

Aus dem Institut für Endokrinologie und Diabetes
der Universität zu Lübeck
Direktor: Prof. Sebastian M. Meyhöfer

Schlaf konsolidiert metabolische Gedächtnisbildung

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

Vorgelegt von
Katharina Eva Dembinski
aus Posen, Polen

Lübeck 2023

1. Berichterstatter: Prof. Dr. med. Sebastian Meyhöfer
2. Berichterstatter: PD Dr. med. Seven Hirschfeld

Tag der mündlichen Prüfung: 16.11.2023

Zum Druck genehmigt: Lübeck, den 17.11.2023

- Promotionskommission der Sektion Medizin-

Inhaltsverzeichnis

I.	Abkürzungsverzeichnis	III
II.	Sonderzeichen.....	V
1	Einleitung	1
1.1	Hypoglykämie und Hypoglykämie-Gegenregulation	3
1.2	Insulin und Hormone der Hypoglykämie-Gegenregulation	6
1.3	Hypoglykämiewahrnehmungsstörung.....	8
1.4	Schlaf und Gedächtnis.....	9
1.5	Physiologische Schlafarchitektur.....	11
1.6	EEG und Polysomnographie	12
1.7	Ziele und Fragestellung	14
2	Material und Methoden.....	16
2.1	Studienpopulation	16
2.2	Studiendesign und Versuchsdurchführung.....	17
2.3	Labormethoden	22
2.4	Schlafstadienauswertung	23
2.5	Statistische Analyse	25
3	Ergebnisse	26
3.1	Schlafstadien.....	26
3.2	Blutglukoseverlauf.....	27
3.2.1	Blutglukose.....	27
3.3	Hormone der Hypoglykämie-Gegenregulation	28
3.3.1	Glukagon	28
3.3.2	Adrenalin	29
3.3.3	Noradrenalin	30
3.3.4	Somatotropin.....	31
3.3.5	Adrenocorticotropes Hormon	32
3.3.6	Kortisol.....	33
4	Diskussion	34
5	Zusammenfassung	41

6	Literaturverzeichnis	43
7	Verzeichnis der Abbildungen	53
8	Verzeichnis der Tabellen.....	54
9	Danksagung	55
10	Eigenständigkeitserklärung	56
11	Ethikvotum	56
11	Lebenslauf	Fehler! Textmarke nicht definiert.

I. Abkürzungsverzeichnis

ACTH	Adrenocorticotropes Hormon
Abb.	Abbildung
aS	analytische Sensitivität
BMI	Body Mass Index
Bzw.	beziehungsweise
cm	Zentimeter
°C	Grad Celsius
C-Peptid	Connecting-Peptid
d. h.	das heißt
dl	Deziliter
EEG	Elektroenzephalogramm
EKG	Elektrokardiogramm
EMG	Elektromyogramm
EOG	Elektrookulogramm
GH	Growth hormone
HAV	Hepatitis A Virus
HbA1c	Glycated hemoglobin A1c
Hz	Hertz = 1/s
kg	Kilogramm
l	Liter
m	Meter
min	Minuten
MT	Movement time
mU	Milli-Units
mg	Milligramm
ml	Milliliter
mmol	Millimol
m ²	Quadratmeter
MW	Mittelwert

ng	Nanogramm
pg	Pikogramm
REM	Rapid eye movement
S1	Schlafstadium 1
S2	Schlafstadium 2
S3	Schlafstadium 3
S4	Schlafstadium 4
SD	Standardabweichung
sog.	sogenannt
SWS	Slow wave sleep (S3+S4) = Tiefschlaf
TST	Total Sleep Time = Gesamtschlafdauer
U	Einheiten
u. a.	unter anderem
UKPDS	UK Prospective Diabetes Study
VK	Variationskoeffizient
vs.	versus
WASO	Wake After Sleep Onset
WHR	Waist-to-hip ratio
z. B.	zum Beispiel

II. Sonderzeichen

>	größer als
<	kleiner als
&	und
°	Grad
=	gleich
α	Alpha
β	Beta
δ	Delta
θ	Theta
μ	mikro
×	mal
%	Prozent
Δ	Delta
±	plus/minus
-	minus

1 Einleitung

Diabetes mellitus ist eine ernste und folgenschwere Volkskrankheit, die eine erhöhte Morbidität und verringerte Lebenserwartung aufgrund von diabetesspezifischen Komplikationen nach sich zieht (Papatheodorou et al. 2018). Obwohl die kontinuierliche Entwicklung neuer Therapien, Glukosemonitoringsystemen sowie Optimierungen der systematischen Patientenversorgung in den letzten Jahren die Prävalenz von Morbidität und Mortalität stetig vermindern konnten, ist die Lebenserwartung bei Patienten mit Diabetes weiterhin erheblich reduziert (Bruen et al. 2017; Chatterjee et al. 2017; Thrasher 2017). Epidemiologische Studien zeigen eine deutliche Assoziation zwischen der klinischen Einstellung des Blutglukosespiegels und dem Auftreten diabetesspezifischer Komplikationen. So konnte in einer in Großbritannien durchgeführten Studie, der UKPDS, die einen Meilenstein in der Behandlung der Diabetestherapie darstellt, nach Erstdiagnose eines Diabetes mellitus Typ 2 eine deutliche Reduktion der kardiovaskulären Ereignisse nach intensivierter Therapie der Hyperglykämie nachgewiesen werden (UKPDS Group 1998, Chalmers und Cooper 2008). Die Beobachtung, dass die Therapie jener Probanden, welche sich in der Gruppe mit der intensivierten Therapie der Hyperglykämie befanden, noch viele Jahre später, trotz bereits wieder vergleichbaren HbA1c-Werten zu der Kontrollgruppe, Auswirkungen auf die Komplikationsraten der Betroffenen hatte, führte erstmals zur Konzeptbildung des „metabolischen Gedächtnisses“ (Holman et al. 2008; Bianchi und del Prato 2011; Misra und Bloomgarden 2018). Zahlreiche Studien haben sich bereits mit der Auswirkung von Schlaf bzw. Schlafentzug auf metabolische Folgeerscheinungen, beispielsweise der Insulinresistenz, beschäftigt (Morselli et al. 2012). So wurde ein klarer Zusammenhang zwischen wenig Schlaf und einer reduzierten Insulin-Sensitivität nachgewiesen (Schmid et al. 2015). Zahlreiche weitere Studien bestätigen diese Beobachtung (Dahl et al. 2012; Matthews et al. 2014; Spaeth 2015). Basierend auf diesen Ergebnissen wurde eine reduzierte Schlafdauer bereits als Risikofaktor für die Entwicklung eines metabolischen Syndroms bzw. eines Diabetes mellitus eingeordnet (Anothaisintawee et al. 2016; Van Cauter et al. 2008; Knutson et al. 2005; Spiegel et al. 1999).

Patienten mit Diabetes mellitus unter Insulintherapie sind, neben den Folgeschäden einer chronischen Hyperglykämie vermehrt gefährdet eine schwere oder sogar lebensgefährliche Hypoglykämie zu erleiden (Muneer 2021; DiMeglio et al. 2018). Für das Auftreten dieser lebensbedrohlichen Komplikation wird das Phänomen der Hypoglykämiewahrnehmungsstörung mitverantwortlich gemacht (Amiel 2021; Cryer 2005). Bei einer gestörten Wahrnehmung der Hypoglykämie erfolgt die entsprechende hormonelle Gegenregulation, welche eine Hypoglykämie effektiv verhindern könnte, erst bei niedrigeren Plasmaglukosekonzentrationen als gewöhnlich und die Wahrnehmung autonomer Warnsymptome wird herabgesetzt (Amiel et al. 1988). Patienten mit einer Hypoglykämiewahrnehmungsstörung, bei gleichzeitig verringerter metabolischer Gegenregulation nach stattgehabter Hypoglykämie, haben ein 25-fach erhöhtes Risiko eine schwerwiegende Hypoglykämie zu entwickeln (Cryer 2005, 2006). Im Gegensatz zu der diabetesspezifischen chronischen Hyperglykämie kann bereits das Auftreten von milden und einmaligen Hypoglykämien zu einer Hypoglykämiewahrnehmungsstörung führen (Davis 1992; Widom und Simonson 1992).

Da es sich bei der Hypoglykämiewahrnehmungsstörung um eine langfristige Veränderung und Beeinträchtigung der metabolischen Gegenregulation handelt, ist anzunehmen, dass sie durch eine möglicherweise fehlgeleitete metabolische Gedächtnisbildung entsteht. Angesichts der bereits seit langem bekannten Zusammenhänge zwischen Schlaf, Lernen und Gedächtnisbildung im Kontext des psychischen und immunologischen Gedächtnisses (Diekelmann und Born 2010; Stickgold 2005; Besedovsky et al. 2012) entschlossen wir uns dazu auch den Begriff des „metabolischen Gedächtnisses“ auf diesen Kontext hin zu prüfen. In der vorliegenden Studie wurde nun zum ersten Mal der Einfluss von Schlaf bzw. Schlafentzug auf eine rezidivierende Hypoglykämie-Gegenregulation untersucht.

1.1 Hypoglykämie und Hypoglykämie-Gegenregulation

Im Jahr 1923 wurde Frederick Banting für die Entdeckung des Insulins mit dem Nobelpreis für Physiologie/Medizin gewürdigt. Hiermit wurde der erste Grundstein für die Behandlung des bis dahin unheilbaren Diabetes mellitus Typ 1 gelegt (Rendell 2008; Roth et al. 2012). Mit der Insulintherapie stieg allerdings auch das Auftreten der lebensbedrohlichen Hypoglykämien drastisch an (McCall 2012). Hypoglykämien stellen ein Kernproblem in der Therapie von Patienten mit Diabetes dar (Muneer 2021; Rodbard et al. 2009). In erster Linie sind *insulin-dependent diabetes mellitus* (IDDM) Patienten von der Gefahr wiederkehrender oder fatal endender Hypoglykämien aufgrund von exogener Insulinapplikation betroffen (DiMeglio et al. 2018). Darüber hinaus können aber auch bei *non-insulin-dependent diabetes mellitus* (NIDDM) Patienten, insbesondere höheren Alters, z. B. unter Einnahme von glukosesenkenden Medikamenten wie Sulfonylharnstoffen, Hypoglykämien auftreten (Matyka et al. 1997; Stanley et al. 2018). Generell können außerdem körperliche Belastung, Alkoholkonsum, mangelnde Kohlenhydratzufuhr und Infektionen bei Patienten mit Diabetes und selten auch bei Patienten ohne Diabetes zu schweren Hypoglykämien führen. Eine besondere Rolle bei Hypoglykämien spielen Erkrankungen wie Insulinome und Morbus Addison (Gittleson 1956; Grant 2013). Diese Erkrankungen sind zwar äußerst selten, können aber aufgrund von unzureichenden Diagnoseverfahren lange Zeit unentdeckt bleiben und in lebensbedrohlichen hypoglykämischen Zuständen enden (Gittleson 1956; De Herder et al. 2007).

Sobald die Glukosekonzentration im menschlichen Blutkreislauf unter die Grenze einer physiologischen Normkonzentration sinkt, spricht man von einer Hypoglykämie. Die Schwelle für den als physiologisch bezeichneten „euglykämien“ Bereich (was eine normale Blutglukosekonzentration wäre) wird in der Literatur unterschiedlich beschrieben. Die biochemische Definition einer Hypoglykämie wurde als eine intravasale Glukosekonzentration unter einem Schwellenbereich von 45–55 mg/dl (2,5–3,1 mmol/l) angegeben (Mitrakou et al. 1991). Erste Mechanismen zur physiologischen Gegenregulation der Hypoglykämie aktiviert der Körper jedoch bereits ab einer Blutglukosekonzentration von < 80 mg/dl (4,4 mmol/l) (Mitrakou et al. 1991). Es erscheint daher sinnvoll, die Grenze der Hypoglykämie-

Definition, wie 2004 von der „American Diabetes Association“ vorgeschlagen, auf einen Wert von < 70 mg/dl ($< 3,9$ mmol/l) (American Diabetes Association 2005) festzulegen.

Die Hypoglykämie-Gegenregulation verläuft in einer hierarchischen Abfolge (Mitrakou et al. 1991; Schwartz et al. 1987). Dabei werden nach und nach Mechanismen aktiviert, die zu einer Erhöhung der Blutglukosekonzentration im Blutkreislauf führen.

Eine Aktivierung des autonomen Nervensystems bewirkt ab einem Blutglukoseniveau von < 80 mg/dl (4,4 mmol/l) eine Stagnation der Insulinsekretion. Ab einem Wert von 74 mg/dl (4,1 mmol/l) erfolgt die erste Ausschüttung des Insulin-Antagonisten Glukagon und ab einem Wert von 68 mg/dl (3,8 mmol/l) die von Adrenalin und Noradrenalin (Boyle et al. 1989; Cryer und Gerich 1983; Davis und Shamoon 1991; Rickels et al. 2007). Ab einem Wert von < 66 mg/dl (3,7 mmol/l) kommt es dann zusätzlich zu einer sehr langsamen Ausschüttung von Somatotropin (GH) und ab einem Wert von < 58 mg/dl (3,2 mmol/l) zu einer zusätzlichen Kortisolsekretion (Cryer 2005; Mitrakou et al. 1991; Schwartz et al. 1987; Tesfaye und Seaquist 2010).

Generell lässt sich die klinische Ausprägung der Hypoglykämie auf sog. neuroglykopenie und neurogene Symptome unterteilen (Cryer 2021; Hoffman 2007; Mitrakou et al. 1991). Das sympathische Nervensystem bildet zusammen mit dem parasympathischen, das als dessen Gegenspieler fungiert, und dem enterischen System das autonome Nervensystem. Dieses zeichnet sich im Gegensatz zum somatischen Nervensystem dadurch aus, dass es nicht willentlich kontrollierte Regulationsvorgänge ausführt. Zu den durch das sympathische Nervensystem hervorgerufenen Symptomen zählen u. a. Tremor, Herzklopfen, Angst, Nervosität, Hunger und Schwitzen (Snoorgard et al. 1991). Bei gesunden Individuen kommt es meistens ab einer Blutglukosekonzentration von ungefähr 58 mg/dl (3,2 mmol/l) zu einer Ausprägung der autonomen und bei einem weiteren Blutglukoseabfall auf einen Wert von 51–49 mg/dl (2,8–2,7 mmol/l) zu einer neuroglykopenen Symptomatik (Mitrakou et al. 1991). „Neuroglykopenie“ (*griechisch: neuron = Nerv, glykos = süß/ Zucker, -penie = Armut*) bezeichnet einen Zustand, in dem der Glukosebedarf des Gehirns nicht durch die im Blutkreislauf vorhandene Glukose gedeckt werden kann. Da das menschliche Gehirn fast ausschließlich auf Glukose als Energiesubstrat angewiesen ist (Marty et al. 2007; Mergenthaler et al.

2013; Peters 2011), zieht eine Unterversorgung mit Glukose eine Reihe von zentralnervösen Störungen nach sich. Bei einer reduzierten Wahrnehmung der autonomen Symptomatik kann eine Unterversorgung mit Glukose direkt in einem Krampfanfall, komatösen Zustand oder auch dem Tod enden, da die Individuen die frühzeitigen neurogenen Warnsignale nicht realisieren und keine Möglichkeit haben, sich rechtzeitig selbst in Form von Nahrungsaufnahme zu therapieren (Iciar 2015; Shafiee et al. 2012; Zoungas et al. 2010).

Die Ausprägung der Hypoglykämie-Symptome ist sowohl in ihrer Intensität als auch ihrer Symptomatik individuell sehr unterschiedlich und hängt zum einen von dem Blutglukose-Niveau, dem die Individuen dauerhaft ausgesetzt sind, also dem natürlichen Ausgangswert, und zum anderen von der Geschwindigkeit, in der der Blutglukosewert gesenkt wird, ab (Mitrakou et al. 1993). Neben den biochemischen Befunden und den Symptomen einer Hypoglykämie ist ein weiteres Kriterium für eine Hypoglykämie die zeitnahe Reversibilität der Symptome nach oraler oder intravenöser Glukosegabe relevant. Die Kombination aus diesen drei Befunden wird als Whipple-Trias bezeichnet (Melmed 2016).

1.2 Insulin und Hormone der Hypoglykämie-Gegenregulation

Insulin ist ein körpereigenes Hormon, das den wichtigsten blutglukosesenkenden Faktor im menschlichen Körper darstellt. Es besteht aus 51 Aminosäuren und wird als inaktive Vorläuferform in den β -Zellen des Pankreas gebildet (Roth et al. 2012). Nach der enzymatischen Abspaltung des C-Peptids als Nebenprodukt wird das inaktive Proinsulin zur aktiven Form, dem Insulin, umgewandelt. Durch die Messung des abgespaltenen C-Peptids im Blutplasma lassen sich Rückschlüsse auf die körpereigene Insulinproduktion ziehen.

Der wichtigste physiologische Gegenspieler einer Hypoglykämie ist Glukagon. Dieses Peptidhormon wird als Vorstufe in den α -Zellen des Pankreas gebildet und entwickelt durch seinen Einfluss auf den Stoffwechsel eine anti-insulinäre Wirkung (Furman 2011; Jiang und Zhang 2003). Ein wichtiger Stimulus für die Glukagonsekretion ist die Reduktion der Insulinfreisetzung während einer Hypoglykämie. Dabei wird die inhibitorische Wirkung des Insulins auf die Glukagonsekretion aufgehoben (Unger und Cherrington 2012). Das primäre Ziel von Glukagon und Adrenalin ist es, mithilfe der Glykogenolyse und Glukoneogenese vor allem in der Leber sowie der verminderten Aufnahme von Glukose im peripheren Gewebe, eine Euglykämie aufrecht zu erhalten. Auf diese Weise kann die Energieversorgung des Gehirns sichergestellt werden (Cersosimo et al. 1999; Flier et al. 1992; Peters 2011; Taborsky 2010). Durch die genannten Kompensationsmechanismen ist der Körper in der Lage, der Hypoglykämie schnell und effizient entgegenzuwirken.

Eine besondere Situation besteht bei Patienten mit Typ 1 Diabetes und auch im fortgeschrittenen Stadium des Typ 2 Diabetes. Da bei diesen Patienten aufgrund der ausfallenden Insulinregulation der entscheidende Stimulus für die Glukagonsekretion ausbleibt und somit die beiden ersten Säulen der Hypoglykämie-Gegenregulation reduziert sind, sind diese Patienten besonders gefährdet, eine schwere und unter Umständen tödliche Hypoglykämie zu erleiden (Dagogo-Jack et al. 1993; Fukuda et al. 1988; Zoungas et al. 2010).

Eine durch Stress ausgelöste Aktivierung des sympathischen Nervensystems, z. B. als Reaktion auf eine Hypoglykämie, fördert die Ausschüttung der Katecholamine Adrenalin und Noradrenalin aus dem Nebennierenmark in die Blutbahn. Die genannten Stresshormone Adrenalin und Noradrenalin inhibieren die Insulinsekretion aus den β -Zellen und stimulieren

die α -Zellen des Pankreas. Hierdurch kommt es wiederum zu einer Steigerung der Glukagonsekretion (Havel und Ahren 1997; Sherwin et al. 1980). Zusätzlich steigern Katecholamine die Lipolyse und sorgen mithilfe der entstehenden freien Fettsäuren für eine weitere Energiequelle zur Aufrechterhaltung der Euglykämie (Hoffman 2006).

Weitere Stresshormone sind das im Hypophysenvorderlappen produzierte Adrenocorticotrope Hormon (ACTH) und das in der Zona fasciculata der Nebennierenrinde produzierte Hormon Kortisol. Letzteres aktiviert als Glukokortikoid die Lipolyse und die Glukoneogenese in der Leber (Henriksen et al. 1999; Manolopoulos et al. 2017). Zudem reduziert Kortisol direkt die pankreatische Insulinfreisetzung und die Insulinsensitivität (Yuen et al. 2012).

Somatotropin ist ein Wachstumshormon (GH), das unter Stresseinwirkung aus dem Hypophysenvorderlappen ausgeschüttet wird. Es wirkt anabol auf Muskeln, Knochen und Leber. Das GH verursacht durch Glykogenolyse, Glukoneogenese und Lipolyse einen Anstieg der Blutglukosekonzentration (Copeland 1996; Dunger et al. 2007; Randle et al. 1963).

Die Stresshormone GH und Kortisol spielen in der Akutgegenreaktion eher eine untergeordnete Rolle und gewinnen erst bei protrahierter Hypoglykämie an Bedeutung (Gerich et al. 1980).

1.3 Hypoglykämiewahrnehmungsstörung

Unter bestimmten Voraussetzungen kann es zu einer Verschiebung der als physiologisch angesehenen „Normalgrenze“ der Hypoglykämiewahrnehmung kommen. Bei Patienten mit Diabetes mellitus unter strikter Insulintherapie (Freeland 2017; McCoy et al. 2012; Ortiz 2017) oder auch bei Patienten mit Insulinom, die sich in einem Zustand der wiederkehrenden oder chronischen Hypoglykämie befinden, konnte ein Phänomen beobachtet werden, das als Hypoglykämiewahrnehmungsstörung bezeichnet wird (Amiel et al. 1988; Davis et al. 1997; Heller und Cryer 1991; Iciar 2015; Mokan et al. 1994; Segel et al. 2002; Veneman et al. 1993). Bei diesem Phänomen ist die Schwelle der gegenregulatorischen Antwort herabgesetzt, sodass ein niedrigerer Blutglukosespiegel erreicht werden muss, um eine erste gegenregulatorische Antwort auf eine Hypoglykämie zu erhalten. Die Warnsignale, die die betroffenen Patienten verspüren, werden somit deutlich verspätet wahrgenommen. Die Hypoglykämiewahrnehmungsstörung wird als ein wesentlicher Faktor für die Entstehung von schweren bis hin zu tödlichen Hypoglykämien angesehen und ist somit mitverantwortlich für die hohe Mortalität unter Patienten mit Insulintherapie (Amiel 2021; DiMeglio et al. 2018). Viele Studien verweisen auf einen Zusammenhang zwischen der fehlenden Wahrnehmung der klinischen Symptome einer Hypoglykämie und den wiederauftretenden Hypoglykämien (Fanelli et al. 1994; Hwang et al. 2018). Es wurde zudem gezeigt, dass nur eine einzelne vorausgegangene Hypoglykämie ausreichend ist, um die Gegenregulation auf die darauffolgende Hypoglykämie abzdämpfen (Davis und Shamoon 1991; Davis et al. 1997; Heller und Cryer 1991; Widom und Simonson 1992).

Das Phänomen der Hypoglykämiewahrnehmungsstörung ist zurzeit Mittelpunkt vieler wissenschaftlicher Arbeiten und bildet auch bei unserer Studie einen Kernpunkt der Untersuchungen. Der Ursprung des Mechanismus der fehlenden Hypoglykämiewahrnehmung ist bis heute nicht erfasst (Iciar 2015; Tesfaye und Seaquist 2010).

1.4 Schlaf und Gedächtnis

Seit langer Zeit befassen sich zahlreiche Studien mit der Frage, welchen Einfluss Schlaf auf die Gedächtnisbildung hat. Schlaf wird als wichtiger Mediator der Gedächtniskonsolidierung im psychologischen und immunologischen Bereich gesehen (Besedovsky et al. 2012; Diekelmann und Born 2010). Man geht davon aus, dass Informationen beim Aufbau des Gedächtnisses im wachen Zustand bewusst erlernt (= encodiert) und anschließend während des Schlafes vertieft (= konsolidiert) werden (Besedovsky et al. 2012; Rasch und Born 2013; Born et al. 2006; Diekelmann und Born 2010; Maquet 2001; Rasch und Born 2007; Stickgold 2005).

Generell wird das Langzeitgedächtnis in zwei Formen unterschieden: das deklarative und das prozedurale Gedächtnis. Das deklarative Gedächtnis, sog. Wissensgedächtnis, verarbeitet Informationen, denen ein bewusster Lernvorgang, wie z. B. das Vokabellernen, vorausgeht. Die andere Art der Langzeitgedächtnisbildung wird als prozedurales Gedächtnis, sog. Verhaltensgedächtnis, bezeichnet. Hierbei handelt es sich um einen Vorgang, der für das Erlernen von automatisierten Handlungsabläufen zuständig ist. Es konnte für beide Formen der psychologischen Gedächtnisbildung gezeigt werden, dass durch Schlafen nach einem erfolgten Lernprozess eine Steigerung der erlernten Fähigkeiten erreicht werden kann (Barrett und Ekstrand 1972; Fischer et al. 2002; Lahl et al. 2008; Walker et al. 2003). Dabei ist der erreichbare Lerneffekt von dem Zeitabstand zwischen Encodierung und Konsolidierung (Gais et al. 2006; Talamini et al. 2008) sowie der Qualität und der Quantität des Schlafprozesses (Diekelmann et al. 2009; Hennevin et al. 1995; Smith 1995) abhängig.

Es besteht zudem ein Zusammenhang zwischen unterschiedlichen Schlafphasen, *slow-wave sleep* (SWS) und *rapid eye movement* (REM) (siehe Kap. 1.5), und der Art der Gedächtnisbildung (Diekelmann und Born 2010). Demnach dienen SWS-reiche Schlafphasen insbesondere der Konsolidierung des deklarativen Gedächtnisses (Barrett und Ekstrand 1972; Wagner et al. 2001) und REM-reiche Schlafphasen der Konsolidierung des prozeduralen Gedächtnisses (Plihal und Born 1999; Wagner et al. 2001).

Studien konnten des Weiteren einen Zusammenhang zwischen Schlaf und der Bildung eines nicht nur psychologischen, sondern auch eines immunologischen Gedächtnisses zeigen

(Besedovsky et al. 2012). Lange et al. (2003) haben in einer Studie die Immunantwort auf eine Hepatitis A Impfung nach einer Nacht Schlaf bzw. Schlafentzug bei gesunden Probanden verglichen. Bei jenen Probanden, die nach der Impfung geschlafen haben, konnte vier Wochen nach der Impfung ein doppelt so hoher HAV-Antikörper-Titer nachgewiesen werden wie bei den Probanden mit Schlafentzug (Lange et al. 2003). Dies war die erste Studie, welche gezeigt hat, dass eine einzelne Nacht Schlaf nach erfolgter Impfung die Immunantwort auf das exponierte Antigen relevant verstärkt. In weiteren Studien konnte diese Beobachtung bestätigt und auf die Beobachtung, dass es sich hierbei um einen anhaltenden Effekt der Immunisierung für mindestens ein Jahr nach Antigenexposition handelt, erweitert werden (Lange et al. 2011).

1.5 Physiologische Schlafarchitektur

Die physiologische Schlafstruktur zeichnet sich durch das zyklische Wiederauftreten von REM und non-REM Phasen aus (Voss 2004). Die non-REM Phasen sind in vier Stadien unterteilt, die den Schlaf von der ersten Einschlafphase bis hin zum Tiefschlaf charakterisieren. Die erste Nachthälfte wird von den Schlafstadien (S) 3 und 4 und die zweite Nachthälfte vom REM-Schlaf dominiert (Abb.1).

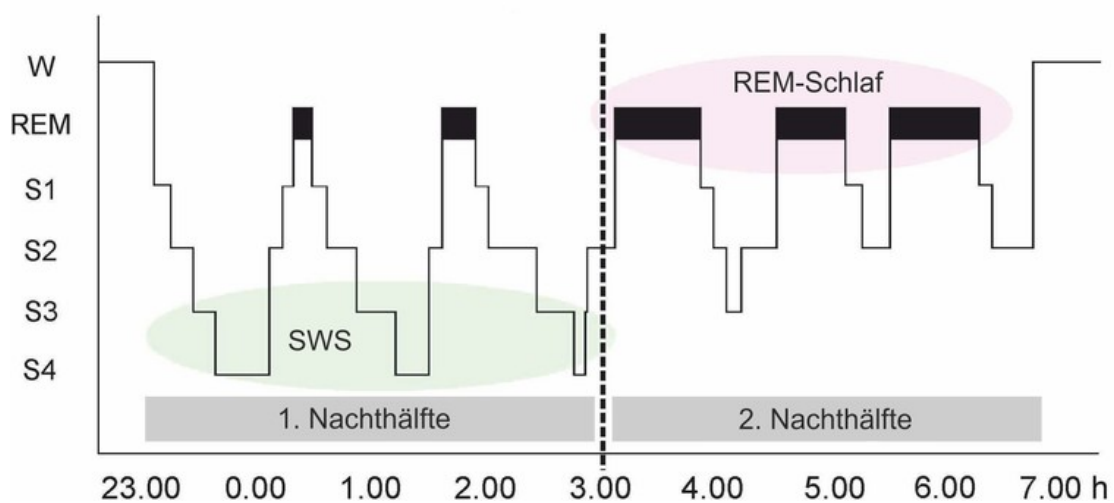


Abbildung 1: Schlafarchitektur (Diekelmann und Born 2010), modifiziert nach V. Ott; W = wach; REM = rapid eye movement; S1-S4 = Schlafstadium 1-4

Während der Einschlafphase geht das Bewusstsein für die eigenen Handlungen verloren und der Blutdruck sowie die Körpertemperatur sinken. Im ersten Schlafzyklus, der mit S1 mit einer Dauer von ca. 1–7 Minuten beginnt, ist die schlafende Person noch sehr leicht, z. B. durch Geräusche, aus dem Schlafzustand erweckbar. Während der Nacht kehrt zwischen den Tiefschlafphasen das von einer niedrigeren Weckschwelle geprägte S1 immer wieder und stellt einen möglichen Kontakt zwischen Bewusstsein und Außenwelt her (Siegel 2009). Sobald S2 erreicht wird, ist der Körper unempfindlicher für äußere Reize und schwerer zu erwecken. Diese Episode, die sich im *Elektroenzephalogramm* (EEG) langsam der SWS

Struktur von S3 und 4 nähert, dauert im Durchschnitt 10–25 Minuten. Sobald im EEG die für den SWS typische δ -Wellen erkennbar sind, ist S3 des Schlafrhythmus erreicht. Jener Abschnitt dauert meist nur wenige Minuten und endet mit einer Zunahme der δ -Aktivität in S4. Dieses auch als „Tiefschlafphase“ bekannte Stadium präsentiert sich in der ersten Nachthälfte mit einer Dauer von 20–40 Minuten als eines der längsten Schlafstadien. Am Ende des SWS durchläuft der Körper unter Zunahme von Bewegungen eine 7 bis 15-minütige Phase, in der die leichten Schlafstadien wieder durchlaufen werden und schließlich der REM-Schlaf einsetzt. Der REM-Schlaf unterscheidet sich von den restlichen Schlafphasen durch das Auftreten von schnellen Augenbewegungen. Das Bewusstsein befindet sich in dieser Phase im Traumzustand. Während dieser meist nur 5–10-minütigen REM-Phase ist der periphere Körpertonus stark reduziert und die Weckschwelle des Individuums maximal erhöht. Im Laufe der Nacht kehren die einzelnen Stadien im zyklischen Rhythmus immer wieder auf, wobei sich der Anteil von SWS zu REM-Schlaf zugunsten vom REM-Schlaf verschiebt, sodass der SWS in der zweiten Nachthälfte sogar komplett verloren gehen kann (Diekelmann und Born 2010; Ellenbogen et al. 2007; Smith 1995).

1.6 EEG und Polysomnographie

Unter dem Begriff Polysomnographie (*griechisch: poly = viel, latein: somnus = Schlaf und griechisch: graphein = schreiben*) versteht man die Aufzeichnung von Hirnströmen und Muskelpotentialen während einer Schlafphase. Mithilfe der Auswertung der Hirnströme mittels EEG, der Augenbewegungen mittels *Elektrookulographie* (EOG) und den erhobenen Informationen über die Mundmuskelbewegungen mittels *Elektromyographie* (EMG) ist es dem Untersucher möglich eine Beurteilung der Schlafstruktur, das Somnogramm, vorzunehmen (Thomas 2005).

Die Polysomnographie kann vielfältig eingesetzt werden und findet Verwendung bei der Diagnostik von Krankheiten, wie z. B. bei Formen der Epilepsie oder dem Schlaf-Apnoe-Syndrom, aber auch in der Schlafforschung.

Schon 1920 wurde eines der ersten EEGs von dem deutschen Psychiater Hans Berger (1873-1941) aufgezeichnet und ausgewertet. Im Laufe der Jahre stellte man jedoch unter den verschiedenen Auswertungen starke Schwankungen in der Reliabilität der Auswertungen der EEGs fest. 1967 gründete die *Association for the Psychophysiological Study of Sleep* (APSS) ein Komitee zur Standardisierung und Vereinheitlichung der Schlafstadien. Im Jahr 1968 veröffentlichten Rechtschaffen und Kales (Rotte 2005), die diesem Komitee angehörten, diese Kriterien für eine standardisierte Auswertung: Das Polysomnogramm wird von ein und demselben Befunder ausgewertet, der die Schlafstadien dem EEG Epoche für Epoche zuordnet. Dabei wird einer Epoche, die aus 30 Sekunden Ableitezeit besteht, jeweils ein Schlafstadium zugeordnet. Die Kriterien der Stadienauswertung richten sich sowohl nach der Frequenz, Amplitude und Form der gemessenen Ausschläge als auch nach dem Zusammenspiel von EEG, EOG und EMG zu einem gemeinsamen Zeitpunkt.

Die elektrischen Aktivitäten des Gehirns treten im EEG in Form von Wellen auf, deren Form vom Ursprung der aufgezeichneten Potentiale abhängt. Je nach Form, die sich aus der Frequenz und der Amplitude der Potentiale zusammensetzt, werden diese Wellen als α -, β -, γ -, δ - und θ -Wellen bezeichnet (Rotte 2005). Als α -Wellen werden Hirnaktivitäten in einem Frequenzbereich von 8–13 Hertz (Hz) beschrieben. Diese Wellenaktivität wird vermehrt im entspannten Ruhezustand mit geschlossenen Augen beobachtet. Sobald die Augen geöffnet werden oder versucht wird, eine mentale Aufgabe zu lösen, verschwinden die α -Wellen zugunsten der höher frequenten β -Wellen (14-30 Hz). Die γ -Wellen (> 30 Hz) treten fast ausschließlich bei erhöhter Aufmerksamkeit oder mentaler Anstrengung auf. Sie spielen bei der Auswertung von Schlaf-EEGs daher eine untergeordnete Rolle. Von wesentlicher Bedeutung für die Auswertung der Schlafstadien sind die sog. δ -Wellen ($< 3,5$ Hz), die S 3 und 4 dominieren und klassifizieren. Während des REM-Schlafes sind die sog. „Sägezahn-Wellen“ in einer Frequenz von 2–7 Hz charakteristisch - sowie das Auftreten von Augenbewegungen (EOG) und eine erniedrigte EMG-Amplitude. Von diesen physiologischen Wellen sind bei der Auswertung der Polysomnographie Artefakte wie z. B. die *Movement Time* (MT) abzugrenzen (Diekelmann und Born 2010; Rotte 2005; Smith 1995).

Zusammengefasst sind für die Schlafstadien folgende Charakteristika von Bedeutung:

Tabelle 1: Schlafstadien (Diekelmann und Born 2010; Rotte 2005; Smith 1995)

Wach-Stadium	>50% α -Aktivität (8–13 Hz) und/oder niedrigamplitudige Aktivität gemischter Frequenzen; EMG hoch; Augenbewegung vorhanden
Stadium 1	Verlangsamung des EEGs (2–7 Hz); <50% α -Aktivität; EMG niedriger als im Wach-Stadium; langsame, rollende Augenbewegung; weder Spindeln noch K-Komplexe vorhanden
Stadium 2	Flache, unregelmäßige Aktivität; Spindeln oder K-Komplexe erforderlich (Frequenz 12–14Hz)
Stadium 3	20-50% hohe, langsame Aktivität; δ -Wellen (<3,5 Hz); Spindeln oder K-Komplexe möglich
Stadium 4	>50% hohe, langsame Aktivität; δ -Wellen (<3,5 Hz); Spindeln oder K-Komplexe möglich
REM-Stadium	Frequenz 2–7 Hz; α -Aktivität möglich; niedriges EMG; Augenbewegungen obligatorisch, wenn auch nicht durchgehend notwendig
Movement Time	MT bildet sich in EEG und EOG ab; >50% Bewegungsartfakte; EMG sehr hoch; vorherige und folgende Epoche Schlaf

1.7 Ziele und Fragestellung

Von der Tatsache ausgehend, dass Schlaf die metabolische Gegenregulation einer nachfolgenden Hypoglykämie beeinflusst, entstand die Hypothese, dass Schlaf die metabolische Gedächtnisbildung konsolidiert und somit zu einer verringerten hormonellen Gegenregulation auf eine erneute Hypoglykämie führt. Auf Grund dessen nahmen wir an, dass Schlafentzug im Umkehrschluss nach einer stattgehabten Hypoglykämie zum Ausbleiben dieser normalerweise erwarteten verringerten metabolischen Gegenregulation auf eine erneute Hypoglykämie führt.

In der vorliegenden Arbeit wurde die Ausschüttung der Hormone der Hypoglykämie-Gegenregulation auf eine künstlich hervorgerufene Hypoglykämie mittels eines hyperinsulinä-

mischen Clampversuches untersucht. Hierbei wurde die hormonelle Reaktion nach der Intervention Schlafentzug im Vergleich zu einer Kontrollnacht mit regulärer Schlafdauer bei jungen gesunden Männern untersucht.

Folgende Hypothese wurde in diesem Zusammenhang aufgestellt:

Schlaf führt nach einer erlebten Hypoglykämie zu einer veränderten metabolischen Antwort auf eine erneute Hypoglykämie.

2 Material und Methoden

2.1 Studienpopulation

Im Rahmen der vorliegenden Arbeit wurden insgesamt fünfzehn Probanden in jeweils zwei Versuchsbedingungen im Abstand von vier Wochen untersucht. Die Studienteilnehmer wurden mithilfe öffentlicher Aushänge an der Fachhochschule sowie der Universität zu Lübeck und in der Lübecker Innenstadt sowie mithilfe von Anzeigen in den Lübecker Nachrichten und dem Internetforum HL-Live rekrutiert. Bei den Probanden handelte es sich um gesunde junge Männer im Alter von 18 bis 35 Jahren (Durchschnittsalter \pm Standardabweichung: $22,5 \pm 3,8$ Jahre). Zur Evaluation der Studieneignung wurden alle Probanden mittels eines standardisierten Fragebogens und eines ausführlichen Anamnesegesprächs untersucht. Ausschlusskriterien waren dabei Nikotinkonsum, Drogen- oder Alkoholabusus, unregelmäßiger Schlaf-Wach-Rhythmus (z. B. Schichtarbeit), regelmäßige Medikamenteneinnahme, Blutspende in den vorausgegangenen acht Wochen, psychische oder physische Erkrankungen jeglicher Art sowie Diabetes mellitus in der Familienanamnese. Weiterhin wurde eine körperliche Untersuchung durchgeführt und ein *Elektrokardiogramm* (EKG) abgeleitet. Im Rahmen einer Blutentnahme wurden routinemäßig Elektrolyte, Blutglukosekonzentration, Schilddrüsenfunktion, Nierenretentionswerte, Leberparameter, Blutfettwerte und ein kleines Blutbild bestimmt. Bei pathologischen Befunden erfolgte kein Studieneinschluss, sondern die Empfehlung zur Vorstellung beim Hausarzt. Waren alle erhobenen Befunde normwertig, wurde der Proband nochmals mündlich und schriftlich über Zeitaufwand, Ablauf, Risiken und Zielsetzung der Studie aufgeklärt. Alle Probanden waren normalgewichtig mit einem *Body Mass Index* (BMI) zwischen $20,0 \text{ kg/m}^2$ und $25,0 \text{ kg/m}^2$ ($22,6 \text{ kg/m}^2 \pm 0,5 \text{ kg/m}^2$). Alle Probanden nahmen freiwillig an der Studie teil und gaben schriftlich ihr Einverständnis zur Durchführung der Studie ab. Zur Gewöhnung an die Bedingungen im Schlaflabor verbrachten alle Probanden vor Studienbeginn eine „Probenacht“ inklusive Polysomnographie im Schlaflabor. Nach Abschluss der Studie erhielt jeder Proband eine Aufwandsentschädigung von insgesamt 200,- €.

Die Studie wurde gemäß der Deklaration von Helsinki vor Durchführung durch die Ethikkommission der Universität zu Lübeck geprüft und genehmigt (Votum AZ 07-068).

2.2 Studiendesign und Versuchsdurchführung

Jeder Proband nahm an zwei Sitzungen teil, die jeweils einen kompletten Tag (Tag 1) mit nachfolgender Nacht sowie dem darauffolgenden Vormittag (Tag 2) umfassten. An Tag 1 wurde vormittags (Clamp 1) und nachmittags (Clamp 2) jeweils ein hyperinsulinämischer hypoglykämischer Clampversuch durchgeführt (Abb. 2).

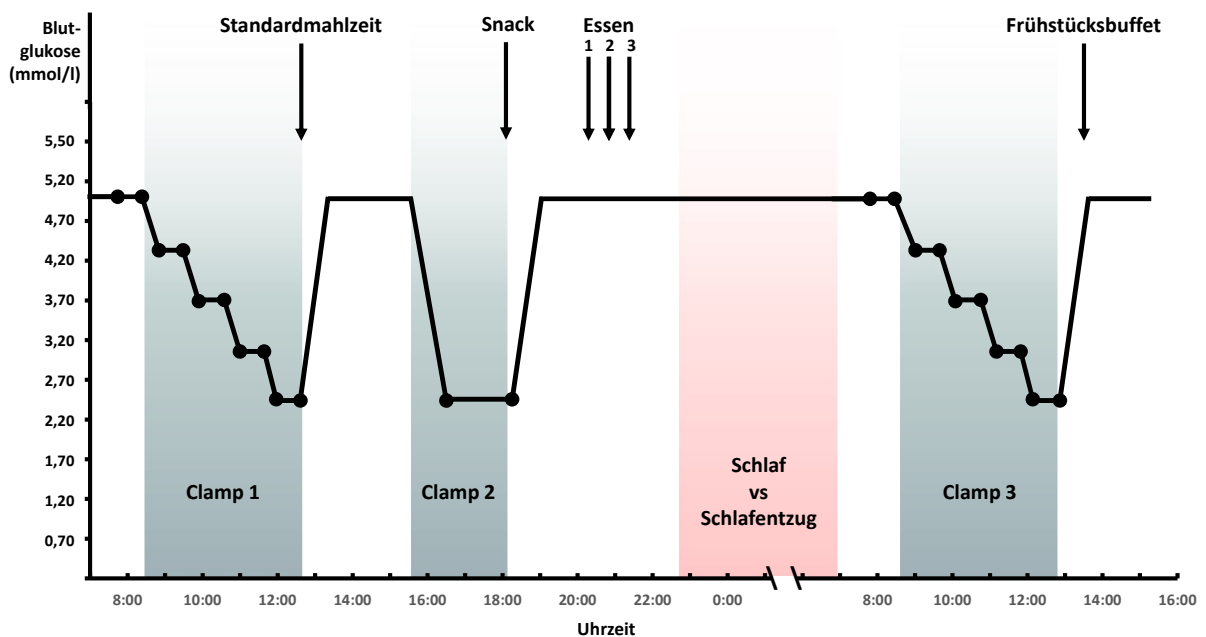


Abbildung 2: Angestrebte Blutglukosekonzentrationen während des hyperinsulinämischen, hypoglykämischen Clampversuches

In der Nacht zwischen Tag 1 und Tag 2 durften die Probanden je nach Versuchsbedingung entweder regulär acht Stunden schlafen ("Schlaf") oder mussten wach bleiben ("Schlafentzug"). An Tag 2 wurde schließlich erneut ein hyperinsulinämischer hypoglykämischer Clampversuch (Clamp 3) durchgeführt.

Die Reihenfolge der Versuchsbedingungen erfolgte randomisiert-balanciert und wurde den Probanden erst zu Beginn der ersten Versuchssitzung mitgeteilt. Zwischen den beiden Versuchssitzungen lag ein zeitlicher Mindestabstand von vier Wochen und ein maximaler Zeit-

raum von zehn Wochen. Um eine unerwünschte Beeinflussung der Ergebnisse zu vermeiden, wurden die Probanden unmittelbar vor und während der Versuchssitzungen wiederholt erinnert einen geregelten Schlaf-Wachrhythmus einzuhalten, sich keinen extremen körperlichen oder mentalen Belastungen auszusetzen und keinerlei Medikation oder Genussmittel einzunehmen. Diese Parameter wie auch das subjektive Befinden des Probanden, die Schlafdauer und -qualität in der vorausgegangenen Nacht, die Zubettgehzeit sowie der Umfang der letzten Mahlzeit vor Versuchsbeginn wurden vor jeder Sitzung erfragt und dokumentiert. Die Probanden wurden gebeten, am Versuchstag um 07:00 Uhr nüchtern im Schlaflabor der Neuroendokrinologie Haus 50 des Universitätsklinikums Schleswig-Holstein Campus Lübeck zu erscheinen. Bei Ankunft der Probanden wurde nach der oben erwähnten Zwischenanamnese erneut der BMI erfasst und die *Waist-to-hip ratio* (WHR) immer von derselben Person gemessen. Weiterhin wurde jeder Proband nochmals nach seinem Einverständnis zur Versuchsteilnahme befragt.

Die Probanden wurden in den schallgedämpften Versuchsraum des Schlaflabors gebracht, um während der Versuchsdurchführung – insbesondere während der Nacht – durch die Laborarbeiten im benachbarten Raum nicht gestört zu werden. Mittels einer Kamera war eine Überwachung der Probanden während des gesamten Versuches gewährleistet. Während der Clampversuche befanden sich die Probanden im Bett in halbliegender Position (ca. 45°). Während des gesamten Versuches durften die Probanden Mineralwasser trinken und Zeitschriften (National Geographic aus den Jahren 2000–2003) lesen.

Um 07:15 Uhr wurde ein mobiles Aufnahmegerät zur Messung der Herzratenvariabilität (ActiHeart, Cambridge Neurotechnology Ltd, Cambridge, England) (Crouter, Churilla, and Bassett 2008) mittels Klebeelektroden an der Brust der Probanden angebracht. Weiterhin wurde mindestens 30 Minuten vor der ersten Blutentnahme eine 18G Venenverweilkanüle (B. Braun Melsungen AG, Melsungen, Germany) retrograd in einer Unterarmvene links und eine 20G Venenverweilkanüle retrograd in einer Unterarmvene rechts platziert.

Vor Beginn des ersten hyperinsulinämischen, hypoglykämischen Clampversuches an Tag 1 wurden um 08:10 Uhr und um 08:40 Uhr zwei Blutentnahmen zur Bestimmung der physiologischen Ausgangswerte (= Baseline) entnommen. Alle Blutentnahmen erfolgten aus dem benachbarten Laborraum über einen 2 m langen, 1x2 mm dünnen Kunststoffschlauch (Combidyn Druckschlauch, Pressure Monitoring Tubing PE 1x2 mm, 200 cm, transparent, B.

Braun Melsung AG, Melsungen, Germany), welcher an der Venenverweilkanüle befestigt war und durch eine kleine Öffnung in der Wand geführt wurde. Das Blut wurde in jeweils drei S-Monovetten der Firma Sarstedt (2x Kalium EDTA, Füllmenge 2,7 ml; 1x Serum Gel, Füllmenge 2,6 ml) und ein ClinRep-Entnahme-System zur anschließenden Bestimmung der Katecholamine (Roche, Füllmenge 5ml) abgefüllt. Die Serum Gel Probe wurde 10 Minuten bei Raumtemperatur inkubiert und spätestens nach 30 Minuten zusammen mit den restlichen, durchgehend gekühlten Röhrchen bei 4°C und 4000×g zehn Minuten zentrifugiert (Sigma 4K15 Laborzentrifugen, Schnakenberg Medizin & Labortechnik GmbH, Germany). Anschließend wurden die Überstände in Eppendorfgefäße aliquotiert und bis zur Analyse bei -80°C gelagert.

Um 08:45 Uhr wurde am Tag 1 und Tag 2 jeweils ein hyperinsulinämischer Clamp mit stufenweiser Absenkung der Blutglukosekonzentration initiiert (Schmid et al. 2007). Mit Hilfe eines halbautomatisierten Clamp-Systems (EKF Diagnostics Inc. Barleben, Deutschland) wurden 1,5 mU/kgKG/min Humaninsulin (Insuman Rapid 40 I.E./ml, Sanofi-Aventis Deutschland GmbH, Frankfurt, Deutschland) mittels Perfusor (Braun Perfusor, B. Braun Melsungen AG, Melsungen, Deutschland) kontinuierlich über 240 Minuten vom Laborraum aus über einen Druckschlauch (Combidyn Druckschlauch 200cm transparent, B. Braun Melsungen AG) in die rechtsseitige Venenverweilkanüle des Probanden appliziert. Je nach aktueller Blutglukosekonzentration erfolgten im 2- bis 5-minütigen Abstand Messungen der Blutglukosekonzentration. Hierfür wurden 20 µl Vollblut in Kunststoffkapillaren gefüllt, in ein Reaktionsgefäß mit einer Glukose/Laktat-Hämolyselösung gegeben und anschließend mittels dem Biosen-Gerät (BIOSEN C-Line, EKF Diagnostic GmbH, Barleben, Deutschland) analysiert und online in das Protokoll des Clamp-Systems übernommen.

Nach manueller Bestätigung wurde schließlich die Infusionsrate einer parallel zu Insulin in die rechtsseitige Venenverweilkanüle infundierten Glukoselösung (Glukose 20%, Fresenius Kabi, Bad Homburg, Deutschland, infundiert über Infusomat, B. Braun Melsungen AG) so angepasst, dass der im Studiendesign jeweils definierte Zielwert erreicht wurde. Zur Sicherheit des Probanden stand während des gesamten Versuches ein zweites Glukosemessgerät (HemoCue Glucose 201+, HEMOCUE AB, Ängelholm, Schweden) zur Verfügung. In jeweils 30-minütigen Abständen wurde die Blutglukosekonzentration des Probanden so auf das entsprechende Blutglukose-Plateau gesenkt bzw. im gewünschten Plateau gehalten

(Blutglukose-Plateau: 3,75; 3,25; 2,75; 2,25 mmol/l). Jeweils bei Erreichen und unmittelbar vor Verlassen der angestrebten Blutglukose-Plateaus wurden Blutproben zur späteren Bestimmung der zu untersuchenden Hormonparameter entnommen.

Nach der Blutentnahme am Ende des letzten Plateaus (Blutglukose: 2,25 mmol/l) um 12:45 Uhr wurde die Insulinapplikation terminiert und dem Probanden ein standardisiertes Mittagessen gereicht. Sobald der Proband unter laufender Glukoseinfusion einen hochnormalen Glukose-Zielwert erreichte, wurde er unter regelmäßiger Nachbeobachtung der Blutglukosewerte vom Clampsystem getrennt. Bis zum Beginn von Clamp 2 um 15:30 Uhr durfte sich der Proband im Institut frei bewegen.

Clamp 2 diente der Konsolidierung der neu erworbenen metabolischen Gedächtnisinhalte. Um 15:30 Uhr wurde mit Hilfe des halbautomatisierten Clamp-Systems erneut eine hyperinsulinämische Hypoglykämie induziert. Im Unterschied zu Clamp 1 wurde die Blutglukosekonzentration über einen Zeitraum von 60 Minuten linear auf einen Wert von 2,5 mmol/l gesenkt und anschließend 90 Minuten auf diesem Plateau gehalten. Blutentnahmen wurden auch bei diesem Clampversuch zu Anfang und am Ende des hypoglykämischen Plateaus asserviert und analog wurden Symptomscores zur Ermittlung der klinischen Symptomatik erhoben. Mit Terminierung der Insulinapplikation um 18:15 Uhr wurde die Glukoserate bedarfsentsprechend erhöht und der Proband erhielt eine standardisierte kleine Mahlzeit. Der Proband wurde unter weiterhin regelmäßiger Blutglukoseüberwachung vom Clamp-System getrennt.

Um einen optimalen Zeitraum zwischen Encodierung und Konsolidierung kognitiver Gedächtnisinhalte zu gewährleisten (Gais et al. 2006; Korman et al. 2007; Talamini et al. 2008; Walker et al. 2003), wurden frühestens vier Stunden vor Beginn der potentiellen Schlafphase/Schlafentzugsphase vom Probanden gegen 19:30 Uhr computergestützte deklarative (Wortpaare) und prozedurale (Fingertapping) Gedächtnisaufgaben unter durchweg euglykämischen Bedingungen bearbeitet (Fischer et al. 2002; Walker et al. 2003). Anschließend wurden die Venenverweilkanülen entfernt und in 30-minütigem Abstand drei weitere standardisierte Abendmahlzeiten gereicht. Im Anschluss wurden die Probanden in der Schlafbedingung für die nächtliche Polysomnographie vorbereitet.

Nach Beendigung der Vorbereitungen legten sich die Testpersonen ins Bett. Den Probanden wurden Ohrstöpsel ausgehändigt. Zudem wurden die EEG-Kabel durch das kleine Loch in der Wand, das zuvor schon für die Clampleitungen genutzt wurde, geführt, sodass der Proband während des Schlafes von den Versuchsbedingungen möglichst wenig beeinflusst wurde. Die Polysomnographie wurde mit dem Verstärker und Aufnahmegerät (Electroencephalograph, EEG-Serie 9200G, Nihon Kohden Europe GmbH, Rosbach, Deutschland) im angrenzenden Labor durchgeführt. Nachdem die korrekte Lage und Impedanz der Elektroden nochmals mit gezielten Anweisungen zur Gesichtsmotilität überprüft wurde, wurde um 23:00 Uhr das Licht ausgeschaltet. Nach 8 Stunden physiologischen Schlaf wurden die Teilnehmer um 07:00 Uhr geweckt, die EEG-Elektroden entfernt und die Probanden hatten die Möglichkeit zur Morgentoilette. Die standardisierte Auswertung der erhobenen Schlafdaten erfolgte nach Abschluss der Studie nach den Kriterien von Rechtschaffen und Kales (Rotte 2005). In der Schlafentzugs-Bedingung wurde keine Polysomnographie durchgeführt. Während der Schlafentzugsnacht konnten sich die Probanden mit einem vorsortierten Repertoire an Spielfilmen und Gesellschaftsspielen wachhalten. Das Verlassen des Gebäudes sowie körperliche Betätigung, unkontrollierte Nahrungsaufnahme bzw. der Konsum koffeinhaltiger Getränke waren während des gesamten Versuches nicht gestattet.

In beiden Versuchsbedingungen erfolgte um 07:10 Uhr des zweiten Tages, wie bereits am Vortag, die Anlage von zwei Venenverweilkanülen an beiden Unterarmen und nachfolgend die computergestützte Abfrage der am Vortag erlernten Wortpaar- und Fingertapping-Sequenzen. Im Anschluss wurde analog zu Clamp 1 der dritte stufenweise hyperinsulinämische hypoglykämische Clampversuch (Clamp 3) durchgeführt. Im Unterschied zu Clamp 1 durften die Probanden jedoch am Ende des Clamp-Versuchs *ad libitum* von einem Frühstücksbuffet essen, nachdem ihre Blutglukosespiegel auf hoch-normalem Niveau ($>100\text{mg/dl}$) stabilisiert waren. Nach einer abschließenden Blutglukosekontrolle, 150 Minuten nach Ende des Clamp-Versuchs, wurden die Probanden entlassen.

Das insgesamt zeitlich und technisch komplexe Studiendesign sowie die unterschiedlichen Ausgangshypothesen dieser Studie erforderten die Mitarbeit von zwei Doktorandinnen. Der

experimentelle Teil wurde daher von Frau Najilh Najem, die sich in einem separaten Dissertationsvorhaben primär mit einer Hypothese zur Regulation von Nahrungsaufnahmeverhalten beschäftigt, und mir gemeinsam durchgeführt.

2.3 Labormethoden

Die Bestimmung der Blutglukosekonzentrationen erfolgte enzymatisch mit Hilfe der Hexokinase-Glukose-6p-Dehydrogenase-Reaktion (BIOSEN C-Line, EKF Diagnostic GmbH, Barleben, Deutschland). Der *Variationskoeffizient* (VK) beträgt bei dieser Messmethode <1,5%. Die Messungen der Serum-Werte für Insulin, C-Peptid, GH, ACTH und Kortisol wurden mittels Immunoassays (IMMUNOLITE®, Siemens Healthcare Diagnostics, Vereinigtes Königreich) bestimmt. Die Variationskoeffizienten und *analytischen Sensitivitäten* (aS) betragen bei diesen Bestimmungen für Insulin: VK Total (Summe aus intra- und inter-assay-Varianz) 5,9%–8,0%, aS 2 µIU/ml; C-Peptid: VK Total 3,8%–5,5%, aS 0,05 ng/mL; Kortisol: VK 6,3%–10%, aS 0,2 µg/dl; GH: VK 5,3%–6,5% bzw. 5,5%–6,2%, aS 0,01 ng/ml und ACTH: VK 3,1%–9,6% bzw. 5,1%–9,4%, aS 9 pg/mL. Glukagon wurde mittels eines Radioimmunoassays (Euro Diagnostica AB, Malmö, Schweden) bestimmt. Die Werte für den intra-assay Variationskoeffizienten betragen VK 2,5%–4,8% und für den VK Gesamt (Summe von intra- und inter-assay-Varianz) 8,8%–8,9%. Die Blutkonzentrationen von Adrenalin und Noradrenalin wurden mit Hilfe einer Hochleistungsflüssigkeitschromatographie (CHROMSYSTEMS GmbH, München, Deutschland) ermittelt. Die intra- und inter-assay VK betragen für Adrenalin/Noradrenalin VK 1,7–11,4% bzw. VK 3,7–12,7%.

2.4 Schlafstadienauswertung

Als Grundlage für die polysomnographischen Auswertungen dienten die Leitlinien von Rechtschaffen und Kales 1968 (Rotte 2005). Die EEGs wurden in 30 Sekunden-Phasen, sogenannte Epochen, unterteilt, die dann den entsprechenden Schlafstadien zugeteilt wurden: Wach, Schlafstadien S1 bis S4, REM-Schlaf und MT.

Zur Aufzeichnung eines EEGs wurden mehrere Elektroden auf die Kopfhaut geklebt und wie beim EKG zu einer Referenzelektrode abgeleitet (Abb.3).

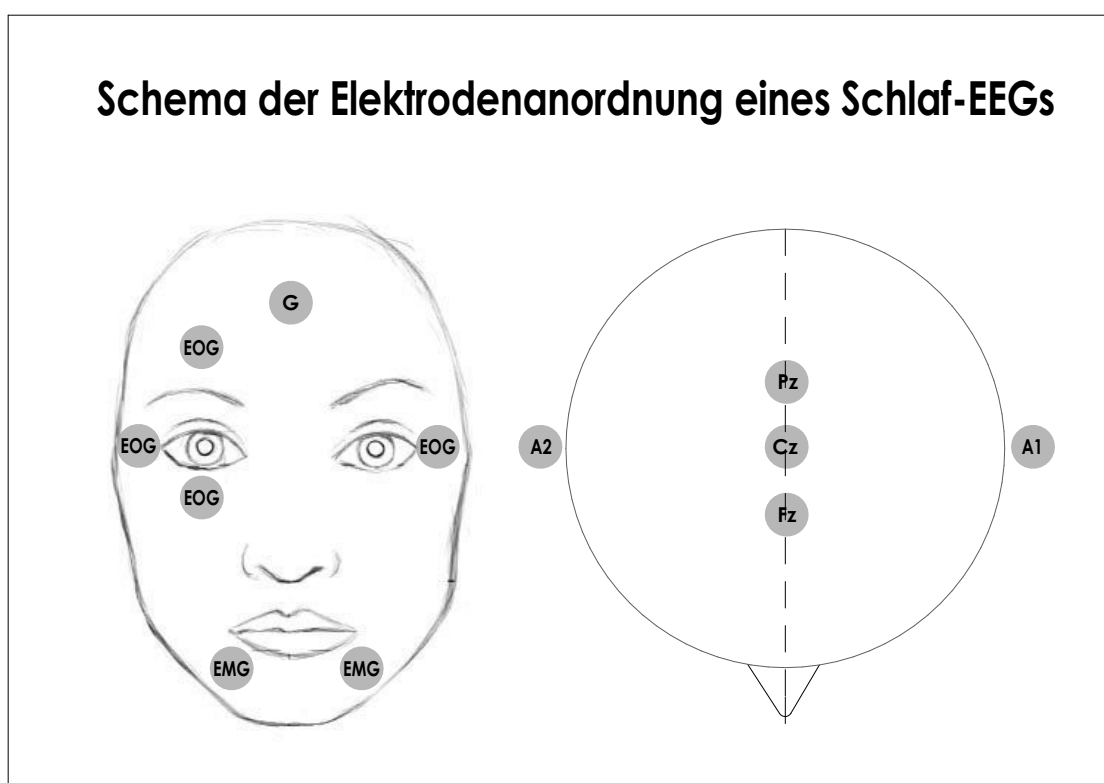


Abbildung 3: Schema der Elektrodenanordnung einer Schlaf-EEG Aufzeichnung (Eigene Darstellung) G = Grunderlektrode; EOG = Elektrode zur Aufzeichnung der Elektrookulographie; EMG = Elektrode zur Aufzeichnung der Elektromyographie; A1 und A2 = aurikuläre Referenzelektroden; Cz, Fz und Pz = Elektrode zur Aufzeichnung des Elektroenzephalogramms

Die EEG-Elektroden wurden nach dem international standardisiertem 10/20-System an bestimmten Ableitungspunkten angebracht. Hierfür wurden den Teilnehmern für die Aufzeichnung der Schlafstadien geeignete Elektroden in Form eines EEGs auf der Kopfhaut (Elektroenzephalogramm; Cz, Fz, Pz) angebracht. Typischerweise befinden sich die Referenzelektroden an den Mastoiden und werden als A1 und A2 bezeichnet. Des Weiteren erfolgte zur Ableitung eines EOGs die Anlage zweier Elektroden bitemporal und je eine Elektrode infra- und eine Elektrode supraorbital auf der Gesichtshaut (VEOG 1 und 2; HEOG 1 und 2). Mit dieser Einstellung ist es dem Untersucher möglich bei der Auswertung des Polysomnogramms horizontale von vertikalen Augenbewegungen zu unterscheiden. Zusätzlich erhielt der Proband zwei Elektroden für das EMG mental oder submental (EMG 1 und 2). Die EMG Ableitungen spielen v.a. bei der Identifikation muskulärer Artefakte Unterscheidung von Wachphasen und reinen Bewegungsstörungen des EEGs eine entscheidende Rolle. Die Grundelektrode (G), welche zentral auf der Stirn angebracht wird, dient der Ableitung statischer Energien, welche die neuralen Signale überlagern könnten.

2.5 Statistische Analyse

Die statistische Analyse der Daten erfolgte mittels der Software IBM SPSS Statistics 22. Alle Ergebnisse wurden in Einheiten des *Système International* (SI) als *Mittelwert* (MW) \pm *Standardabweichung* (SD) angegeben. Die erhobenen Daten wurden mit Hilfe einer Kontrastanalyse (Helmert-Kontrast) auf Unterschiede zwischen den Clamps untersucht. Paarweise Vergleiche zwischen den Clamps wurden mittels zweiseitigen gepaarten t-Tests durchgeführt. P-Werte $< 0,05$ wurden als signifikant gewertet. P-Werte zwischen 0,05 und 0,1 wurden als Trend bezeichnet. Die Baselinewerte wurden in der statistischen Analyse als Mittelwerte, d. h. berechnet aus dem ersten Blutwert 30 Minuten vor und dem zweiten Blutwert zu Beginn des hyperinsulinämischen hypoglykämischen Clampversuches, angegeben. Für die Auswertung verwendeten wir die Hormonkonzentrationen auf dem niedrigsten Blutglukoseplateau bei Minute 210. Zur Verdeutlichung der durch die Hypoglykämie erhobenen Effekte wurden alle gegenregulatorischen Hormone baseline-korrigiert, das heißt, die Werte werden als Differenz zum Baselinewert angegeben.

Bei der statistischen Auswertung sowie der Versuchsplanung wurden wir von Herrn Dr. Volker Ott als Versuchsbetreuer und seit 2020 von Frau Dr. Svenja Meyhöfer unterstützt.

3 Ergebnisse

3.1 Schlafstadien

Während der Schlafbedingung haben die Probanden im Durchschnitt $470,5 \pm 2,5$ Minuten geschlafen (Tabelle 2).

Tabelle 2: Schlafparameter während der Schlaf-Intervention

Schlafparameter	Dauer	SD
TST (min)	470,5	2,5
WASO (min)	10,2	12,9
WASO (%)	2,2	2,8
S1 (min)	19,4	16,8
S1 (%)	4,2	3,6
S2 (min)	260,7	42,6
S2 (%)	55,4	9,2
SWS (min)	104,9	40,0
SWS (%)	22,2	8,3
REM (min)	73,6	24,0
REM (%)	15,6	5,0
Movement arousal (min)	1,8	1,5
Movement arousal (%)	0,4	0,3

Alle Angaben als $MW \pm SD$. TST= Gesamtschlafdauer; WASO (wake after sleep onset) = Zeit im Stadium „Wach“ nach Schlafbeginn; S1= Schlafstadium 1; S2= Schlafstadium 2; SWS (slow wave sleep) = Tiefschlaf; REM=rapid eye movement-Schlaf; Movement arousal= Bewegungsartefakte während TST

3.2 Blutglukoseverlauf

3.2.1 Blutglukose

Die Baselinewerte der Glukosekonzentration waren in der Bedingung „Schlafentzug“ (Clamp 1 (C1): $5,04 \pm 0,09$ mmol/l vs. Clamp 3 (C3): $5,20 \pm 0,07$ mmol/l; $p=0,08$, gepaarter t-Test) vergleichbar (Abb. 4). In der Bedingung „Schlaf“ allerdings war der Baselinewert bei C3 ($5,43 \pm 0,09$ mmol/l) höher ($p=0,02$, gepaarter t-Test) als der bei C1 ($5,20 \pm 0,11$ mmol/l). Die Baselinewerte der jeweiligen Clamps zwischen den Bedingungen zeigten keinen signifikanten Unterschied ($p=0,57$ für den gepaarten t-Test).

Die Blutglukosewerte fielen im Verlauf des Clampversuches unter den beschriebenen kontrollierten Bedingungen auf die gewünschten Niveaus und wurden jeweils über 30 Minuten auf einem konstanten Niveau gehalten (Abb 4).

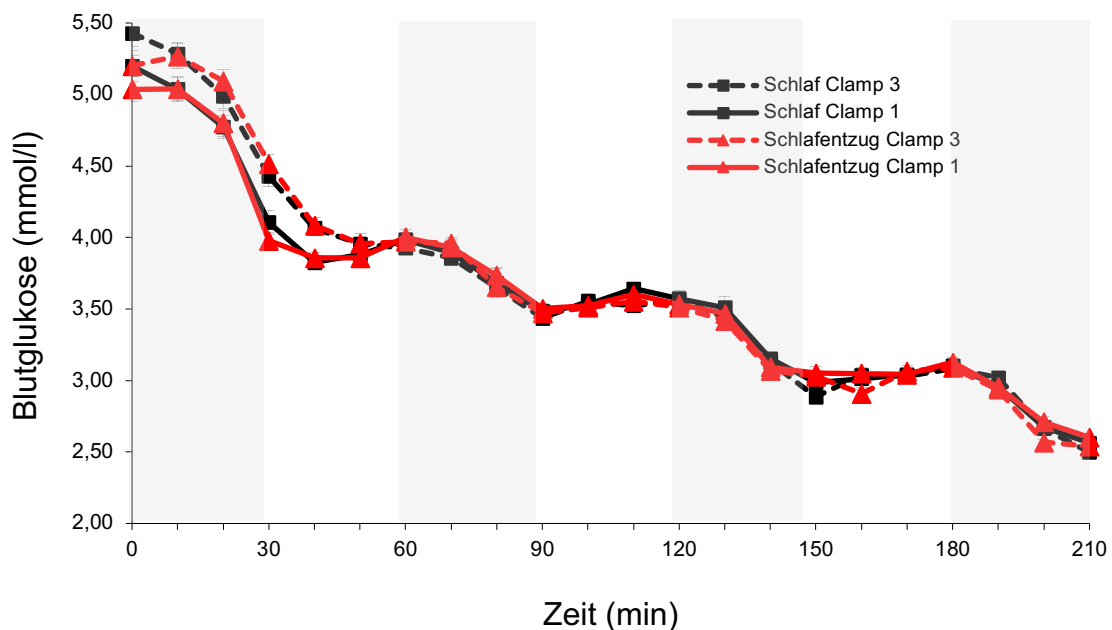


Abbildung 4: Blutglukosekonzentrationen während des Clampversuches (C1 vs. C3) in der Schlaf- und Schlafentzugs-Intervention

3.3 Hormone der Hypoglykämie-Gegenregulation

3.3.1 Glukagon

Die Glukagon-Basalwerte im Plasma waren zwischen den Bedingungen sehr ähnlich ($p=0,11$ im gepaarten t-Test). Allerdings unterschieden sich die Baselinewerte zwischen Clamp 1 und 3 in den Bedingungen deutlich voneinander ($p=0,03$ für den gepaarten t-Test der Bedingung „Schlaf“ und $p<0,01$ in der Bedingung „Schlafentzug“).

In C3 unter der Bedingung „Schlaf“ unterschieden sich die Glukagonkonzentrationen signifikant von den Glukagonkonzentrationen der anderen drei Clampversuche ($p=0,01$; Helmert contrast; Abb.5). Im Vergleich zu C1 war die Glukagonkonzentration in der Bedingung „Schlaf“ C3 signifikant niedriger ($p=0,01$; gepaarter t-Test). Unter der Bedingung „Schlafentzug“ gab es keinen signifikanten Unterschied ($p=0,29$; gepaarter t-Test).

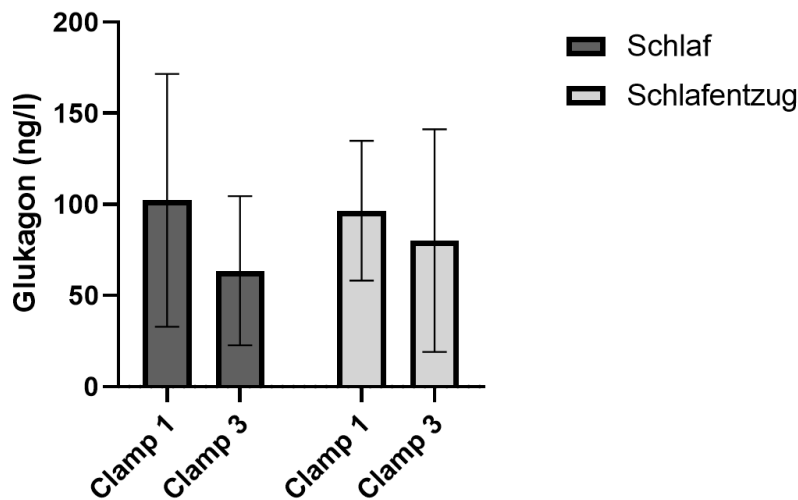


Abbildung 5: Glukagonkonzentrationen baseline-differenziert bei Minute 210 während des hypoglykämischen Clampversuches

3.3.2 Adrenalin

Zwischen den Basalwerten der AdrenalinKonzentration im Plasma (Clamp 1 vs. Clamp 3: $p=0,08$, gepaarter t-Test (Schlaf); $p=0,11$, gepaarter t-Test (Schlafentzug)) gab es keine signifikanten Unterschiede zwischen den Bedingungen. Des Weiteren wies auch der Vergleich der Baselinewerte innerhalb der Bedingungen ($p=0,26$ für den gepaarten t-Test) keine signifikanten Unterschiede auf.

Am Ende der Clampversuche gab es einen signifikanten Unterschied zwischen den AdrenalinKonzentrationen im Serum in C3 der Bedingung „Schlaf“ und den restlichen drei AdrenalinKonzentrationen im Plasma ($p<0,001$; Helmert contrast; Abb.6). Unter der Bedingung „Schlafentzug“ kam es zu keinem signifikanten Unterschied zwischen C1 und C3 ($p=0,22$, gepaarter t-Test). Während der Bedingung „Schlaf“ allerdings ließen sich signifikant niedrigere AdrenalinKonzentrationen im Plasma für C3 im Vergleich zu C1 verzeichnen ($p=0,01$, gepaarter t-Test).

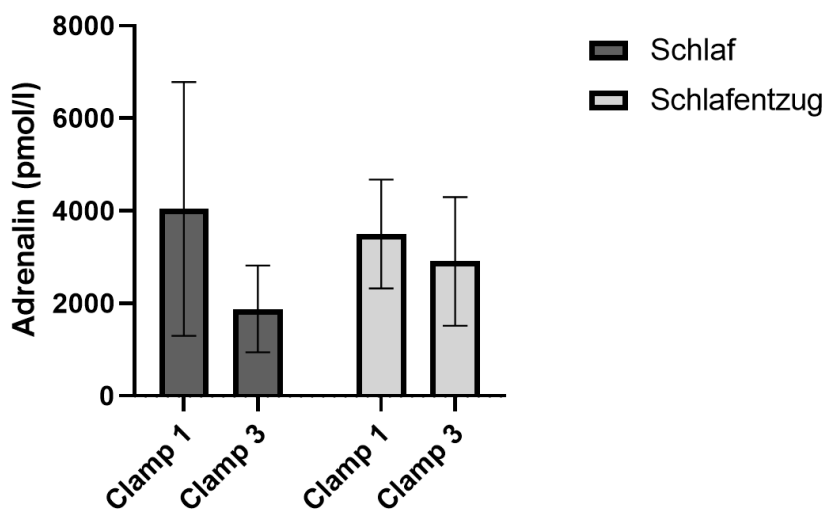


Abbildung 6: AdrenalinKonzentrationen baseline-differenziert bei Minute 210 während des hypoglykämischen Clampversuches

3.3.3 Noradrenalin

Die Unterschiede der basalen NoradrenalinKonzentrationen im Plasma waren in den morgendlichen Messungen einer Sitzung statistisch nicht signifikant, allerdings gab es hier einen Trend zu einer höheren NoradrenalinKonzentration in C1 im Vergleich zu C3 unter der Schlafbedingung ($p=0,07$ für Clamp 1 vs. 3 in der Bedingung „Schlaf“ und $p=0,79$ in der Bedingung „Schlafentzug“, gepaarter t-Test). Zwischen den Bedingungen gab es keinen Unterschied der basalen NoradrenalinKonzentrationen ($p=0,22$ für den gepaarten t-Test).

Die NoradrenalinKonzentrationen (Minute 210) des Clampversuches C3 in der Bedingung „Schlaf“ unterschied sich nicht signifikant von den anderen drei Clamps ($p=0,72$; Helmert contrast; Abb.7).

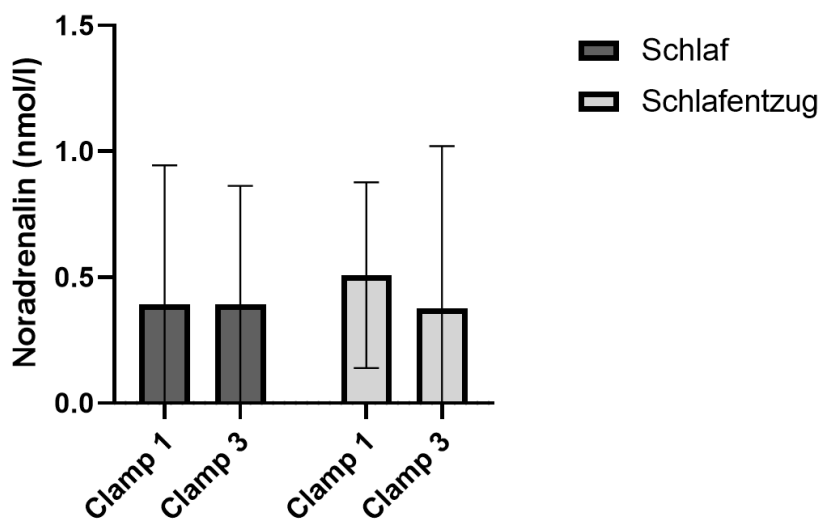


Abbildung 7: NoradrenalinKonzentrationen baseline-differenziert bei Minute 210 während des hypoglykämischen Clampversuches

3.3.4 Somatotropin

Die Basalwerte der Somatotropinkonzentration (GH) im Serum waren in der Bedingung „Schlaf“ annähernd gleich ($p=0,11$ für C1 vs. C3 in der Bedingung „Schlaf“; im gepaarten t-Test). In der Bedingung „Schlafentzug“ allerdings war ein signifikanter Unterschied zwischen den Basalwerten von Clamp 1 und Clamp 3 zu sehen ($p=0,04$ für den gepaarten t-Test). Zwischen den Bedingungen waren die Baselinewerte gut vergleichbar ($p=0,31$ für den gepaarten t-Test).

Die Somatotropinkonzentration bei Minute 210 in C3 (Bedingung „Schlaf“) unterschied sich signifikant von der Serumkonzentration der restlichen drei Clampversuche ($p=0,02$; Helmert contrast; Abb.8). Während es in der Bedingung „Schlafentzug“ keinen Unterschied der Somatotropinkonzentrationen zwischen C1 und C3 gab ($p=0,85$; gepaarter t-Test), war die Somatotropinkonzentrationen in der Bedingung „Schlaf“ in C1 signifikant höher als in C3 ($p=0,03$; gepaarter t-Test).

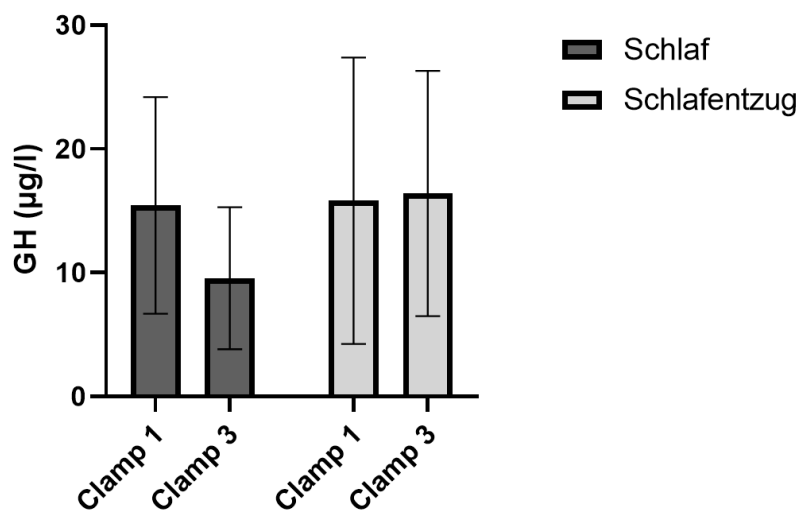


Abbildung 8: GH-Konzentrationen baseline-differenziert bei Minute 210 während des hypoglykämischen Clampversuches

3.3.5 Adrenocorticotropes Hormon

Für das adrenocorticotrope Hormon (ACTH) war weder zwischen den Bedingungen ($p=0,5$ im gepaarten t-Test) noch zwischen Clamp 1 (C1) und Clamp 3 (C3) innerhalb der Bedingungen ein signifikanter Unterschied in den Basalwerten zu verzeichnen ($p=0,77$ für die Bedingung „Schlaf“ im gepaarten t-Test und $p=0,58$ für die Bedingung „Schlafentzug“).

Die ACTH Plasmakonzentration am Ende von C3 unter der Bedingung „Schlaf“ unterschied sich signifikant von den anderen drei Clamps ($p=0,04$; Helmert contrast; Abb.9). Unter der Bedingung „Schlaf“ waren die ACTH Plasmakonzentrationen bei Minute 210 signifikant niedriger in C3 im Vergleich zu C1 ($p=0,04$, gepaarter t-Test). Unter Schlafentzug wurde ein Trend ($p=0,06$ im gepaarten t-Test) zu einer höheren ACTH Konzentration im Plasma in C1 verglichen mit C3 beobachtet.

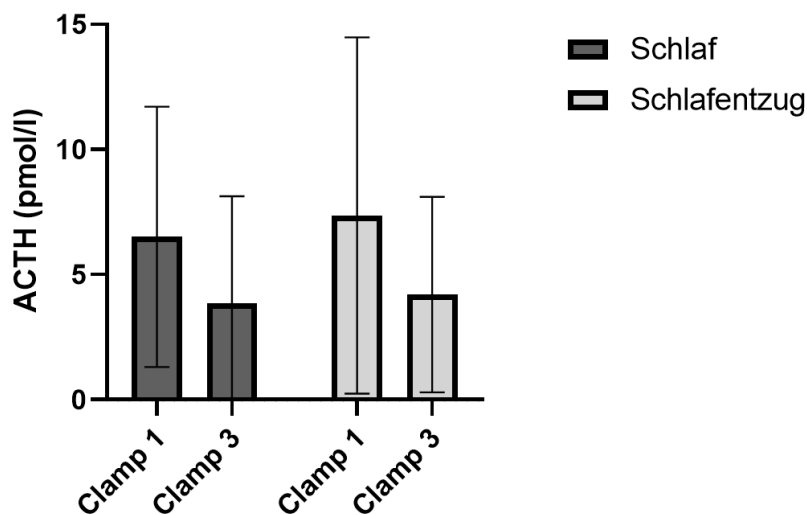


Abbildung 9: ACTH-Konzentrationen baseline-differenziert bei Minute 210 während des hypoglykämischen Clampversuches

3.3.6 Kortisol

Die Basalwerte der Kortisolkonzentration im Serum zeigten zwischen den beiden Bedingungen keine wesentlichen Unterschiede ($p=0,55$ im gepaarten t-Test). Auch innerhalb der Bedingungen blieben die Basalwerte gut vergleichbar ($p=0,28$ für die Bedingung „Schlaf“ und $p=0,62$ für die Bedingung „Schlafentzug“; gepaarter t-Test).

Die Kortisolkonzentration von C3 Bedingung „Schlaf“ (Minute 210) zeigte keine signifikanten Unterschiede zu den anderen drei Clampversuchen ($p=0,11$; Helmert contrast; Abb.10). In der Bedingung „Schlaf“ war jedoch ein Trend zu einer niedrigeren Kortisolkonzentration in C3 verglichen zu C1 zu verzeichnen ($p=0,06$; gepaarter t-Test „Schlaf“ und $p=0,14$; gepaarter t-Test „Schlafentzug“) welcher in der Bedingung Schlafentzug ausblieb.

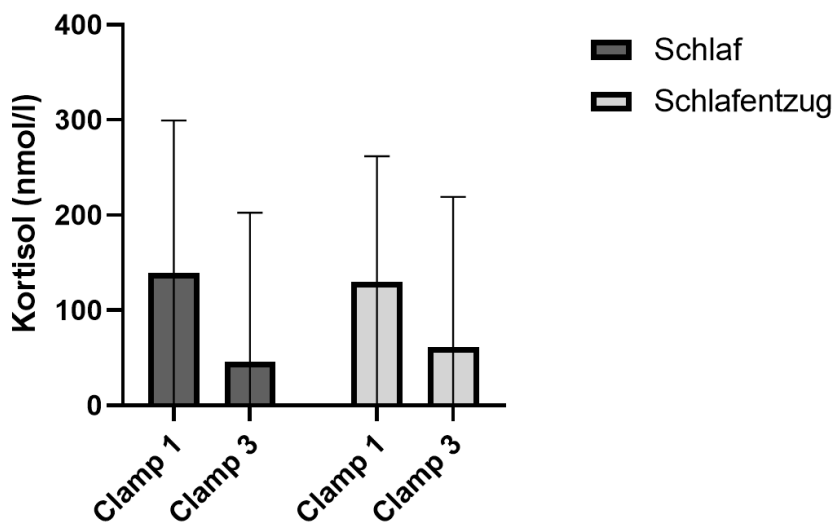


Abbildung 10: Kortisolkonzentrationen baseline-differenziert bei Minute 210 während des hypoglykämischen Clampversuches

4 Diskussion

Wir stellten die Hypothese auf, dass Schlaf nach einer stattgehabten Hypoglykämie Einfluss auf die metabolische Gegenregulation auf eine erneute Hypoglykämie hat. Wir verglichen hierfür die metabolische Reaktion auf eine iatrogen hervorgerufene Hypoglykämie nach einer Nacht unter komplettem Schlafentzug mit der metabolischen Reaktion nach einer Nacht mit physiologischem Schlaf.

Während unserer Versuche konnte die Blutglukosekonzentration mithilfe eines hyperinsulinämischen hypoglykämischen Clampversuchs auf abfallende Blutglukose-Plateaus reduziert werden. Die unter anderem bereits von Mitrakou et al. (1993) sowie Tesfaye und Seaquist (2010) beschriebene Reihenfolge der physiologischen Aktivierung der Hormone der Hypoglykämie-Gegenregulation auf den abfallenden Blutglukose-Plateaus konnte in unserer Studie bestätigt werden (Mitrakou et al. 1993; Tesfaye und Seaquist 2010).

Wie unter iatrogenem zugeführtem Insulin zu erwarten, konnte aufgrund der Hypoglykämie-Gegenregulation ein relevanter Anstieg der Hormone Glukagon-, Adrenalin-, Noradrenalin-, Somatotropin-, ACTH- und Kortisolkonzentrationen beobachtet werden (De Feo et al. 1989; Hoffman 2007; Rizza et al.). Unterschiede im Hinblick auf vorausgehende Studien ergaben sich beim gemessenen Blutglukoseniveau, auf welchem die Hormone der Gegenregulation vermehrt ausgeschüttet wurden. Die Blutglukosekonzentrationen, bei denen es zu einem signifikanten Anstieg der jeweiligen Hormone kam, waren in unserer Versuchsreihe tendenziell niedriger als in der vorliegenden Literatur (Mitrakou et al. 1991; Tesfaye und Seaquist 2010). Einen möglichen Erklärungsansatz könnten hier die unterschiedlichen multifaktoriellen Einflüsse, wie zum Beispiel die Probandenauswahl, die Geschwindigkeit des Glukosekonzentrationsabfalles oder die dem Versuch vorausgehenden Verhaltensmaßnahmen, bieten. Diese Einflüsse können, wie in der Literatur bereits gezeigt, einen relevanten Einfluss auf die Hypoglykämie nehmen (Mitrakou et al. 1993).

In den aufgeführten Untersuchungen zeigte sich bereits in den Basalwerten der Blutglukosekonzentrationen unter der Bedingung „Schlaf“ ein signifikanter Unterschied zwischen

Clamp 1 (vor der Intervention) und Clamp 3 (nach der Intervention). Die basale Blutglukosekonzentration war nach einer Nacht physiologischem Schlaf signifikant erhöht. Unter der Intervention „Schlafentzug“ war dieser Effekt nicht zu vermerken. Eine Erklärung hierfür wäre, dass unter der Bedingung „Schlafentzug“ der Anstieg der Blutglukosekonzentration zwischen Clamp 1 und Clamp 3 durch den erhöhten Energieumsatz während des Schlafentzugs ausgeglichen wird (Broussard et al. 2015; Jung et al. 2011). Es ist davon auszugehen, dass der Energieverbrauch des zentralen Nervensystems und auch der anderen Organe während der Schlafentzugsbedingung aufgrund der verlängerten Wachphase im Vergleich zur Schlafbedingung deutlich erhöht war (Furman 2011; Jiang und Zhang 2003). Im Gegensatz dazu stellt Schlaf, insbesondere Tiefschlaf, eine Zeitphase dar, in welcher der zerebrale Glukosebedarf deutlich reduziert ist (Maquet 1995; Maquet et al. 1990).

Bis auf die Glukagon- und Somatotropinkonzentrationen waren die Basalwerte der Hormone der Hypoglykämie-Gegenregulation sowohl zwischen den Bedingungen als auch innerhalb der Bedingungen gleich. Die erhöhten Basalwerte des Glukagons und des Somatotropins nach Schlafentzug sind möglicherweise auf die zentrale Rolle der beiden Hormone in der Energieversorgung des Körpers im katabolen Zustand zurückzuführen (Furman 2011; Jiang und Zhang 2003; Kleinert et al. 2019). So ist die Ausschüttung des Hormons Glukagon aus den α -Zellen des Pankreas einer der stärksten Stimuli der hepatischen Glukoneogenese und würde die morgendliche Hypoglykämie im nüchternen Zustand effizient verhindern (Furman 2011; Rizza et al. 2008). Dies könnte die erhöhte Ausschüttung, insbesondere des Glukagons, dem entscheidendsten Gegenspieler der Hypoglykämie-Gegenregulation, nach Schlafentzug erklären.

Obwohl in der Literatur mehrfach beschrieben ist, dass Schlafstörungen beziehungsweise Schlafentzug die Kortisolausschüttung deutlich erhöhen (van Dalen und Markus 2018; Morgan et al. 2017), konnte diese Beobachtung bei Betrachtung der Kortisol-Basalwerte nicht bestätigt werden. Zwischen den Bedingungen und innerhalb der Bedingungen gab es zwischen den Kortisol-Basalwerten keine statistisch signifikanten Unterschiede. In der Studie von Schmid et al. (2007), welche ein ähnliches Design wie die vorliegende Studie aufwies, waren die Kortisol-Basalwerte nach einer Nacht Schlafentzug sogar deutlich suppri-

miert. Hier könnten womöglich der Zeitpunkt der Blutentnahmen sowie die jeweiligen Versuchsbedingungen einen wesentlichen Einfluss gehabt haben. Ein möglicher Erklärungsansatz wäre, dass sich die circadiane Kortisolausschüttung, welche direkt im Anschluss an das Erwachen (unter der Bedingung „Schlaf“) am ausgeprägtesten ist und unter der Bedingung „Schlafentzug“ ausbleibt, zwischen den Bedingungen Schlaf- und Schlafentzug bereits physiologisch relevant unterscheidet (Bhake et al. 2019; Opstad 1994; Zhang et al. 2011). Da das Erwachen also direkt mit einem Kortisolanstieg assoziiert ist, ist es möglich, dass dieser Anstieg unter der Bedingung „Schlafentzug“ aufgrund des fehlenden Stimulus des Erwachens ausbleibt und somit nur eingeschränkt eine Aussage über die Kortisol-Basalwerte nach den unterschiedlichen Interventionen getroffen werden kann. Aufgrund der einmaligen Intervention in Form von einer Nacht Schlaf bzw. Schlafentzug kann - ausgehend von unseren Ergebnissen - keine Aussage über eine langfristige bzw. wiederholte Einflussnahme von Schlafentzug auf die Homöostase bzw. Kortisolausschüttung getroffen werden.

Den Kernpunkt unserer Arbeit bildet schließlich die relevante Beobachtung, dass die Blutkonzentrationen der Hormone Glukagon, Adrenalin, Somatotropin und ACTH während Clamp 3 der Schlafbedingung im Vergleich zu den anderen drei Clamps einen signifikant abgeschwächten Anstieg der Hormonkonzentration zeigten und dass Schlafentzug wiederum diese Adaptation verhindern könnte.

Eine zunehmende Anzahl von Studien gibt Hinweise auf die besondere Rolle von Schlaf auf die hormonelle Regulation des Energiehaushaltes. So konnten Schmid et al. (2015) darlegen, dass Schlafentzug das neuroendokrine System wesentlich beeinflusst und somit schädliche metabolische Effekte hervorrufen kann, die zur Ausbildung von Adipositas und Typ 2 Diabetes führen können (Kawakami et al. 2004; Nilsson et al. 2004; Schmid et al. 2007; Schmid et al. 2015). Zudem legen zahlreiche Studien den Zusammenhang zwischen Schlaf und psychischer sowie immunologischer Gedächtnisbildung nahe (Besedovsky et al. 2012; Rasch und Born 2013; Diekelmann et al. 2009).

Unsere Studie erweitert nun diese Erkenntnisse, indem sie Hinweis auf die Richtigkeit unserer Hypothese gibt, dass Schlaf einen signifikanten Einfluss auf die Hormone der Hypoglykämie-Gegenregulation und somit auf die metabolische Gedächtnisbildung ausübt. Bezogen auf unsere Ergebnisse bedeutet das, dass Schlaf nach einer erlebten Hypoglykämie zu einer

Adaptation der Hypoglykämie-Gegenregulation führt. Somit wären die betroffenen Individuen im täglichen Leben aufgrund der verringerten Gegenregulation der erhöhten Gefahr einer potentiell lebensbedrohlichen Hypoglykämie ausgesetzt. Bei Patienten mit Typ 1 Diabetes, bei denen die erste Stufe der Hypoglykämie-Gegenregulation im Sinne der Abnahme der endogenen Insulinsekretion entfällt und die somit auf die beiden wichtigsten Hormone der Hypoglykämie-Gegenregulation Glukagon und Adrenalin angewiesen sind, könnte diese Erkenntnis von entscheidender Bedeutung sein (Boyle et al. 1989; Cryer und Gerich 1983). Dies ist besonders von Relevanz, da die bei Patienten mit Diabetes Typ 1 erloschene Insulinregulation einer der entscheidendsten Stimulatoren der Glukagonsekretion darstellt und somit per se die Hypoglykämie-Gegenregulation bei diesen Patienten bereits abschwächt ist (Fukuda et al. 1988).

Das Ergebnis unserer Studie deutet darauf hin, dass Schlaf einen direkten Einfluss auf die metabolische Gedächtnisbildung ausübt und somit wahrscheinlich einen relevanten Aspekt bei der Ausbildung einer Hypoglykämiewahrnehmungsstörung bildet (Amiel 2021; Iciar 2015). Es bestünde die Möglichkeit, dass die abgeschwächte Sekretion u. a. des Hormons Adrenalin zu einer geringer ausgeprägten autonomen Symptomatik führt und somit bei den betroffenen Individuen eine reduzierte Wahrnehmung der einsetzenden Hypoglykämien verursacht.

Die Kortisol- und NoradrenalinKonzentrationen zeigten in unserer Studie im Vergleich zu den anderen untersuchten Hormonen eine andere Dynamik. Hier entwickelte sich bei Erreichen des niedrigsten Blutglukose-Plateaus unter keinem der vier Clamps ein statistisch signifikanter Unterschied der Noradrenalin- bzw. der Kortisolkonzentration.

Obwohl es unter der Bedingung „Schlaf“ einen signifikant abgeschwächten Anstieg der AdrenalinKonzentration in Clamp 3 im Vergleich zu Clamp 1 gab, welcher in der Schlafentzugsbedingung ausblieb, gab es in den NoradrenalinKonzentrationen keinen signifikanten Unterschied. Diese Dynamik ist nicht überraschend, da Noradrenalin im Vergleich zu Adrenalin, in der Gegenregulation der Hypoglykämie eine untergeordnete Rolle spielt (Boyle et al. 1989; Cryer et al. 1984; Rizza et al. 2008). In Anbetracht dessen, dass Kortisol seine Funktion als Hormon der Hypoglykämie-Gegenregulation erst bei schweren, protrahierten

Hypoglykämien (Gerich et al. 1980) ausübt, besteht die Möglichkeit, dass die Dauer beziehungsweise die Intensität der durchgeführten Clampversuche in unserem Studiendesign nicht ausreichend war, um eine adäquate Kortisol-Reaktion auszulösen. In zukünftigen Studien sollte geklärt werden, ob mit zunehmender Dauer der Hypoglykämie die Kortisol-Blutkonzentration ähnlichen Adaptationsmechanismen folgt wie die übrigen Hormone der Hypoglykämie-Gegenregulation.

Um potenzielle multifaktorielle Störfaktoren einer metabolischen Reaktion möglichst gering zu halten, verliefen unsere Versuche hochstandardisiert. So wurden unsere Probanden darauf hingewiesen, vor Versuchsbeginn körperliche Anstrengung zu meiden und einem regelmäßigen Schlafrhythmus zu folgen. Zudem erfolgten zum Versuchsaufbau notwendige Schmerzreize, welche eine Stressreaktion auslösen könnten (wie die Anlage einer Verweilkanüle), in zeitlichem Abstand zu den Blutentnahmen bzw. dem Versuchsbeginn. Des Weiteren wurden die Patienten während des Versuches in einem schalldichten Raum untergebracht, um externe Einflüsse zu vermeiden. Jeglicher Kontakt nach außen (mittels telefonischer Kommunikation oder Internetverbindung) wurde unterbunden. Kaffeekonsum und andere den Schlafrhythmus modulierende Einflüsse wurden untersagt. Während der Schlafentzugsbedingung wurde ein Mitarbeiter damit beauftragt, die Probanden möglichst stressfrei wach zu halten.

Im Hinblick auf den Aufbau unserer Studie ist einzuräumen, dass eine größere Population wünschenswert gewesen wäre, um noch validere Ergebnisse zu erhalten. Während die Probandenzahl dieser Studie den durchschnittlichen Fallzahlen einer vergleichbaren Interventionsstudie im Schlaflabor entspricht, ist prinzipiell das Risiko einer Stichprobenverzerrung nicht ausgeschlossen und könnte durch eine Untersuchung einer größeren Population minimiert werden.

Wir beschränkten den Probandenpool auf junge Probanden, um Störgrößen wie Altern und Komorbiditäten zu vermeiden. Bei einem älteren Probandenpool wird in der Literatur zum Beispiel die Aktivierung der hormonellen Gegenregulation bereits bei deutlich niedrigeren Blutglukosewerten beschrieben (Matyka et al. 1997).

Die Beschränkung des Probandenpools auf lediglich männliche Probanden erlaubt bislang keine sicheren Rückschlüsse über Veränderungen der Hormonhomöostase bei Frauen. In

mehreren Studien wurde bereits der Zusammenhang zwischen Östrogen und einem veränderten Schlafrhythmus und dem damit zusammenhängenden Effekt auf die Gedächtnisbildung bei jungen gesunden Frauen beschrieben (Brown und Gervais 2020; Gervais et al. 2017; Mong und Cusmano 2016). Auch eine bessere Insulinsensitivität wurde bei Frauen auf einen Östrogeneffekt zurückgeführt. Somit konnte zum Beispiel gezeigt werden, dass prämenopausale Frauen weniger gefährdet sind, an einem Diabetes mellitus Typ 2 zu erkranken (Bonds et al. 2006; Mauvais-Jarvis et al. 2013). Hormonelle oder anderweitig geschlechtsspezifische Einflüsse könnten auch in der Dynamik des metabolischen Gedächtnisses eine Rolle spielen und sollten in kommenden Studien berücksichtigt werden.

Unsere Ergebnisse könnten in Zukunft Auswirkungen auf mögliche Therapiekonzepte zur Vermeidung der potentiell lebensbedrohlichen Entwicklung einer Hypoglykämiewahrnehmungsstörung haben (Clarke et al. 1995; Papatheodorou et al. 2018). So wäre zum Beispiel ein prophylaktischer Schlafentzug als therapeutische Maßnahme nach erlebter Hypoglykämie zur Vermeidung einer verminderten metabolischen Gegenregulation als Verhaltensmaßnahme denkbar. Hierfür müssten sich noch weitere Studien damit befassen, ob es sich bei diesem Effekt nur um eine kurzzeitige Reaktion handelt oder ob das von uns beobachtete Ergebnis tatsächlich längerfristige Auswirkungen auf das metabolische Gedächtnis hat. Maßgeblich für den Erfolg von prophylaktischem Schlafentzug in der Diabetes-Therapie ist also die Determinierung von Einflussfaktoren wie der Dauer des Schlafentzugs, dessen Abstands zur erlebten Hypoglykämie, der Wiederholbarkeit der Intervention und der Persistenz des Effekts auch nach konsekutivem Schlaf. Zudem wäre es interessant zu untersuchen, ob die metabolische Gedächtnisbildung, ähnlich wie die deklarative und prozedurale Gedächtnisbildung, bestimmten Schlafphasen zuzuordnen ist. Hierfür wäre zum Beispiel ein Versuchsmodell mit partiellem Schlafentzug denkbar.

Die Frage nach weiteren Faktoren, die für die Ausbildung einer solchen Wahrnehmungsstörung verantwortlich sind, ist zum aktuellen Zeitpunkt noch Mittelpunkt zahlreicher Studien. So haben zum Beispiel Schouwenberg und De Galan (2018) in ihren Studien Hinweise darauf geliefert, dass auch genetische Faktoren bei Patienten mit Diabetes Typ 1 eine Rolle in der Entwicklung der Hypoglykämiewahrnehmungsstörung spielen könnten (Schouwenberg und De Galan 2018).

Im Hinblick auf weitere therapeutische Ansätze wäre es ebenfalls interessant die molekularen Mechanismen der metabolischen Gedächtnisbildung zu untersuchen und näher zu verstehen, um dann im weiteren Schritt zu versuchen, die postulierten, protektiven Effekte von Schlafentzug pharmakologisch zu imitieren (Drzewoski et al. 2009).

5 Zusammenfassung

Das Phänomen der verringerten metabolischen Gegenregulation als Teil der Hypoglykämie-Wahrnehmungsstörung ist mitursächlich für zahlreiche tödlich verlaufende Krankheitsverläufe bei insulinpflichtigen Patienten mit Diabetes.

Wir untersuchten den Einfluss von Schlaf bzw. Schlafentzug auf die metabolische Gedächtnisbildung und die darauffolgende metabolische Gegenregulation auf eine rezidivierende Hypoglykämie. Dabei wurde die Hypothese getestet, dass Schlaf die metabolische Gedächtnisbildung konsolidiert und somit zu einer verringerten Gegenregulation und Wahrnehmung der Hypoglykämie führt.

Jeder der 15 gesunden, männlichen Probanden wurde unter zwei Bedingungen (Schlaf und Schlafentzug) im Rahmen eines zweitägigen Versuchsaufbaus untersucht. Die Probanden wurden jeweils an dem Tag vor und dem Tag nach der nächtlichen Intervention einem hyperinsulinämischen hypoglykämischen Clampversuch von einer Dauer von 4,5 Stunden bis auf eine Blutglukosekonzentration von 45 mg/dl unterzogen. Mit dem Ziel einer Induktion erfolgte zudem zwischen dem 1. und dem 3. Clampversuch am Folgetag eine erneute 2,5-stündige iatrogene Hypoglykämie vor der Intervention auf eine Blutglukosekonzentration von 50 mg/dl.

Nach physiologischem Schlaf konnte im Vergleich zu Schlafentzug eine statistisch signifikant abweichende metabolische Gegenregulation auf eine erneute Hypoglykämie bei ansonsten vergleichbaren Blutglukose- und Insulinkonzentrationen festgestellt werden. Vor allem die Glukagon-, Adrenalin-, ACTH und Somatotropinkonzentrationen zeigten sich in der statistischen Analyse nach der Intervention Schlaf während der wiederholten Antwort auf die Hypoglykämie signifikant abgeschwächt.

Zusammenfassend sehen wir Schlaf als einen wesentlichen Bestandteil der metabolischen Gedächtnisbildung und als relevanten Faktor in der komplexen metabolischen Antwort zur Aufrechterhaltung des Glukosestoffwechsels und damit als entscheidenden Faktor für einen potentiellen innovativen Therapieansatz. So könnte Schlafentzug in Zukunft einen wichtigen Therapieansatz für die Aufrechterhaltung der Hypoglykämie-Gegenregulation darstellen

und der oft beobachteten Entwicklung einer Hypoglykämiewahrnehmungsstörung entgegenwirken. Dies erfordert jedoch weiterer Untersuchungen und eine Bestätigung der Ergebnisse in größeren und diverseren Populationen.

6 Literaturverzeichnis

- American Diabetes Association. 2005. "Defining and Reporting Hypoglycemia in Diabetes." *Diabetes Care*.
- Amiel, S. A., Sherwin, R. S., Simonson, D. C. and Tamborlane, W. V. 1988. "Effect of Intensive Insulin Therapy on Glycemic Thresholds for Counterregulatory Hormone Release." *Diabetes*.
- Amiel, S. A. 2021. "The Consequences of Hypoglycaemia." *Diabetologia*.
- Anothaisintawee, T., Reutrakul, S., Van Cauter, E. and Thakkinstian, A. 2016. "Sleep Disturbances Compared to Traditional Risk Factors for Diabetes Development: Systematic Review and Meta-Analysis." *Sleep Medicine Reviews*.
- Barrett, T. R. and Ekstrand, B. R. 1972. "Effect of Sleep on Memory: III. Controlling for Time-of-Day Effects." *Journal of Experimental Psychology*.
- Besedovsky, L., Lange, T. and Born, J. 2012. "Sleep and Immune Function." *Pflugers Archiv European Journal of Physiology*.
- Bhake, R. C. et al. 2019. "Continuous Free Cortisol Profiles - Circadian Rhythms in Healthy Men." *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*.
- Bianchi, C. and del Prato, S. 2011. "Metabolic Memory and Individual Treatment Aims in Type 2 Diabetes - Outcome-Lessons Learned from Large Clinical Trials." *Review of Diabetic Studies*.
- Born, J. and Rasch, B. 2013. "About Sleep's role in memory." *Physiol Rev*.
- Bonds, D. E. et al. 2006. "The Effect of Conjugated Equine Oestrogen on Diabetes Incidence: The Women's Health Initiative Randomised Trial." *Diabetologia*.
- Born, J., Rasch, B. and Gais, S. 2006. "Sleep to Remember." *Neuroscientist*.
- Boyle, P. J., Shah, S. D. and Cryer, P. E. 1989. "Insulin, Glucagon, and Catecholamines in Prevention of Hypoglycemia during Fasting." *American Journal of Physiology - Endocrinology and Metabolism*.
- Broussard, J. L. et al. 2015. "Sleep Restriction Increases Free Fatty Acids in Healthy Men." *Diabetologia*.
- Brown, A. M. C. and Gervais, N. J. 2020. "Role of Ovarian Hormones in the Modulation of Sleep in Females across the Adult Lifespan." *Endocrinology (United States)*.

- Bruen, D., Delaney, C., Florea, L. and Diamond, D. 2017. "Glucose Sensing for Diabetes Monitoring: Recent Developments." *Sensors (Switzerland)*.
- Van Cauter, E., Spiegel, K., Tasali, E. and Leproult, R. 2008. "Metabolic Consequences of Sleep and Sleep Loss." *Sleep Medicine*.
- Cersosimo, E., Garlick, P. and Ferretti, J. 1999. "Renal Glucose Production during Insulin-Induced Hypoglycemia in Humans." *Diabetes*.
- Chalmers J, Cooper ME. 2008. UKPDS and the legacy effect. *N Engl J Med*.
- Chatterjee, S., Khunti, K. and Davies, M. J. 2017. "Type 2 Diabetes." *The Lancet*.
- Clarke, W. L. et al. 1995. "Reduced Awareness of Hypoglycemia in Adults with IDDM: A Prospective Study of Hypoglycemic Frequency and Associated Symptoms." *Diabetes Care*.
- Copeland, K. C. 1996. "Metabolic Effects of Growth Hormone on Protein and Lipids." In *Clinical Pediatric Endocrinology*,.
- Crouter, S. E., Churilla, J. R., and Bassett, D. R. 2008. "Accuracy of the Actiheart for the Assessment of Energy Expenditure in Adults." *European Journal of Clinical Nutrition*.
- Cryer, P. E. 1994. "Hypoglycemia: The Limiting Factor in the Management of IDDM." In *Diabetes*,.
- Cryer, P. E. and Gerich, J. E. 1983. "Relevance of Glucose Counterregulatory Systems to Patients with Diabetes: Critical Roles of Glucagon and Epinephrine." *Diabetes Care*.
- Cryer, P. E., Tse, T. F., Clutter, W. E. and Shah, S. D. 1984. "Roles of Glucagon and Epinephrine in Hypoglycemic and Nonhypoglycemic Glucose Counterregulation in Humans." *American Journal of Physiology - Endocrinology and Metabolism*.
- Cryer, P. E. 2005. "Mechanisms of Hypoglycemia-Associated Autonomic Failure and Its Component Syndromes in Diabetes." *Diabetes*.
- Cryer, P.E. 2006. "Mechanisms of Sympathoadrenal Failure and Hypoglycemia in Diabetes." *Journal of Clinical Investigation*.
- Dagogo-Jack, S. E., Craft, S. and Cryer, P. E. 1993. "Hypoglycemia-Associated Autonomic Failure in Insulin-Dependent Diabetes Mellitus. Recent Antecedent Hypoglycemia Reduces Autonomic Responses to, Symptoms of, and Defense against Subsequent Hypoglycemia." *Journal of Clinical Investigation*.
- Dahl, R. E. et al. 2012. "Sleep Duration and Insulin Resistance in Healthy Black and White Adolescents." *Sleep*.

- Van Dalen, J. H. and Markus, C. R. 2018. "The Influence of Sleep on Human Hypothalamic–Pituitary–Adrenal (HPA) Axis Reactivity: A Systematic Review." *Sleep Medicine Reviews*.
- Davis, M. R., Mellman, M. and Shamon, H. 1992. "Further Defects in Counterregulatory Responses Induced by Recurrent Hypoglycemia in IDDM." *Diabetes*.
- Davis, M. R. and Shamon, H. 1991. "Deficient Counterregulatory Hormone Responses during Hypoglycemia in a Patient with Insulinoma." *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*.
- Davis, S. N., Shavers, C., Mosqueda-Garcia, R. and Costa, F. 1997. "Effects of Differing Antecedent Hypoglycemia on Subsequent Counterregulation in Normal Humans." *Diabetes*.
- Diekelmann, S. and Born, J. 2010. "The Memory Function of Sleep." *Nature Reviews Neuroscience*.
- Diekelmann, S., Wilhelm, I. and Born, J. 2009. "The Whats and Whens of Sleep-Dependent Memory Consolidation." *Sleep Medicine Reviews*.
- DiMeglio, L. A., Evans-Molina, C. and Oram, R. A. 2018. "Type 1 Diabetes." *The Lancet*.
- Drzewoski, J., Kasznicki, J. and Trojanowski, Z. 2009. "The Role of 'Metabolic Memory' in the Natural History of Diabetes Mellitus." *Polskie Archiwum Medycyny Wewnętrznej*.
- Dunger, D., Yuen, K. and Salgin, B. 2007. "Growth Hormone Effects on Glucose Metabolism." In *Hormone Research*.
- Ellenbogen, J. M. et al. 2007. "Human Relational Memory Requires Time and Sleep." *Proceedings of the National Academy of Sciences*.
- Fanelli, C. et al. 1994. "Long-Term Recovery from Unawareness, Deficient Counterregulation and Lack of Cognitive Dysfunction during Hypoglycaemia, Following Institution of Rational, Intensive Insulin Therapy in IDDM." *Diabetologia*.
- De Feo, P et al. 1989. "Contribution of Cortisol to Glucose Counterregulation in Humans." *The American journal of physiology*.
- Fischer, S., Hallschmid, M., Elsner, A. L. and Born, J. 2002. "Sleep Forms Memory for Finger Skills." *Proceedings of the National Academy of Sciences*.
- Flier, J. S. et al. 1992. "Carbohydrate Metabolism in Non-Insulin-Dependent Diabetes Mellitus." *New England Journal of Medicine*.
- Freeland, B. 2017. "Hypoglycemia in Diabetes Mellitus." *Home Healthcare Now*.

- Fukuda, M. et al. 1988. "Correlation between Minimal Secretory Capacity of Pancreatic β -Cells and Stability of Diabetic Control." *Diabetes*.
- Furman, B. L. 2011. "Glucagon." In *XPharm: The Comprehensive Pharmacology Reference*,.
- Gais, S., Lucas, B. and Born, J. 2006. "Sleep after Learning Aids Memory Recall." *Learning and Memory*.
- Gerich, J., Cryer, P.E. and Rizza, R. 1980. "Hormonal Mechanisms in Acute Glucose Counterregulation: The Relative Roles of Glucagon, Epinephrine, Norepinephrine, Growth Hormone, and Cortisol." *Metabolism: Clinical and Experimental*.
- Gervais, N. J., Mong, J. A. and Lacreuse, A. 2017. "Ovarian Hormones, Sleep and Cognition across the Adult Female Lifespan: An Integrated Perspective." *Frontiers in Neuroendocrinology*.
- Gittleson, N. L. 1956. "Addison's Disease Presenting in Hypoglycaemic Coma." *British Medical Journal*.
- Grant, C. S. 2013. "Insulinoma." In *Brenner's Encyclopedia of Genetics: Second Edition*,.
- Hamet, P. 2012. "What Matters in ADVANCE and ADVANCE-ON." *Diabetes, Obesity and Metabolism*.
- Havel, P. J. and Ahren, B. 1997. "Activation of Autonomic Nerves and the Adrenal Medulla Contributes to Increased Glucagon Secretion during Moderate Insulin-Induced Hypoglycemia in Women." *Diabetes*.
- Heller, S. R. and Cryer, P. E. 1991. "Reduced Neuroendocrine and Symptomatic Responses to Subsequent Hypoglycemia after 1 Episode of Hypoglycemia in Nondiabetic Humans." *Diabetes*.
- Hennevin, E., Hars, B., Maho, C. and Bloch, V. 1995. "Processing of Learned Information in Paradoxical Sleep: Relevance for Memory." *Behavioural Brain Research*.
- Henriksen, J. E. et al. 1999. "Intracellular Skeletal Muscle Glucose Metabolism Is Differentially Altered by Dexamethasone Treatment of Normoglycemic Relatives of Type 2 Diabetic Patients." *Metabolism: Clinical and Experimental*.
- De Herder, W. W. et al. 2007. "Well-Differentiated Pancreatic Tumor/Carcinoma: Insulinoma." In *Neuroendocrinology*,.
- Hoffman, R. P. 2007. "Sympathetic Mechanisms of Hypoglycemic Counterregulation." *Current Diabetes Reviews*.

- Hoffman, R. P. 2006. "Antecedent Hypoglycemia Does Not Alter Increased Epinephrine-Induced Lipolysis in Type 1 Diabetes Mellitus." *Metabolism: Clinical and Experimental*.
- Holman, R. R. et al. 2008. "10-Year Follow-up of Intensive Glucose Control in Type 2 Diabetes." *New England Journal of Medicine*.
- Hwang, J. J. et al. 2018. "Hypoglycemia Unawareness in Type 1 Diabetes Suppresses Brain Responses to Hypoglycemia." *Journal of Clinical Investigation*.
- Iciar, M.-T. 2015. "Mechanisms of Hypoglycemia Unawareness and Implications in Diabetic Patients." *World Journal of Diabetes*.
- Jiang, G. and Zhang, B. B. 2003. "Glucagon and Regulation of Glucose Metabolism." *American Journal of Physiology - Endocrinology And Metabolism*.
- Jung, C. M. et al. 2011. "Energy Expenditure during Sleep, Sleep Deprivation and Sleep Following Sleep Deprivation in Adult Humans." *Journal of Physiology*.
- Kawakami, N., Takatsuka, N. and Shimizu, H. 2004. "Sleep Disturbance and Onset of Type 2 Diabetes [11]." *Diabetes Care*.
- Klein, R. 2010. "Intensive Treatment of Hyperglycaemia: ACCORD." *The Lancet*.
- Kleinert, M. et al. 2019. "Glucagon Regulation of Energy Expenditure." *International Journal of Molecular Sciences*.
- Knutson, K. et al. 2005. "Sleep Loss: A Novel Risk Factor for Insulin Resistance and Type 2 Diabetes." *Journal of Applied Physiology*.
- Korman, M. et al. 2007. "Daytime Sleep Condenses the Time Course of Motor Memory Consolidation." *Nature Neuroscience*.
- Lahl, O., Wispel, C., Willigens, B. and Pietrowsky, R. 2008. "An Ultra Short Episode of Sleep Is Sufficient to Promote Declarative Memory Performance." *Journal of Sleep Research*.
- Lange, T., Perras, B., Fehm, H. L. and Born, J. 2003. "Sleep Enhances the Human Antibody Response to Hepatitis A Vaccination." *Psychosomatic Medicine*.
- Liu, D. et al. 1992. "Arterial, Arterialized Venous, Venous and Capillary Blood Glucose Measurements in Normal Man during Hyperinsulinaemic Euglycaemia and Hypoglycaemia." *Diabetologia*.
- Manolopoulos, K. N. et al. 2017. "Acute Hypercortisolemia Exerts Depot-Specific Effects on Abdominal and Femoral Adipose Tissue Function." *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*.

- Maquet, P. 1995. "Sleep Function(s) and Cerebral Metabolism." *Behavioural Brain Research*.
- Maquet, P. 2001. "The Role of Sleep in Learning and Memory." *Science*.
- Marty, N., Dallaporta, M. and Thorens, B. 2007. "Brain Glucose Sensing, Counterregulation, and Energy Homeostasis." *Physiology*.
- Matthews, K. A., Hall, M. and Dahl, R. E. 2014. "Sleep in Healthy Black and White Adolescents." *Pediatrics*.
- Matyka, K. et al. 1997. "Altered Hierarchy of Protective Responses against Severe Hypoglycemia in Normal Aging in Healthy Men." *Diabetes Care*.
- Mauvais-Jarvis, F., Clegg, D. J. and Hevener, A. L. 2013. "The Role of Estrogens in Control of Energy Balance and Glucose Homeostasis." *Endocrine Reviews*.
- McCall, A. L. 2012. "Insulin Therapy and Hypoglycemia." *Endocrinology and Metabolism Clinics of North America*.
- McCoy, R. G. et al. 2012. "Increased Mortality of Patients with Diabetes Reporting Severe Hypoglycemia." *Diabetes Care*.
- Melmed, S. et al. 2016. Williams textbook of endocrinology (13 ed.). *Elsevier*. pp. 1582-1607.
- Mergenthaler, P., Lindauer, U., Dienel, G. A. and Meisel, A. 2013. "Sugar for the Brain: The Role of Glucose in Physiological and Pathological Brain Function." *Trends in Neurosciences*.
- Misra, A. and Bloomgarden, Z. 2018. "Metabolic Memory: Evolving Concepts." *Journal of Diabetes*.
- Mitrakou, A. et al. 1993. "Influence of Plasma Glucose Rate of Decrease on Hierarchy of Responses to Hypoglycemia." *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*.
- Mitrakou, A. et al. 1991. "Hierarchy of Glycemic Thresholds for Counterregulatory Hormone Secretion, Symptoms, and Cerebral Dysfunction." *The American journal of physiology*.
- Mokan, M. et al. 1994. "Hypoglycemia Unawareness in IDDM." *Diabetes Care*.
- Mong, J. A. and Cusmano, D. M. 2016. "Sex Differences in Sleep: Impact of Biological Sex and Sex Steroids." *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*.
- Morgan, E. et al. 2017. "Sleep Characteristics and Daytime Cortisol Levels in Older Adults." *Sleep*.

- Morselli, L. L., Guyon, A. and Spiegel, K. 2012. "Sleep and Metabolic Function." *Pflugers Archiv European Journal of Physiology*.
- Muneer, M. 2021. "Hypoglycaemia." In *Advances in Experimental Medicine and Biology*.
- Nilsson, P. M. et al. 2004. "Incidence of Diabetes in Middle-Aged Men Is Related to Sleep Disturbances." *Diabetes Care*.
- Opstad, P. K. 1994. "Circadian Rhythm of Hormones Is Extinguished during Prolonged Physical Stress, Sleep and Energy Deficiency in Young Men." *European Journal of Endocrinology*.
- Ortiz, M. R. 2017. "Hypoglycemia in Diabetes." *Nursing Clinics of North America*.
- Papatheodorou, K. et al. 2018. "Complications of Diabetes 2017." *Journal of Diabetes Research*.
- Patel, A., Chalmers, J. and Poulter, N. 2005. "ADVANCE: Action in Diabetes and Vascular Disease." *Journal of Human Hypertension*.
- Peters, A. 2011. "The Selfish Brain: Competition for Energy Resources." *American Journal of Human Biology*.
- Plihal, W. and Born, J. 1999. "Effects of Early and Late Nocturnal Sleep on Priming and Spatial Memory." *Psychophysiology*.
- Randle, P. J., Garland, P.B., Hales, C. N. and Newsholme, E. A. 1963. "The glucose fatty-acid cycle its role in insulin sensitivity and the metabolic disturbances of diabetes mellitus." *The Lancet*.
- Rasch, B. and Born, J. 2007. "Maintaining Memories by Reactivation." *Current Opinion in Neurobiology*.
- Rendell, M. 2008. "Insulin: Moments in History." In *Drug Development Research*.
- Rickels, M. R. et al. 2007. "Glycemic Thresholds for Activation of Counterregulatory Hormone and Symptom Responses in Islet Transplant Recipients." *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*.
- Rizza, R. A., Cryer, P. E. and Gerich, J. E. 2008. "Role of Glucagon, Catecholamines, and Growth Hormone in Human Glucose Counterregulation." *Journal of Clinical Investigation*.
- Rodbard, H. et al. 2009. "Statement by an American Association of Clinical Endocrinologists/American College of Endocrinology Consensus Panel on Type 2 Diabetes Mellitus: An Algorithm for Glycemic Control." *Endocrine Practice*.

- Roth, J. et al. 2012. "Insulin's Discovery: New Insights on Its Ninetieth Birthday." *Diabetes/Metabolism Research and Reviews*.
- Rotte. 2005. "Schlafstadienbestimmung Nach Rechtschaffen und Kales." *System*.
- Schmid, S. M. et al. 2007. "Sleep Loss Alters Basal Metabolic Hormone Secretion and Modulates the Dynamic Counterregulatory Response to Hypoglycemia." *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*.
- Schmid, S. M., Hallschmid, M. and Schultes, B. 2015. "The Metabolic Burden of Sleep Loss." *The Lancet Diabetes and Endocrinology*.
- Schouwenberg, B. J. and De Galan, B. E. 2018. "Genetic Determinants of Impaired Awareness of Hypoglycemia in Type 1 Diabetes." *Pharmacogenetics and Genomics*.
- Schwartz, N. S., Clutter, W. E., Shah, S. D. and Cryer, P. E. 1987. "Glycemic Thresholds for Activation of Glucose Counterregulatory Systems Are Higher than the Threshold for Symptoms." *Journal of Clinical Investigation*.
- Segel, S. A., Paramore, D. S. and Cryer, P. E. 2002. "Hypoglycemia-Associated Autonomic Failure in Advanced Type 2 Diabetes." *Diabetes*.
- Shafiee, G., Mohajeri-Tehrani, M., Pajouhi, M. and Larijani, B. 2012. "The Importance of Hypoglycemia in Diabetic Patients." *Journal of Diabetes and Metabolic Disorders*.
- Sherwin, R. S. and Sacca, L. 1984. "Effect of Epinephrine on Glucose Metabolism in Humans: Contribution of the Liver." *Endocrinology And Metabolism*.
- Siegel, J. M. 2009. "Sleep Viewed as a State of Adaptive Inactivity." *Nature Reviews Neuroscience*.
- Smith, C. 1995. "Sleep States and Memory Processes." *Behavioural Brain Research*.
- Snoorgaard, O., Lassen, L. H., Rosenflack, A. M. and Binder, C. 1991. "Glycaemic Thresholds for Hypoglycaemic Symptoms, Impairment of Cognitive Function, and Release of Counterregulatory Hormones in Subjects with Functional Hypoglycaemia." *Journal of Internal Medicine*.
- Spaeth, A. M. 2015. "Additional Sleep Duration Associates with Improved Blood Sugar Regulation." *Sleep*.
- Spiegel, K., Leproult, R. and Van Cauter, E. 1999. "Impact of Sleep Debt on Metabolic and Endocrine Function." *Lancet*.
- Stanley, S., Moheet, A. and Seaquist, E. R. 2018. "Central Mechanisms of Glucose Sensing and Counterregulation in Defense of Hypoglycemia." *Endocrine Reviews*.

- Stickgold, R. 2005. "Sleep-Dependent Memory Consolidation." *Nature*.
- Taborsky, G. J. 2010. "The Physiology of Glucagon." In *Journal of Diabetes Science and Technology*.
- Talamini, L. M., Nieuwenhuis, I., Takashima, A. and Jensen, O. 2008. "Sleep Directly Following Learning Benefits Consolidation of Spatial Associative Memory." *Learning and Memory*.
- Tesfaye, N. and Seaquist, E. R. 2010. "Neuroendocrine Responses to Hypoglycemia." *Annals of the New York Academy of Sciences*.
- Thomas, S. J. 2005. "Basic Principles of Polysomnography Including Electrical Concepts." *Respiratory Care Clinics of North America*.
- Thrasher, J. 2017. "Pharmacologic Management of Type 2 Diabetes Mellitus: Available Therapies." *American Journal of Cardiology*.
- UKPDS group. 1998. "Effect of Intensive Blood-Glucose Control with Metformin on Complications in Overweight Patients with Type 2 Diabetes (UKPDS 34). UK Prospective Diabetes Study (UKPDS) Group." *Lancet*.
- Unger, R. H. and Cherrington, A. D. 2012. "Glucagonocentric Restructuring of Diabetes: A Pathophysiologic and Therapeutic Makeover." *Journal of Clinical Investigation*.
- Veneman, T. et al. 1993. "Induction of Hypoglycemia Unawareness by Asymptomatic Nocturnal Hypoglycemia." *Diabetes*.
- Voss, U. 2004. "Functions of Sleep Architecture and the Concept of Protective Fields." *Reviews in the Neurosciences*.
- Wagner, U., Gais, S. and Born, J. 2001. "Emotional Memory Formation Is Enhanced across Sleep Intervals with High Amounts of Rapid Eye Movement Sleep." *Learning and Memory*.
- Walker, M. P. et al. 2003. "Sleep and the Time Course of Motor Skill Learning." *Learning and Memory*.
- Widom, B. and Simonson, D. C. 1992. "Intermittent Hypoglycemia Impairs Glucose Counterregulation." *Diabetes*.
- Yuen, K. C. J., McDaniel, P. A. and Riddle, M. C. 2012. "Twenty-Four-Hour Profiles of Plasma Glucose, Insulin, C-Peptide and Free Fatty Acid in Subjects with Varying Degrees of Glucose Tolerance Following Short-Term, Medium-Dose Prednisone (20 Mg/Day) Treatment: Evidence for Differing Effects on Insulin Secretion and Action." *Clinical Endocrinology*.

Zhang, J. et al. 2011. "Relationship of Sleep Quantity and Quality with 24-Hour Urinary Catecholamines and Salivary Awakening Cortisol in Healthy Middle-Aged Adults." *Sleep*.

Zoungas, S. et al. 2010. "Severe Hypoglycemia and Risks of Vascular Events and Death." *New England Journal of Medicine*.

7 Verzeichnis der Abbildungen

<i>Abbildung 1: Schlafarchitektur (Diekelmann und Born 2010), modifiziert nach V. Ott; W = wach; REM = rapid eye movement; S1-S4 = Schlafstadium 1-4.....</i>	<i>11</i>
<i>Abbildung 2: Angestrebte Blutglukosekonzentrationen während des hyperinsulinämischen, hypoglykämischen Clampversuches.....</i>	<i>17</i>
<i>Abbildung 3: Schema der Elektrodenanordnung einer Schlaf-EEG Aufzeichnung (Eigene Darstellung) G = Groundelektrode; EOG = Elektrode zur Aufzeichnung der Elektrookulographie; EMG = Elektrode zur Aufzeichnung der Elektromyographie; A1 und A2 = aurikuläre Referenzelektroden; Cz, Fz und Pz = Elektrode zur Aufzeichnung des Elektroenzephalogramms.....</i>	<i>23</i>
<i>Abbildung 4: Blutglukosekonzentrationen während des Clampversuches (C1 vs. C3) in der Schlaf- und Schlafentzugs-Intervention</i>	<i>27</i>
<i>Abbildung 5: Glukagonkonzentrationen baseline-differenziert bei Minute 210 während des hypoglykämischen Clampversuches.....</i>	<i>28</i>
<i>Abbildung 6: Adrenalinkonzentrationen baseline-differenziert bei Minute 210 während des hypoglykämischen Clampversuches.....</i>	<i>29</i>
<i>Abbildung 7: Noradrenalinkonzentrationen baseline-differenziert bei Minute 210 während des hypoglykämischen Clampversuches.....</i>	<i>30</i>
<i>Abbildung 8: GH-Konzentrationen baseline-differenziert bei Minute 210 während des hypoglykämischen Clampversuches</i>	<i>31</i>
<i>Abbildung 9: ACTH-Konzentrationen baseline-differenziert bei Minute 210 während des hypoglykämischen Clampversuches</i>	<i>32</i>
<i>Abbildung 10: Kortisolkonzentrationen baseline-differenziert bei Minute 210 während des hypoglykämischen Clampversuches.....</i>	<i>33</i>

8 Verzeichnis der Tabellen

<i>Tabelle 1: Schlafstadien (Diekelmann und Born 2010; Rotte 2005; Smith 1995)</i>	<i>14</i>
<i>Tabelle 2: Schlafparameter während der Schlaf-Intervention.....</i>	<i>26</i>

9 Danksagung

Zunächst möchte ich **Prof. Dr. med. Dr. h.c. H. Lehnert** für die Möglichkeit danken, dass ich meine Promotionsarbeit an der Medizinischen Klinik I der Universität zu Lübeck habe durchführen können. Herrn **Prof. Dr. med. Sebastian Meyhöfer (geb. Schmid)** danke ich für das Überlassen des Themas und die Einführung in das wissenschaftliche Arbeiten.

Ganz herzlich möchte ich mich auch bei **Dr. med. Volker Ott** bedanken, der mich während des experimentellen Teils begleitet hat und mir jeder Zeit zu klinischen und statistischen Fragestellungen zur Seite stand.

Christiane Otten, Anja Niepelt und **Anja Otterbein** danke ich sehr für ihre stets freundliche und kompetente Unterstützung bei der Organisation des experimentellen Teils, ohne die der reibungslose Ablauf im Schlaflabor nicht möglich gewesen wäre.

Ein großer Dank gilt auch **Martina Groß** und **Heidi Ruf**, für deren stetige Hilfsbereitschaft und die Bestimmung der Hormonkonzentrationen. Sie waren immer offen für Fragen und beantworteten diese mit viel Geduld und Verständnis.

Auch **Dr. med. Svenja Meyhöfer** und **PD Dr. oec. troph. Britta Wilms** möchte ich für ihre freundliche Hilfe auf den letzten Metern der Promotionsarbeit danken.

An dieser Stelle möchte ich mich noch ganz herzlich bei meiner Familie bedanken, die mich bedingungslos in allen Lebenslagen unterstützt und mir jegliche Wege im Leben eröffnet hat. Ganz besonders möchte ich hier auch **Dr. Agata Mossakowski** hervorheben. Meine beste Freundin, welche mich seit Kindertagen begleitet und mich mit ihren liebevollen und humorvollen Worten während der Promotionsarbeit unterstützt und somit nicht unerheblich zur Vollendung der Arbeit beigetragen hat.

Nicht zuletzt möchte ich mich auch bei meiner Studienpartnerin und Freundin **Najilh Najem** bedanken, ohne deren Fleiß und Durchhaltevermögen die Durchführung dieser Studie nicht möglich gewesen wäre.

10 Eigenständigkeitserklärung

Hiermit bestätige ich, dass ich die vorliegende Arbeit „Schlaf konsolidiert metabolische Gedächtnisbildung“ selbständig verfasst habe und alle genutzten Literaturquellen vollständig angegeben habe.

11 Ethikvotum

Die vorliegende human-experimentelle Studie mit dem Arbeitstitel „Schlaf konsolidiert metabolische Gedächtnisbildung“ wurde dem Studienleiter Hr. Prof. Dr. Sebastian Meyhöfer (geb Schmid) unter dem Aktenzeichen 07-068 am 22.12.2009 durch die Ethikkommission der Universität zu Lübeck genehmigt.