefizienz, da von ihnen gezeigt werden konnte, dass lediglich der zelluläre Arm des Immunsystems mit seinen T-Zellen geschwächt ist, während hingegen die humorale Seite kaum betroffen war (Mildvan et al 1982). Von Mosmann und Coffman wurde schließlich 1986 das Modell entworfen, dass das Virus zumeist T-Helferzellen befalle (Mosmann et al. 1989a, Mosmann et al. 1989b).

In den letzten Jahren konnten dagegen zunehmend weitere Befunde erbracht werden, die den Schluss nahelegen, dass beim Fortschreiten einer HIV-Infektion und an Ausbruch und Stärke einer AIDS-Erkrankung die Dysregulation des Typ1/Typ2-Zytokinverhältnisses eine wohl wichtigere Rolle spielt. So konnte in einigen Studien gezeigt werden, dass das proinflammatorische Zytokin IL-2 bei HIV-Patienten bedeutend geringer auf

Stimulationen reagierte und dass dies auch bei bisher asymptomatischen Patienten mit normaler Anzahl von T-Helferzellen zu beobachten war (Clerici et al. 1989b, Clerici et al. 1989a, Giorgi et al. 1987, Meyaard et al. 1994, Miedema et al. 1988, Shearer et al. 1986). Auch für IL-12 konnten vergleichbare Ergebnisse beobachtet werden. Bei HIV-Patienten kam es zunehmend zu einer Reduktion der IL-12-Aktivität und dies schien auch einen Anteil am Fortschreiten der Erkrankung zu nehmen (Chehimi et al. 1994). Interessanterweise konnte exogen zugeführtes IL-12 bei 70% der Patienten eine Immunantwort der T-Helferzellen wiederherstellen (Clerici et al. 1993b). Da IL-12 in erster Linie von Makrophagen und Monozyten produziert wird und nicht von T-Zellen, sind vermutlich die Veränderungen, die HIV innerhalb des Immunsystems vornimmt, nicht lediglich auf eine Veränderung von T<sub>H</sub>1- und T<sub>H</sub>2-Zellen zu reduzieren. Von einigen Autoren wird zunehmend ein anderes Modell favorisiert, in dem es im Rahmen der HIV-Infektion zu einer grundlegenden Veränderung der Zytokinmuster kommt. Diese Veränderung beinhaltet eine Verstärkung antiinflammatorischer Zytokine und eine Reduktion proinflammatorischer Zytokine und ist nicht beschränkt auf Veränderungen CD4-positiver Zellen, sondern betrifft alle Zellen, die in der Lage sind auf das Zytokinverhältnis einwirken zu können (Lucey et al. 1996). Mit dieser These sind die Ergebnisse von Studien vereinbar, die die Veränderungen antiinflammatorischer Zytokine bei HIV-Patienten untersuchten. Der Arbeitsgruppe um Clerici gelang beispielsweise der Nachweis verstärkter IL-4- und IL-10-Aktivität nach Stimulation bei HIV-Patienten (Clerici et al. 1993a, Clerici et al. 1994b). Von machen Autoren wird des Weiteren die These unterstützt, dass der Veränderung von IL-12 und IL-10 eine Hauptrolle beim Voranschreiten einer AIDS-Erkrankung zukommt, da diesen Zytokinen eine ausgeprägte regulatorische Potenz innerhalb des Typ1/Typ2-Zytokinverhältnisses zugesprochen wird und für diese Zytokine auch signifikante Veränderungen aufgezeigt werden können (Chougnet et al. 1996, Clerici et al. 1994a). Ein Abfall des IL-12/IL-10-Quotienten ist vermutlich ursächlich an der Immundysfunktion bei einer AIDS-Erkrankung und für die erhöhte Infektanfälligkeit nach einer HIV-Infektion beteiligt und wahrscheinlich auch gleichbedeutend mit einer zunehmend schlechteren Prognose der Erkrankung (Lucey et al. 1996). In der Folge führten diese Erkenntnisse zu Forderungen einiger Autoren, zukünftig Therapieansätze bei HIV-Patienten über eine Normalisierung der Zytokindysfunktion zu steuern (Seder et al. 1995). Dieser Ansatz wird bereits von verschieden Arbeitsgruppe mit Hilfe des IL-2 versucht (Kovacs et al. 2005, Natarajan et al. 2002, Sereti et al. 2004).

Das hier vorgestellte Modell einer schlafbedingten nächtlichen proinflammatorischen Zytokinantwort vor dem Hintergrund schlafabhängiger Veränderungen immunoaktiver Hormone passt sehr gut in die Erfahrungen, die bei HIV-Patienten gewonnen werden konnten. Auch bei HIV-Infizierten kommt es nach der Infektion zu einer gestörten Schlafarchitektur. Bereits in der asymptomatischen Phase konnten bei HIV-Patienten Veränderungen der Tiefschlafphasen in der zweiten Nachthälfte detektiert werden, welche nicht mit anderen primären Schlafstörungen in Einklang gebracht werden konnten. Auch konnten keine Zusammenhänge zu Stress- oder Angstzuständen, Medikamenten oder Depressionen gefunden werden und waren vermutlich direkt auf die HIV-Infektion zurückzuführen (Darko et al. 1995a, Darko et al. 1995b, White et al. 1995). Die Verformung der normalen Schlafarchitektur scheint ein beständiges und frühzeitiges Anzeichen einer HIV-Infektion zu sein und könnte auf eine frühe asymptomatische Beteiligung des zentralen Nervensystems oder eine Aktivierung des Immunsystems zurück zu führen sein (Darko et al. 1995a). Von Darko et al. konnte auch eine Beteiligung der Schlafstörungen an der Morbidität der HIV-Patienten aufgezeigt werden (Darko et al. 1992).

Auch die Erfahrungen mit Prolaktin bei HIV-Patienten passen in das aufgestellte Bild. Während lange Zeit von einer Hyperprolaktinämie bei HIV-Infizierten ausgegangen worden ist (Graef et al. 1994), und diese Ergebnisse im weiteren Verlauf immer kontroverser diskutiert worden sind, konnte von einer Arbeitsgruppe um Ram eine mögliche Erklärung der bestehenden Unklarheiten gefunden werden. In seiner Studie konnte Ram nachweisen, dass das oft gemessene Serumprolaktin durch biologisch kaum aktive Makro-Prolaktinvarianten entsteht (Ram et al. 2004). Makromolekulare Formen ("big-Prolaktin", "big-big-Prolaktin") entstehen durch Komplexbildungen von Prolaktin mit Antikörpern, die wiederum die biologische Aktivität des Prolaktins herabsetzen. Diese Formen werden jedoch häufig von den Testverfahren mit gemessen. Aufgrund der verminderten biologischen Aktivität der Makrovarianten ergibt sich de facto vermutlich trotz erhöhter Prolaktinspiegel eine funktionelle Hypoprolaktinämie, die wiederum sehr gut vereinbar ist mit den zu beobachtenden Zytokinveränderungen, da Prolaktin Typ1-Zytokine unterstützt. Eine Verringerung der Prolaktinaktivität würde somit indirekt innerhalb dieses Netzwerkes ebenfalls eine Verstärkung der antiinflammatorischen Typ2-Zytokine herbeiführen.

Schließlich seien an dieser Stelle auch die Veränderungen des Cortisolhaushaltes bei HIV-Patienten erwähnt. Die Studienlage diesbezüglich ist aktuell nicht einheitlich, jedoch wird von den meisten Autoren eine Hypercortisolismus beschrieben (Clerici et al. 2000, de la et al. 1997, Swanson et al. 1998); in einigen Studien konnten sogar Korrelationen zwischen der Höhe des Cortisols und der Stärke verschiedener Symptome ausgemacht werden (Barroso et al. 2006).

Zusammenfassend ergibt sich ein konsistentes Bild, in dem es durch die Infektion mit dem HI-Virus zu immunologischen Veränderungen kommt. Durch eine Dysregulation der Typ1/Typ2-Zytokine kommt es zu einer Schwächung der zellulären inflammatorischen Immunität. An diesen Veränderungen ist vermutlich die im Verlauf der Infektion zunehmende Störung der Schlafarchitektur beteiligt. Mediatoren dieser Prozesse könnten unter anderem die immunoaktiven Hormone Prolaktin und Cortisol sein, deren veränderte Aktivität diese Auswirkungen begünstigen oder sogar hervorrufen könnten. Damit zeigen die schlafimmunologischen Veränderungen im Rahmen einer HIV-Infektion interessante synchrone Parallelitäten mit gesunden Probanden im Schlafentzug, wobei die Zunahme dieser Veränderungen bei HIV-Patienten mit einem Fortschreiten der Erkrankung assoziiert werden kann.

#### 4.3.2 Rheumatoide Arthritis

Die rheumatoide Arthritis ist eine schubweise verlaufende Erkrankung der Gelenke, die durch eine überschießende Entzündungsreaktion des Körpers verursacht wird. Im Zuge der Entzündungsreaktion kommt es zur Schwellung und Überwärmung der Gelenke. Pathogenetisch spielen fehlregulierte Immunzellen, die in die betroffenen Gelenke einwandern und dort proinflammatorische Zytokine sezernieren eine bedeutende Rolle. Durch die Zytokine wird eine Entzündungsreaktion aufrechterhalten, die im weiteren Verlauf zur Destruktion des Gelenkes führen kann. Die Patienten klagen unter anderem über nächtliche und morgendliche Gelenkschmerzen und morgendliche Morgensteifigkeit der Gelenke. Bei schweren Krankheitsverläufen können auch weitere Organe betroffen sein, wie die Lunge (Lungenfibrose, Pleuritis), Herz (Perikarditis), Haut, Augen und Drüsen (Sicca-Syndrom).

Pathogenetisch liegt der rheumatoiden Arthritis eine überschießende Produktion proinflammatorischer Zytokine wie TNF- $\alpha$  und IL-12 und eine reduzierte Aktivität antiinflammatorischer Zytokine wie IL-10 zu Grunde (Elenkov et al. 2002). Durch diese starke inflammatorische Aktivität wird eine kontinuierliche und unkontrollierte

Entzündungsreaktion aufrechterhalten, die zu den bekannten Gelenkschädigungen führt. Von Schuerwegh et al. konnte in einem experimentellen Versuch nachgewiesen werden, dass die Blockierung des wichtigen proinflammatorischen Zytokins TNF- $\alpha$  durch Antikörper zu einer nachhaltigen Reduktion des Entzündungsprozess führte. Die Blockade erzeugte einerseits eine deutliche Senkung proinflammatorischer Zytokine (IL-1 $\beta$ , IL-6, TNF- $\alpha$ , IL-12) und andererseits zu einem Anstieg von IL-10 (Schuerwegh et al. 2003). Die ursächliche Beteiligung proinflammatorischer Zytokine an dem Krankheitsgeschehen macht verständlich, warum Patienten vornehmlich in der Nacht und am frühen Morgen über Schmerzen und weitere Symptome klagen (Wolfe et al. 2006). Wie wir in dieser Studie zeigen konnten, kommt es innerhalb des nächtlichen Schlafes zu einer Dominanz der IL-12-Aktivität gegenüber der von IL-10 bei Monozyten. Dies verstärkt verständlicherweise die bereits zugrunde liegenden pathophysiologischen Veränderungen bei diesen Patienten.

Die Ursachen der immunologischen Fehlregulationen sind noch nicht vollständig geklärt, jedoch konnten einige bedeutende Einflussfaktoren inzwischen aufgezeigt werden. Die Arbeitsgruppe um Chikanza konnte in vielen Untersuchungen eine signifikante Steigerung der Prolaktinkonzentrationen bei Patienten mit rheumatoider Arthritis feststellen (Chikanza et al. 1988, Chikanza et al. 1993, Chikanza 1999), welches - wie oben verdeutlicht - zu einer deutlichen Steigerung des IL-12/IL-10-Quotienten führt (Brand et al. 2004). Von Chikanza konnten Genveränderungen für die Bildung von Prolaktin und seinem Rezeptor gefunden werden (Chikanza 1999), die für die erhöhten Konzentrationen verantwortlich und ursächlich an der Entstehung dieser Erkrankung beteiligt sein könnten. Zudem konnte ein weiterer neuroendokriner Einflussfaktor, der an der Zytokinregulation beteiligt ist, mit der rheumatoiden Arthritis in Verbindung gebracht werden: Die Produktion von Cortisol, welches in der Lage wäre, diese überschießende Immunreaktion zu unterdrücken, scheint bei diesen Patienten gestört zu sein. Trotz einer deutlichen Typ1-Zytokindominanz, welche im Verlauf zu einer ausgeprägten Steigerung der Cortisolaktivität führen müsste, um eben jene überschießende Reaktion zu verhindern, konnten bei rheumatoider Arthritis Patienten nur unauffällige Cortisollevel registriert werden. Dieser Zusammenhang ist vermutlich an Ausbruch und Fortschreiten der Erkrankung beteiligt (Elenkov et al. 2002, Straub et al. 2001, Wilder 1995, Wilder et al. 1999). Eine Hyporeagibilität des Hypothalamus-Hypophysen-Systems, über die eine solche Reaktion physiologisch angestoßen wird, scheint an diesem Mechanismus beteiligt zu sein (Chikanza et al. 1992a, Chikanza et al. 1992b). Inwieweit diese Hyporeagibilität ursächlich für diese Veränderungen ist oder sekundär durch die anhaltende Entzündungsreaktion bedingt ist, konnte bisher nicht geklärt werden. Wie bereits angedeutet, ist auch das vegetative Nervensystem mit Hilfe von Katecholaminen in der Lage, eine antiinflammatorische Zytokindominanz herzustellen und überschießende Entzündungsreaktionen zu unterdrücken. Interessanterweise konnten auch für diesen Einflussfaktor Veränderungen bei Patienten mit rheumatoider Arthritis gefunden werden. Während von einer Arbeitsgruppe um Geenen eine verringerte Reaktion des vegetativen Nervensystems auf verschiedene Stimuli bei Patienten gesehen werden konnte (Geenen et al. 1996), konnte in gezielten Untersuchungen sogar nachgewiesen werden, dass es innerhalb entzündeter Gelenke zur deutlichen Abnahmen sympathischer Nervenfasern kam und dass die Stärke dieser anatomischen Veränderung auch mit dem Ausmaß der Entzündung korrelierte (Miller et al. 2000).

Die immunologischen und neuroendokrinen Veränderungen bei der rheumatoiden Arthritis zeigen im Grunde ein überzeichnetes Bild, der im Schlaf feststellbaren Veränderungen: Verstärkte Dominanz proinflammatorischer Zytokine (gestiegenes IL-12/IL-10-Verhältnis), erhöhte Prolaktinwerte, Verringerung der Cortisolaktivität und Zunahme der auf proinflammatorische Zytokine zurückzuführenden Symptome. Das zunehmende Verständnis über die Zusammenhänge der Zytokindysregulation bei der rheumatoiden Arthritis hat im Verlauf auch zu bahnbrechenden Veränderungen der Therapie geführt, so dass sich konsequenterweise das Repertoire der auf dem Markt befindlichen Zytokininhibitoren bedeutend erweitert hat (vorrangig sind dies Antikörper gegen TNF-α, wie Infliximab oder Etanercept).

Auch Glukokortikoide haben weiterhin ihren Platz in der Therapie der rheumatoiden Arthritis. Diese sind sehr effizient in der Entlastung der Patienten von Symptomen, haben jedoch therapeutische Beschränkungen aufgrund ihrer vielfältigen unerwünschten Wirkungen auf den Gesamtorganismus. Da in Studien festgestellt werden konnte, dass auch niedrige Dosen von Glukokortikoiden eine Reduzierung der Gelenkdestruktionen erreichen und akute Entzündungsreaktionen dämpfen können (Kirwan 1995), wurden diese Substanzen wieder zunehmend in Leitlinien aufgenommen. Diese Applikation wird jedoch normalerweise in Form von einmaligen Gaben am frühen Morgen vorgenommen, da aus älteren Studien angenommen wird, dass zu einem Zeitpunkt erhöhter endogener Sekretionen die unerwünschten Nebenwirkungen reduziert werden könnten (Nichols et al.

1965). Vor dem Hintergrund der beschriebenen nächtlichen Zytokinveränderungen erscheint es jedoch weitaus sinnvoller, geringe Dosen zu Beginn des nächtlichen Schlafes zu verwenden. So könnte eine maximale antiinflammatorische Wirkung zu einem möglichst sinnvollen Zeitpunkt erreichbar sein. Dies wurde kürzlich in einer groß angelegten Multicenterstudie versucht, bei der eine Gruppe der Patienten eine modifizierte Cortisoltherapie in den Abendstunden bekam, mit einem Wirkmaximum nach vier Stunden, also in den frühen Nachtstunden. Die Kontrollgruppe erhielt die Standardtherapie mit einer Hochdosistherapie in den Morgenstunden. Bei Patienten mit der modifizierten nachtaktiven Therapie konnte hierbei das typische Symptom der Morgensteifigkeit der Gelenke signifikant reduziert werden (Buttgereit et al. 2008). Ein Verständnis für die hier aufgezeigten nächtlichen Veränderungen des Zytokinmilieus beinhalten somit auch Möglichkeiten des sinnvolleren und gezielteren Einsatzes von Medikamenten.

### 5 Ausblick

Dass nächtlicher Schlaf bei Monozyten zu einer Dominanz proinflammatorischer Zytokine in der Nacht führt, konnte am Beispiel von IL-12 und IL-10 in dieser Arbeit nachgewiesen werden. Auch konnte in meiner Studie gezeigt werden, dass während des nächtlichen Schlafes Hormone wie Prolaktin und GH, die eine Entzündungsreaktion unterstützen, eine verstärkte Aktivität zeigen, wohingegen immunsuppressive Hormone wie Cortisol und Noradrenalin eine geringe Aktivität zeigen. Darüber hinaus machten die Ergebnisse deutlich, dass für einige Veränderungen der reguläre nächtliche Schlaf eine unabdingbare Voraussetzung ist, denn sowohl die nächtlichen Zytokinveränderungen als auch die Veränderungen der GH- und Prolaktinkonzentrationen konnten bei wachen Probanden nicht mehr nachgewiesen werden. In der Diskussion konnte ich zudem aufzeigen, dass diese bei Monozyten festgestellten Veränderungen vermutlich auf einen generellen nächtlichen Prozess innerhalb des Immunsystems hinweisen und - sollte dieser Ausbleiben - dies aller Voraussicht nach auf Dauer Einschränkungen der Immunfunktion nach sich zieht. Wie von einigen Autoren proklamiert, scheint sich das Immunsystem, wie andere Organe auch, über Nacht ausgiebig mit den über den Tag eingedrungenen "Reizen" auseinander zu setzen (Born et al. 2006, Steinman 2004) - im Falle des Immunsystems bedeutet dies, Pathogene erkennen und abwehren zu können. In diesem Zusammenhang scheint dem Schlaf eine adjuvants-artige Wirkung zuzukommen, da er Veränderungen forciert, die einen nächtlichen proinflammatorischen Zustand Einerseits fördert Schlaf das Aufeinandertreffen von unterstützen: Antigenpräsentierenden Zellen mit anderen Immunzellen (Bollinger et al. 2009) und unterstützt so die immunologische Gedächtnisbildung (Lange et al. 2010a). Andererseits bewirkt Schlaf allgemein in der Nacht eine Dominanz proinflammatorischer Zytokine wie in der Diskussion aufgezeigt werden konnte. Auf die Frage, warum der menschliche Körper die Nacht für solch elementare Mechanismen vorgesehen haben könnte, liefert Petrovsky einen interessanten Ansatz: Möglicherweise resultiert ein solcher Vorgang aus früherem evolutionärem Druck, da ein proinflammatorischer Zustand mit Entzündungsreaktionen einhergeht. Diese können bekanntermaßen Schwellungen und Schmerzen, Immobilität und Unwohlsein nach sich ziehen. In Zeiten, die nicht wie die heutigen von den Hell- und Dunkel-Phasen abgekoppelt waren, war es nachvollziehbarerweise sinnvoll, solche Heilungsreaktionen in der Nacht vorzunehmen und nicht am Tage, wo für den Menschen

ein Maximum an Mobilität für das "Jagen und Sammeln" oder Kampf- und Fluchtreaktionen benötigt wurden (Petrovsky et al. 2001). Es ist auch für den Körper zweifellos sinnvoll, die Informationen einer biologischen Uhr mit den Informationen über "Stresslevel" der Umwelt zu koordinieren. So kann er dann mit Hilfe des neuroendokrinen Systems, Immunreaktionen zu Zeitpunkten in Gang setzen, in denen Heilungsreaktionen am sinnvollsten sind: während des nächtlichen Schlafes.

Wie bedeutend diese messbaren Veränderungen des Immunsystems bei Schlafentzug sind, wurde in den letzten Jahren kontrovers diskutiert. In der Diskussion konnte beleuchtet werden, dass bei Störungen des Schlafes auf Dauer Beeinträchtigungen der immunologischen Abwehr bei Patienten zu verzeichnen sind. Aus Tierversuchen ist seit langem bekannt, dass experimenteller Schlafentzug zu Verringerung von Viruselemination und Antikörperbildung (Brown et al. 1989) und schließlich zum Zusammenbruch des Immunsystems mit letaler Bakteriämie führt (Everson et al. 1993, Everson 1993, Everson 1995). Solchen Studien sind beim Menschen verständlicherweise Grenzen gesetzt. Mit Hilfe der Impfstudien kann jedoch eine experimentelle Infektion auch beim Menschen herbeigeführt werden und anhand der Stärke der anschließenden Antikörperbildung auch eine Aussage über die Immunantwort getroffen werden. In den letzten Jahren konnten hierbei deutliche Ergebnisse gewonnen werden, die die Bedeutung des Schlafes als einen immunsupportiven Zustand bekräftigen. Hier seien die besprochenen Ergebnisse der Impfstudien erwähnt, bei denen die Antikörperbildung bei Probanden mit nächtlichem Schlaf im Anschluss an die Impfung deutlich stärker ausgeprägt war. In einer weitergehenden Studie von Lange et al. konnten diesbezüglich womöglich weitere wegweisende Erkenntnisse erlangt werden. Es wurden die Auswirkungen des Schlafes auf die Immunantwort innerhalb eines kompletten Impfzyklus einer kombinierten Hepatitis-A/B-Impfung bei jungen, gesunden Probanden untersucht: Konnten die Probanden in der Nacht nach der morgendlichen Impfung schlafen, waren im Verlauf deutliche höhere Werte Antigen-spezifischer T-Helferzellen nachweisbar, als bei den Probanden, die nach der Impfung eine Nacht und den darauffolgenden Tag wach bleiben mussten. Diese Veränderungen konnten auch ein Jahr nach Beginn der Studie noch nachvollzogen werden. Hier könnte die adjuvants-artige Wirkung des Schlafes auf einer vermehrten Freisetzung von IL-12 durch Antigen-präsentierende Zellen beruhen (Lange et al. 2010b).

Die gemessenen schlafbedingten Veränderungen von Zytokinaktivitäten und immunoaktiven Hormonen einerseits und das Verständnis nächtlicher Veränderungen des Immunsystems andererseits, könnten in der Zukunft auch sinnvolle therapeutische Konsequenzen nach sich ziehen. Wie zum Beispiel bei der auf die Nacht fokussierten Blockierung der überschießenden entzündlichen Reaktion bei Patienten mit rheumatoider Arthritis (Buttgereit et al. 2008) oder der Bedeutung gesunden nächtlichen Schlafes bei HIV-Patienten. Interessanterweise konnte die oben angesprochene Studie von Lange et al. auch aufzeigen, dass es nach Abschluss des Impfzyklus innerhalb der nachts wachen Probanden zu einer höheren Rate von Impfversagern kam.

# 6 Zusammenfassung

An 11 gesunden männlichen Probanden wurden die Veränderungen der Monozytenpopulation bei Schlafentzug untersucht. Der Versuch wurde jeweils am Abend des ersten Tages gestartet. In der Schlafentzugsbedingung blieben die Probanden die folgende Nacht komplett wach, während die Probanden in der Schlafbedingung schlafen konnten. Bis zum Ende des Versuches am nächsten Abend wurde den Probanden engmaschig in regelmäßigen Abständen Blut entnommen. Dabei wurde einerseits der Anteil der IL-10- und IL-12-positiven Monozyten und andererseits die Konzentrationen der immunoaktiven Hormone Cortisol, Noradrenalin, GH und Prolaktin gemessen.

Die Ergebnisse zeigen signifikante Erhöhungen der IL-12-positiven Monozyten und signifikante Reduktionen der IL-10-positiven Monozyten in der Nacht lediglich bei schlafenden Probanden. Bei wachen Probanden ist eine Dominanz proinflammatorischen IL-12 nicht mehr nachzuweisen. Sie zeigen außerdem, dass Schlaf einen nachvollziehbaren Rhythmus der Zytokinaktivität induziert, mit hoher Aktivität von proinflammatorischem IL-12 in der Nacht und antiinflammatorischen IL-10 über den Tag. Bei Probanden in der Kondition Schlafentzug war dagegen keinerlei Rhythmik der untersuchten Zytokine mehr nachweisbar, womit meine Studie auch aufzeigen konnte, dass diese nächtlichen Veränderungen einen regulären nächtlichen Schlaf voraussetzen und nicht durch einen abgekoppelten circadianen Schrittmacher bedingt sind. Die Ergebnisse unterstützen die These, dass nächtlicher Schlaf einen proinflammatorischen Zustand des Immunsystems unterstützt, mit einer hohen Aktivität proinflammatorischer Mediatoren wie Prolaktin und GH und einer geringen Aktivität immunsuppressiv wirkender Hormone wie Noradrenalin und Cortisol. Meine Studie konnte nachweisen, dass Schlafentzug die verstärkte nächtliche Aktivität von Prolaktin und GH unterdrückt somit ebenfalls auf physiologische nächtliche Immunprozesse und Zusammenfassend zeigen die Ergebnisse, dass das Immunsystem während des nächtlichen Schlafes, die über den Tag eingetroffenen Erreger verarbeitet und bekämpft und dabei den Schlaf benötigt, um eine Synchronisation der verschiedenen Bestandteile vorzunehmen. Die Erfahrungen mit Erkrankungen wie der rheumatoiden Arthritis oder HIV-Patienten zeigen interessanterweise verstärkte aber doch analoge Veränderungen, wie sie auch bei unseren schlafenden und wachen Probanden zu messen waren.

# 7 Verzeichnisse

# 7.1 Abkürzungsverzeichnis

AIDS Acquired Immune Deficiency Syndrome ANOVA ANalysis Of VAriance / Varianzanalysen APC Allophycocyanin B-Zelle B-Lymphozyt BFA Brefeldin A CD Clusters Of Differentiation CRH Corticotropin-Releasing-Hormon EEG Elektroencephalogramm EMG Elektromyogramm FACS Fluoreszenz-aktivierte Zellsortierung FITC Fluoreszeinisothiocyanat GH Growth Hormon / Wachstumshormon GH-RH Growth-Hormon-Releasinghormon HIV Human-Immundefizienz-Virus HIA Human Leukocyte Antigen HVL Hypophysenvorderlappen IFN-γ Interferon-γ IL Interleukin LPS Lipopolysaccharid kDa Kilodalton MHC Major Histocompatibility Complex MPS Mononukleäres-phagozytäres System NNM Nebennierenmark NNR Nebennierenmark NNR Nebennierenrinde PBMC Periphere mononukleäre Zellen PE Phycocrythrin PRL-RH Prolaktin-Releasinghormon REM Rapid-Eye-Movement RES Retikuloendotheliales System Standard Error Of Mean SWS Slow-Wave-Sleep T <sub>H</sub> T-Helferzellen TNF-α Tumornekrosefaktor-α T-Zelle T-Lymphozyten	ACTH	Adreno-Corticotropes Hormon
ANOVA ANalysis Of VAriance / Varianzanalysen  APC Allophycocyanin  B-Zelle B-Lymphozyt  BFA Brefeldin A  CD Clusters Of Differentiation  CRH Corticotropin-Releasing-Hormon  EEG Elektroencephalogramm  EMG Elektromyogramm  EOG Elektrookulogramm  FACS Fluoreszenz-aktivierte Zellsortierung  FITC Fluoreszeinisothiocyanat  GH Growth Hormon / Wachstumshormon  GH-RH Growth-Hormon-Releasinghormon  HIV Human-Immundefizienz-Virus  HLA Human Leukocyte Antigen  HVL Hypophysenvorderlappen  IFN-γ Interferon-γ  IL Interleukin  LPS Lipopolysaccharid  kDa Kilodalton  MHC Major Histocompatibility Complex  MPS Mononukleäres-phagozytäres System  NNM Nebennierenmark  NNR Nebennierenmark  NNR Nebennierenmark  NNR Nebennierenmark  PRL-RH Prolaktin-Releasinghormon  REM Rapid-Eye-Movement  RES Retikuloendotheliales System  SWS Slow-Wave-Sleep  T <sub>H</sub> T-Helferzellen  TNF-α Tumornekrosefaktor-α	AIDS	_
APC Allophycocyanin B-Zelle B-Lymphozyt BFA Brefeldin A CD Clusters Of Differentiation CRH Corticotropin-Releasing-Hormon EEG Elektroencephalogramm EMG Elektromyogramm EMG Elektrookulogramm FACS Fluoreszenz-aktivierte Zellsortierung FITC Fluoreszenz-aktivierte Zellsortierung FITC Fluoreszenisothiocyanat GH Growth Hormon / Wachstumshormon GH-RH Growth-Hormon-Releasinghormon HIV Human-Immundefizienz-Virus HLA Human Leukocyte Antigen HVL Hypophysenvorderlappen IFN-γ Interferon-γ IL Interleukin LPS Lipopolysaccharid kDa Kilodalton MHC Major Histocompatibility Complex MPS Mononukleäres-phagozytäres System NNM Nebennierenmark NNR Nebennierenmark NNR Nebennierenrinde PBMC Periphere mononukleäre Zellen PE Phycocrythrin PRL-RH Prolaktin-Releasinghormon REM Rapid-Eye-Movement RES Retikuloendotheliales System SSMS Slow-Wave-Sleep T <sub>H</sub> T-Helferzellen TNF-α Tumornekrosefaktor-α	ANOVA	-
BFA Brefeldin A CD Clusters Of Differentiation CRH Corticotropin-Releasing-Hormon EEG Elektroencephalogramm EMG Elektromyogramm EOG Elektrookulogramm FACS Fluoreszenz-aktivierte Zellsortierung FITC Fluoreszeinisothiocyanat GH Growth Hormon / Wachstumshormon GH-RH Growth-Hormon-Releasinghormon HIV Human-Immundefizienz-Virus HLA Human Leukocyte Antigen HVL Hypophysenvorderlappen IFN-γ Interferon-γ IL Interleukin LPS Lipopolysaccharid kDa Kilodalton MHC Major Histocompatibility Complex MPS Mononukleäres-phagozytäres System NNM Nebennierenrinde PBMC Periphere mononukleäre Zellen PE Phycoerythrin PRL-RH Prolaktin-Releasinghormon REM Rapid-Eye-Movement RES Retikuloendotheliales System SSMS Slow-Wave-Sleep T <sub>H</sub> T-Helferzellen TNF-α Tumornekrosefaktor-α	APC	
BFA Brefeldin A CD Clusters Of Differentiation CRH Corticotropin-Releasing-Hormon EEG Elektroencephalogramm EMG Elektromyogramm EOG Elektrookulogramm FACS Fluoreszenz-aktivierte Zellsortierung FITC Fluoreszeinisothiocyanat GH Growth Hormon / Wachstumshormon GH-RH Growth-Hormon-Releasinghormon HIV Human-Immundefizienz-Virus HLA Human Leukocyte Antigen HVL Hypophysenvorderlappen IFN-γ Interferon-γ IL Interleukin LPS Lipopolysaccharid kDa Kilodalton MHC Major Histocompatibility Complex MPS Mononukleäres-phagozytäres System NNM Nebennierenrinde PBMC Periphere mononukleäre Zellen PE Phycoerythrin PRL-RH Prolaktin-Releasinghormon REM Rapid-Eye-Movement RES Retikuloendotheliales System SSMS Slow-Wave-Sleep T <sub>H</sub> T-Helferzellen TNF-α Tumornekrosefaktor-α	B-Zelle	B-Lymphozyt
CRH       Corticotropin-Releasing-Hormon         EEG       Elektroencephalogramm         EMG       Elektrowyogramm         EOG       Elektrookulogramm         FACS       Fluoreszenz-aktivierte Zellsortierung         FITC       Fluoreszeinisothiocyanat         GH       Growth Hormon / Wachstumshormon         GH-RH       Growth-Hormon-Releasinghormon         HIV       Human-Immundefizienz-Virus         HLA       Human Leukocyte Antigen         HVL       Hypophysenvorderlappen         IFN-γ       Interferon-γ         IL       Interleukin         LPS       Lipopolysaccharid         kDa       Kilodalton         MHC       Major Histocompatibility Complex         MPS       Mononukleäres-phagozytäres System         NNM       Nebennierenmark         NNR       Nebennierenmark         NNR       Nebennierenmark         NNR       Nebennierenmark         NNR       Nebennierenmark         PE       Phycoerythrin         PRL-RH       Prolaktin-Releasinghormon         REM       Rapid-Eye-Movement         RES       Retikuloendotheliales System         SEM       Standard Error Of Mean <td>BFA</td> <td>, , , , , , , , , , , , , , , , , , ,</td>	BFA	, , , , , , , , , , , , , , , , , , ,
EBG Elektroencephalogramm EMG Elektromyogramm EOG Elektrookulogramm FACS Fluoreszenz-aktivierte Zellsortierung FITC Fluoreszeinisothiocyanat GH Growth Hormon / Wachstumshormon GH-RH Growth-Hormon-Releasinghormon HIV Human-Immundefizienz-Virus HLA Human Leukocyte Antigen HVL Hypophysenvorderlappen IFN-γ Interferon-γ IL Interleukin LPS Lipopolysaccharid kDa Kilodalton MHC Major Histocompatibility Complex MPS Mononukleäres-phagozytäres System NNM Nebennierenmark NNR Nebennierenmark NNR Nebennierenrinde PBMC Periphere mononukleäre Zellen PE Phycoerythrin PRL-RH Prolaktin-Releasinghormon REM Rapid-Eye-Movement RES Retikuloendotheliales System SWS Slow-Wave-Sleep T <sub>H</sub> T-Helferzellen TNF-α Tumornekrosefaktor-α	CD	Clusters Of Differentiation
EMG Elektromyogramm  EOG Elektrookulogramm  FACS Fluoreszenz-aktivierte Zellsortierung  FITC Fluoreszeinisothiocyanat  GH Growth Hormon / Wachstumshormon  GH-RH Growth-Hormon-Releasinghormon  HIV Human-Immundefizienz-Virus  HLA Human Leukocyte Antigen  HVL Hypophysenvorderlappen  IFN-γ Interferon-γ  IL Interleukin  LPS Lipopolysaccharid  kDa Kilodalton  MHC Major Histocompatibility Complex  MPS Mononukleäres-phagozytäres System  NNM Nebennierenmark  NNR Nebennierenrinde  PBMC Periphere mononukleäre Zellen  PE Phycoerythrin  PRL-RH Prolaktin-Releasinghormon  REM Rapid-Eye-Movement  RES Retikuloendotheliales System  SWS Slow-Wave-Sleep  T <sub>H</sub> T-Helferzellen  TNF-α Tumornekrosefaktor-α	CRH	Corticotropin-Releasing-Hormon
EOG Elektrookulogramm FACS Fluoreszenz-aktivierte Zellsortierung FITC Fluoreszeinisothiocyanat GH Growth Hormon / Wachstumshormon GH-RH Growth-Hormon-Releasinghormon HIV Human-Immundefizienz-Virus HLA Human Leukocyte Antigen HVL Hypophysenvorderlappen IFN-γ Interferon-γ IL Interleukin LPS Lipopolysaccharid kDa Kilodalton MHC Major Histocompatibility Complex MPS Mononukleäres-phagozytäres System NNM Nebennierenmark NNR Nebennierenmark NNR Nebenniererinde PBMC Periphere mononukleäre Zellen PE Phycoerythrin PRL-RH Prolaktin-Releasinghormon REM Rapid-Eye-Movement RES Retikuloendotheliales System SWS Slow-Wave-Sleep T <sub>H</sub> T-Helferzellen TNF-α Tumornekrosefaktor-α	EEG	Elektroencephalogramm
FACS Fluoreszenz-aktivierte Zellsortierung FITC Fluoreszeinisothiocyanat GH Growth Hormon / Wachstumshormon GH-RH Growth-Hormon-Releasinghormon HIV Human-Immundefizienz-Virus HLA Human Leukocyte Antigen HVL Hypophysenvorderlappen IFN-γ Interferon-γ IL Interleukin LPS Lipopolysaccharid kDa Kilodalton MHC Major Histocompatibility Complex MPS Mononukleäres-phagozytäres System NNM Nebennierenmark NNR Nebennierenmark NNR Nebenniererinde PBMC Periphere mononukleäre Zellen PE Phycoerythrin PRL-RH Prolaktin-Releasinghormon REM Rapid-Eye-Movement RES Retikuloendotheliales System SWS Slow-Wave-Sleep T <sub>H</sub> T-Helferzellen TNF-α Tumornekrosefaktor-α	EMG	Elektromyogramm
FITC Fluoreszeinisothiocyanat GH Growth Hormon / Wachstumshormon GH-RH Growth-Hormon-Releasinghormon HIV Human-Immundefizienz-Virus HLA Human Leukocyte Antigen HVL Hypophysenvorderlappen IFN-γ Interferon-γ IL Interleukin LPS Lipopolysaccharid kDa Kilodalton MHC Major Histocompatibility Complex MPS Mononukleäres-phagozytäres System NNM Nebennierenmark NNR Nebennierenrinde PBMC Periphere mononukleäre Zellen PE Phycoerythrin PRL-RH Prolaktin-Releasinghormon REM Rapid-Eye-Movement RES Retikuloendotheliales System SWS Slow-Wave-Sleep T <sub>H</sub> T-Helferzellen TNF-α Tumornekrosefaktor-α	EOG	Elektrookulogramm
GH Growth Hormon / Wachstumshormon GH-RH Growth-Hormon-Releasinghormon HIV Human-Immundefizienz-Virus HLA Human Leukocyte Antigen HVL Hypophysenvorderlappen IFN-γ Interferon-γ IL Interleukin LPS Lipopolysaccharid kDa Kilodalton MHC Major Histocompatibility Complex MPS Mononukleäres-phagozytäres System NNM Nebennierenmark NNR Nebennierenrinde PBMC Periphere mononukleäre Zellen PE Phycoerythrin PRL-RH Prolaktin-Releasinghormon REM Rapid-Eye-Movement RES Retikuloendotheliales System SWS Slow-Wave-Sleep T <sub>H</sub> T-Helferzellen TNF-α Tumornekrosefaktor-α	FACS	Fluoreszenz-aktivierte Zellsortierung
GH-RHGrowth-Hormon-ReleasinghormonHIVHuman-Immundefizienz-VirusHLAHuman Leukocyte AntigenHVLHypophysenvorderlappenIFN-γInterferon-γILInterleukinLPSLipopolysaccharidkDaKilodaltonMHCMajor Histocompatibility ComplexMPSMononukleäres-phagozytäres SystemNNMNebennierenmarkNNRNebennierenrindePBMCPeriphere mononukleäre ZellenPEPhycoerythrinPRL-RHProlaktin-ReleasinghormonREMRapid-Eye-MovementRESRetikuloendotheliales SystemSEMStandard Error Of MeanSWSSlow-Wave-SleepTHT-HelferzellenTNF-αTumornekrosefaktor-α	FITC	Fluoreszeinisothiocyanat
HIV Human-Immundefizienz-Virus  HLA Human Leukocyte Antigen  HVL Hypophysenvorderlappen  IFN-γ Interferon-γ  IL Interleukin  LPS Lipopolysaccharid  kDa Kilodalton  MHC Major Histocompatibility Complex  MPS Mononukleäres-phagozytäres System  NNM Nebennierenmark  NNR Nebennierenrinde  PBMC Periphere mononukleäre Zellen  PE Phycoerythrin  PRL-RH Prolaktin-Releasinghormon  REM Rapid-Eye-Movement  RES Retikuloendotheliales System  SWS Slow-Wave-Sleep  T <sub>H</sub> T-Helferzellen  TNF-α Tumornekrosefaktor-α	GH	Growth Hormon / Wachstumshormon
HLA Human Leukocyte Antigen  HVL Hypophysenvorderlappen  IFN-γ Interferon-γ  IL Interleukin  LPS Lipopolysaccharid  kDa Kilodalton  MHC Major Histocompatibility Complex  MPS Mononukleäres-phagozytäres System  NNM Nebennierenmark  NNR Nebennierenrinde  PBMC Periphere mononukleäre Zellen  PE Phycoerythrin  PRL-RH Prolaktin-Releasinghormon  REM Rapid-Eye-Movement  RES Retikuloendotheliales System  SEM Standard Error Of Mean  SWS Slow-Wave-Sleep  T <sub>H</sub> T-Helferzellen  TNF-α Tumornekrosefaktor-α	GH-RH	Growth-Hormon-Releasinghormon
HVLHypophysenvorderlappenIFN-γInterferon-γILInterleukinLPSLipopolysaccharidkDaKilodaltonMHCMajor Histocompatibility ComplexMPSMononukleäres-phagozytäres SystemNNMNebennierenmarkNNRNebennierenrindePBMCPeriphere mononukleäre ZellenPEPhycoerythrinPRL-RHProlaktin-ReleasinghormonREMRapid-Eye-MovementRESRetikuloendotheliales SystemSEMStandard Error Of MeanSWSSlow-Wave-SleepTHT-HelferzellenTNF-αTumornekrosefaktor-α	HIV	Human-Immundefizienz-Virus
IFN-γ Interferon-γ IL Interleukin  LPS Lipopolysaccharid  kDa Kilodalton  MHC Major Histocompatibility Complex  MPS Mononukleäres-phagozytäres System  NNM Nebennierenmark  NNR Nebennierenrinde  PBMC Periphere mononukleäre Zellen  PE Phycoerythrin  PRL-RH Prolaktin-Releasinghormon  REM Rapid-Eye-Movement  RES Retikuloendotheliales System  SWS Slow-Wave-Sleep  T <sub>H</sub> T-Helferzellen  TNF-α Tumornekrosefaktor-α	HLA	Human Leukocyte Antigen
IL Interleukin LPS Lipopolysaccharid kDa Kilodalton MHC Major Histocompatibility Complex MPS Mononukleäres-phagozytäres System NNM Nebennierenmark NNR Nebennierenrinde PBMC Periphere mononukleäre Zellen PE Phycoerythrin PRL-RH Prolaktin-Releasinghormon REM Rapid-Eye-Movement RES Retikuloendotheliales System SEM Standard Error Of Mean SWS Slow-Wave-Sleep T <sub>H</sub> T-Helferzellen TNF-α Tumornekrosefaktor-α	HVL	Hypophysenvorderlappen
LPS Lipopolysaccharid  kDa Kilodalton  MHC Major Histocompatibility Complex  MPS Mononukleäres-phagozytäres System  NNM Nebennierenmark  NNR Nebennierenrinde  PBMC Periphere mononukleäre Zellen  PE Phycoerythrin  PRL-RH Prolaktin-Releasinghormon  REM Rapid-Eye-Movement  RES Retikuloendotheliales System  SEM Standard Error Of Mean  SWS Slow-Wave-Sleep  T <sub>H</sub> T-Helferzellen  TNF-α Tumornekrosefaktor-α	IFN-γ	Interferon-γ
KDa Kilodalton  MHC Major Histocompatibility Complex  MPS Mononukleäres-phagozytäres System  NNM Nebennierenmark  NNR Nebennierenrinde  PBMC Periphere mononukleäre Zellen  PE Phycoerythrin  PRL-RH Prolaktin-Releasinghormon  REM Rapid-Eye-Movement  RES Retikuloendotheliales System  SEM Standard Error Of Mean  SWS Slow-Wave-Sleep  T <sub>H</sub> T-Helferzellen  TNF-α Tumornekrosefaktor-α	IL	Interleukin
MHC Major Histocompatibility Complex  MPS Mononukleäres-phagozytäres System  NNM Nebennierenmark  NNR Nebennierenrinde  PBMC Periphere mononukleäre Zellen  PE Phycoerythrin  PRL-RH Prolaktin-Releasinghormon  REM Rapid-Eye-Movement  RES Retikuloendotheliales System  SEM Standard Error Of Mean  SWS Slow-Wave-Sleep  T <sub>H</sub> T-Helferzellen  TNF-α Tumornekrosefaktor-α	LPS	Lipopolysaccharid
MPS Mononukleäres-phagozytäres System  NNM Nebennierenmark  NNR Nebennierenrinde  PBMC Periphere mononukleäre Zellen  PE Phycoerythrin  PRL-RH Prolaktin-Releasinghormon  REM Rapid-Eye-Movement  RES Retikuloendotheliales System  SEM Standard Error Of Mean  SWS Slow-Wave-Sleep  T <sub>H</sub> T-Helferzellen  TNF-α Tumornekrosefaktor-α	kDa	Kilodalton
NNMNebennierenmarkNNRNebennierenrindePBMCPeriphere mononukleäre ZellenPEPhycoerythrinPRL-RHProlaktin-ReleasinghormonREMRapid-Eye-MovementRESRetikuloendotheliales SystemSEMStandard Error Of MeanSWSSlow-Wave-SleepTHT-HelferzellenTNF-αTumornekrosefaktor-α	MHC	Major Histocompatibility Complex
NNRNebennierenrindePBMCPeriphere mononukleäre ZellenPEPhycoerythrinPRL-RHProlaktin-ReleasinghormonREMRapid-Eye-MovementRESRetikuloendotheliales SystemSEMStandard Error Of MeanSWSSlow-Wave-SleepTHT-HelferzellenTNF-αTumornekrosefaktor-α	MPS	Mononukleäres-phagozytäres System
PBMC Periphere mononukleäre Zellen  PE Phycoerythrin  PRL-RH Prolaktin-Releasinghormon  REM Rapid-Eye-Movement  RES Retikuloendotheliales System  SEM Standard Error Of Mean  SWS Slow-Wave-Sleep  T <sub>H</sub> T-Helferzellen  TNF-α Tumornekrosefaktor-α	NNM	Nebennierenmark
PE Phycoerythrin  PRL-RH Prolaktin-Releasinghormon  REM Rapid-Eye-Movement  RES Retikuloendotheliales System  SEM Standard Error Of Mean  SWS Slow-Wave-Sleep  T <sub>H</sub> T-Helferzellen  TNF-α Tumornekrosefaktor-α	NNR	Nebennierenrinde
PRL-RH Prolaktin-Releasinghormon  REM Rapid-Eye-Movement  RES Retikuloendotheliales System  SEM Standard Error Of Mean  SWS Slow-Wave-Sleep  T <sub>H</sub> T-Helferzellen  TNF-α Tumornekrosefaktor-α	PBMC	Periphere mononukleäre Zellen
REMRapid-Eye-MovementRESRetikuloendotheliales SystemSEMStandard Error Of MeanSWSSlow-Wave-Sleep $T_H$ T-HelferzellenTNF- $\alpha$ Tumornekrosefaktor- $\alpha$	PE	Phycoerythrin
RESRetikuloendotheliales SystemSEMStandard Error Of MeanSWSSlow-Wave-Sleep $T_H$ T-HelferzellenTNF- $\alpha$ Tumornekrosefaktor- $\alpha$	PRL-RH	Prolaktin-Releasinghormon
$\begin{array}{cccccccccccccccccccccccccccccccccccc$	REM	Rapid-Eye-Movement
$ \begin{array}{c ccccccccccccccccccccccccccccccccccc$	RES	Retikuloendotheliales System
$ \begin{array}{c c} T_H & T\text{-Helferzellen} \\ \hline TNF\text{-}\alpha & Tumornekrosefaktor\text{-}\alpha \end{array} $	SEM	Standard Error Of Mean
TNF-α Tumornekrosefaktor-α	SWS	Slow-Wave-Sleep
	T <sub>H</sub>	T-Helferzellen
T-Zelle T-Lymphozyten	TNF-α	Tumornekrosefaktor-α
	T-Zelle	T-Lymphozyten

#### 7.2 Literaturverzeichnis

Altemus M, Rao B, Dhabhar FS, Ding W, Granstein RD. Stress-induced changes in skin barrier function in healthy women. J Invest Dermatol 2001; 117(2):309-317.

Aschoff J, Wever R. the circadian system of man. In: Aschoff J (Herausgeber) Handbook of behavioral neurobiology, Vol. 4: Biological Rhythm. New York, London: Pelum Press, 1981: 311-331.

Auernhammer CJ, Strasburger CJ. Effects of growth hormone and insulin-like growth factor I on the immune system. Eur J Endocrinol 1995; 133(6):635-645.

Balasekaran R, Bulterys M, Jamal MM, Quinn PG, Johnston DE, Skipper B et al. A case-control study of risk factors for sporadic hepatitis C virus infection in the southwestern United States. Am J Gastroenterol 1999; 94(5):1341-1346.

Barbano G, Cappa F, Prigione I, Pistoia V, Cohen A, Chiesa S et al. Plasma levels of soluble CD30 are increased in children with chronic renal failure and with primary growth deficiency and decrease during treatment with recombination human growth hormone. Nephrol Dial Transplant 2001; 16(9):1807-1813.

Barroso J, Burrage J, Carlson J, Carlson BW. Salivary cortisol values in HIV-positive people. J Assoc Nurses AIDS Care 2006; 17(3):29-36.

Black PH. Central nervous system-immune system interactions: psychoneuroendocrinology of stress and its immune consequences. Antimicrob Agents Chemother 1994; 38(1):1-6.

Blotta MH, DeKruyff RH, Umetsu DT. Corticosteroids inhibit IL-12 production in human monocytes and enhance their capacity to induce IL-4 synthesis in CD4+ lymphocytes. J Immunol 1997; 158(12):5589-5595.

Bollinger T, Bollinger A, Skrum L, Dimitrov S, Lange T, Solbach W. Sleep-dependent activity of T cells and regulatory T cells. Clin Exp Immunol 2009; 155(2):231-238.

Bonacho MG, Cardinali DP, Castrillon P, Cutrera RA, Esquifino AI. Aging-induced changes in 24-h rhythms of mitogenic responses, lymphocyte subset populations and neurotransmitter and amino acid content in rat submaxillary lymph nodes during Freund's adjuvant arthritis. Exp Gerontol 2001; 36(2):267-282.

Borger P, Hoekstra Y, Esselink MT, Postma DS, Zaagsma J, Vellenga E et al. Beta-adrenoceptor-mediated inhibition of IFN-gamma, IL-3, and GM-CSF mRNA accumulation in activated human T lymphocytes is solely mediated by the beta2-adrenoceptor subtype. Am J Respir Cell Mol Biol 1998; 19(3):400-407.

Born J, Lange T, Hansen K, Molle M, Fehm HL. Effects of sleep and circadian rhythm on human circulating immune cells. J Immunol 1997; 158(9):4454-4464.

Born J, Rasch B, Gais S. Sleep to remember. Neuroscientist 2006; 12(5):410-424.

Born J, Wagner U. Memory formation in sleep: giving a wave to dreams. Commentary on 'memory failures, dream illusions and mental malfunction', by J. Lee Kavanau. Neuropsychobiology 2001; 44(4):212-214.

Born J, Wagner U. Memory consolidation during sleep: role of cortisol feedback. Ann N Y Acad Sci 2004; 1032:198-201.

Boumpas DT, Anastassiou ED, Older SA, Tsokos GC, Nelson DL, Balow JE. Dexamethasone inhibits human interleukin 2 but not interleukin 2 receptor gene expression in vitro at the level of nuclear transcription. J Clin Invest 1991; 87(5):1739-1747.

Brand JM, Frohn C, Cziupka K, Brockmann C, Kirchner H, Luhm J. Prolactin triggers proinflammatory immune responses in peripheral immune cells. Eur Cytokine Netw 2004; 15(2):99-104.

Breuninger LM, Dempsey WL, Uhl J, Murasko DM. Hydrocortisone regulation of interleukin-6 protein production by a purified population of human peripheral blood monocytes. Clin Immunol Immunopathol 1993; 69(2):205-214.

Brinkmann V, Kristofic C. Regulation by corticosteroids of Th1 and Th2 cytokine production in human CD4+ effector T cells generated from CD. J Immunol 1995; 155(7):3322-3328.

Brown R, Pang G, Husband AJ, King MG. Suppression of immunity to influenza virus infection in the respiratory tract following sleep disturbance. Reg Immunol 1989; 2(5):321-325.

Bryant PA, Trinder J, Curtis N. Sick and tired: Does sleep have a vital role in the immune system? Nat Rev Immunol 2004; 4(6):457-467.

Buelens C, Verhasselt V, De GD, Thielemans K, Goldman M, Willems F. Interleukin-10 prevents the generation of dendritic cells from human peripheral blood mononuclear cells cultured with interleukin-4 and granulocyte/macrophage-colony-stimulating factor. Eur J Immunol 1997; 27(3):756-762.

Buskin SE, Gale JL, Weiss NS, Nolan CM. Tuberculosis risk factors in adults in King County, Washington, 1988 through 1990. Am J Public Health 1994; 84(11):1750-1756.

Buttgereit F, Doering G, Schaeffler A, Witte S, Sierakowski S, Gromnica-Ihle E et al. Efficacy of modified-release versus standard prednisone to reduce duration of morning stiffness of the joints in rheumatoid arthritis (CAPRA-1): a double-blind, randomised controlled trial. Lancet 2008; 371(9608):205-214.

Chehimi J, Starr SE, Frank I, D'Andrea A, Ma X, MacGregor RR et al. Impaired interleukin 12 production in human immunodeficiency virus-infected patients. J Exp Med 1994; 179(4):1361-1366.

Chikanza IC. Prolactin and neuroimmunomodulation: in vitro and in vivo observations. Ann N Y Acad Sci 1999; 876:119-130.

Chikanza IC, Chrousos G, Panayi GS. Abnormal neuroendocrine immune communications in patients with rheumatoid arthritis. Eur J Clin Invest 1992a; 22(10):635-637.

Chikanza IC, Panayi GS. Prolactin secretion in rheumatoid arthritis. Br J Rheumatol 1988; 27(4):324-325.

Chikanza IC, Petrou P, Chrousos G, Kingsley G, Panayi GS. Excessive and dysregulated secretion of prolactin in rheumatoid arthritis: immunopathogenetic and therapeutic implications. Br J Rheumatol 1993; 32(6):445-448.

Chikanza IC, Petrou P, Kingsley G, Chrousos G, Panayi GS. Defective hypothalamic response to immune and inflammatory stimuli in patients with rheumatoid arthritis. Arthritis Rheum 1992b; 35(11):1281-1288.

Chougnet C, Wynn TA, Clerici M, Landay AL, Kessler HA, Rusnak J et al. Molecular analysis of decreased interleukin-12 production in persons infected with human immunodeficiency virus. J Infect Dis 1996; 174(1):46-53.

Clerici M, Galli M, Bosis S, Gervasoni C, Moroni M, Norbiato G. Immunoendocrinologic abnormalities in human immunodeficiency virus infection. Ann N Y Acad Sci 2000; 917:956-961.

Clerici M, Hakim FT, Venzon DJ, Blatt S, Hendrix CW, Wynn TA et al. Changes in interleukin-2 and interleukin-4 production in asymptomatic, human immunodeficiency virus-seropositive individuals. J Clin Invest 1993a; 91(3):759-765.

Clerici M, Lucey DR, Berzofsky JA, Pinto LA, Wynn TA, Blatt SP et al. Restoration of HIV-specific cell-mediated immune responses by interleukin-12 in vitro. Science 1993b; 262(5140):1721-1724.

Clerici M, Shearer GM. The Th1-Th2 hypothesis of HIV infection: new insights. Immunol Today 1994a; 15(12):575-581.

Clerici M, Stocks NI, Zajac RA, Boswell RN, Bernstein DC, Mann DL et al. Interleukin-2 production used to detect antigenic peptide recognition by T-helper lymphocytes from asymptomatic HIV-seropositive individuals. Nature 1989a; 339(6223):383-385.

Clerici M, Stocks NI, Zajac RA, Boswell RN, Lucey DR, Via CS et al. Detection of three distinct patterns of T helper cell dysfunction in asymptomatic, human immunodeficiency virus-seropositive patients. Independence of CD4+ cell numbers and clinical staging. J Clin Invest 1989b; 84(6):1892-1899.

Clerici M, Wynn TA, Berzofsky JA, Blatt SP, Hendrix CW, Sher A et al. Role of interleukin-10 in T helper cell dysfunction in asymptomatic individuals infected with the human immunodeficiency virus. J Clin Invest 1994b; 93(2):768-775.

Cook RT. Alcohol abuse, alcoholism, and damage to the immune system--a review. Alcohol Clin Exp Res 1998; 22(9):1927-1942.

Crum RM, Galai N, Cohn S, Celentano DD, Vlahov D. Alcohol use and T-lymphocyte subsets among injection drug users with HIV-1 infection: a prospective analysis. Alcohol Clin Exp Res 1996; 20(2):364-371.

Darko DF, McCutchan JA, Kripke DF, Gillin JC, Golshan S. Fatigue, sleep disturbance, disability, and indices of progression of HIV infection. Am J Psychiatry 1992; 149(4):514-520.

Darko DF, Mitler MM, Henriksen SJ. Lentiviral infection, immune response peptides and sleep. Adv Neuroimmunol 1995a; 5(1):57-77.

Darko DF, Mitler MM, White JL. Sleep disturbance in early HIV infection. Focus 1995b; 10(11):5-6.

Daynes RA, Araneo BA. Contrasting effects of glucocorticoids on the capacity of T cells to produce the growth factors interleukin 2 and interleukin 4. Eur J Immunol 1989; 19(12):2319-2325.

de la TB, von KG, Svensson M, Holmberg V. Blood cortisol and dehydroepiandrosterone sulphate (DHEAS) levels and CD4 T cell counts in HIV infection. Clin Exp Rheumatol 1997; 15(1):87-90.

De GD, Zangerle PF, Gevaert Y, Fassotte MF, Beguin Y, Noizat-Pirenne F et al. Direct stimulation of cytokines (IL-1 beta, TNF-alpha, IL-6, IL-2, IFN-gamma and GM-CSF) in whole blood. I. Comparison with isolated PBMC stimulation. Cytokine 1992; 4(3):239-248.

De ST, Van MM, De BG, Urbain J, Leo O, Moser M. Effect of interleukin-10 on dendritic cell maturation and function. Eur J Immunol 1997; 27(5):1229-1235.

Dijk DJ, Lockley SW. Integration of human sleep-wake regulation and circadian rhythmicity. J Appl Physiol 2002; 92(2):852-862.

Dimitrov S, Lange T, Benedict C, Nowell MA, Jones SA, Scheller J et al. Sleep enhances IL-6 trans-signaling in humans. FASEB J 2006; 20(12):2174-2176.

Dimitrov S, Lange T, Fehm HL, Born J. A regulatory role of prolactin, growth hormone, and corticosteroids for human T-cell production of cytokines. Brain Behav Immun 2004a; 18(4):368-374.

Dimitrov S, Lange T, Nohroudi K, Born J. Number and function of circulating human antigen presenting cells regulated by sleep. Sleep 2007; 30(4):401-411.

Dimitrov S, Lange T, Tieken S, Fehm HL, Born J. Sleep associated regulation of T helper 1/T helper 2 cytokine balance in humans. Brain Behav Immun 2004b; 18(4):341-348.

Elenkov IJ, Chrousos GP. Stress hormones, proinflammatory and antiinflammatory cytokines, and autoimmunity. Ann N Y Acad Sci 2002; 966:290-303.

Elenkov IJ, Iezzoni DG, Daly A, Harris AG, Chrousos GP. Cytokine dysregulation, inflammation and well-being. Neuroimmunomodulation 2005; 12(5):255-269.

Elenkov IJ, Kvetnansky R, Hashiramoto A, Bakalov VK, Link AA, Zachman K et al. Lowversus high-baseline epinephrine output shapes opposite innate cytokine profiles: presence of Lewis- and Fischer-like neurohormonal immune phenotypes in humans? J Immunol 2008; 181(3):1737-1745.

Elenkov IJ, Papanicolaou DA, Wilder RL, Chrousos GP. Modulatory effects of glucocorticoids and catecholamines on human interleukin-12 and interleukin-10 production: clinical implications. Proc Assoc Am Physicians 1996; 108(5):374-381.

Everson CA. Sustained sleep deprivation impairs host defense. Am J Physiol 1993; 265(5 Pt 2):R1148-R1154.

Everson CA. Functional consequences of sustained sleep deprivation in the rat. Behav Brain Res 1995; 69(1-2):43-54.

Everson CA, Wehr TA. Nutritional and metabolic adaptations to prolonged sleep deprivation in the rat. Am J Physiol 1993; 264(2 Pt 2):R376-R387.

Fischer S, Hallschmid M, Elsner AL, Born J. Sleep forms memory for finger skills. Proc Natl Acad Sci U S A 2002; 99(18):11987-11991.

Gais S, Plihal W, Wagner U, Born J. Early sleep triggers memory for early visual discrimination skills. Nat Neurosci 2000; 3(12):1335-1339.

Gazzinelli RT, Wysocka M, Hieny S, Scharton-Kersten T, Cheever A, Kuhn R et al. In the absence of endogenous IL-10, mice acutely infected with Toxoplasma gondii succumb to a lethal immune response dependent on CD4+ T cells and accompanied by overproduction of IL-12, IFN-gamma and TNF-alpha. J Immunol 1996; 157(2):798-805.

Geenen R, Godaert GL, Jacobs JW, Peters ML, Bijlsma JW. Diminished autonomic nervous system responsiveness in rheumatoid arthritis of recent onset. J Rheumatol 1996; 23(2):258-264.

Gillin JC, Smith TL, Irwin M, Kripke DF, Brown S, Schuckit M. Short REM latency in primary alcoholic patients with secondary depression. Am J Psychiatry 1990a; 147(1):106-109.

Gillin JC, Smith TL, Irwin M, Kripke DF, Schuckit M. EEG sleep studies in "pure" primary alcoholism during subacute withdrawal: relationships to normal controls, age, and other clinical variables. Biol Psychiatry 1990b; 27(5):477-488.

Giorgi JV, Fahey JL, Smith DC, Hultin LE, Cheng HL, Mitsuyasu RT et al. Early effects of HIV on CD4 lymphocytes in vivo. J Immunol 1987; 138(11):3725-3730.

Goyarts E, Matsui M, Mammone T, Bender AM, Wagner JA, Maes D et al. Norepinephrine modulates human dendritic cell activation by altering cytokine release. Exp Dermatol 2008; 17(3):188-196.

Graef AS, Gonzalez SS, Baca VR, Ramirez ML, Daza LB, Blanco FF et al. High serum prolactin levels in asymptomatic HIV-infected patients and in patients with acquired immunodeficiency syndrome. Clin Immunol Immunopathol 1994; 72(3):390-393.

Gudewill S, Pollmacher T, Vedder H, Schreiber W, Fassbender K, Holsboer F. Nocturnal plasma levels of cytokines in healthy men. Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci 1992; 242(1):53-56.

Hasko G, Szabo C, Nemeth ZH, Salzman AL, Vizi ES. Stimulation of beta-adrenoceptors inhibits endotoxin-induced IL-12 production in normal and IL-10 deficient mice. J Neuroimmunol 1998; 88(1-2):57-61.

Haus E, Smolensky MH. Biologic rhythms in the immune system. Chronobiol Int 1999; 16(5):581-622.

Hinterberger-Fischer M. [Prolactin as pro-inflammatory cytokine--considerations on consolidated immunotherapy after high dosage therapy]. Acta Med Austriaca Suppl 2000; 52:16-20.

Hinterberger-Fischer M, Kier P, Spona J, Sebesta C, Tiefengraber E, Habertheuer KH et al. Prolactin: a possible mediator of graft-versus-host disease following allogeneic bone marrow transplantation in humans. Bone Marrow Transplant 1994; 14(3):403-406.

Homo-Delarche F, Dardenne M. The neuroendocrine-immune axis. Springer Semin Immunopathol 1993; 14(3):221-238.

Hsieh CS, Macatonia SE, Tripp CS, Wolf SF, O'Garra A, Murphy KM. Development of TH1 CD4+ T cells through IL-12 produced by Listeria-induced macrophages. Science 1993; 260(5107):547-549.

Irwin M, Miller C, Gillin JC, Demodena A, Ehlers CL. Polysomnographic and spectral sleep EEG in primary alcoholics: an interaction between alcohol dependence and African-American ethnicity. Alcohol Clin Exp Res 2000; 24(9):1376-1384.

Janeway CA, Travers P, Walport M, Kenneth M. Janeway's Immunobiology, 7. Auflage, London: Tyler&Francis Group 2008

Jean-Louis G, Kripke DF, ncoli-Israel S, Klauber MR, Sepulveda RS. Sleep duration, illumination, and activity patterns in a population sample: effects of gender and ethnicity. Biol Psychiatry 2000; 47(10):921-927.

Jones AC, Besley CR, Warner JA, Warner JO. Variations in serum soluble IL-2 receptor concentration. Pediatr Allergy Immunol 1994; 5(4):230-234.

Kalinski P, Hilkens CM, Wierenga EA, Kapsenberg ML. T-cell priming by type-1 and type-2 polarized dendritic cells: the concept of a third signal. Immunol Today 1999a; 20(12):561-567.

Kalinski P, Schuitemaker JH, Hilkens CM, Kapsenberg ML. Prostaglandin E2 induces the final maturation of IL-12-deficient CD1a+CD83+ dendritic cells: the levels of IL-12 are determined during the final dendritic cell maturation and are resistant to further modulation. J Immunol 1998; 161(6):2804-2809.

Kalinski P, Schuitemaker JH, Hilkens CM, Wierenga EA, Kapsenberg ML. Final maturation of dendritic cells is associated with impaired responsiveness to IFN-gamma and to bacterial IL-12 inducers: decreased ability of mature dendritic cells to produce IL-12 during the interaction with Th cells. J Immunol 1999b; 162(6):3231-3236.

Kelso A, Munck A. Glucocorticoid inhibition of lymphokine secretion by alloreactive T lymphocyte clones. J Immunol 1984; 133(2):784-791.

Kimata H. Enhancement of allergic skin responses by total sleep deprivation in patients with allergic rhinitis. Int Arch Allergy Immunol 2002; 128(4):351-352.

Kirwan JR. The effect of glucocorticoids on joint destruction in rheumatoid arthritis. The Arthritis and Rheumatism Council Low-Dose Glucocorticoid Study Group. N Engl J Med 1995; 333(3):142-146.

Kovacs JA, Lempicki RA, Sidorov IA, Adelsberger JW, Sereti I, Sachau W et al. Induction of prolonged survival of CD4+ T lymphocytes by intermittent IL-2 therapy in HIV-infected patients. J Clin Invest 2005; 115(8):2139-2148.

Krueger JM, Obal F, Jr., Fang J. Humoral regulation of physiological sleep: cytokines and GHRH. J Sleep Res 1999; 8 Suppl 1:53-59.

Lange T, Dimitrov S, Born J. Effects of sleep and circadian rhythm on the human immune system. Ann N Y Acad Sci 2010a; 1193(1):48-59.

Lange T, Dimitrov S, Bollinger T, Diekelmann S, Born J. Sleep after vaccination boosts imunologic long-term memory, eingereicht 2010b

Lange T, Dimitrov S, Fehm HL, Born J. Sleep-like concentrations of growth hormone and cortisol modulate type1 and type2 in-vitro cytokine production in human T cells. Int Immunopharmacol 2006a; 6(2):216-225.

Lange T, Dimitrov S, Fehm HL, Westermann J, Born J. Shift of monocyte function toward cellular immunity during sleep. Arch Intern Med 2006b; 166(16):1695-1700.

Lange T, Perras B, Fehm HL, Born J. Sleep enhances the human antibody response to hepatitis A vaccination. Psychosom Med 2003; 65(5):831-835.

Lissoni P, Rovelli F, Brivio F, Brivio O, Fumagalli L. Circadian secretions of IL-2, IL-12, IL-6 and IL-10 in relation to the light/dark rhythm of the pineal hormone melatonin in healthy humans. Nat Immun 1998; 16(1):1-5.

Lucey DR, Clerici M, Shearer GM. Type 1 and type 2 cytokine dysregulation in human infectious, neoplastic, and inflammatory diseases. Clin Microbiol Rev 1996; 9(4):532-562.

Manetti R, Parronchi P, Giudizi MG, Piccinni MP, Maggi E, Trinchieri G et al. Natural killer cell stimulatory factor (interleukin 12 [IL-12]) induces T helper type 1 (Th1)-specific immune responses and inhibits the development of IL-4-producing Th cells. J Exp Med 1993; 177(4):1199-1204.

Maquet P, Peigneux P, Laureys S, Boly M, ng-Vu T, Desseilles M et al. Memory processing during human sleep as assessed by functional neuroimaging. Rev Neurol (Paris) 2003; 159(11 Suppl):6S27-6S29.

Matera L, Mori M. Cooperation of pituitary hormone prolactin with interleukin-2 and interleukin-12 on production of interferon-gamma by natural killer and T cells. Ann N Y Acad Sci 2000; 917:505-513.

Meyaard L, Otto SA, Hooibrink B, Miedema F. Quantitative analysis of CD4+ T cell function in the course of human immunodeficiency virus infection. Gradual decline of both naive and memory alloreactive T cells. J Clin Invest 1994; 94(5):1947-1952.

Miedema F, Petit AJ, Terpstra FG, Schattenkerk JK, de WF, Al BJ et al. Immunological abnormalities in human immunodeficiency virus (HIV)-infected asymptomatic homosexual men. HIV affects the immune system before CD4+ T helper cell depletion occurs. J Clin Invest 1988; 82(6):1908-1914.

Mildvan D, Mathur U, Enlow RW, Romain PL, Winchester RJ, Colp C et al. Opportunistic infections and immune deficiency in homosexual men. Ann Intern Med 1982; 96(6 Pt 1):700-704.

Miller LE, Justen HP, Scholmerich J, Straub RH. The loss of sympathetic nerve fibers in the synovial tissue of patients with rheumatoid arthritis is accompanied by increased norepinephrine release from synovial macrophages. FASEB J 2000; 14(13):2097-2107.

Miyatake A, Morimoto Y, Oishi T, Hanasaki N, Sugita Y, Iijima S et al. Circadian rhythm of serum testosterone and its relation to sleep: comparison with the variation in serum luteinizing hormone, prolactin, and cortisol in normal men. J Clin Endocrinol Metab 1980; 51(6):1365-1371.

Mohren DC, Jansen NW, Kant IJ, Galama J, van den Brandt PA, Swaen GM. Prevalence of common infections among employees in different work schedules. J Occup Environ Med 2002; 44(11):1003-1011.

Mosmann TR, Coffman RL. Heterogeneity of cytokine secretion patterns and functions of helper T cells. Adv Immunol 1989a; 46:111-147.

Mosmann TR, Coffman RL. TH1 and TH2 cells: different patterns of lymphokine secretion lead to different functional properties. Annu Rev Immunol 1989b; 7:145-173.

Mullington JM, Chan JL, Van Dongen HP, Szuba MP, Samaras J, Price NJ et al. Sleep loss reduces diurnal rhythm amplitude of leptin in healthy men. J Neuroendocrinol 2003; 15(9):851-854.

Natarajan V, Lempicki RA, Sereti I, Badralmaa Y, Adelsberger JW, Metcalf JA et al. Increased peripheral expansion of naive CD4+ T cells in vivo after IL-2 treatment of patients with HIV infection. Proc Natl Acad Sci U S A 2002; 99(16):10712-10717.

Nelson W, Tong YL, Lee JK, Halberg F. Methods for cosinor-rhythmometry. Chronobiologia 1979; 6(4):305-323.

Nichols T, Nugent CA, Tyler FH. Diurnal variation in suppression of adrenal function by glucocorticoids. J Clin Endocrinol Metab 1965;25:343-349.

O'Garra A, Murphy KM. From IL-10 to IL-12: how pathogens and their products stimulate APCs to induce T(H)1 development. Nat Immunol 2009; 10(9):929-932.

Orbach H, Shoenfeld Y. Hyperprolactinemia and autoimmune diseases. Autoimmun Rev 2007; 6(8):537-542.

Ottaway CA, Husband AJ. Central nervous system influences on lymphocyte migration. Brain Behav Immun 1992; 6(2):97-116.

Palm S, Postler E, Hinrichsen H, Maier H, Zabel P, Kirch W. Twenty-four-hour analysis of lymphocyte subpopulations and cytokines in healthy subjects. Chronobiol Int 1996; 13(6):423-434.

Panina-Bordignon P, Mazzeo D, Lucia PD, D'Ambrosio D, Lang R, Fabbri L et al. Beta2-agonists prevent Th1 development by selective inhibition of interleukin 12. J Clin Invest 1997; 100(6):1513-1519.

Petrovsky N. Towards a unified model of neuroendocrine-immune interaction. Immunol Cell Biol 2001; 79(4):350-357.

Petrovsky N, Harrison LC. Diurnal rhythmicity of human cytokine production: a dynamic disequilibrium in T helper cell type 1/T helper cell type 2 balance? J Immunol 1997; 158(11):5163-5168.

Petrovsky N, Harrison LC. The chronobiology of human cytokine production. Int Rev Immunol 1998a; 16(5-6):635-649.

Petrovsky N, McNair P, Harrison LC. Diurnal rhythms of pro-inflammatory cytokines: regulation by plasma cortisol and therapeutic implications. Cytokine 1998b; 10(4):307-312.

Powers DC. Effect of age on serum immunoglobulin G subclass antibody responses to inactivated influenza virus vaccine. J Med Virol 1994; 43(1):57-61.

Rajaratnam SM, Arendt J. Health in a 24-h society. Lancet 2001; 358(9286):999-1005.

Ram S, Acharya S, Fernando JJ, Anderson NR, Gama R. Serum prolactin in human immunodeficiency virus infection. Clin Lab 2004; 50(9-10):617-620.

Ramirez F, Fowell DJ, Puklavec M, Simmonds S, Mason D. Glucocorticoids promote a TH2 cytokine response by CD4+ T cells in vitro. J Immunol 1996; 156(7):2406-2412.

Rechtschaffen A, Kales A. A Manual of Standardized Terminology, Techniques and Scoring System for Sleep of Human Subjects. National Institutes of Health, publication 204 ed. Washington DC: United States Government Printing Office, 1968.

Redwine L, Dang J, Hall M, Irwin M. Disordered sleep, nocturnal cytokines, and immunity in alcoholics. Psychosom Med 2003; 65(1):75-85.

Romagnani S. Development of Th 1- or Th 2-dominated immune responses: what about the polarizing signals? Int J Clin Lab Res 1996; 26(2):83-98.

Sakami S, Ishikawa T, Kawakami N, Haratani T, Fukui A, Kobayashi F et al. Coemergence of Insomnia and a Shift in the Th1/Th2 Balance toward Th2 Dominance. Neuroimmunomodulation 2003; 10(6):337-343.

Sanders VM, Baker RA, Ramer-Quinn DS, Kasprowicz DJ, Fuchs BA, Street NE. Differential expression of the beta2-adrenergic receptor by Th1 and Th2 clones: implications for cytokine production and B cell help. J Immunol 1997; 158(9):4200-4210.

Scheen AJ, Van CE. The roles of time of day and sleep quality in modulating glucose regulation: clinical implications. Horm Res 1998; 49(3-4):191-201.

Schuerwegh AJ, Van Offel JF, Stevens WJ, Bridts CH, De Clerck LS. Influence of therapy with chimeric monoclonal tumour necrosis factor-alpha antibodies on intracellular cytokine profiles of T lymphocytes and monocytes in rheumatoid arthritis patients. Rheumatology (Oxford) 2003; 42(4):541-548.

Seder RA, Grabstein KH, Berzofsky JA, McDyer JF. Cytokine interactions in human immunodeficiency virus-infected individuals: roles of interleukin (IL)-2, IL-12, and IL-15. J Exp Med 1995; 182(4):1067-1077.

Sereti I, Anthony KB, Martinez-Wilson H, Lempicki R, Adelsberger J, Metcalf JA et al. IL-2-induced CD4+ T-cell expansion in HIV-infected patients is associated with long-term decreases in T-cell proliferation. Blood 2004; 104(3):775-780.

Shearer GM, Bernstein DC, Tung KS, Via CS, Redfield R, Salahuddin SZ et al. A model for the selective loss of major histocompatibility complex self-restricted T cell immune responses during the development of acquired immune deficiency syndrome (AIDS). J Immunol 1986; 137(8):2514-2521.

Sothern RB, Roitman-Johnson B, Kanabrocki EL, Yager JG, Fuerstenberg RK, Weatherbee JA et al. Circadian characteristics of interleukin-6 in blood and urine of clinically healthy men. In Vivo 1995a; 9(4):331-339.

Sothern RB, Roitman-Johnson B, Kanabrocki EL, Yager JG, Roodell MM, Weatherbee JA et al. Circadian characteristics of circulating interleukin-6 in men. J Allergy Clin Immunol 1995b; 95(5 Pt 1):1029-1035.

Spiegel K, Leproult R, Van CE. Impact of sleep debt on metabolic and endocrine function. Lancet 1999; 354(9188):1435-1439.

Spiegel K, Sheridan JF, Van Cauter E. Effect of sleep deprivation on response to immunization. JAMA 2002; 288(12):1471-1472.

Steinberg, R., Weeß, H. G., & Landwehr, R. (2000). Grundlagen des Schlafes. In R.Steinberg (Ed.), *Schlafmedizin - Grundlagen und Praxis* (1 ed., pp. 18-31). Bremen: UNI-MED.

Steinman L. Elaborate interactions between the immune and nervous systems. Nat Immunol 2004; 5(6):575-581.

Stickgold R, Walker MP. Sleep-dependent memory consolidation and reconsolidation. Sleep Med 2007; 8(4):331-343.

Straub RH, Cutolo M. Involvement of the hypothalamic--pituitary--adrenal/gonadal axis and the peripheral nervous system in rheumatoid arthritis: viewpoint based on a systemic pathogenetic role. Arthritis Rheum 2001; 44(3):493-507.

Swanson B, Zeller JM, Spear GT. Cortisol upregulates HIV p24 antigen production in cultured human monocyte-derived macrophages. J Assoc Nurses AIDS Care 1998; 9(4):78-83.

Trinchieri G. Interleukin-12 and the regulation of innate resistance and adaptive immunity. Nat Rev Immunol 2003; 3(2):133-146.

Tripathi A, Sodhi A. Growth hormone-induced production of cytokines in murine peritoneal macrophages in vitro: role of JAK/STAT, PI3K, PKC and MAP kinases. Immunobiology 2009; 214(6):430-440.

van der PT, Barber AE, Coyle SM, Lowry SF. Hypercortisolemia increases plasma interleukin-10 concentrations during human endotoxemia--a clinical research center study. J Clin Endocrinol Metab 1996; 81(10):3604-3606.

Visser J, Boxel-Dezaire A, Methorst D, Brunt T, de Kloet ER, Nagelkerken L. Differential regulation of interleukin-10 (IL-10) and IL-12 by glucocorticoids in vitro. Blood 1998; 91(11):4255-4264.

Wagner U, Gais S, Born J. Emotional memory formation is enhanced across sleep intervals with high amounts of rapid eye movement sleep. Learn Mem 2001; 8(2):112-119.

Wagner U, Gais S, Haider H, Verleger R, Born J. Sleep inspires insight. Nature 2004; 427(6972):352-355.

Walker MP, Stickgold R. Sleep-dependent learning and memory consolidation. Neuron 2004; 44(1):121-133.

Walker MP, Stickgold R. Sleep, memory, and plasticity. Annu Rev Psychol 2006; 57:139-166.

Wang XY, Xu Z, Yao X, Tian M, Zhou L, He L et al. Immune responses of anti-HAV in children vaccinated with live attenuated and inactivated hepatitis A vaccines. Vaccine 2004; 22(15-16):1941-1945.

White JL, Darko DF, Brown SJ, Miller JC, Hayduk R, Kelly T et al. Early central nervous system response to HIV infection: sleep distortion and cognitive-motor decrements. AIDS 1995; 9(9):1043-1050.

Wilder RL. Neuroendocrine-immune system interactions and autoimmunity. Annu Rev Immunol 1995; 13:307-338.

Wilder RL, Elenkov IJ. Hormonal regulation of tumor necrosis factor-alpha, interleukin-12 and interleukin-10 production by activated macrophages. A disease-modifying mechanism in rheumatoid arthritis and systemic lupus erythematosus? Ann N Y Acad Sci 1999; 876:14-31.

Wolfe F, Michaud K, Li T. Sleep disturbance in patients with rheumatoid arthritis: evaluation by medical outcomes study and visual analog sleep scales. J Rheumatol 2006; 33(10):1942-1951.

Yang L, Hu Y, Li X, Zhao J, Hou Y. Prolactin modulates the functions of murine spleen CD11c-positive dendritic cells. Int Immunopharmacol 2006; 6(9):1478-1486.

Yeager MP, Pioli PA, Wardwell K, Beach ML, Martel P, Lee HK et al. In vivo exposure to high or low cortisol has biphasic effects on inflammatory response pathways of human monocytes. Anesth Analg 2008; 107(5):1726-1734.

Young MR, Matthews JP, Kanabrocki EL, Sothern RB, Roitman-Johnson B, Scheving LE. Circadian rhythmometry of serum interleukin-2, interleukin-10, tumor necrosis factoralpha, and granulocyte-macrophage colony-stimulating factor in men. Chronobiol Int 1995; 12(1):19-27.

Zabel P, Linnemann K, Schlaak M. [Circadian rhythm in cytokines]. Immun Infekt 1993; 21 Suppl 1:38-40.

### 8 Anhang

#### 8.1 Danksagung

Prof. Dr. Jan Born und Frau Dr. Tanja Lange gaben mir das Thema meiner Doktorarbeit und kümmerten sich während der Arbeit jederzeit um mich. Während der Versuche waren Dr. Stoyan Dimitrov, Dr. Christian Benedict und die medizinisch-technische Assistentin Anja Otterbein jederzeit mit Rat und Tat zur Stelle und mit Ihrer Erfahrung in der Laborarbeit mir in vielen Situationen eine sehr große Hilfe. Die gemeinschaftliche Arbeit mit Kondoktorand Thomas Kriesen und dem wissenschaftlichem Mitarbeiter Gent Visser war zu jeder Zeit sowohl produktiv als auch freundschaftlich, insbesondere wenn das Einhalten der Zeitfenster eine hektische Arbeitsatmosphäre bedingte. Vor allem nach Abschluss des experimentellen Teils war Frau Dr. Tanja Lange eine große Hilfe. Ganz besonders wenn es darum ging, meine vielen Fragen zu dieser interessanten und komplexen Thematik zu beantworten und meine Arbeit in eine wissenschaftlichere Form zu bringen. Zudem hatte Frau Dr. Tanja Lange auch immer ein offenes Ohr wenn es um Probleme auch abseits dieser Arbeit ging.

Bei der Computerarbeit halfen mir Steffen Granz, Malte Werner und Andreas Klaassen, bei der Überarbeitung waren die Ratschläge von Dr. Maxim Bester und Stephanie Böschen-Klaassen sehr hilfreich. Nicht zuletzt führten die Ausdauer und die Gewissenhaftigkeit der Probanden zum Gelingen der Experimente bei.

Ganz besonders möchte ich an dieser Stelle Dascha und Werner Böschen erwähnen, die mir den langen Weg zu einer medizinischen Doktorarbeit ermöglichten, diese aber leider in der vollständigen Version nicht mehr mitbekommen konnten. Ebenso sollen an dieser Stelle Vanya Netemeyer, Stephanie Böschen-Klaassen und Jan-Peter Böschen erwähnt werden, ohne deren Unterstützung und Geduld ich vermutlich diese Arbeit nicht hätte beenden können.

Ihnen Allen gilt mein Dank

### 8.2 Tabellarischer Lebenslauf

28. Juli 1977	Geboren in Bremen
1984-1990	Grundschule und Orientierungsstufe Worpswede
1990-1994	Gymnasium Lilienthal
1994-1997	Gymnasium Osterholz-Scharmbeck
Mai 1997	Hochschulreife
1997-1998	Zivildienst Deutsches Rotes Kreuz OHZ
1998-2006	Medizinstudium an der Medizinischen Hochschule zu
	Lübeck
Seit 2006	Assistenzarzt in Hamburg