

Aus dem Institut für Medizinische Psychologie
der Universität Tübingen

**Die Wirkung des selektiven Gap Junction-Blockers
Mefloquin auf die Gedächtniskonsolidierung im Schlaf**

Inaugural - Dissertation zur Erlangung des
Doktorgrades der Medizin
der Medizinischen Fakultät der
Eberhard Karls Universität zu Tübingen

vorgelegt von

Gebhardt, Sandra

2019

Dekan:	Professor Dr. I. B. Autenrieth
1. Berichterstatter:	Professor Dr. M. Hallschmid
2. Berichterstatter/in:	Professor Dr. U. Ziemann
Tag der Disputation:	21.05.2019

Inhaltsverzeichnis

Inhaltsverzeichnis	3
Abkürzungsverzeichnis	6
1 Einleitung	7
1.1 Schlaf	7
1.1.1 Schlafstadien und Schlafprofil	8
1.1.2 Funktion des Schlafs	11
1.2 Gedächtnis	12
1.2.1 Zeitliche Klassifikation	12
1.2.2 Inhaltliche Klassifikation	13
1.2.3 Neuronale Grundlagen	15
1.3 Gedächtnis und Schlaf	17
1.3.1 Einfluss von Schlaf auf die Gedächtniskonsolidierung	18
1.3.2 Mechanismen der Gedächtniskonsolidierung im Schlaf	19
1.3.3 Rolle von Gap Junctions in der Gedächtnisbildung	21
1.3.4 Mefloquin als selektiver Gap Junction-Blocker	22
1.4 Fragestellung und Hypothesen	23
2 Material und Methodik	24
2.1 Versuchspersonen	24
2.2 Studiendesign und Studienablauf	25
2.2.1 Voruntersuchung	25
2.2.2 Eingewöhnungsnacht	26
2.2.3 Experimentalnächte	26
2.3 Gedächtnistests	29
2.3.1 Wortpaar-Test	29
2.3.2 Memory-Test	30
2.3.3 Fingertapping-Aufgabe	31
2.3.4 Nummernlernen-Aufgabe	32
2.3.5 Wortflüssigkeitstest	32

2.4 Polysomnographische Schlafregistrierung _____	33
2.5 Psychometrische Kontrollvariablen _____	34
2.5.1 Fragebögen _____	34
2.5.2 Psychomotorischer Vigilanztest (PVT) _____	36
2.6 Blutentnahmen und -analysen _____	36
2.7 Statistische Auswertung _____	37
3 Ergebnisse _____	38
3.1 Gedächtnistests _____	38
3.2 Schlaf und psychometrische Kontrollvariablen _____	43
3.2.1 Schlafparameter und Vigilanz _____	43
3.2.2 Befindlichkeit und Hunger _____	45
3.3 Wirkstoff- und Blutzuckerkonzentration _____	50
4 Diskussion _____	51
4.1 Tierexperimentelle Befunde zum Beitrag von Cx36 zur Gedächtnis- bildung _____	51
4.2 Wirkung von Mefloquin auf die deklarative Gedächtniskonsolidierung	52
4.3 Wirkung von Mefloquin auf die prozedurale Gedächtnisbildung _____	53
4.4 Mögliche Mechanismen der Wirkung von Mefloquin auf die prozedurale Gedächtnisbildung _____	55
4.5 Anmerkungen zur Spezifität der beobachteten Mefloquin-Wirkungen _	56
4.6 Limitationen und Ausblick _____	57
5 Zusammenfassung _____	59
6 Literaturverzeichnis _____	61
7 Anhang _____	71
7.1 Probandenblatt _____	71
7.2 Stanford-Schläfrigkeitsskala _____	72

7.3 Hunger und Durst	73
7.4 Befindlichkeit	74
8 Erklärung zum Eigenanteil	75
9 Danksagung	76

Abkürzungsverzeichnis

AP	Alkalische Phosphatase
CRP	C-reaktives Protein
Cx36	Connexin 36
EEG	Elektroenzephalographie
EMG	Elektromyographie
EOG	Elektrookulographie
EWL-K	Eigenschaftswörterliste-Kurzform
GGT	Gamma-Glutamyl-Transferase
GPT	Glutamat-Pyruvat-Transaminase
Hz	Hertz
KO	Knockout
LDH	Laktatdehydrogenase
MDBF	Mehrdimensionaler Befindlichkeitsfragebogen
MW	Mittelwert
NREM	Non-Rapid eye movement
PET	Positronen-Emissions-Tomographie
PTT	Partielle Thromboplastinzeit
REM	Rapid eye movement
RWT	Regensburger Wortflüssigkeitstest
SEM	Standardfehler des Mittelwerts
SSS	Stanford-Schläfrigkeitsskala
SWR	Sharp wave-ripple-Komplex
SWS	Slow-wave sleep (Tiefschlaf)
ZNS	Zentrales Nervensystem

„Süßer Schlaf! Du kommst wie ein reines Glück ungebeten, unerfleht am willigsten. Du lösest die Knoten der strengen Gedanken, vermischest alle Bilder der Freude und des Schmerzes, ungehindert fließt der Kreis innerer Harmonien, und eingehüllt in gefälligen Wahnsinn versinken wir und hören auf zu sein.“

– Johann Wolfgang von Goethe („Egmont“) –

1 Einleitung

Es ist inzwischen gut erforscht, dass Schlaf sich positiv auf die Gedächtnisbildung auswirkt, aber die zugrunde liegenden neuronalen Mechanismen sind bislang nur unzureichend aufgeklärt worden. Am Tag gelernte Gedächtnisinhalte werden in der Nacht reaktiviert und vom Kurzzeitgedächtnis (Hippocampus) in das Langzeitgedächtnis (Cortex) übertragen und somit gefestigt. In der vorliegenden Arbeit wurde untersucht, welche Rolle bei der Reaktivierung und Festigung der Gedächtnisinhalte elektrische Synapsen, sogenannte Gap junctions, spielen. Ein wichtiger Bestandteil der Gap junctions ist das Tunnelprotein Connexin 36 (Cx36). Deshalb wurde in den hier beschriebenen Experimenten Mefloquin, ein Malariamittel, das Cx36 blockiert, zwischen dem Erlernen von Gedächtnisinhalten und dem anschließenden Nachtschlaf verabreicht. Wir erwarten, dass die Blockade von Cx36 durch Mefloquin die Verfestigung von Gedächtnisinhalten im Schlaf stört. Dies wäre ein erster humanexperimenteller Beleg für den Beitrag von Gap junctions zur schlafbezogenen Gedächtniskonsolidierung.

1.1 Schlaf

Die Definition des Schlafs ist keinesfalls einheitlich. Nach Pape (2005) wird Schlaf als ein reversibler Zustand reduzierter Antwortbereitschaft auf Umgebungsreize und allgemein verminderter Interaktion mit der Umwelt

beschrieben. Schlaf ist ein bestimmtes Verhalten, das durch drei verschiedene Kennzeichen definiert wird: Eine erkennbare Muskelrelaxation, ein reduziertes Ansprechen auf externe Stimuli und die Regulation durch einen homöostatischen Prozess (Aserinsky & Kleitman, 1953). Schlaf unterliegt einem ca. 24-stündigen zirkadianen Rhythmus, durch den verschiedenste Prozesse über Veränderungen von Hormon- und Transmitterkonzentrationen reguliert werden. Obwohl der Mensch ca. ein Drittel seines Lebens im Schlaf verbringt, gibt es bis heute noch keine eindeutige Erklärung für die Notwendigkeit dieses Bewusstseinszustandes. Dass Schlaf jedoch eine überlebenswichtige Funktion hat, wurde bereits 1989 durch Everson, Bergmann und Rechtschaffen in einem Versuch an zehn Ratten gezeigt. Diese Ratten wurden totalem Schlafentzug unterzogen und starben alle innerhalb von 11-32 Tagen, obwohl sie keinerlei anatomische Auffälligkeiten zeigten. So führt auch beim Menschen die seltene autosomal-dominant vererbte letale familiäre Insomnie (tödliche familiäre Schlaflosigkeit) innerhalb von wenigen Monaten bis Jahren immer zum Tode. Die Krankheit zählt zu den Prionenkrankheiten und ähnelt pathologisch betrachtet der Creutzfeld-Jakob-Krankheit. Die Betroffenen leiden unter massivsten Ein- und Durchschlafstörungen. Mit der Zeit entwickeln sich Halluzinationen, Myoklonien und kognitive Symptome wie Gedächtnis- und Aufmerksamkeitsstörungen, aber auch vegetative Symptome wie Schweißausbrüche, Herzrasen sowie eine Änderung der Körpertemperatur, bis schließlich der Tod eintritt (Montagna, Gambetti, Cortelli, & Lugaresi, 2003). Somit stellt Schlaf, neben den vielfältigen anderen Funktionen, die er erfüllt, eine essentielle Notwendigkeit für das Überleben dar.

1.1.1 Schlafstadien und Schlafprofil

Schlaf ist gekennzeichnet durch deutliche elektrophysiologische Veränderungen der Gehirnaktivität (Marshall & Born, 2007). Mit Hilfe der Polysomnographie, welche Elektroenzephalographie (EEG), Elektromyographie (EMG) und Elektrookulographie (EOG) umfasst, ist es möglich, den Zustand des Schlafers und seine Veränderungen über die Zeit hinweg verschiedenen Stadien zuzuordnen. Die Kriterien zur Charakterisierung des Schlafs stellten Dement

und Kleitmann 1957 vor; im Jahr 1968 wurden sie von Rechtschaffen und Kales spezifiziert. Demnach unterscheidet man grundsätzlich den Rapid eye movement (REM)-Schlaf und den Non-Rapid eye movement (NREM)-Schlaf, der wiederum die Schlafstadien S1-S4 (s.u.) umfasst. Der REM-Schlaf ist gekennzeichnet durch schnelle charakteristische Augenbewegungen, welche ihm seinen Namen gegeben haben, sowie einen Tonusverlust der Muskulatur. Das EEG zeigt ein dem Wachzustand ähnliches Frequenzmuster mit niedrigen Amplituden und einer Frequenz zwischen 2-7 Hz, weshalb der REM-Schlaf auch als paradoxer Schlaf bezeichnet wird. Der NREM-Schlaf umfasst die Schlafstadien S1 bis S4, wobei die Schlafstadien S1 und S2 den leichten Schlaf bezeichnen und die Stadien S3 und S4 den Tiefschlaf, welcher aufgrund der langsamen Wellen (sog. Deltawellen), die sich über dem Neocortex ableiten lassen, auch als slow-wave sleep (SWS) bezeichnet wird. Die Charakteristika der verschiedenen Schlafstadien nach Rechtschaffen und Kales (1968) sind in Tabelle 1 zusammengefasst.

Tabelle 1: Charakteristika der einzelnen Schlafstadien

Schlafstadium	Frequenz	EEG	EMG	EOG
W	Gemischte Frequenzen > 50% α -Aktivität		hoch	Schnelle Augenbewegungen, Blinzeln
S1	Vorwiegend 2-7 Hz, <50% α -Aktivität	Keine Spindeln, keine K-Komplexe	<W	Langsame, rollende Augenbewegungen
S2	Gemischte Frequenzen δ -Aktivität möglich	Spindeln, K-Komplexe	<W	
S3	δ -Wellen (0,5-2Hz) >20%		<W	
S4	δ -Wellen > 50%		<W	
REM	Gemischt	Keine Spindeln, keine K-Komplexe	extrem niedrig	schnelle Augenbewegungen, sogenannte REMs

Die Angaben beziehen sich jeweils auf ein 30-Sekunden-Intervall (< W: geringer als im Wachzustand).

Die das Schlafstadium 2 kennzeichnenden Schlafspindeln sind episodisch auftretende Wellen mit einer Frequenz zwischen 11-14 Hz und einer Amplitude unter 50 μ V sowie einer minimalen Dauer von 0,5 Sekunden und werden im Thalamus generiert (Siapas & Wilson, 1998). K-Komplexe sind hochamplitudige biphasische Wellen mit einer Frequenz um 2 Hz und sind häufig mit Schlafspindeln assoziiert (Crowley, Trinder, Kim, Carrington, & Colrain, 2002).

Während einer Nacht wiederholen sich die einzelnen Schlafphasen in charakteristischer Weise (siehe Abbildung 1). Bei achtstündigem Nachtschlaf durchläuft der Mensch vier bis fünf Schlafzyklen, wobei der Anteil des SWS in der ersten Nachthälfte gegenüber dem REM-Schlaf dominiert und in der zweiten Nachthälfte kontinuierlich abnimmt, wohingegen die Perioden des REM-Schlafs in der zweiten Hälfte der Nacht verstärkt feststellbar sind. Ein Schlafzyklus dauert in der Regel 90 Minuten (Born et. al., 1995).

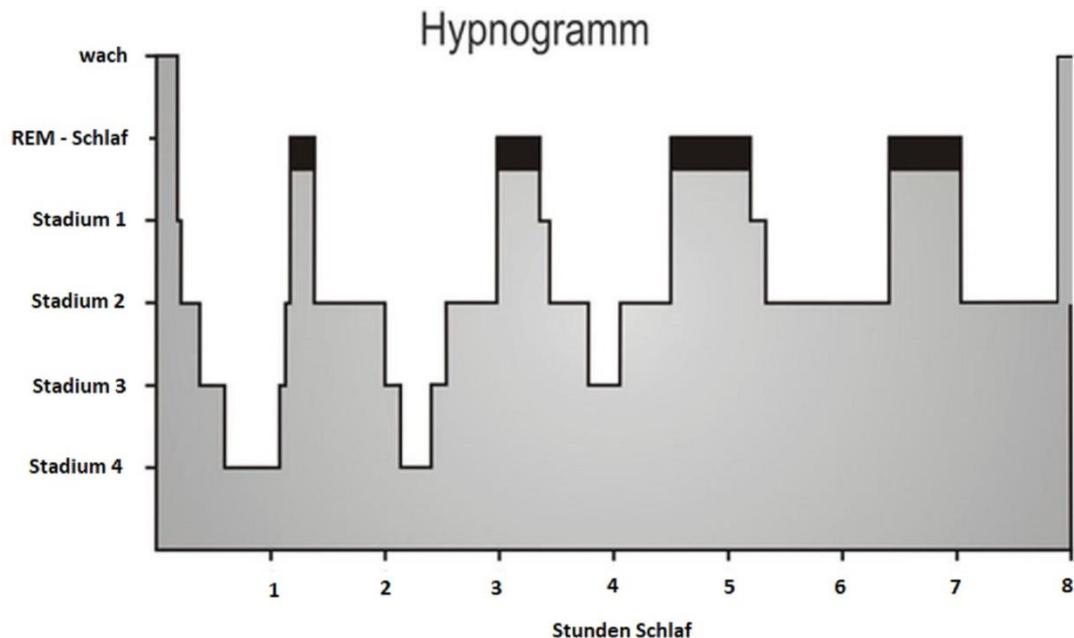


Abbildung 1: Charakteristisches idealisiertes Hypnogramm des gesunden Menschen im Verlauf einer Nacht

1.1.2 Funktion des Schlafs

Die vielseitige Funktion des Schlafs lässt sich schon an den umfassenden Veränderungen der verschiedensten Körpervorgänge während des Schlafs erkennen. Der NREM-Schlaf entspricht aus peripher-physiologischer Sicht einem energiesparenden Zustand mit verlangsamter Atmung und Puls, Absenkung des Blutdrucks und der Körpertemperatur, vermindertem Muskeltonus sowie einer reduzierten metabolischen Aktivität und neuronalen Erregbarkeit mit Verlangsamung und Synchronisation des EEGs (Gillberg & Akerstedt, 1982; Jacobson, Kales, Lehmann, & Hoedemaker, 1964; Staedt & Stoppe, 2001). All diese Vorgänge führen zu einem geringeren Grundumsatz und damit zu einer Energieeinsparung des Körpers. Der REM-Schlaf weist eine gegenläufige Tendenz auf mit einer Zunahme der Körpertemperatur, des Metabolismus und der neuronalen Aktivität, wobei das EEG ein dem Wachzustand ähnliches Muster aufweist (Wehr, 1992). Die Tatsache, dass der REM-Schlaf von ca. 8 Stunden postnatal auf ca. 1,5 Stunden im Erwachsenenalter abnimmt, lässt vermuten, dass diesem eine wichtige Funktion bei der Reifung und Entwicklung neuronaler Strukturen zukommt

(Staedt & Stoppe, 2001). Darüber hinaus leistet Schlaf einen wichtigen Beitrag zur Aufrechterhaltung der inneren Homöostase und der Reifung des Immunsystems. So reduziert sich die Aktivität von menschlichen Natürlichen Killerzellen nach Schlafentzug um bis zu 30% (Irwin et al., 1996). Auf die Funktion, die Schlaf auf die Gedächtnisbildung hat, wird in Kapitel 1.3 gesondert eingegangen. Die Bedeutung des Schlafs lässt sich auch an den Folgen erkennen, die Schlafentzug oder eine gestörte Schlafarchitektur mit sich bringen. Chronischer Schlafmangel wirkt sich in vielerlei Weise negativ auf den menschlichen Organismus aus. So zeigen Studien einen Zusammenhang zwischen einer verkürzten Schlafdauer und einer verminderten Glukosetoleranz und somit der begünstigten Entstehung von Diabetes mellitus Typ 2 (Buxton et al., 2010; Patel, Shaikh, & Singh, 2012; Schmid, Hallschmid, Schultes, 2015). Auch gibt es Hinweise, dass Schlafmangel die Entstehung von Übergewicht und Bluthochdruck begünstigt (Robillard, Lanfranchi, Prince, Filipini, & Carrier, 2011; Schmid, Hallschmid, Schultes, 2015; St-Onge & Shechter, 2013).

1.2 Gedächtnis

Als Gedächtnis bezeichnet man die Fähigkeit des Gehirns, Informationen zu speichern und zu einem bestimmten Zeitpunkt zu reproduzieren, was eine Grundvoraussetzung der flexiblen Interaktion mit der Umwelt darstellt. Das Gedächtnis ist kein einheitliches oder starres Gebilde, sondern besteht aus mehreren separaten Einheiten, die in verschiedenen Arealen des Gehirns repräsentiert sind (Squire & Zola, 1996).

1.2.1 Zeitliche Klassifikation

Aus verschiedenen Experimenten geht hervor, dass Informationen in mehreren Schritten in verschiedenen, nacheinander geschalteten Gedächtnissystemen gespeichert werden, welche sich in ihrer Kapazität, Speichergeschwindigkeit und Speicherdauer unterscheiden. Prinzipiell unterscheidet man das sensorische Gedächtnis, das Kurzzeitgedächtnis und das Langzeitgedächtnis (Speckmann, Hescheler & Köhling, 2008).

Der Informationsfluss zum sensorischen Gedächtnis ist sehr groß, wohingegen die Speicherdauer für neue Informationen nur ca. 0,5-1 Sekunden beträgt. Die Funktion des sensorischen Gedächtnisses besteht zum einen in der Analyse der neuen Information auf deren globale Bedeutung und den Vergleich mit bereits gespeicherten Daten, sodass sich eine selektive Aufmerksamkeitszuwendung ergeben kann, und zum anderen in der Neukodierung der Information. Auf dieser Ebene scheint auch die Verbalisierung von Informationen stattzufinden.

Die Speicherdauer des Kurzzeitgedächtnisses beträgt Sekunden bis Minuten, wobei die Speicherkapazität viel geringer ist als im sensorischen Gedächtnis. Das Kurzzeitgedächtnis hat dahingehend eine herausragende Bedeutung, dass es die einzige Gedächtnisform ist, die der bewussten Verarbeitung zugänglich ist (Speckmann, 2008). Es ermöglicht eine temporäre Speicherung von Informationen und deren Verarbeitung, was eine Voraussetzung zur Durchführung komplexer kognitiver Aufgaben ist. Die Speicherkapazität des Kurzzeitgedächtnisses ist nicht begrenzt und kann durch Training beeinflusst werden (Zinke, Noack & Born, 2018).

Die Übernahme vom Kurzzeit- in das Langzeitgedächtnis wird durch Wiederholen des Informationsinhaltes gefördert. Die Speicherkapazität des Langzeitgedächtnisses ist prinzipiell unbegrenzt, doch auch Inhalte aus dem Langzeitgedächtnis können verdrängt und damit vergessen werden (Atkinson & Shiffrin, 1971).

1.2.2 Inhaltliche Klassifikation

Squire und Zola beschrieben 1996 eine Einteilung des Langzeitgedächtnisses in ein deklaratives und ein non-deklaratives Gedächtnis, welche sich in der Informationsaufnahme und Speicherung sowie in der Zuordnung zu verschiedenen Hirnstrukturen grundlegend unterscheiden. Einen Überblick über die inhaltliche Einteilung des Gedächtnisses gibt Abbildung 2.

Deklaratives Gedächtnis

Das deklarative Gedächtnis wird auch als Wissensgedächtnis bezeichnet und ist dem bewussten Abruf zugänglich. Es kann weiterhin unterteilt werden in das semantische Gedächtnis (Faktenwissen) und das episodische Gedächtnis (autobiographische Ereignisse und Tatsachen). Die Encodierung von deklarativen Gedächtnisinhalten ist typischerweise an explizites Lernen gebunden. Der Abruf dieser grundsätzlich verbalisierbaren Gedächtnisinhalte erfordert bewusste Aufmerksamkeit. Für das Erlernen von neuen Gedächtnisinhalten und deren Abruf kommt dem medialen Temporallappen eine besondere Bedeutung zu. So ist speziell das episodische Gedächtnis auf einen funktionstüchtigen Hippocampus angewiesen (Squire & Zola, 1996; Tulving & Markowitsch, 1998).

Non-deklaratives Gedächtnis

Dem deklarativen Gedächtnis steht das non-deklarative Gedächtnis gegenüber, welches drei Subtypen umfasst (siehe Abbildung 2). Das prozedurale Gedächtnis beinhaltet motorische und sensorische Fähigkeiten, während Priming die erhöhte Wiedererkennungsleistung von zuvor unbewusst wahrgenommenen Stimuli beschreibt (Tulving & Schacter, 1990). Der dritte Subtyp betrifft die klassische Konditionierung nach Pawlow, welche dadurch gekennzeichnet ist, dass ein ausgelöstes Verhalten (Reflex) auf einen zuvor unbedeutenden Reiz hin auftritt und somit ein typisches wiederkehrendes Reiz-Reaktionsmuster hervorruft.

Die Inhalte des non-deklarativen Gedächtnisses sind unbewusst und erfordern bei der Wiedergabe keine bewusste Aufmerksamkeit. Die Encodierung von neuen Informationen kann explizite und implizite Prozesse beinhalten. Für das Erlernen non-deklarativer Gedächtnisinhalte scheint der mediale Temporallappen eher eine untergeordnete Rolle zu spielen, vielmehr sind an der langfristigen Speicherung von Gewohnheiten und Fertigkeiten subkortikale Strukturen wie die Basalganglien sowie das Striatum und das Kleinhirn beteiligt (Squire & Zola, 1996). Inwiefern jedoch auch non-deklarative Gedächtnisinhalte

mit einer hippocampalen Aktivierung einhergehen, wird in der Literatur kontrovers diskutiert (Albouy et al., 2008; Gheysen, Van Opstal, Roggeman, Van Waelvelde, & Fias, 2010; Hopkins, Waldram, & Kesner, 2004; Nagy et al., 2007).

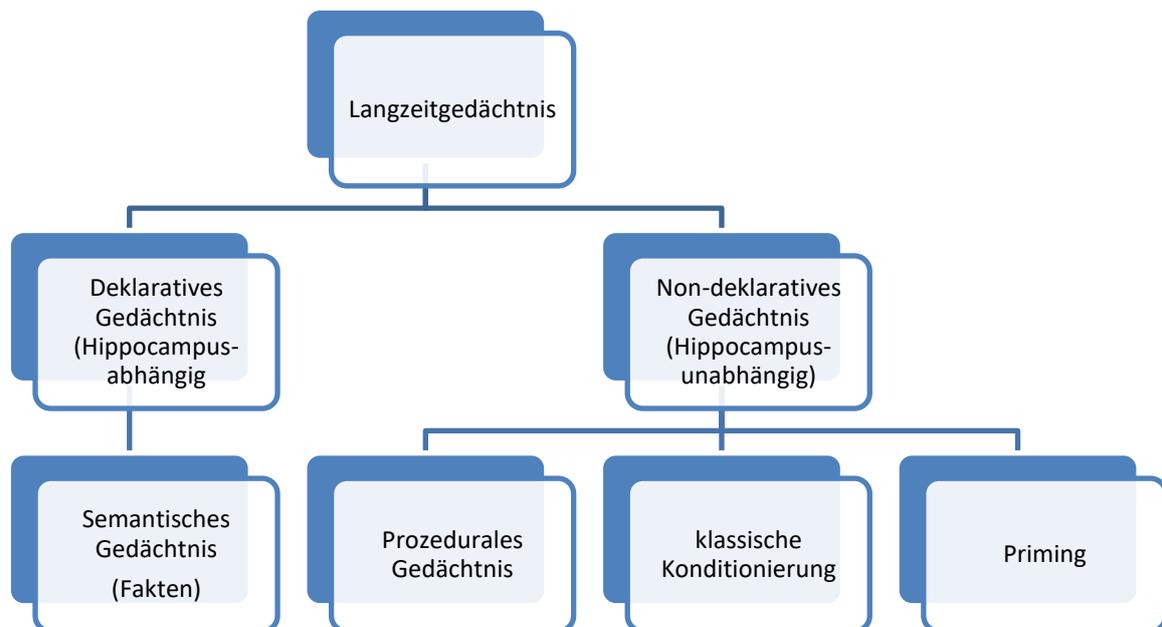


Abbildung 2: Schematische Einteilung des Langzeitgedächtnisses (vereinfacht nach Squire und Zola-Morgan, 1996)

1.2.3 Neuronale Grundlagen

Das deklarative Gedächtnis ist hauptsächlich in den Assoziationsfeldern des Neocortex repräsentiert und speist seine Informationen über das limbische System ein, wohingegen das prozedurale Gedächtnis nicht unmittelbar an die Funktionstüchtigkeit des Hippocampus gebunden ist. Dass die verschiedenen Gedächtnisformen unterschiedlichen Hirnarealen zuzuordnen sind, kann zum Beispiel anhand von Patienten mit einer beidseitigen Schädigung des mittleren Temporallappens aufgezeigt werden. So sind diese Patienten unfähig, neue deklarative Gedächtnisinhalte zu erlernen, während Inhalte des prozeduralen Gedächtnisses problemlos neu erlernt werden können (Squire & Zola, 1996).

Eine ausgeprägte retrograde Amnesie ist dagegen nicht nachweisbar, was darauf hinweist, dass mit fortschreitender Konsolidierung der Hippocampus für den Abruf deklarativer Gedächtnisinhalte nicht mehr von essentieller Bedeutung ist (Squire & Zola-Morgan, 1991).

Diese Beobachtung geht auch aus anderen Studien hervor, bei denen Probanden funktionell magnetresonanztomographisch untersucht wurden. Hier zeigte sich, dass beim Abruf neuer Gedächtnisinhalte hauptsächlich der Hippocampus aktiviert wird, während dieser beim Abruf alter Erinnerungen kaum noch in Anspruch genommen wird (Haist, Bowden Gore, & Mao, 2001). Um Gedächtnisinhalte langfristig zu speichern, bedarf es eines dreistufigen Informationsverarbeitungsprozesses, welcher aus der Encodierung, der Konsolidierung und dem Abruf besteht (Müller & Pilzecker, 1900). Nach Eintreffen verschiedener Sinnesreize werden diese in den primären und assoziativen Cortexarealen verarbeitet (Encodierung) und vom Hippocampus zu einer zusammenhängenden Gedächtnisspur integriert. Diese ist noch labil und anfällig gegenüber Interferenz. Durch strukturelle und funktionelle Änderungen in neuronalen Netzwerken kann eine langfristige Speicherung im Neocortex stattfinden. Dieser Vorgang wird auch als Konsolidierung bezeichnet (McGaugh, 1966). Der Transfer vom Hippocampus in den Neocortex findet hauptsächlich im Schlaf statt und wird in Kapitel 1.3 näher behandelt.

Die Gedächtniskonsolidierung im Hippocampus findet zunächst lokal durch Umstrukturierung synaptischer Verbindungen oder durch Bildung neuer Synapsen statt und wird durch den Begriff der neuronalen Plastizität beschrieben. Diese wurde bereits 1949 durch Hebb postuliert und beschreibt zusammengefasst, dass, je öfter die Synapsen zweier Neurone aktiv sind, diese beiden Neurone desto eher auch zukünftig gemeinsam aktiv sein werden. Eine Weiterentwicklung dessen stellt die Theorie der Langzeitpotenzierung dar. Darunter versteht man eine langdauernde Verstärkung der synaptischen Übertragung bei wiederholter Reizung eines prä- und postsynaptischen Neurons (Bliss & Lomo, 1973). Diese findet an exzitatorischen glutamatergen Neuronen statt und wird einerseits durch eine vermehrte präsynaptische

Freisetzung von Glutamat sowie andererseits durch eine erhöhte Expression und strukturelle Veränderung von dessen postsynaptisch lokalisierten Zielrezeptoren, den N-Methyl-D-Aspartat (NMDA)- und den Alpha-Amino-3-Hydroxy-5 Methyl-4-Isoxazolpropionsäure (AMPA)-Rezeptoren, erreicht (Nicoll & Malenka, 1999).

Zur langfristigen und interferenzärmeren Speicherung von deklarativen Gedächtnisinhalten werden diese vom Hippocampus in neokortikale Bereiche transferiert. Da Informationen zunächst partiell in unterschiedlichen kortikalen Bereichen („cortical modules“) encodiert werden, müssen diese vom Hippocampus zu einer einheitlichen Gedächtnisspur fusioniert werden. Durch wiederholte Aktivierung von hippocampo-cortikalen Netzwerken kommt es zu einer progressiven Stärkung der Verbindung zwischen den jeweiligen kortikalen Bereichen und somit zur Ausbildung neuer cortiko-cortikaler Verbindungen, welche unempfindlicher gegenüber Interferenzen sind. Gedächtnisinhalte werden also mit der Zeit in existierende kortikale Netzwerke eingebunden und sind nicht mehr auf die Funktionstüchtigkeit des Hippocampus angewiesen (Frankland & Bontempi, 2005). Somit kommt dem Hippocampus die Rolle als Zwischenspeicher und Koordinator zu, welcher Informationen im Wachzustand speichert, indem er verschiedene Sinnesinformationen zu komplexen Informationsschleifen verknüpft, bis sie im Schlaf in den Neocortex transferiert werden (McClelland, McNaughton, & O'Reilly, 1995).

1.3 Gedächtnis und Schlaf

Während die Encodierung und der Abruf von Erinnerungen hauptsächlich im Wachzustand stattfinden, ist die Konsolidierung ein Prozess, der vorwiegend im Schlaf stattfindet (Diekelmann & Born, 2010). Über die Notwendigkeit des Schlafs für den langfristigen Konsolidierungsprozess gibt es zahlreiche Hypothesen. Zum einen besteht die Möglichkeit einer verminderten Interferenz mit dem Gelernten im Schlaf, oder aber einem verminderten Verfall des Gelernten. Andererseits gibt es auch viele Hinweise darauf, dass die Gedächtniskonsolidierung im Schlaf ein aktiver Prozess ist (Cipolli, 1995).

1.3.1 Einfluss von Schlaf auf die Gedächtniskonsolidierung

Dass ein Zusammenhang zwischen Schlaf und Gedächtnisbildung besteht, wurde bereits 1924 von Jenkins und Dallenbach beschrieben. Nach dem Erlernen sinnloser Wortsilben zeigten diejenigen Probanden bessere Ergebnisse bei der Abfrage, die nach dem Lernen schlafen gingen, als diejenigen, die wach blieben. Dies deuteten die Autoren als Hinweis darauf, dass die Abwesenheit störender Interferenzen die Aufrechterhaltung von gelernten Informationen begünstigt. Der positive Effekt von Schlaf auf die Gedächtnisbildung konnte in vielen nachfolgenden Studien bestätigt werden (Noack, Schick, Mallot, & Born, 2017; Peigneux, Laureys, Delbeuck, & Maquet, 2001; Plihal & Born, 1997; Stickgold, James & Hobson, 2000).

Der Einfluss der verschiedenen Schlafstadien auf unterschiedliche Gedächtnisformen wurde in vielzähligen Studien untersucht, die sich zunächst hauptsächlich mit dem Einfluss des REM-Schlafs und der Auswirkung von REM-Schlaf-Entzug auf die Gedächtniskonsolidierung befassten (Karni, Tanne, Rubenstein, Askenasy & Sagi, 1994). Diese Studien lieferten jedoch divergente Ergebnisse und waren in ihrer Aussagekraft begrenzt, da selektiver Schlafentzug nachweislich zu Stress und damit zu einem Anstieg des Cortisolspiegels führt, welcher wiederum Einfluss auf die Gedächtniskonsolidierung nimmt (Born & Wagner, 2004). Deshalb nutzten Plihal und Born (1997) in ihrer Studie die Tatsache, dass die erste Nachthälfte von SWS dominiert wird, während in der zweiten Nachthälfte vermehrt REM-Schlaf vorherrscht. Durch selektive Abfrage der erlernten Aufgaben nach der ersten beziehungsweise nach der zweiten Nachthälfte konnte gezeigt werden, dass das deklarative Gedächtnis hauptsächlich vom in der ersten Nachthälfte dominierenden SWS profitiert, während Inhalte des non-deklarativen Gedächtnisses stark von der REM-Schlaf-reichen zweiten Nachthälfte abhängig sind („Duale Prozess-Hypothese“).

In anderen Studien jedoch ergaben sich vermehrt Hinweise darauf, dass auch prozedurale Gedächtnisinhalte, welche explizit encodiert werden, vom SWS profitieren und auf eine Kommunikation zwischen dem Hippocampus und dem

Cortex angewiesen sind (Antony, Gobel, O'Hare, Reber, & Paller, 2012). Es wird von einer „Sequenz-Hypothese“ ausgegangen, wonach Schlaf den größten Nutzen auf die Gedächtniskonsolidierung von deklarativen und non-deklarativen Gedächtnisinhalten hat, wenn SWS und REM-Schlaf in typischer Sequenz aufeinander folgen (Diekelmann & Born, 2010).

1.3.2 Mechanismen der Gedächtniskonsolidierung im Schlaf

Dass gelernte Informationen im Schlaf verarbeitet werden, lässt sich an einem Versuch mit Ratten zeigen. Lässt man diese einen Weg durch ein Labyrinth zu einer Futterstelle trainieren, können spezifische Erregungsmuster in bestimmten Zellregionen des Hippocampus („place cells“) abgeleitet werden. Während einer darauffolgenden Schlafphase ergibt sich ein ähnliches neuronales Aktivitätsmuster im Hippocampus, wie es auch beim Erlernen der Labyrinth-Aufgabe auftrat (Wilson & McNaughton, 1994).

Ähnliche Ergebnisse konnten auch in verschiedenen Humanstudien nachgewiesen werden. So zeigte sich nach dem Erlernen einer impliziten Gedächtnisaufgabe im PET sowie durch Messung des regionalen Blutflusses, dass dieselben Gehirnareale, welche beim Erlernen der Aufgabe im Wachzustand aktiviert waren, vermehrt im darauf folgenden REM-Schlaf aktiv sind (Maquet et al., 2000). Dieser Effekt ließ sich auch für deklarative Gedächtnisinhalte nachweisen. Es zeigte sich hier während des SWS ein erhöhter regionaler Blutfluss in denjenigen Bereichen des Hippocampus, welche auch beim Erlernen der deklarativen Aufgaben aktiv waren (Peigneux et al., 2004). Gedächtnisinhalte, welche vor dem Schlaf aufgenommen wurden, werden demzufolge nachts reaktiviert und vom Hippocampus in den Cortex zur langfristigen Speicherung übertragen.

Während Tiefschlaf im Neocortex durch niederfrequente Delta-Wellen und Spindeln charakterisiert ist, lassen sich über dem Hippocampus hochfrequente Oszillationen, sogenannte „ripples“, während des SWS ableiten. Es wird vermutet, dass die Reaktivierung von Informationen im Hippocampus stark mit dem Auftreten von den im Hippocampus generierten sharp wave-ripple (SWR) -

Komplexen zusammenhängt, welche durch schnelle synchrone Oszillationen von 120-200 Hz gekennzeichnet sind (Khodagholy, Gelineau & Buzsáki, 2017; Siapas & Wilson, 1998; Suzuki & Smith, 1988). SWR-Komplexe treten in engem zeitlichen Zusammenhang mit Spindelaktivität im Neocortex auf und stimulieren die weitere Verarbeitung der Erinnerungen in nachgelagerten Prozessen (O'Neill, Pleydell-Bouverie, Dupret, & Csicsvari, 2010). Das gemeinsame Auftreten von SWR-Komplexen und Spindelaktivität wird dabei als Zeichen der Kommunikation zwischen Hippocampus und Neocortex gesehen und letztlich als Übertragung von Informationen in den Neocortex gedeutet (Born, 2010; Siapas & Wilson, 1998). Interessant ist auch, dass es nach intensivem Lernen von deklarativen Gedächtnisinhalten zu einem vermehrten Auftreten von Spindelaktivität im darauffolgenden Schlafintervall kommt, was die Hypothese unterstützt, dass die Festigung deklarativer Gedächtnisinhalte eine enge Kommunikation zwischen Hippocampus und Neocortex voraussetzt (Molle, Marshall, Gais & Born, 2004). Ebenfalls wird durch Unterdrückung der SWR-Komplexe die Übertragung ins Langzeitgedächtnis beeinträchtigt (van de Ven, Trouche, McNamara, Allen & Dupret, 2016).

Die Synchronisierung sowie die zeitliche Koordination zwischen dem Auftreten der SWR-Komplexe im Hippocampus und der Spindelaktivität im Cortex übernehmen die im Neocortex generierten langsamen Wellen (slow oscillations), welche eine Frequenz von unter 1 Hz aufweisen und sich langsam von frontalen Strukturen über den gesamten Cortex ausbreiten. Die Bedeutung dieser langsamen Wellen zeigte sich in Experimenten, die durch externe Induktion von elektromagnetischen Wellen gleicher Frequenz eine Verbesserung bei der Abfrage von zuvor gelernten deklarativen Gedächtnisinhalten herbeiführen konnten (Marshall, Helgadottir, Molle, & Born, 2006). Auch zeigt die Menge an langsamen Oszillationen im SWS ein proportionales Verhältnis zu der Menge an aufgenommenen Informationen (Molle, Marshall, Gais & Born, 2004).

1.3.3 Rolle von Gap Junctions in der Gedächtnisbildung

Gap Junctions im zentralen Nervensystem (ZNS) werden auch als elektrische Synapsen bezeichnet und erlauben die direkte Kommunikation zwischen Neuronen sowie die direkte metabolische und elektrische Kopplung benachbarter Zellen. Die prä- und postsynaptischen Anteile sind über Tunnelproteine, sogenannte Connexine, verbunden, durch die ein interzellulärer Austausch von Ionen und niedermolekularen Strukturen gewährleistet ist. Es sind ca. 15 verschiedene Connexintypen bekannt, von denen bislang mindestens sechs im ZNS nachgewiesen wurden (Belluardo et al., 2000; Cummings, Yamazaki, Cepeda, Paul, & Levine, 2008; Kunzelmann et al., 1999; Prime, Horn, & Sutor, 2000; Rash et al., 2000). Connexin36 (Cx36) ist dabei das einzige Connexin, welches ausschließlich in neuronalem Gewebe nachgewiesen wurde und hauptsächlich im Hippocampus und im unteren Olivenkomplex exprimiert wird (Condorelli, Belluardo, Trovato-Salinaro, & Mudo, 2000). Die Cx36 enthaltenden Gap Junctions koppeln vor allem inhibitorische Interneurone verschiedener Hirnregionen elektrisch und synchronisieren somit die Hirnaktivität (Allen, Fuchs, Jaschonek, Bannerman, & Monyer, 2011; Deans, Gibson, Sellitto, Connors, & Paul, 2001). So sind sie auch an der Generation der SWR-Komplexe im Hippocampus beteiligt, wodurch ein synchrones Auftreten dieser Komplexe ermöglicht wird (Schmitz et al., 2001). Dass Cx36 Gap Junctions somit auch an der Konsolidierung von Gedächtnisinhalten beteiligt sein können, konnte anhand von Cx36-knockout (KO)-Mäusen gezeigt werden. Die Cx36-KO-Mäuse zeigten keinerlei morphologische Auffälligkeiten, jedoch fielen eine Beeinträchtigung des räumlichen Kurzzeitgedächtnisses sowie Veränderungen des EEG-Oszillationsmusters, vor allem eine Störung der synchronen Gamma-Oszillation und eine Reduktion der SWR-Komplexe, auf (Allen et al., 2011; Maier et al., 2002b).

1.3.4 Mefloquin als selektiver Gap Junction-Blocker

Mefloquin (Lariam®) gehört zur Gruppe der Chinolinderivate und ist ein in der Humanmedizin weit verbreitetes Arzneimittel zur Therapie und Prophylaxe von Malaria bei Reisenden in Chloroquin-resistente Malariagebiete. Sein Vorteil gegenüber anderen Mitteln zur Vorbeugung einer Malariainfektion ist, dass lediglich einmal wöchentlich eine Dosis von 250 mg eingenommen werden muss, während beispielsweise Malarone®, eines der meistverkauften Medikamente zur Malariaprophylaxe, täglich verabreicht wird. Der guten antiinfektiösen Wirkung von Mefloquin steht ein vor allem neuropsychologisch vielfältiges Nebenwirkungsprofil gegenüber. So treten bei jungen gesunden Behandelten milde Störungen wie Schlaflosigkeit, Kopfschmerzen, Schwindelgefühl, Depression und starke Angst in bis zu 35% der Fälle auf. Es wurden jedoch auch schwerwiegendere Nebenwirkungen wie Psychosen, Halluzinationen, Selbstmordversuche und Selbstmorde unter der Therapie mit mefloquinhaltigen Medikamenten beobachtet. Aus diesem Grund sollte Mefloquin bei Patienten mit psychischen Problemen oder psychischen Auffälligkeiten in der Vergangenheit nicht angewandt werden (van Essen et al., 2010).

Wissenschaftlich interessant ist die Eigenschaft von Mefloquin, neben Connexin43 und Connexin50 vor allem Cx36 zuverlässig zu blockieren, welches an der Bildung von Gap Junctions zwischen Neuronen beteiligt ist (siehe Abschnitt 1.3.3). So konnte im Rattenmodell gezeigt werden, dass die Gabe von Mefloquin die Konsolidierung von angst-konditionierten Lerninhalten hemmt (Bissiere et al., 2011). Chinin, welches strukturell mit Mefloquin verwandt ist, und auch selektiv Cx36-Gap Junctions blockiert, ruft bei Ratten eine Veränderung des Schlaf-Wach-Rhythmus hervor. So waren nach Mefloquingabe während einer 24-stündigen polysomnographischen Aufzeichnung die REM-Schlafphasen deutlich und die SWS-Phasen leicht verkürzt, während eine erhöhte Zahl an Wachphasen registriert wurde (Franco-Perez & Paz, 2009). In Humanstudien konnte ein deutlicher Effekt von Mefloquin auf das Erlernen von motorischen Inhalten gezeigt werden. So ist die

Lerngeschwindigkeit als auch die Lernkapazität unter Mefloquin im Vergleich zu einer Kontrollgruppe signifikant vermindert (van Essen et al., 2010).

1.4 Fragestellung und Hypothesen

Es kann vermutet werden, dass Gap Junctions für die schlafabhängige Konsolidierung von Gedächtnisinhalten eine wichtige Rolle spielen, da diese an der Generierung synchroner elektrischer Aktivität im Gehirn beteiligt sind. Für welche Art des Gedächtnisses Cx36 maßgeblich ist und inwiefern es an der Enkodierung, Konsolidierung oder am Abruf von Gedächtnisinhalten beteiligt ist, ist bislang weitgehend unbekannt. Diese humanexperimentelle Studie überprüft die Hypothese, dass die Blockade von Cx36 zu einer Verschlechterung der Gedächtniskonsolidierung im Schlaf führt. Um dieser Vermutung nachzugehen, wurde Mefloquin zwischen dem Erlernen von Gedächtnisinhalten und dem anschließenden Nachtschlaf verabreicht und die Auswirkung der dadurch induzierten Blockade der Cx36 enthaltenden Gap Junctions auf die schlafbezogene Verfestigung deklarativer und non-deklarativer Gedächtnisinhalte untersucht. Hierzu wurden insgesamt 20 junge, gesunde Probanden rekrutiert, welche zwei Versuchsnächte im Schlaflabor verbrachten, wobei jeweils einmal vor dem Schlafengehen eine Dosis von 250 mg Mefloquin verabreicht wurde und einmal eine Placebo-Kapsel. Anhand von verschiedenen Gedächtnistests wurde die Gedächtniskonsolidierung im Schlaf gemessen. Das Ziel der Studie war es also, die Rolle der Gap Junctions in der schlafbezogenen Gedächtniskonsolidierung zu charakterisieren.

2 Material und Methodik

2.1 Versuchspersonen

An der Studie nahmen insgesamt 20 Männer im Alter zwischen 20 und 28 teil (Mittelwert \pm SEM: 23,35 \pm 2,68). Die Rekrutierung der Probanden erfolgte über Aushänge oder direkte Ansprache. Alle Probanden nahmen freiwillig an der Studie teil und unterschrieben nach ausgiebiger Information vor Studienbeginn eine schriftliche Einwilligungserklärung. Nach Wahrnehmung aller Termine bekamen die Teilnehmer eine Aufwandsentschädigung von 180 €.

Um die Stichprobe möglichst homogen zu gestalten, mussten die Probanden bestimmte Kriterien erfüllen. Voraussetzung für die Teilnahme war, dass die Probanden männlich und zwischen 18 und 30 Jahre alt waren und einen BMI zwischen 20-25 kg/m² aufwiesen. Weiterhin mussten sie Nichtraucher sein, der Schulabschluss sollte mindestens der Fachhochschulreife entsprechen und deutsch wurde als Muttersprache vorausgesetzt. Frauen wurden aufgrund der zyklusabhängigen Veränderungen des Hormonspiegels von der Studie ausgeschlossen. Weitere studienrelevante Ausschlusskriterien waren die regelmäßige Einnahme von Medikamenten, bekannte Schlafstörungen, Schichtarbeit in den letzten sechs Wochen vor Beginn des Experiments, Reisen mit Zeitverschiebungen über sechs Stunden in den letzten sechs Wochen sowie die vorherige Teilnahme an einem Versuch mit den im Experiment verwendeten Gedächtnisaufgaben.

Klinische Ausschlusskriterien waren psychiatrische, neurologische, kardiovaskuläre, pulmonale, endokrine und gastrointestinale Erkrankungen, die bekannt waren oder bei der Voruntersuchung der Probanden zu Studienbeginn auffielen.

Medikamentenbedingte Ausschlusskriterien waren eine Überempfindlichkeit gegenüber Mefloquin oder verwandte Substanzen (z.B. Chinin, Chinidin), eine gegenwärtige Depression oder Depression in der Vorgeschichte, generalisierte Angststörung, Psychose, Schizophrenie, andere schwere psychische

Störungen oder Krampfanfälle, sowie die Einnahme von Halofantrin oder Ketoconazol, das Vorliegen einer Galactose-Intoleranz, eines Lactase-Mangels sowie einer Glucose-Galactose-Malabsorption.

2.2 Studiendesign und Studienablauf

Die Studie beinhaltete eine Voruntersuchung und drei Nächte, wobei es sich um eine Eingewöhnungsnacht und zwei Experimentalnächte handelte. Der Abstand zwischen der Eingewöhnungsnacht und der ersten Experimentalnacht wurde variabel gestaltet, betrug jedoch mindestens zwei Tage. Zwischen den beiden Experimentalnächten musste aufgrund der langen Halbwertszeit von Mefloquin ein zeitlicher Abstand von mindestens vier Wochen gewährleistet sein, um den möglichst vollständigen Abbau des Medikaments vor der zweiten Experimentalnacht zu gewährleisten. Jeder Proband erhielt in einer Experimentalnacht eine mit Füllmaterial (Placebo) und in der anderen Experimentalnacht eine zusätzlich mit Lariam[®] 250 mg (Verum) versehene, optisch und geschmacklich völlig identische Kapsel. Eine Wirkung von Mefloquin im Gehirn kann angenommen werden, da dieses problemlos die Blut-Hirn-Schranke überqueren kann und es Hinweise gibt, dass die Substanz im ZNS akkumuliert (van Essen et al., 2010). Die Einnahme erfolgte nach dem Abendessen, da dies die Bioverfügbarkeit des Wirkstoffes erhöht (Crevoisier, Handschin, Barre, Roumenov, & Kleinbloesem, 1997). Die Dosis von 250 mg entspricht im Humanäquivalent der Dosis, die im Rattenmodell einen signifikanten Effekt auf die Gedächtnisleistung hatte (Bissiere et al., 2011) und beim Menschen eine Beeinträchtigung des motorischen Lernens hervorrief (van Essen et al., 2010). Die Reihenfolge der Versuchsbedingungen wurde über die Probanden hinweg balanciert und erfolgte doppelblind.

2.2.1 Voruntersuchung

Vor Studienbeginn fand eine Voruntersuchung statt, in der die Probanden ärztlich untersucht wurden (Anamnese, körperliche Untersuchung inklusive Blutdruck- und Pulsmessung). Des Weiteren wurde eine Blutuntersuchung

durchgeführt, bei der folgende Parameter bestimmt wurden: Großes Blutbild, Kreatinin, Natrium, Kalium, Calcium, Chlorid, Glucose, Bilirubin, GPT, AP, GGT, LDH, CRP, Quick, PTT. Alle genannten Werte mussten sich im Normbereich befinden. Außerdem wurden die Größe und das Gewicht der Probanden erfragt und so der BMI ermittelt.

2.2.2 Eingewöhnungsnacht

Vor der ersten Versuchsnacht absolvierten die Probanden eine Eingewöhnungsnacht, um sich an das Schlafen unter Laborbedingungen zu gewöhnen. Hierzu trafen sie um 21.30 Uhr im Schlaflabor ein und füllten das Probandenblatt aus (siehe Anhang). Des Weiteren wurde den Teilnehmern in der Eingewöhnungsnacht ein Selbstauskunftsbogen ausgehändigt, auf dem sie ihre Kontodaten angaben, um nach Absolvierung aller Experimente die Aufwandsentschädigung per Überweisung zu erhalten. Danach wurden die Elektroden für die Polysomnographie angebracht. Gegen 22.45 Uhr wurden die Probanden gebeten, sich ins Bett zu legen, damit die polysomnographische Aufzeichnung beginnen konnte. Von 23.00-07.00 Uhr absolvierten die Probanden regelrechten Nachtschlaf. Am nächsten Morgen wurden die Elektroden entfernt und im Anschluss ein Termin für die erste Experimentalnacht vereinbart. Gegen 7.30 Uhr verließen die Probanden das Labor.

2.2.3 Experimentalnächte

Nach dem Eintreffen der Probanden erfolgte die Lernphase der Gedächtnistests am Computer in standardisierter Reihenfolge. Im Anschluss füllten die Probanden verschiedene Fragebögen aus. Um Hunger vorzubeugen, nahmen die Teilnehmer um 17.41 Uhr einen Snack ein, bevor um 18.00 Uhr das Präparat (Verum/Placebo) verabreicht wurde. Um die Zeit bis zum Schlafengehen zu überbrücken, schauten die Probanden standardisierte Tierdokumentationen und nahmen ihr Abendbrot ein. Nach Anbringen der Elektroden sowie erneutem Ausfüllen der Fragebögen und einer Blutentnahme absolvierten sie acht Stunden regelrechten Nachtschlaf. Am Morgen füllten die

Teilnehmer weitere Fragebögen aus und verließen nach einer Blutentnahme das Labor. Am frühen Nachmittag erfolgte der Abruf der am Vorabend erlernten Gedächtnisinhalte, sowie weitere Tests. Nach Ausfüllen der vierten Version der Fragebögen sowie einer dritten Blutentnahme konnten die Teilnehmer das Versuchslabor verlassen. Tabelle 2 gibt einen Überblick über den Versuchsablauf der Experimentalnächte.

Tabelle 2: Überblick über den Versuchsablauf der Experimentalnächte

Uhrzeit	Ereignis
07.00	Proband erwacht
15.45	Proband trifft im Schlaflabor ein
15.47	Ausfüllen des Probandenblattes
15.50	Deklarative Gedächtnistests: Lernen Fingertapping: Lernen
17.25	Psychomotorischer Vigilanztest (PVT)
17.31	Fragebögen (t1): SSS, Hunger und Durst, MDBF-A, Befindlichkeit, EWL-K
17.41	Snack (Butterbrezel)
Warten bis 18:00	
18.00	Das Präparat (Verum/Placebo) wird oral verabreicht Distraktionsbeginn: Anschauen standardisierter Tierdokumentationen
19.00	Standardisiertes Abendessen
20.55	Ende der Distraction
21.00	Elektroden werden geklebt
22.15	Fragebögen (t2): SSS, Hunger und Durst, MDBF-A, Befindlichkeit, EWL-K
22.25	1. Blutentnahme
23.00	Licht aus. Proband absolviert regelrechten Nachschlaf
07.00	Proband wird geweckt , Elektroden werden entfernt Fragebögen (t3): SSS, Hunger und Durst, MDBF-A, Befindlichkeit, EWL-K 2. Blutabnahme Proband verlässt das Labor
Pause zur freien Verfügung (kein Lernen)	
Uhrzeit	Ereignis
14.30	Proband trifft im Schlaflabor ein
14.32	Ausfüllen des Probandenblattes
14.35	Deklarative Gedächtnistests: Abruf
14.55	Fingertapping: Abruf
15.00	Fingertapping: Kontrolle Wortflüssigkeitstest Enkodierungs-Test (Nummernlernen)
15.17	PVT
15.23	Fragebögen t(4): SSS, Hunger und Durst, MDBF-A, Befindlichkeit, EWL-K Fragebogen: Nachbefragungsbogen 1
15.40	Nach der zweiten Experimentalsitzung: Nachbefragungsbogen 2
15.42	3. Blutabnahme
15.50	Proband verlässt das Labor

Die Fragebögen wurden zu vier verschiedenen Zeitpunkten t(1)-t(4) durchgeführt. SSS: Stanford-Schläfrigkeitsskala; MDBF-A: Mehrdimensionaler Befindlichkeitsfragebogen Version A; EWL-K: Eigenschaftswörterliste-Kurzform.

Um einen möglichst homogenen Versuchsablauf zu gewährleisten, wurden die Probanden dazu angehalten, am Tag des Experimentes um 07.00 Uhr aufzustehen und in den Nächten davor einen regelmäßigen Schlafrythmus einzuhalten. Bei Versuchsbeginn wurden die Teilnehmer aufgefordert, ihr Handy auszuschalten und der Versuchsleiterin zu übergeben. Um Konzentrationsabfälle beim Erlernen der Gedächtnisaufgaben zu verhindern, war zwischen den deklarativen Gedächtnistests eine zehnmünütige Pause vorgesehen, in der die Probanden ein standardisiertes Computerspiel spielten.

2.3 Gedächtnistests

Alle Gedächtnistests lagen in mindestens zwei verschiedenen Versionen vor, wobei diese über die beiden Experimentalnächte balanciert wurden. Die Gedächtniskonsolidierung wurde mithilfe der beiden deklarativen Aufgabenstellungen, des Memory-Tests und des Wortpaar-Tests, und einer prozeduralen Aufgabe, des Fingertapping-Tests, untersucht. Die Enkodierung wurde durch den Nummerlernen-Test geprüft und die allgemeine Abruf-Funktion wurde anhand des Wortflüssigkeitstests erfasst.

2.3.1 Wortpaar-Test

Beim Wortpaar-Test (paired-associate learning, PAL) (Feld, Lange, Gais, & Born, 2013) wurden dem Probanden am Computer 40 verschiedene, semantisch jeweils verwandte Wortpaare präsentiert. Auch hier erfolgte zunächst ein Lerndurchgang, wobei die Wortpaare einmalig für jeweils vier Sekunden angezeigt wurden. Die Abfrage erfolgte direkt im Anschluss, indem das erste Wort am Bildschirm präsentiert und der Proband daraufhin aufgefordert wurde, das dazugehörige passende Wort zu nennen. Die korrekte Lösung wurde nach jedem Wort eingeblendet, sodass der Versuchsteilnehmer seine Aussage überprüfen konnte. Die Abfrage wurde so lange wiederholt, bis mindestens 24 Wortpaare (60%) korrekt vervollständigt wurden. Am nächsten Tag erfolgte im Rahmen des Abrufs die erneute Präsentation des ersten Wortes und der Proband wurde aufgefordert, das zweite Wort zu nennen. Diesmal

wurde die richtige Lösung jedoch nicht eingeblendet und die Abfrage unabhängig vom Ergebnis lediglich einmal durchgeführt. Der Quotient der Erinnerungsleistung aus unmittelbarem und verzögertem Abruf bildet das Maß für die nächtliche Gedächtniskonsolidierung.

2.3.2 Memory-Test

Dieser Lokalisations-Gedächtnistest (Rasch, Büchel, Gais & Born, 2007) basiert auf dem bekannten Gesellschaftsspiel „Memory“ und umfasst 15 Bildpaare, die am PC gezeigt werden, wobei das Spiel in zwei sich in der Art der Motive unterscheidenden Versionen vorlag (Version A und B). Jeder Proband absolvierte in jeder Experimentalnacht jeweils eine Version, wobei die Reihenfolge über die Experimentalnächte balanciert war. Im Lerndurchgang wurden die Bildpaare dem Probanden jeweils zweimal präsentiert und im Anschluss direkt abgefragt. Dabei wurde eine Karte des Bildpaares aufgedeckt und der Versuchsteilnehmer wurde dazu angehalten, aus den restlichen 29 verdeckten Bildpaaren die identische Karte mit dem Cursor anzuklicken (siehe Abbildung 3). Lag der Proband bei der Zuordnung des Bildpaares falsch, wurde ihm die korrekte Lösung durch Präsentation der zugehörigen Karte am Bildschirm angezeigt. Beim Lernen musste das Spiel so lange wiederholt werden, bis in einem Durchlauf mindestens neun Bildpaare (60%) und mehr richtig identifiziert wurden. Die Abfrage am nächsten Tag beinhaltete keinen Lerndurchgang und umfasste nur einen Abruf, unabhängig davon, wie viele Bildpaare korrekt identifiziert wurden.

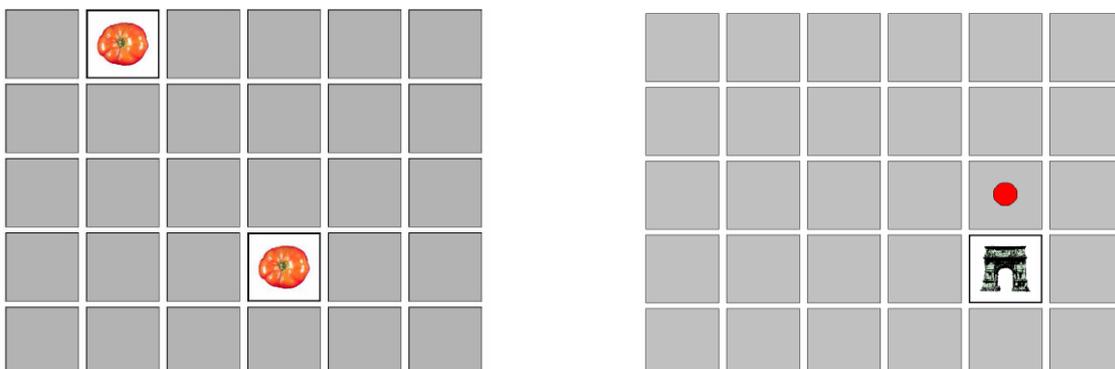


Abbildung 3: Links: Memory-Test im Lern-Modus; Rechts: Memory-Test im Abfrage-Modus (der rote Punkt zeigt den Cursor an)

2.3.3 Fingertapping-Aufgabe

Die Fingertapping Aufgabe (Kuriyama, Stickgold & Walker, 2004) wurde eingesetzt, um den Einfluss von Mefloquin auf das prozedurale Gedächtnis zu überprüfen. Sie beinhaltet eine fünfstellige, über die gesamte Lernphase gleichbleibende Zahlensequenz, welche sich aus den Zahlen eins bis vier zusammensetzt. Diese Zahlensequenz musste vom Probanden während der Lernphase auf einer handelsüblichen Computertastatur so präzise, häufig und schnell wie möglich mit seiner nicht dominanten Hand eingetippt werden, während die Sequenz auf einem Bildschirm angezeigt wurde (siehe Abbildung 4). Dabei betrug ein Durchgang 30 Sekunden. Insgesamt beinhaltete die Lernphase 12 Durchgänge, wobei zwischen den einzelnen Durchgängen eine Pause von 30 Sekunden gemacht wurde, welche der Entspannung der Finger und der Konzentrationsförderung diente. Das Ende der Pause wurde dem Probanden durch das Erscheinen des Wortes "Achtung" auf dem Bildschirm sowie einen kurzen Signalton angezeigt. Am nächsten Tag erfolgte die Abfrage der am Vortag erlernten Zahlenkombination. Hierbei musste dieselbe Zahlenkombination wie am Vortag eingegeben werden, wobei lediglich drei Durchgänge stattfanden. Anschließend fand ein Kontrolltest statt, welcher ebenfalls eine fünfstellige Zahlensequenz der Zahlen eins bis vier beinhaltete, die sich jedoch von der Lern- und Abfragephase unterschied, um lernunspezifische Effekte zu erfassen.

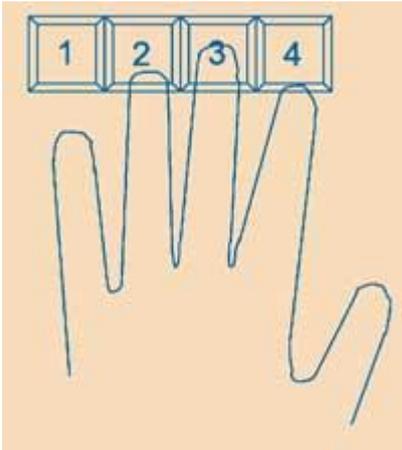


Abbildung 4: Fingertapping-Aufgabe auf handelsüblicher Computertastatur

Einzugeben ist eine 5-stellige Zahlenkombination, z.B. 2-4-3-4-1, mit der nicht dominanten Hand.

2.3.4 Nummernlernen-Aufgabe

Bei diesem Test wurden dem Probanden 16 dreistellige Zahlen am Computer präsentiert. Diese wurden insgesamt vier Mal in unterschiedlicher Reihenfolge angezeigt. Der Proband sollte sich so viele Zahlen wie möglich merken und diese nach einer einminütigen Pause auf einem weißen DIN A4-Blatt notieren. Danach wurden dem Probanden insgesamt 32 Zahlen präsentiert, von denen 16 neue Zahlen und 16 bereits im vorhergehenden Durchgang gelernte Zahlen waren. Hier sollte der Versuchsteilnehmer durch Drücken von zwei verschiedenen Buchstaben auf der Computertastatur (p und q) anzeigen, ob es sich um eine neue oder um eine im vorherigen Durchgang bereits gelernte Zahl handelte.

2.3.5 Wortflüssigkeitstest

Dieser Test ist eine Kurzform des Regensburger Wortflüssigkeitstests (Aschenbrenner, Tucha & Lange, 2000) und dient der Einschätzung der allgemeinen Abrufleistung des Probanden. Um Trainingseffekte zu vermeiden, lag der Test jeweils in zwei verschiedenen Versionen vor, wobei in den beiden Experimentalnächten jeweils eine der beiden Versionen verwendet wurde. Im Rahmen des Wortflüssigkeitstests wurden die Probanden aufgefordert,

innerhalb von zwei Minuten so viele deutschsprachige Wörter wie möglich mit einem vorgegebenen Anfangsbuchstaben (M oder P) auf ein weißes Blatt Papier niederzuschreiben. Anschließend waren ebenfalls innerhalb von zwei Minuten möglichst viele Wörter einer bestimmten Kategorie (Hobby oder Beruf) zu notieren. Nach Ablauf der zwei Minuten wurden die Probanden gebeten, den Stift abzulegen und das Blatt dem Versuchsleiter zu übergeben, welcher die Anzahl der korrekt niedergeschriebenen Wörter feststellte.

2.4 Polysomnographische Schlafregistrierung

Zur polysomnographischen Schlafaufzeichnung wurde der EEG-Verstärker BrainAmp (Firma Brain Products, Deutschland) verwendet. Hierfür wurden insgesamt 18 Elektroden am Kopf der Probanden angebracht (siehe Abbildung 6). Die Hautstellen wurden zuvor mit einer speziellen Abrasionspaste behandelt, um die Impedanz der Haut zu reduzieren. Danach wurde die Hautstelle desinfiziert und die Elektrode mit einer Elektrodencreme (Grass Technologies, EC2® Electrode Cream, West Warwick) angebracht. Zur Analyse der Schlafaufzeichnung wurde mithilfe des Computerprogramms Schlafaus (Steffen Gais, Universität Tübingen) jede 30-Sekunden Epoche nach den Kriterien von Rechtschaffen und Kales (1968) einem Schlafstadium zugeordnet.

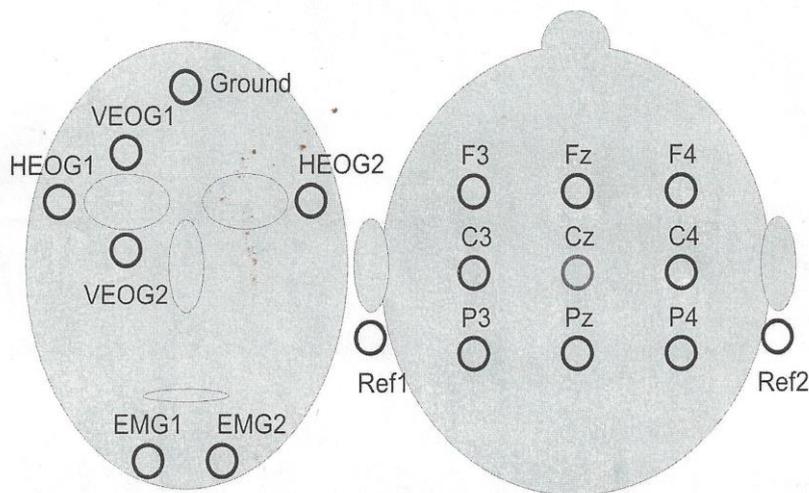


Abbildung 5: Schematische Darstellung der Anbringung der Elektroden für die polysomnographische Aufzeichnung

Ground: Erdungselektrode; VEOG: Vertikales Elektrokulogramm; HEOG: Horizontales Elektrokulogramm; EMG: Elektromyogramm; F: Frontale EEG-Elektroden, C: Zentrale EEG-Elektroden; P: Posteriore EEG-Elektroden; Ref: Referenzelektrode

2.5 Psychometrische Kontrollvariablen

2.5.1 Fragebögen

Stanford-Schläfrigkeits-Skala

Zur Erfassung der gegenwärtigen Schläfrigkeit wurde die Stanford-Schläfrigkeits-Skala (SSS) angewandt. Hierbei wird die Schläfrigkeit von der Versuchsperson auf einer achtstufigen Skala eingeschätzt (siehe Anhang).

Hunger und Durst

Zur Erfassung des subjektiven Hunger- und Durstgefühls der Probanden wurden diese aufgefordert, ihr generelles Verlangen nach Essen, nach Süßem und nach Herzhaftem sowie ihr generelles Durstgefühl auf einer visuellen Analogskala durch ein Kreuz auf einem 100 mm langen Strich zu markieren (siehe Anhang). Der tatsächliche Wert wurde mit einem Lineal abgemessen und in Millimeter angegeben, sodass sich ein absoluter Wert zwischen 0 und 100 mm ergab.

Mehrdimensionaler Befindlichkeitsfragebogen (MDBF)

Zur Erfassung der Befindlichkeit wurde der Mehrdimensionale Befindlichkeitsfragebogen, Kurzform A (MDBF) angewandt, welcher mit Hilfe einer Liste von zwölf Adjektiven die Faktoren Stimmung, Wachheit/Müdigkeit und Ruhe/Unruhe untersucht. Die Probanden mussten hierbei deren Zutreffen auf einer Fünf-Punkte-Likert-Skala einschätzen. Ein hoher Skalenwert in der Kategorie „Stimmung“ zeigt hierbei eine positive Stimmungslage an, ein niedriger Wert entsprechend negative Stimmung. In der Kategorie „Wachheit/Müdigkeit“ entspricht ein hoher Skalenwert Wachheit/Ausgeruhtheit, während niedrige Werte auf eine schlappe und müde Haltung hinweisen. In der Kategorie „Ruhe/Unruhe“ spricht ein hoher Skalenwert dafür, dass sich die Person ruhig und gelassen fühlt, während niedrige Werte dafür sprechen, dass sich die Person angespannt und innerlich unruhig fühlt (Steyer, Schwenkmezger, Notz & Eid, 1997).

Befindlichkeitsfragebogen

Zur Beurteilung der Nebenwirkungen wurde ein Befindlichkeitstest verwendet (siehe Anhang). Auf diesem sollten Angaben zu den Items Übelkeit, Schwindel, Bauchschmerzen, Gleichgewichtsstörung, Kopfschmerz, Schläfrigkeit und Schlaflosigkeit anhand einer fünfstufigen Skala von „ganz wenig oder gar nicht“ bis „äußerst“ gemacht werden.

Eigenschaftswörterliste – Kurzform (EWL-K)

Die EWL-K umfasst 123 Adjektive, z.B. „tatkraftig“, „dösig“, „froh“, und dient der Erfassung der aktuellen Stimmung und Befindlichkeit. Die Probanden geben jeweils an, ob das Adjektiv auf ihre gegenwärtige Befindlichkeit zutrifft oder nicht zutrifft. Die 123 Adjektive sind 14 Faktoren zugeordnet: Aktiviertheit (A), Desaktiviertheit (C), Müdigkeit (D), Benommenheit (E), Extrovertiertheit (F), Introvertiertheit (G), Selbstsicherheit (H), gehobene Stimmung (I), Erregtheit (J), Empfindsamkeit (K), Ärger (L), Ängstlichkeit (M), Deprimiertheit (N), Verträumtheit (O). Zur Auswertung wird eine standardisierte Schablone verwendet (Janke & Debus, 1978).

2.5.2 Psychomotorischer Vigilanztest (PVT)

Die Vigilanz der Probanden wurde mit Hilfe des PVT festgestellt. Hierbei handelt es sich um einen fünfminütigen Reaktionstest am Computer, bei dem auf dem Bildschirm eine Stoppuhr erscheint, welche nach variablem Zeitintervall zu laufen beginnt. Die Testteilnehmer wurden aufgefordert, die Leertaste zu drücken, sobald die Stoppuhr läuft. Daraufhin stoppte die Uhr und dem Probanden wurde seine Reaktionszeit in Hundertstelsekunden angezeigt.

2.6 Blutentnahmen und -analysen

Insgesamt erfolgten pro Experimentalnacht drei Blutentnahmen mithilfe eines geeigneten Venenpunktionsbestecks. Es wurden jeweils zwei Serummonovetten (Sarstedt, S-Monovette[®] 9ml, Nümbrecht), eine EDTA-Monovette (Sarstedt, S-Monovette[®] 2,7ml, Nümbrecht) und ein spezielles Röhrchen für die Katecholaminbestimmung (Recipe, ClinRep[®] - Sampling System for Catecholamines in Plasma, München) komplett mit venösem Blut befüllt. Zusätzlich wurden über eine 2 ml-Spritze ein paar Tropfen Blut für die Bestimmung der venösen Glucosekonzentration abgenommen, welche anschließend mithilfe des HemoCue[®] Glucose 201 DM-Systems bestimmt wurde.

Die EDTA-Monovette und das Röhrchen für eine Katecholaminbestimmung wurden zuvor im Kühlschrank bei 4°C aufbewahrt und erst kurz vor der Blutentnahme entnommen. Nach der Blutentnahme erfolgte die Zentrifugation mittels der „Universal 320 R“-Zentrifuge von Hettich. Die EDTA-Monovette wurde unmittelbar im Anschluss zentrifugiert (4°C, 10 min, 3112 g bei einem Radius von 144 mm). Die Serum-Monovetten wurden nach zehnminütiger Lagerung bei Raumtemperatur gemeinsam mit dem Katecholaminröhrchen, welches jedoch 10 Minuten bei 4°C gekühlt worden war, zentrifugiert (4°C, 10 min, 3312 g bei einem Radius von 141 mm). Es wurden jeweils 150 µl Plasma in zwei Eppendorf[®]-Gefäße und jeweils 150 µl Serum in drei Eppendorf[®]-Gefäße abpipettiert. Der Rest des Serums sowie der Überstand des

Katecholaminröhrchens wurden jeweils in ein 5 ml-Sarstedt-Glasröhrchen abpipettiert und mit einem geeigneten Verschluss luftdicht verschlossen. Anschließend wurden alle Proben zunächst bei -18°C und anschließend bei -80°C bis zur laborchemischen Analyse eingefroren. Der Serumspiegel von Mefloquin wurde mithilfe der Hochleistungsflüssigkeitschromatographie untersucht (untere Nachweisgrenze 20 ng/ml; Inter- und Intra-Assayvariationskoeffizient 3,28 bzw. 6,52%). Die anderen Samples wurden für eine eventuell später stattfindende Bestimmung weiterer Parameter aufbewahrt.

2.7 Statistische Auswertung

Die statistische Analyse wurde in SPSS durchgeführt (SPSS Statistics 21) und erfolgte mittels Varianzanalyse (ANOVA). Für die Gedächtnistests wurde mittels ANOVA die Interaktion von Zeitpunkt (Lernen und Abruf) und Behandlung (Verum und Placebo) ermittelt. Signifikante Effekte in der Varianzanalyse wurden durch paarweise t-Tests spezifiziert, die auch bei der Analyse der Variablen, die nur zu einem Zeitpunkt bestimmt wurden, Anwendung fanden. Die Freiheitsgrade wurden, wenn notwendig, nach dem Greenhouse-Geisser-Verfahren korrigiert und das Signifikanzniveau auf $\alpha = 0,05$ gesetzt. Ein Proband wurde bei der statistischen Auswertung nicht berücksichtigt, da dieser in einer Experimentalnacht keinen regelrechten Nachtschlaf zeigte. Der probeweise Einschluss dieses Probanden in die Analyse führte zu vergleichbaren Ergebnissen.

3 Ergebnisse

3.1 Gedächtnistests

Um den Einfluss von Mefloquin auf die schlafbezogene Konsolidierung von Gedächtnisinhalten zu überprüfen, wurden zwei deklarative Gedächtnistests (Wortpaar-Test, Memory-Test) und eine prozedurale Aufgabe (Fingertapping-Aufgabe) verwendet. Eine Übersicht über die Ergebnisse dieser Gedächtnistests zeigt Tabelle 3.

Tabelle 3: Übersicht über die im Wortpaar- und Memory-Test sowie in der Fingertapping-Aufgabe in der Mefloquin- und Placebobedingung erreichten Mittelwerte (\pm SEM)

Wortpaar-Test	Mefloquin		Placebo		p
Lernen	29,11	\pm 0,93	27,83	\pm 0,80	0,35
Abruf	28,28	\pm 1,17	29,67	\pm 1,09	0,24
Differenz	-0,83	\pm 0,79	1,83	\pm 0,68	0,01
Prozent	97,28	\pm 2,77	106,47	\pm 2,38	0,01
Lerndurchgänge	1,50	\pm 0,19	1,67	\pm 0,16	0,27
Memory					
Lernen	72,58	\pm 2,30	68,37	\pm 1,82	0,37
Abruf	55,47	\pm 3,16	53,37	\pm 3,03	0,58
Differenz	-16,11	\pm 3,29	-15,00	\pm 3,42	0,78
Lerndurchgänge	3,00	\pm 0,47	3,16	\pm 1,98	0,77
Fingertapping-Aufgabe					
Lernen	20,79	\pm 0,91	22,18	\pm 1,02	0,11
Abruf	25,40	\pm 1,25	25,05	\pm 1,28	0,61
Differenz	4,61	\pm 0,67	2,88	\pm 0,78	0,04
Prozent	122,20	\pm 3,15	113,34	\pm 3,45	0,04
Kontrollsequenz	16,78	\pm 1,08	16,13	\pm 0,94	0,46

Ein Proband wurde in der statistischen Auswertung des Wortpaar-Lernens nicht berücksichtigt, da seine Konsolidierungsleistung in der Placebonacht um mehr als zwei Standardabweichungen vom Gruppenmittelwert abwich.

Beim Wortpaar-Test zeigte sich eine Interaktion von Zeitpunkt und Behandlung ($F_{(1,17)} = 9,14$, $p \leq 0,01$). Demnach ließ sich unter Mefloquin eine hoch signifikante Reduktion der Anzahl der erinnerten Wortpaare im Vergleich zur

Placebobedingung, bezogen auf die Anzahl der am Vortag gelernten Wörter, nachweisen (siehe Abbildung 6). Beim Vergleich des Zeitpunkts (Lernen und Abruf) zeigte sich kein Haupteffekt ($F_{(1,17)} < 1$, $p = 0,41$). Auch ließ sich kein Haupteffekt der Behandlung (Verum und Placebo) erkennen ($F_{(1,17)} < 1$, $p = 0,96$).

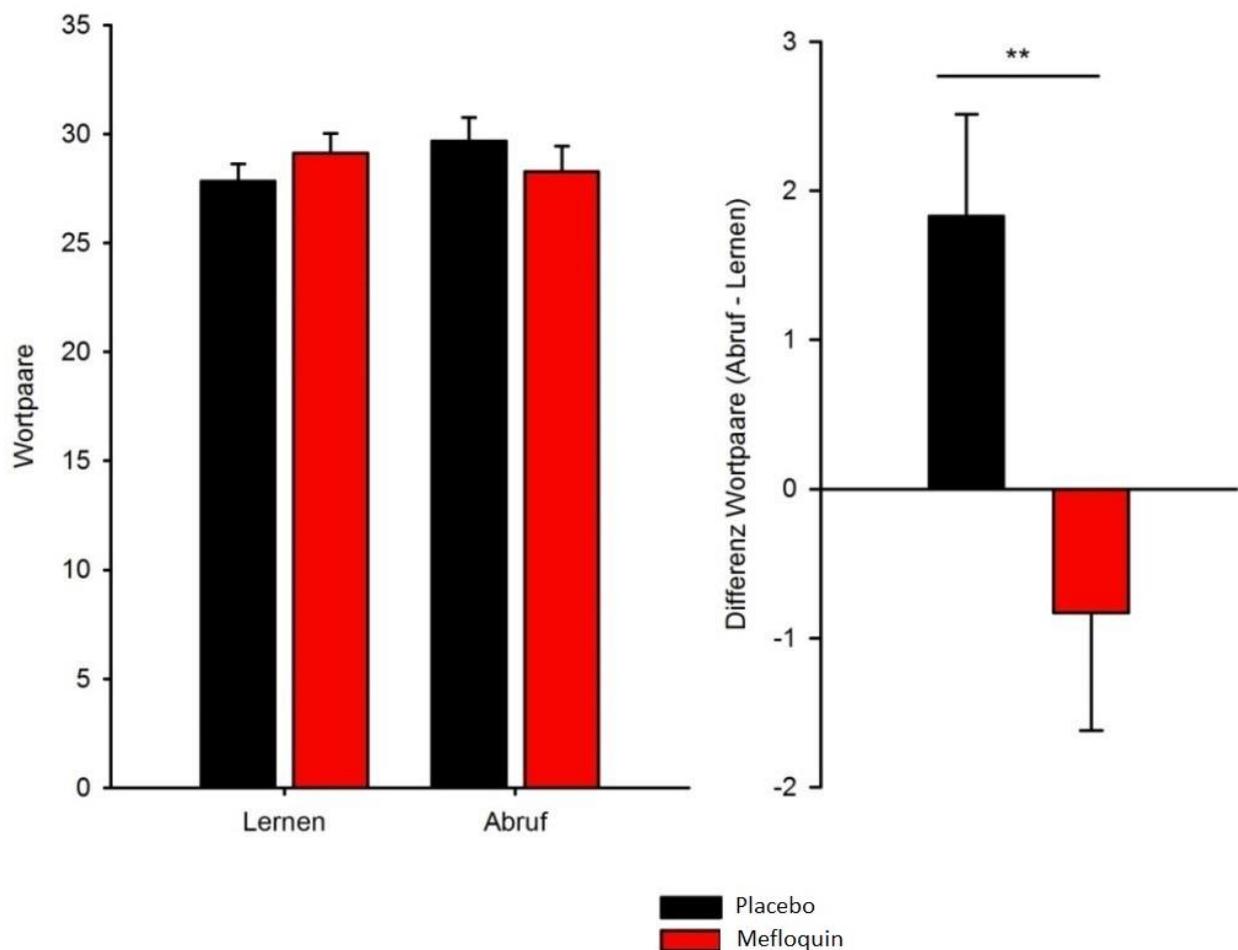


Abbildung 6: Wortpaar-Test

Graphische Darstellung der Mittelwerte \pm SEM der Anzahl der im Lerndurchgang gelernten Wortpaare und der beim Abruf wiedergegebenen Wortpaare (links), sowie der absoluten Differenz zwischen den Anzahlen der gelernten und erinnerten Wortpaare (rechts) in der Mefloquin- und der Placebobedingung.

Bei Betrachtung der Ergebnisse des Memory-Tests ergibt sich kein Hinweis auf eine Interaktion zwischen Zeitpunkt und Behandlung ($F(1,18) < 1$, $p = 0,78$). In der

Verumbedingung wurden jedoch deskriptiv etwas weniger Bildpaar-Lokationen über das Retentionsintervall behalten als unter Placebobedingung. Dieses Ergebnis ist jedoch nicht signifikant (siehe Tabelle 3). Auch zeigte sich kein Haupteffekt der Behandlung ($F_{(1,18)} < 1$, $p = 0,39$), d.h. dass unter Verum- und Placebobedingung annähernd dieselbe Zahl von Bildpaaren korrekt zugeordnet wurden. Allein für den Zeitpunkt ließ sich ein Haupteffekt nachweisen ($F_{(1,18)} = 32,82$, $p \leq 0,001$), d.h. dass bei der Abfrage signifikant weniger richtige Bildpaare identifiziert wurden als im Lerndurchgang am Vortag.

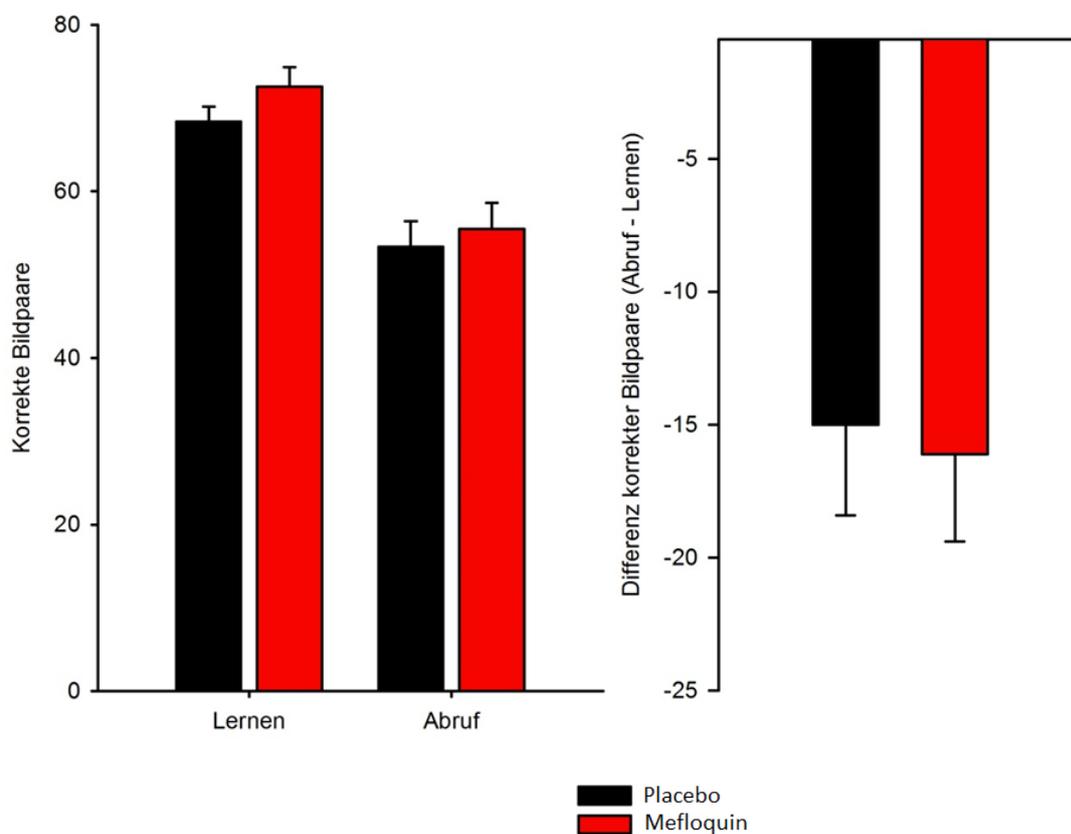
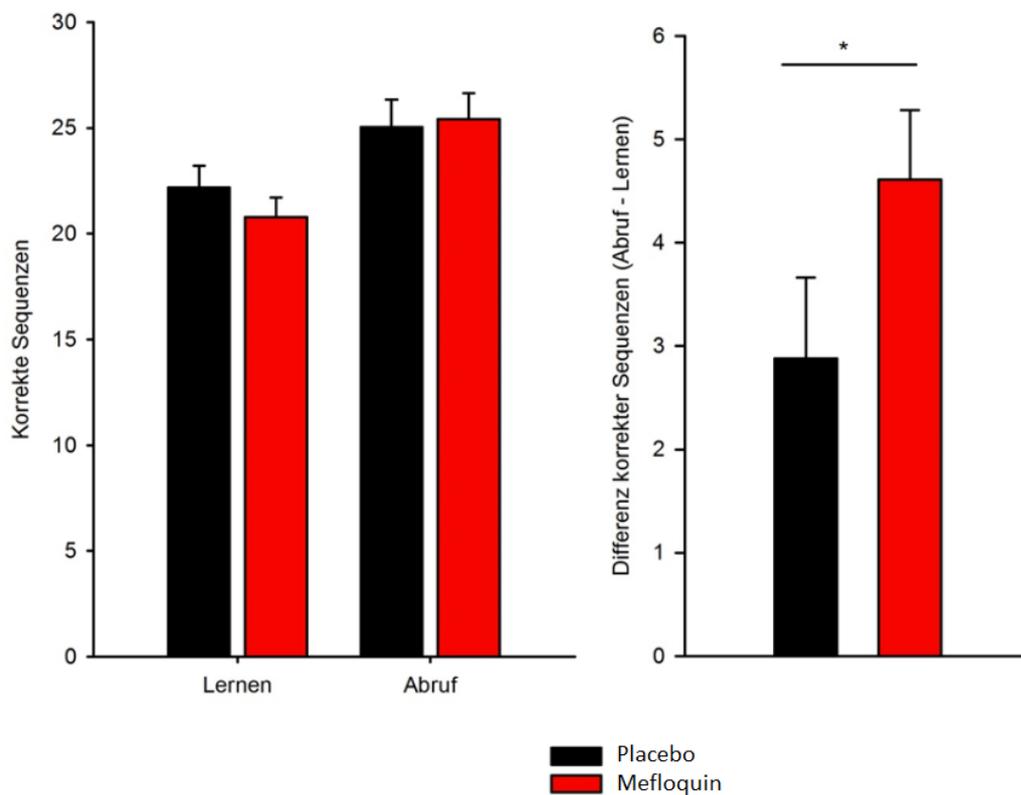


Abbildung 7: Memory-Test

Graphische Darstellung der Mittelwerte (\pm SEM) in Prozent korrekt zugeordneter Bildpaare im Lerndurchgang und beim Abruf (links) und der Differenzen in den Anzahlen der korrekt zugeordneten Bildpaare zwischen Lerndurchgang und Abruf (rechts) jeweils in der Mefloquin- und der Placebobedingung.

In der Fingertapping-Aufgabe zeigte sich zunächst ein Haupteffekt des Zeitpunkts ($F_{(1,18)} = 36,92$, $p \leq 0,001$). Die Probanden wiesen über beide Bedingungen hinweg bei der Abfrage am folgenden Tag eine verbesserte Leistung im Vergleich zum Lernintervall am Vortag auf, weil sie die gelernte Sequenz schneller und präziser eintippen konnten. Ein Haupteffekt der Behandlung stellte sich nicht ein ($F_{(1,18)} < 1$, $p = 0,43$). Des Weiteren zeigte sich eine Interaktion von Zeitpunkt und Behandlung ($F_{(1,18)} = 4,95$, $p \leq 0,05$): die Probanden zeigten in der Verum- im Vergleich zur Placebobedingung eine im Vergleich zum Lerndurchgang verbesserte Leistung beim Abruf. Dieses Ergebnis illustriert Abbildung 6. Aus der Analyse der Kontrollsequenz, welche lediglich drei Durchgänge umfasste, ergab sich kein signifikanter Unterschied in der Schnelligkeit und der Korrektheit der Durchführung der neu zu erlernenden Zahlensequenz zwischen Verum- und Placebobedingung (siehe Tabelle 3).

**Abbildung 8: Fingertapping-Aufgabe**

Graphische Darstellung der Mittelwerte \pm SEM der Anzahl der korrekten Sequenzen (inks) sowie der absoluten Differenz zwischen Lernen und Abruf (rechts) in der Mefloquin- bzw. Placebobedingung.

Die Encodierung und die Abruffunktion wurden mittels der Nummernlernen-Aufgabe und des Wortflüssigkeitstests geprüft. Eine Übersicht über die Ergebnisse dieser Tests zeigt Tabelle 4.

Tabelle 4: Übersicht über die Mittelwerte \pm SEM, die in der Nummernlernen-Aufgabe sowie im Wortflüssigkeitstest in der Verum- und der Placebobedingung erreicht wurden

Nummernlernen (Freier Abruf)	Mefloquin		Placebo		p
Anzahl Richtige	7,37	\pm 0,86	8,16	\pm 0,69	0,10
Anzahl Falsche	3,95	\pm 0,84	4,05	\pm 0,57	0,89
Nummernlernen (Wiedererkennen)					
Anzahl Richtige	0,78	\pm 0,04	0,85	\pm 0,03	0,15
Anzahl Falsche	0,28	\pm 0,03	0,24	\pm 0,03	0,42
d-prime	1,49	\pm 0,22	1,82	\pm 0,19	0,22
Wortflüssigkeitstest					
Kategorie Buchstabe	16,15	\pm 1,05	17,37	\pm 1,16	0,40
Kategorie Hobby/Beruf	20,42	\pm 0,84	21,84	\pm 0,98	0,31
Wörter gesamt	36,58	\pm 1,64	39,21	\pm 1,80	0,25

Die Mittelwerte geben die absoluten Werte der im freien Abruf wiedergegebenen Zahlen, die Prozentwerte der als richtig oder falsch identifizierten Zahlen beim Wiedererkennen, sowie die absoluten Werte der niedergeschriebenen Wörter an

Im Wortflüssigkeitstest ließ sich in beiden Kategorien (Buchstabe und Hobby) kein signifikanter Unterschied zwischen den Bedingungen in der Anzahl der notierten Wörter nachweisen ($p \geq 0,25$). Demnach beeinflusste Mefloquin nicht die generelle Abruffunktion. In der Nummernlernen-Aufgabe zeigte sich kein Unterschied zwischen den Bedingungen bei der Wiedererkennung der zuvor gelernten Zahlen ($p \geq 0,15$). Im freien Abruf zeigte sich jedoch ein Trend hin zu einer verschlechterten Lernleistung unter Mefloquin ($p \leq 0,10$).

3.2 Schlaf und psychometrische Kontrollvariablen

3.2.1 Schlafparameter und Vigilanz

Die Auswertung der polysomnographisch bestimmten Schlafstadien ergab, dass die Probanden in beiden Versuchsbedingungen eine vergleichbare Schlafarchitektur aufwiesen (alle Parameter $p > 0,24$, siehe Tabelle 5). Die Müdigkeit gemäß Stanford-Schläfrigkeitsskala unterschied sich ebenso wenig zwischen den beiden Bedingungen (alle $p \geq 0,25$). Die Probanden zeigten sich im Allgemeinen am Abend müder als am Tag und am Morgen. Um die generelle

Vigilanz der Probanden zu testen, wurde der PVT angewandt. Hier zeigte sich im Lerndurchgang eine kürzere Reaktionszeit auf den visuellen Reiz als bei der Abfrage am nächsten Tag. Ein Unterschied der Vigilanz zwischen Verum- und Placebobedingung konnte nicht beobachtet werden ($p \geq 0,13$). Eine Übersicht zeigt Tabelle 5.

Tabelle 5: Übersicht über die Mittelwerte \pm SEM der Ergebnisse der Schlafanalyse, der SSS und des PVT (Reaktionszeit in Sekunden) in der Verum- und der Placebobedingung

Schlaf in Minuten	Mefloquin		Placebo		p
Wach	14,58	\pm 2,36	17,97	\pm 4,56	0,48
S1	37,06	\pm 2,64	33,78	\pm 2,35	0,24
S2	247,92	\pm 6,91	252,61	\pm 5,63	0,40
S3	44,94	\pm 3,71	41,44	\pm 4,44	0,36
S4	11,97	\pm 5,90	10,33	\pm 4,93	0,47
SWS	56,91	\pm 6,75	51,78	\pm 6,68	0,30
REM	104,50	\pm 5,20	101,58	\pm 5,30	0,62
MT	2,83	\pm 0,35	3,28	\pm 0,34	0,24
TST	463,81	\pm 4,42	461	\pm 5,76	0,65
Schlaf in Prozent					
Wach	3,15	\pm 0,15	3,88	\pm 0,96	0,47
S1	8,03	\pm 0,59	7,37	\pm 0,53	0,27
S2	53,47	\pm 1,49	54,90	\pm 1,31	0,17
S3	9,64	\pm 0,78	8,93	\pm 0,94	0,36
S4	2,40	\pm 1,18	2,07	\pm 0,99	0,47
SWS	12,18	\pm 1,40	11,12	\pm 1,41	0,30
REM	22,56	\pm 1,12	22,03	\pm 1,09	0,66
MT	0,59	\pm 0,08	0,71	\pm 0,07	0,17
Stanford-Schläfrigkeitsskala					
t(1)	2,58	\pm 0,25	2,68	\pm 0,28	0,79
t(2)	4,26	\pm 0,29	4,31	\pm 0,32	0,91
t(3)	2,68	\pm 0,25	2,84	\pm 0,24	0,63
t(4)	1,84	\pm 0,23	2,16	\pm 0,22	0,25
Psychomotorischer Vigilanz-Test					
Lernen	3,66	\pm 0,08	3,60	\pm 0,11	0,49
Abruf	3,78	\pm 0,09	3,69	\pm 0,10	0,13

Die Mittelwerte der Stanford-Schläfrigkeitsskala beziehen sich auf eine Punkteskala zwischen 0 und 8, wobei ein niedriger Wert einen wachen aktiven Zustand anzeigt. S1-S4: Schlafstadien 1-4; SWS: Slow-wave sleep (Tiefschlaf); REM: Rapid eye movement-Schlaf; MT: Movement time (Bewegung); TST: Total sleep time (Gesamtschlafdauer).

3.2.2 Befindlichkeit und Hunger

Eine Übersicht über die Ergebnisse des Hunger und Durst-Fragebogens sowie der Befindlichkeitsskala MDBF, welche den Probanden jeweils zu vier verschiedenen Zeitpunkten vorgelegt wurden, zeigt Tabelle 6. Die visuelle

Analogskala des Hunger und Durst- Fragebogens umfasste Angaben von 0-100 mm, wobei hohe Werte ein starkes Bedürfnis nach Essen/Trinken anzeigen. Die Probanden zeigten zum Zeitpunkt t(1) um 17.31 Uhr in der Verumbedingung ein signifikant höheres allgemeines Hungergefühl als unter der Placebobedingung. Dies lässt sich jedoch nicht auf das verabreichte Medikament zurückführen, da dieses zu diesem Zeitpunkt noch nicht verabreicht worden war, und ist daher wahrscheinlich ein falsch-positiver Befund. Das Bedürfnis nach herzhaftem und Süßem sowie das allgemeine Durstgefühl unterschied sich zu keinem Zeitpunkt zwischen der Verum- und der Placebobedingung ($p \geq 0,96$). Der MDBF zur Erfassung der Stimmung der Probanden umfasste die Antwortmöglichkeiten 1-5, wobei hohe Werte jeweils eine gute, wache bzw. ruhige Stimmung anzeigten. Die Stimmung in der Verumsitzung unterschied sich zu keinem Zeitpunkt signifikant von der in der Placebobedingung ($p \geq 0,06$).

Tabelle 6: Übersicht über die Mittelwerte \pm SEM der Hunger- und Durstskala sowie des Befindlichkeitsfragebogens MDBF jeweils in der Verum- und der Placebobedingung.

Hunger allgemein	Mefloquin		Placebo		P
17.31 Uhr	54,05	\pm 5,78	39,63	\pm 6,55	0,03
22.15 Uhr	17,84	\pm 3,94	13,39	\pm 3,45	0,14
07.00 Uhr	41,37	\pm 5,98	41,84	\pm 6,63	0,92
15.23 Uhr	38,57	\pm 6,08	29,31	\pm 5,19	0,20
Durst					
17.31 Uhr	39,10	\pm 4,28	46,94	\pm 6,35	0,21
22.15 Uhr	28,95	\pm 4,49	29,53	\pm 5,29	0,89
07.00 Uhr	53,63	\pm 6,25	54,16	\pm 5,32	0,88
15.23 Uhr	49,32	\pm 4,91	47,05	\pm 4,51	0,69
Hunger süß					
17.31 Uhr	28,95	\pm 5,46	34,86	\pm 6,10	0,28
22.15 Uhr	17,73	\pm 4,48	22,47	\pm 4,82	0,42
07.00 Uhr	32,53	\pm 6,24	28,79	\pm 5,77	0,41
15.23 Uhr	32,16	\pm 5,68	39,47	\pm 5,93	0,24
Hunger herzhaft					
17.31 Uhr	52,63	\pm 6,55	37,32	\pm 7,28	0,06
22.15 Uhr	14,79	\pm 2,92	9,31	\pm 2,15	0,10
07.00 Uhr	35,16	\pm 6,74	37,79	\pm 5,77	0,62
15.23 Uhr	39,63	\pm 6,67	29,00	\pm 5,77	0,19
MDBF – Gute/Schlechte Stimmung					
17.31 Uhr	3,95	\pm 0,07	3,83	\pm 0,06	0,13
22.15 Uhr	3,97	\pm 0,08	3,88	\pm 0,12	0,26
07.00 Uhr	3,83	\pm 0,14	3,95	\pm 0,10	0,30
15.23 Uhr	4,04	\pm 0,15	3,99	\pm 0,12	0,58
MDBF – Wachheit-Müdigkeit					
17.31 Uhr	3,62	\pm 0,19	3,45	\pm 0,22	0,46
22.15 Uhr	2,80	\pm 0,19	2,59	\pm 0,21	0,40
07.00 Uhr	3,57	\pm 0,19	3,59	\pm 0,17	0,89
15.23 Uhr	3,97	\pm 0,17	3,67	\pm 0,21	0,06
MDBF – Ruhe-Unruhe					
17.31 Uhr	4,21	\pm 0,13	4,13	\pm 0,14	0,62
22.15 Uhr	4,22	\pm 0,11	4,03	\pm 0,18	0,09
07.00 Uhr	4,21	\pm 0,13	4,07	\pm 0,11	0,24
15.23 Uhr	4,11	\pm 0,17	4,04	\pm 0,21	0,74

Die Auswertung des Befindlichkeitsfragebogens zur Erfassung der Nebenwirkungen ergab keinen Unterschied des subjektiven Befindens zwischen den beiden Bedingungen. Deskriptiv gaben die Probanden in der Placebobedingung sogar mehr Nebenwirkungen an. Bei der freien Abfrage zum Thema „andere ungewöhnliche Empfindungen“ gaben die Probanden in der Placebositzung jeweils einmal Halsschmerzen, schwere Augen sowie Lust auf Sport an. „Brennende Haut“ wurde einmal in der Mefloquin-Bedingung als ungewöhnliche Empfindung angegeben.

Die Auswertung der Eigenschaftswörterliste EWL-K ergab, dass die Probanden sich zum Zeitpunkt t(3) um 07.00 Uhr, also am Morgen nach dem Erwachen, in der Verumbedingung signifikant ängstlicher fühlten als in der Placebobedingung (siehe Tabelle 7, $p = 0,03$). Zu den anderen Zeitpunkten fühlten sich die Probanden nach Mefloquin- im Vergleich zur Placebogabe nicht signifikant ängstlicher (alle $p \geq 0,16$). In den anderen Kategorien konnte kein signifikanter Unterschied zwischen Verum- und Placebobedingung festgestellt werden (alle $p \geq 0,11$).

Tabelle 7: Übersicht über die Mittelwerte (\pm SEM) in den Skalen der Eigenschaftswörterliste EWL-K, jeweils relativ zur Anzahl der jeweiligen Items.

	17.31 Uhr			22.15 Uhr			7.00 Uhr			15.23 Uhr		
	Verum	Placebo	p									
Aktiviertheit	0,42 \pm 0,06	0,40 \pm 0,07	0,78	0,16 \pm 0,06	0,08 \pm 0,04	0,26	0,41 \pm 0,07	0,43 \pm 0,08	0,87	0,53 \pm 0,06	0,53 \pm 0,07	0,93
Desaktiviertheit	0,23 \pm 0,06	0,21 \pm 0,04	0,80	0,42 \pm 0,07	0,38 \pm 0,08	0,50	0,26 \pm 0,07	0,20 \pm 0,07	0,38	0,15 \pm 0,04	0,16 \pm 0,04	0,93
Müdigkeit	0,19 \pm 0,06	0,24 \pm 0,06	0,59	0,41 \pm 0,06	0,41 \pm 0,07	0,87	0,21 \pm 0,05	0,22 \pm 0,05	0,91	0,12 \pm 0,05	0,18 \pm 0,05	0,4
Benommenheit	0,08 \pm 0,02	0,11 \pm 0,02	0,26	0,20 \pm 0,04	0,18 \pm 0,04	0,51	0,20 \pm 0,05	0,14 \pm 0,04	0,22	0,08 \pm 0,04	0,06 \pm 0,02	0,5
Extrovertiertheit	0,71 \pm 0,09	0,63 \pm 0,05	0,19	0,53 \pm 0,05	0,53 \pm 0,06	0,90	0,51 \pm 0,06	0,55 \pm 0,07	0,58	0,73 \pm 0,04	0,70 \pm 0,04	0,63
Introvertiertheit	0,08 \pm 0,04	0,12 \pm 0,04	0,25	0,13 \pm 0,04	0,16 \pm 0,04	0,45	0,12 \pm 0,05	0,15 \pm 0,06	0,63	0,03 \pm 0,03	0,02 \pm 0,01	0,79
Selbstsicherheit	0,61 \pm 0,07	0,58 \pm 0,07	0,69	0,67 \pm 0,06	0,55 \pm 0,07	0,12	0,58 \pm 0,07	0,63 \pm 0,09	0,49	0,61 \pm 0,07	0,53 \pm 0,07	0,26
gehobene Stimmung	0,66 \pm 0,06	0,61 \pm 0,06	0,40	0,56 \pm 0,05	0,52 \pm 0,07	0,47	0,56 \pm 0,07	0,51 \pm 0,08	0,52	0,67 \pm 0,06	0,59 \pm 0,06	0,13
Erregtheit	0,11 \pm 0,04	0,12 \pm 0,04	0,92	0,08 \pm 0,03	0,08 \pm 0,03	1,00	0,07 \pm 0,02	0,11 \pm 0,04	0,24	0,13 \pm 0,05	0,12 \pm 0,04	0,7
Empfindsamkeit	0,20 \pm 0,07	0,16 \pm 0,06	0,38	0,13 \pm 0,04	0,11 \pm 0,06	0,68	0,14 \pm 0,04	0,11 \pm 0,04	0,33	0,14 \pm 0,04	0,09 \pm 0,05	0,3
Ärger	0,03 \pm 0,02	0,04 \pm 0,02	0,67	0,01 \pm 0,01	0,00 \pm 0,00	0,33	0,01 \pm 0,01	0,02 \pm 0,01	0,33	0,09 \pm 0,05	0,02 \pm 0,01	0,11
Ängstlichkeit	0,05 \pm 0,02	0,02 \pm 0,02	0,16	0,06 \pm 0,02	0,06 \pm 0,04	1,00	0,09 \pm 0,03	0,02 \pm 0,01	0,03	0,05 \pm 0,03	0,03 \pm 0,02	0,5
Deprimiertheit	0,06 \pm 0,02	0,05 \pm 0,02	0,82	0,03 \pm 0,01	0,05 \pm 0,03	0,48	0,05 \pm 0,02	0,04 \pm 0,02	0,38	0,05 \pm 0,03	0,02 \pm 0,01	0,22
Verträumtheit	0,33 \pm 0,08	0,36 \pm 0,07	0,69	0,32 \pm 0,08	0,32 \pm 0,08	0,87	0,30 \pm 0,08	0,23 \pm 0,07	0,17	0,22 \pm 0,07	0,23 \pm 0,07	0,88

Bei der Analyse des Nachbefragungsbogens 1 (siehe Anhang) zeigte sich, dass die Probanden Mefloquin und Placebo nicht voneinander unterscheiden konnten ($X^2(1) = 1,69$, $p = 0,19$).

Tabelle 8: Darstellung der Ergebnisse der Verblindungsüberprüfung. Die Probanden konnten Mefloquin und Placebo nicht unterscheiden

Vermutete Bedingung	Tatsächliche Bedingung	
	Mefloquin	Placebo
Mefloquin	8	11
Placebo	12	7

3.3 Wirkstoff- und Blutzuckerkonzentration

Um die Wirkstoffkonzentration des Medikaments Mefloquin zu messen, wurde den Probanden zu drei verschiedenen Zeitpunkten nach der Medikamenten- bzw. Placeboeinnahme Blut abgenommen. Es zeigte sich, dass in den Mefloquin-Sitzungen zu jeder Zeit ein ausreichender Wirkstoffspiegel zu messen war ($p \leq 0,001$, siehe Tabelle 8). Der Blutzuckerspiegel der Probanden befand sich bei diesen Messungen zu jeder Zeit im Normbereich und unterschied sich nicht zwischen der Verum- und der Placebobedingung (siehe Tabelle 8).

Tabelle 9: Übersicht über die Mittelwerte (\pm SEM) des Wirkstoffspiegels von Mefloquin im Blut (ng/ml) und die Mittelwerte (\pm SEM) des Blutzuckerspiegels zu drei verschiedenen Zeitpunkten der Verum- und der Placebositzung

Mefloquin	Mefloquin		Placebo		p
22.25 Uhr	188,95	$\pm 18,58$	20,53	$\pm 4,36$	$\leq 0,001$
07.00 Uhr	201,84	$\pm 10,81$	19,74	$\pm 4,07$	$\leq 0,001$
15.42 Uhr	207,11	$\pm 12,90$	20,00	$\pm 4,24$	$\leq 0,001$
Blutzucker					
22.25 Uhr	4,52	$\pm 0,13$	4,45	$\pm 0,13$	0,69
07.00 Uhr	4,55	$\pm 0,10$	4,41	$\pm 0,08$	0,24
15.42 Uhr	4,52	$\pm 0,21$	4,62	$\pm 0,17$	0,71

4 Diskussion

Eine stetig wachsende Zahl wissenschaftlicher Befunde belegt, dass Schlaf eine wichtige Rolle bei der Festigung von Gedächtnisinhalten spielt. Wenn auch zunehmend mehr über die entsprechenden neuronalen Prozesse herausgefunden wird, geben die genauen Mechanismen der Gedächtnisbildung im Schlaf immer noch Rätsel auf und konnten bisher nur unzureichend geklärt werden.

4.1 Tierexperimentelle Befunde zum Beitrag von Cx36 zur Gedächtnisbildung

In dieser Arbeit wurde bei jungen, gesunden, männlichen Probanden die Auswirkung des selektiven Gap Junction-Blockers Mefloquin auf die Gedächtniskonsolidierung im Schlaf untersucht. Gap Junctions, sog. elektrische Synapsen, dienen der Synchronisierung der elektrischen Gehirnaktivität und sind an der Entstehung von SWR-Oszillationen und somit an der Reaktivierung von enkodierten Informationen im Hippocampus beteiligt, also an einem entscheidenden Mechanismus der schlafabhängigen Gedächtniskonsolidierung (Allen et al., 2011; Siapas & Wilson, 1998). Im Rattenmodell konnte gezeigt werden, dass Cx36-KO-Mäuse eine veränderte Frequenz und Amplitude der SWRs aufweisen (Maier et al., 2002a). Auch verursacht eine Unterbrechung der Ripple-Aktivität im Hippocampus eine Beeinträchtigung der räumlichen Lern- und Gedächtnisfunktion (Ego-Stengel & Wilson, 2010). Einen Einfluss von Cx36 auf die Gedächtniskonsolidierung konnten Bissiere et. al. (2011) am Rattenmodell nachweisen, indem sie zeigten, dass Mefloquin, welches Cx36 blockiert, die Konsolidierung von angstkonditionierten und damit hippocampusabhängigen Lerninhalten hemmt. Inwiefern Gap Junctions, und insbesondere Cx36, jedoch eine Rolle in der schlafbezogenen Konsolidierung von Gedächtnisinhalten beim Menschen spielen, wurde in bisherigen Studien nicht untersucht. Vor allem deklarative Gedächtnisinhalte sind hippocampusabhängig, so dass ihre schlafbezogene Konsolidierung mit der

Entstehung von SWR-Oszillationen zusammenhängt und damit durch Mefloquin beeinflussbar sein könnte (O'Neill et al., 2010).

4.2 Wirkung von Mefloquin auf die deklarative Gedächtniskonsolidierung

In der vorliegenden Studie wurde durch die abendliche Gabe von 250 mg Mefloquin nachweislich ein ausreichender Wirkstoffspiegel erzielt, um Effekte auf die Leistung in den Gedächtnistests auf das verabreichte Medikament zurückführen zu können. Es konnte gezeigt werden, dass die schlafbezogene Konsolidierung von am Vortag gelernten Wortpaaren durch Mefloquin gehemmt wird. So wurden im Vergleich zum Lerndurchgang nach Mefloquingabe im Schlaf signifikant mehr Wörter vergessen als in der Placebobedingung. Dies deutet darauf hin, dass für die Konsolidierung von hippocampusabhängigen Lerninhalten die Existenz und Integrität von Cx36 von großer Bedeutung ist. Die schlafabhängige Konsolidierung deklarativer Gedächtnisinhalte ist jedoch begrenzt. So konnte gezeigt werden, dass bei erhöhter Anzahl an Wortpaaren (320 statt 40) kein Unterschied zwischen einer Wachgruppe und Schlafgruppe besteht (Feld, Weis & Born, 2016).

Für den Memory-Test konnte diese für die Leistung im Wortpaar-Test festgestellte Interaktion von Zeitpunkt und Behandlung statistisch nicht gezeigt werden. Zwar wurden auch bei diesem deklarativen Gedächtnistest im Vergleich zum Lerndurchgang in der Verumbedingung deskriptiv gesehen mehr Bildpaare vergessen als in der Kontrollbedingung, jedoch war das Ergebnis nicht signifikant. Eine mögliche Erklärung hierfür ist, dass dieser Test nicht sensitiv genug ist, um einen Einfluss von Mefloquin auf das deklarative Gedächtnis zu überprüfen. Eine verminderte Sensitivität könnte der unterschiedlichen Enkodierungsweise geschuldet sein, die in beiden Tests zur Anwendung kommt. Während beim Wortpaar-Lernen die Wörter aktiv wiedergegeben und verbalisiert werden mussten, war beim Memory-Test die Zuordnung der richtigen Bildpaare teilweise auch durch Erraten möglich. So

beschrieben auch Diekelmann, Wilhelm & Born (2009), dass der Wissenszuwachs bei der Abfrage von deklarativen Inhalten beim aktiven Abruf größer ist als bei der Wiedererkennung von zuvor gelernten Materialien.

Ein weiterer möglicher Grund für das Ausbleiben eines signifikanten Mefloquin-Effekts auf die Leistung im Memory-Test bzw. dessen im Vergleich zum Wortpaar-Lernen im vorliegenden Rahmen vermutlich geringerer Sensitivität könnte auch im Phänomen der retroaktiven Interferenz zu finden sein. Dieses bereits vor langer Zeit beobachtete Phänomen beschreibt die Tatsache, dass die Konsolidierung von Gedächtnisinhalten leidet, wenn zwischen dem Lernen und der Abfrage weitere Informationen aufgenommen werden (Müller und Pilzecker, 1900). Da der Memory-Test vor dem Wortpaar-Lernen stattfand, ist es möglich, dass durch das Erlernen der zweiten deklarativen Gedächtnisaufgabe die Enkodierung der Inhalte der ersten gestört wurde. Dies würde bedeuten, dass der Versuchsablauf zu einer gestörten Enkodierung des Memory-Tests führte und folglich (bei bereits gestörter Enkodierung) keine weitere Hemmung der entsprechenden schlafbezogenen Konsolidierung durch Mefloquin beobachtet werden konnte. Zur detaillierten Untersuchung der Wirkung von Mefloquin auf das deklarative Gedächtnis sollten in einer weiteren Studie anderweitige deklarative Aufgaben verwendet und die Reihenfolge der deklarativen Aufgaben variiert werden.

4.3 Wirkung von Mefloquin auf die prozedurale Gedächtnisbildung

Der positive Effekt von Schlaf auf zuvor gelernte motorische Fertigkeiten wurde in der Vergangenheit hinreichend untersucht (Fischer, Hallschmid, Elsner, & Born, 2002; Kuriyama, Stickgold & Walker, 2004; Walker et al., 2002). So konnten Walker und Mitarbeiter (2002) nachweisen, dass Probanden nach regelrechtem Nachtschlaf eine um 20% beschleunigte motorische Antwortbereitschaft in der Fingertapping-Aufgabe zeigten, ohne dabei an Präzision zu verlieren. Dieser Zuwachs konnte in einer Kontrollgruppe, welche keinen Nachtschlaf absolvierte, nicht beobachtet werden. Auch in der

vorliegenden Studie konnte ein Haupteffekt im Zeitpunkt (Lernen und Abfrage) registriert werden. Dies bedeutet, dass die Probanden bei der Abfrage im Vergleich zum Lerndurchgang unabhängig von Verum- und Placebobedingung eine signifikant bessere motorische Leistung zeigten. Dass dieser Effekt auf das vorausgegangene Schlafintervall zurückzuführen ist, erscheint vor dem Hintergrund der genannten Veröffentlichungen höchst wahrscheinlich, kann aus dem vorliegenden Experiment jedoch nicht zweifelsfrei abgeleitet werden, da kein Kontrollexperiment mit Wach- statt Schlafbedingungen durchgeführt wurde. Dies soll aber an dieser Stelle nicht weiter diskutiert werden.

Im Fingertapping konnte des Weiteren ein Haupteffekt der Interaktion von Zeitpunkt und Behandlung festgestellt werden. So zeigten die Probanden unter Mefloquin- im Vergleich zu Placeboeinfluss über das Retentionsintervall hinweg eine signifikante Verbesserung der motorischen Leistung. Dieser Befund verdient besondere Beachtung, da die Beteiligung des Hippocampus an der Konsolidierung impliziter Gedächtnisinhalte in der Literatur kontrovers diskutiert wird. So wurde einerseits eine Interaktion zwischen Striatum und Hippocampus beschrieben, andererseits auch eine Dissoziation und gar ein konkurrierender Einfluss der beiden Strukturen (Albouy et al., 2008; Gheysen et al., 2010; Hopkins et al., 2004; Packard & Knowlton, 2002). In der vorliegenden Studie förderte die abendliche Gabe von Mefloquin und somit die Blockade von Cx36 die schlafbezogene Konsolidierung von prozeduralen Gedächtnisinhalten. Die Konsolidierung des prozeduralen Gedächtnisses wurde also im Gegensatz zu den deklarativen Gedächtnisinhalten nicht durch die Blockade von Cx36-Gap Junctions durch Mefloquin gehemmt. Diese Beobachtung widerspricht der Annahme, dass Hippocampus und Striatum die Substrate zweier dissoziierter Gedächtnissysteme darstellen, denn in diesem Fall hätte im motorischen (prozeduralen) Lernen kein Effekt von Zeitpunkt und Behandlung zu beobachten sein sollen. Vielmehr steht die Beobachtung im Einklang mit der Theorie, dass die Konsolidierung deklarativer und non-deklarativer Gedächtnisinhalte auf einer Interaktion zwischen Striatum und Hippocampus beruht (Albouy et al., 2008; Gheysen et al., 2010).

4.4 Mögliche Mechanismen der Wirkung von Mefloquin auf die prozedurale Gedächtnisbildung

Deklarative Gedächtnisinhalte werden vor allem im NREM-Schlaf reaktiviert und dabei vom Hippocampus zur interferenzärmeren Speicherung in den Neocortex übertragen. Das gemeinsame Auftreten von SWR-Komplexen, welche über dem Hippocampus abgeleitet werden können, und Spindelaktivität über dem Kortex wird auch als Kommunikation zwischen Hippocampus und Neocortex und damit als Indikator der Übertragung von Informationen ins Langzeitgedächtnis gedeutet (Born, 2010; Siapas & Wilson, 1998). Jedoch gibt es ebenso Hinweise, dass auch das prozedurale Gedächtnis von einer Reaktivierung im NREM-Schlaf profitiert und dass diese Reaktivierung mit dem vermehrten Auftreten von Spindelaktivität über dem Kortex assoziiert ist (Antony et al., 2012; Gais, Molle, Helms, & Born, 2002; Molle, Eschenko, Gais, Sara, & Born, 2009). Allerdings scheint die Konsolidierung des prozeduralen Gedächtnisses in erster Linie nicht mit dem Auftreten von SWR-Komplexen, welche während des SWS über dem Hippocampus auftreten, assoziiert zu sein. Es ist denkbar, dass die Gabe von Mefloquin zu einer reaktiv verstärkten nächtlichen Konsolidierung von nicht-deklarativen Gedächtnisinhalten führte, indem die induzierte Hemmung der hippocampo-cortikalen Kommunikation eine verstärkte Interaktion von Hippocampus, Striatum und Neocortex ermöglichte. Durch die Unterdrückung der SWR-Komplexe durch Mefloquin würde folglich die Kommunikation zwischen Hippocampus und Striatum gestärkt, was die beobachtete Verbesserung der Konsolidierung prozeduraler Fertigkeiten erklären könnte.

In vorangegangenen Tier- und Humanstudien konnte ein gegenteiliger Effekt von Mefloquin auf motorische Fertigkeiten gezeigt werden. Probanden, welche Mefloquin oral in derselben Dosierung wie in der vorliegenden Studie erhielten, wiesen während klassischer Konditionierung eine verlangsamte motorische Antwortbereitschaft (Augenblinzeln) auf (van Essen et al., 2010). Diese Studie untersuchte jedoch nicht die schlafbezogene Konsolidierung der Lerninhalte, sondern strebte einen Vergleich der motorischen Reaktionen unter Mefloquin-

bzw. Placeboeinfluss an. Eine generelle Beeinflussung der motorischen Fingerfertigkeiten durch Mefloquin konnte in der vorliegenden Studie in der Fingertapping-Aufgabe nicht nachgewiesen werden. So zeigten die Probanden zwischen Mefloquin- und Placebobedingung keine signifikanten Unterschiede beim Erlernen der Kontrollsequenz am folgenden Tag. Dies deutet darauf hin, dass Mefloquin keinen Einfluss auf die Enkodierung der prozeduralen Aufgabe ausübte.

4.5 Anmerkungen zur Spezifität der beobachteten Mefloquin-Wirkungen

Die Enkodierung und der Abruf von Informationen, welche mithilfe der Nummernlernen-Aufgabe und des Wortflüssigkeitstests untersucht wurden, blieben von Mefloquin unbeeinflusst. Dies legt nahe, dass trotz der Beteiligung des Hippocampus an der Enkodierung, Konsolidierung und dem Abruf von Gedächtnisinhalten speziell, möglicherweise sogar ausschließlich die schlafbezogene Konsolidierung von deklarativen Gedächtnisinhalten auf eine Beteiligung von Cx36-Gap Junctions und damit auf die Übertragung vom Hippocampus in den Neocortex angewiesen ist.

Mefloquin blockiert nicht nur Cx36, sondern auch Cx50, so dass ein Nebeneffekt auf diese Connexin-Untereinheit nicht ausgeschlossen werden kann (Juszczak & Swiergiel, 2009). Da Cx50 bei Säugetieren hauptsächlich in der Linse des Auges exprimiert wird, ist eine Beteiligung dieses Connexins an der schlafabhängigen Konsolidierung von Gedächtnisinhalten sehr unwahrscheinlich. Für höhere Wirkstoffspiegel von Mefloquin (30 μM) konnte allerdings darüber hinaus eine beinahe komplette Blockade von Cx43 und eine signifikante Blockade von Cx26 und Cx32 nachgewiesen werden (Juszczak & Swiergiel, 2009). Cx43 wird hauptsächlich in Astrozyten des ZNS exprimiert und ist an der Regulation extrazellulärer Transmitter- und Ionenkonzentrationen beteiligt. Eine Beteiligung dieser Connexin-Unterform an der Gedächtnisbildung kann deshalb nicht ausgeschlossen werden (Dere & Zlomuzica, 2012). Allerdings zeigen Cx36-KO-Mäuse eine Beeinträchtigung des räumlichen

Kurzzeitgedächtnisses (Allen et al., 2011), so dass die in der vorliegenden Studie beobachteten Auswirkungen auf das Gedächtnis vermutlich primär auf die Blockade dieser Connexin-Unterform zurückzuführen sind.

4.6 Limitationen und Ausblick

Abschließend lässt sich feststellen, dass die vorliegende Studie einen Beitrag zur Aufklärung der Beteiligung von Cx36 an der schlafbezogenen Verfestigung von Gedächtnisinhalten beim Menschen erbringt. Es erscheint vor dem Hintergrund der erbrachten Befunde als sehr wahrscheinlich, dass Cx36 eine relevante Rolle in der schlafassoziierten Konsolidierung deklarativer Gedächtnisspuren spielt, während andererseits gezeigt werden konnte, dass das prozedurale Gedächtnis nicht auf deren Funktionstüchtigkeit angewiesen ist. Allerdings besteht ein Zusammenhang zwischen der Blockade von Cx36 und der prozeduralen Gedächtnisbildung, da die schlafbezogene Konsolidierung prozeduraler (motorischer) Gedächtnisinhalte durch Mefloquin gefördert wurde. Eine Beteiligung von Cx36-Gap Junctions an der Enkodierung und dem Abruf von Informationen konnte nicht festgestellt werden, was dafür spricht, dass sich die Rolle von Cx36 auf die Verfestigung von Gedächtnisinhalten beschränkt.

Die den Beobachtungen zugrunde liegenden neuronalen Mechanismen müssen jedoch noch weiter erforscht werden. Insbesondere lässt die sich aus dieser Arbeit ergebende Datenlage keinen eindeutigen Rückschluss darauf zu, ob die Wirkung von Mefloquin auf Cx36 ausschließlich schlafspezifische Prozesse der Gedächtnisbildung (wie beispielsweise den im Tiefschlaf stattfindenden hippocampo-neocorticalen Dialog) betrifft, da alle Teilnehmer des Experiments nach der Gabe des Medikaments schlafen durften. Deshalb ist keine Aussage darüber möglich, ob Mefloquin einen vergleichbaren Einfluss auf die Verfestigung von Gedächtnisspuren im Wachzustand hat. Darüber hinaus wurden Dosis-Wirkungs-Zusammenhänge in der vorliegenden Studie (aus naheliegenden Gründen des Umfangs der Arbeit) nicht untersucht, so dass

offen bleibt, ob eine noch umfassendere Blockade von Cx36 (während des Schlafs) das Vergessen von deklarativen Gedächtnisinhalten potenzieren würde. Auch ist darauf hinzuweisen, dass an der vorliegenden Studie aus logistischen Gründen keine Probandinnen teilnahmen, so dass mögliche Geschlechtsunterschiede in der Beteiligung von Cx36 an der Gedächtnisbildung – auch wenn diese gegenwärtig als eher unwahrscheinlich einzustufen sind – in zukünftigen Studien beleuchtet werden sollten.

Die hier erhobenen Resultate deuten darauf hin, dass Cx36 einen wichtigen Beitrag zur Übertragung von deklarativen Gedächtnisinhalten vom Kurzzeit- ins Langzeitgedächtnis leistet. Diese Erkenntnis könnte von beträchtlicher klinischer Bedeutung sein. So liegen abträgliche Wirkungen der Langzeittherapie mit Mefloquin zur Malaria-Vorbeugung und -Therapie im Bereich des Möglichen; andererseits könnte die gezielte Stimulation von Cx36 die Verfestigung von Gedächtnisinhalten fördern. Mithin sind weitere Studien zu diesem Forschungsbereich aus grundlagenwissenschaftlicher, aber auch klinisch-therapeutischer Perspektive sehr wünschenswert.

5 Zusammenfassung

Schlaf leistet einen wichtigen Beitrag zur Verfestigung von Gedächtnisinhalten. So werden Inhalte, die vor dem Schlaf abgespeichert wurden, während des Schlafs reaktiviert und vom Kurzzeitgedächtnis ins Langzeitgedächtnis übertragen. Die Reaktivierung deklarativer Gedächtnisinhalte im Hippocampus geht mit dem Auftreten von im lokalen Feldpotential sichtbaren sharp wave-ripple (SWR)-Komplexen im Tiefschlaf einher, welche die Weiterverarbeitung der Inhalte unterstützen. SWR-Oszillationen entstehen unter Beteiligung von Gap Junctions, d.h. elektrischen Synapsen, die Connexin 36 (Cx36) enthalten. In der vorliegenden, doppelblind und balanciert durchgeführten Studie wurde deshalb bei 20 gesunden männlichen Probanden die Rolle der Gap Junctions in der schlafbezogenen Gedächtniskonsolidierung untersucht. Die Versuchsteilnehmer speicherten am Abend deklarative (Wortpaar-Lernen, „Memory“-Spiel) und motorische (sequentielle Fingerfertigkeiten) Gedächtnisinhalte ab und erhielten p.o. 250 mg des Cx36-Blockers Mefloquin oder Placebo. Nach regelrechtem Nachtschlaf fanden am nächsten Tag die Abfrage der Gedächtnisinhalte sowie weitere (Kontroll-)Gedächtnistests statt. Mefloquin verschlechterte die schlafassoziierte Konsolidierung von deklarativen Gedächtnisinhalten, verbesserte jedoch die Verfestigung motorischer Fingerfertigkeiten. Gleichzeitig blieb die Behandlung ohne Wirkung auf die Fähigkeit zur Abspeicherung neuer Gedächtnisinhalte und zum Gedächtnisabruf. Diese Resultate legen nahe, dass Cx36 wesentlich zur schlafbezogenen Konsolidierung deklarativer Gedächtnisinhalte beiträgt. Die durch Mefloquin verbesserte Verfestigung motorischer Fertigkeiten könnte auf einer durch hippocampale SWR-Blockade herbeigeführten Enthemmung der striatalen Verarbeitung beruhen. Die Ergebnisse liefern einen ersten stichhaltigen Beleg für den Beitrag von Gap Junctions zur schlafassoziierten Gedächtnisbildung und könnten angesichts des Einsatzes von Mefloquin in der Malaria-Prophylaxe klinische Bedeutung erlangen. Sie stellen einen weiteren Schritt auf dem Weg zu einem umfassenden Verständnis der neuronalen

Vorgänge dar, welche die Verfestigung von Gedächtnisspuren während des Nachtschlafs bewirken.

6 Literaturverzeichnis

- Albouy, G., Sterpenich, V., Balteau, E., Vandewalle, G., Desseilles, M., Dang-Vu, T., Maquet, P. (2008). Both the hippocampus and striatum are involved in consolidation of motor sequence memory. *Neuron*, 58(2), 261-272. doi: 10.1016/j.neuron.2008.02.008
- Allen, K., Fuchs, E. C., Jaschonek, H., Bannerman, D. M., & Monyer, H. (2011). Gap junctions between interneurons are required for normal spatial coding in the hippocampus and short-term spatial memory. *J Neurosci*, 31(17), 6542-6552. doi: 10.1523/JNEUROSCI.6512-10.2011
- Antony, J. W., Gobel, E. W., O'Hare, J. K., Reber, P. J., & Paller, K. A. (2012). Cued memory reactivation during sleep influences skill learning. *Nat Neurosci*, 15(8), 1114-1116. doi: 10.1038/nn.3152
- Aschenbrenner, S., Tucha, O. & Lange, K.W. (2000). Der Regensburger Wortflüssigkeitstest. Göttingen: Hogrefe Verlag.
- Aserinsky, E., & Kleitman, N. (1953). Regularly occurring periods of eye motility, and concomitant phenomena, during sleep. *Science*, 118(3062), 273-274.
- Atkinson, R. C., & Shiffrin, R. M. (1971). The control of short-term memory. *Sci Am*, 225(2), 82-90.
- Belluardo, N., Mudo, G., Trovato-Salinaro, A., Le Gurun, S., Charollais, A., Serre-Beinier, V., Condorelli, D. F. (2000). Expression of connexin36 in the adult and developing rat brain. *Brain Res*, 865(1), 121-138.
- Bissiere, S., Zelikowsky, M., Ponnusamy, R., Jacobs, N. S., Blair, H. T., & Fanselow, M. S. (2011). Electrical synapses control hippocampal contributions to fear learning and memory. *Science*, 331(6013), 87-91. doi: 10.1126/science.1193785
- Bliss, T.V, Lomo, T.(1973). *Long-lasting potentiation of synaptic transmission in the dentate area of the anaesthetized rabbit following stimulation of the perforant path*. In: *J Physiol*. 232(2), S. 331–356

- Born, J. (2010). Slow-wave sleep and the consolidation of long-term memory. *World J Biol Psychiatry, 11 Suppl 1*, 16-21. doi: 10.3109/15622971003637637
- Born, J., & Wagner, U. (2004). Memory consolidation during sleep: role of cortisol feedback. *Ann N Y Acad Sci, 1032*, 198-201. doi: 10.1196/annals.1314.020
- Buxton, O. M., Pavlova, M., Reid, E. W., Wang, W., Simonson, D. C., & Adler, G. K. (2010). Sleep restriction for 1 week reduces insulin sensitivity in healthy men. *Diabetes, 59(9)*, 2126-2133. doi: 10.2337/db09-0699
- Cipolli, C. (1995). Symposium: Cognitive processes and sleep disturbances: Sleep, dreams and memory: an overview. *J Sleep Res, 4(1)*, 2-9.
- Condorelli, D. F., Belluardo, N., Trovato-Salinaro, A., & Mudo, G. (2000). Expression of Cx36 in mammalian neurons. *Brain Res Brain Res Rev, 32(1)*, 72-85.
- Crevoisier, C., Handschin, J., Barre, J., Roumenov, D., & Kleinbloesem, C. (1997). Food increases the bioavailability of mefloquine. *Eur J Clin Pharmacol, 53(2)*, 135-139.
- Crowley, K., Trinder, J., Kim, Y., Carrington, M., & Colrain, I. M. (2002). The effects of normal aging on sleep spindle and K-complex production. *Clin Neurophysiol, 113(10)*, 1615-1622.
- Cummings, D. M., Yamazaki, I., Cepeda, C., Paul, D. L., & Levine, M. S. (2008). Neuronal coupling via connexin36 contributes to spontaneous synaptic currents of striatal medium-sized spiny neurons. *J Neurosci Res, 86(10)*, 2147-2158. doi: 10.1002/jnr.21674
- Deans, M. R., Gibson, J. R., Sellitto, C., Connors, B. W., & Paul, D. L. (2001). Synchronous activity of inhibitory networks in neocortex requires electrical synapses containing connexin36. *Neuron, 31(3)*, 477-485.

- Dement, W., & Kleitman, N. (1957). Cyclic variations in EEG during sleep and their relation to eye movements, body motility, and dreaming. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol*, 9(4), 673-690.
- Dere, E., & Zlomuzica, A. (2012). The role of gap junctions in the brain in health and disease. *Neurosci Biobehav Rev*, 36(1), 206-217. doi: 10.1016/j.neubiorev.2011.05.015
- Diekelmann, S., & Born, J. (2010). The memory function of sleep. *Nat Rev Neurosci*, 11(2), 114-126. doi: 10.1038/nrn2762
- Diekelmann, S., Wilhelm, I., & Born, J. (2009). The whats and whens of sleep-dependent memory consolidation. *Sleep Med Rev*, 13(5), 309-321. doi: 10.1016/j.smrv.2008.08.002
- Ego-Stengel, V., & Wilson, M. A. (2010). Disruption of ripple-associated hippocampal activity during rest impairs spatial learning in the rat. *Hippocampus*, 20(1), 1-10. doi: 10.1002/hipo.20707
- Everson, C. A., Bergmann, B. M., & Rechtschaffen, A. (1989). Sleep deprivation in the rat: III. Total sleep deprivation. *Sleep*, 12(1), 13-21.
- Feld, G. B., Lange, T., Gais, S., & Born, J. (2013). Sleep-dependent declarative memory consolidation--unaffected after blocking NMDA or AMPA receptors but enhanced by NMDA coagonist D-cycloserine. *Neuropsychopharmacology*, 38(13), 2688-2697.
- Feld, G.B., Weiss, P.P., Born, J. (2016). The limited capacity of sleep-dependent memory consolidation. *Front. Psychol.*, 7,1368.
- Fischer, S., Hallschmid, M., Elsner, A. L., & Born, J. (2002). Sleep forms memory for finger skills. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 99(18), 11987-11991. doi: 10.1073/pnas.182178199
- Franco-Perez, J., & Paz, C. (2009). Quinine, a selective gap junction blocker, decreases REM sleep in rats. *Pharmacol Biochem Behav*, 94(2), 250-254. doi: 10.1016/j.pbb.2009.09.003

- Frankland, P. W., & Bontempi, B. (2005). The organization of recent and remote memories. *Nat Rev Neurosci*, 6(2), 119-130. doi: 10.1038/nrn1607
- Gais, S., Molle, M., Helms, K., & Born, J. (2002). Learning-dependent increases in sleep spindle density. *J Neurosci*, 22(15), 6830-6834. doi: 20026697
- Gheysen, F., Van Opstal, F., Roggeman, C., Van Waelvelde, H., & Fias, W. (2010). Hippocampal contribution to early and later stages of implicit motor sequence learning. *Exp Brain Res*, 202(4), 795-807. doi: 10.1007/s00221-010-2186-6
- Gillberg, M., & Akerstedt, T. (1982). Body temperature and sleep at different times of day. *Sleep*, 5(4), 378-388.
- Görtelmeyer, R. (2011). Methodologies of PD assessment-Scales. In H.-G. Vogel, J. Maas & A. Gebauer (Eds.), *Drug Discovery and Evaluation, Methods in Clinical Pharmacology*. Berlin and Heidelberg: Springer-Verlag.
- Haist, F., Bowden Gore, J., & Mao, H. (2001). Consolidation of human memory over decades revealed by functional magnetic resonance imaging. *Nat Neurosci*, 4(11), 1139-1145. doi: 10.1038/nn739
- Hebb, D.O. (1949). *The Organization of Behavior*. Wiley, New York
- Hopkins, R. O., Waldram, K., & Kesner, R. P. (2004). Sequences assessed by declarative and procedural tests of memory in amnesic patients with hippocampal damage. *Neuropsychologia*, 42(14), 1877-1886. doi: 10.1016/j.neuropsychologia.2004.05.008
- Irwin, M., McClintick, J., Costlow, C., Fortner, M., White, J., & Gillin, J. C. (1996). Partial night sleep deprivation reduces natural killer and cellular immune responses in humans. *FASEB J*, 10(5), 643-653.
- Jacobson, A., Kales, A., Lehmann, D., & Hoedemaker, F. S. (1964). Muscle Tonus in Human Subjects during Sleep and Dreaming. *Exp Neurol*, 10, 418-424.

- Janke W, Debus G. (1978). Die Eigenschaftswörterliste (EWL). Göttingen, Hogrefe
- Jenkins, J. G. Dallenbach, K. M. (1924). Obliviscence during sleep and waking. *American Journal of Psychology*, 35, 605– 612
- Juszczak, G. R., & Swiergiel, A. H. (2009). Properties of gap junction blockers and their behavioural, cognitive and electrophysiological effects: animal and human studies. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*, 33(2), 181-198. doi: 10.1016/j.pnpbp.2008.12.014
- Karni, A., Tanne, D., Rubenstein, B. S., Askenasy, J. J. and Sagi, D. (1994): Dependence on REM sleep of overnight improvement of a perceptual skill. *Science* 265(5172):679-82
- Khodagholy, D., Gelinek, J.N., Buzsaki, G. (2017). Learning-enhanced coupling between ripple oscillations in association cortices and hippocampus. *Science* 358(6361):369-372
- Kunzelmann, P., Schroder, W., Traub, O., Steinhauser, C., Dermietzel, R., & Willecke, K. (1999). Late onset and increasing expression of the gap junction protein connexin30 in adult murine brain and long-term cultured astrocytes. *Glia*, 25(2), 111-119.
- Kuriyama K, Stickgold R, Walker MP. (2004). Sleep-dependent learning and motor skill complexity. *Learn. Mem.* 11:705–13
- Maier, N., Guldenagel, M., Sohl, G., Siegmund, H., Willecke, K., & Draguhn, A. (2002a). Reduction of high-frequency network oscillations (ripples) and pathological network discharges in hippocampal slices from connexin 36-deficient mice. *Journal of Physiology-London*, 541(2), 521-528. doi: DOI 10.1113/jphysiol.2002.017624
- Maier, N., Guldenagel, M., Sohl, G., Siegmund, H., Willecke, K., & Draguhn, A. (2002b). Reduction of high-frequency network oscillations (ripples) and

- pathological network discharges in hippocampal slices from connexin 36-deficient mice. *J Physiol*, 541(Pt 2), 521-528.
- Maquet, P., Laureys, S., Peigneux, P., Fuchs, S., Petiau, C., Phillips, C., Cleeremans, A. (2000). Experience-dependent changes in cerebral activation during human REM sleep. *Nat Neurosci*, 3(8), 831-836. doi: 10.1038/77744
- Marshall, L., & Born, J. (2007). The contribution of sleep to hippocampus-dependent memory consolidation. *Trends Cogn Sci*, 11(10), 442-450. doi: 10.1016/j.tics.2007.09.001
- Marshall, L., Helgadottir, H., Molle, M., & Born, J. (2006). Boosting slow oscillations during sleep potentiates memory. *Nature*, 444(7119), 610-613. doi: 10.1038/nature05278
- McClelland, J. L., McNaughton, B. L., & O'Reilly, R. C. (1995). Why there are complementary learning systems in the hippocampus and neocortex: insights from the successes and failures of connectionist models of learning and memory. *Psychol Rev*, 102(3), 419-457.
- McGaugh, J. L. (1966). Time-dependent processes in memory storage. *Science*, 153(3742), 1351-1358.
- Molle, M., Eschenko, O., Gais, S., Sara, S. J., & Born, J. (2009). The influence of learning on sleep slow oscillations and associated spindles and ripples in humans and rats. *Eur J Neurosci*, 29(5), 1071-1081. doi: 10.1111/j.1460-9568.2009.06654.x
- Molle, M., Marshall, L., Gais, S., & Born, J. (2004). Learning increases human electroencephalographic coherence during subsequent slow sleep oscillations. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 101(38), 13963-13968. doi: 10.1073/pnas.0402820101
- Montagna, P., Gambetti, P., Cortelli, P., & Lugaresi, E. (2003). Familial and sporadic fatal insomnia. *Lancet Neurol*, 2(3), 167-176.

- Müller, G.E., Pilzecker, A. (1900). Experimentelle Beiträge zur Lehre vom Gedächtnis. *Z. Psychol.*, 1, 1-300
- Nagy, H., Keri, S., Myers, C. E., Benedek, G., Shohamy, D., & Gluck, M. A. (2007). Cognitive sequence learning in Parkinson's disease and amnesic mild cognitive impairment: Dissociation between sequential and non-sequential learning of associations. *Neuropsychologia*, 45(7), 1386-1392. doi: 10.1016/j.neuropsychologia.2006.10.017
- Nicoll, R. A., & Malenka, R. C. (1999). Expression mechanisms underlying NMDA receptor-dependent long-term potentiation. *Ann N Y Acad Sci*, 868, 515-525.
- Noack, H., Schick, W., Mallot, H., & Born, J. (2017). Sleep enhances knowledge of routes and regions in spatial environments. *Learning & Memory*, 24(3) 140-144.
- O'Neill, J., Pleydell-Bouverie, B., Dupret, D., & Csicsvari, J. (2010). Play it again: reactivation of waking experience and memory. *Trends Neurosci*, 33(5), 220-229. doi: 10.1016/j.tins.2010.01.006.
- Packard, M.G. and Knowlton, B.J. (2002) Learning and memory functions of the basal ganglia. *Annual Review of Neuroscience*, 25, 563-593.
- Pape, H. C. (2005). Rhythmen des Gehirns: Elektroenzephalographische und neuronale Korrelate des Verhaltens. *Physiologie*, 5, 840.
- Patel, M. C., Shaikh, W. A., & Singh, S. K. (2012). Association of sleep duration with blood glucose level of Gujarati Indian adolescents. *Indian J Physiol Pharmacol*, 56(3), 229-233.
- Peigneux, P., Laureys, S., Delbeuck, X., & Maquet, P. (2001). Sleeping brain, learning brain. The role of sleep for memory systems. *Neuroreport*, 12(18), A111-124.
- Peigneux, P., Laureys, S., Fuchs, S., Collette, F., Perrin, F., Reggers, J., Maquet, P. (2004). Are spatial memories strengthened in the human

- hippocampus during slow wave sleep? *Neuron*, 44(3), 535-545. doi: 10.1016/j.neuron.2004.10.007.
- Plihal, W., & Born, J. (1997). Effects of early and late nocturnal sleep on declarative and procedural memory. *Journal of Cognitive Neuroscience*, 9(4), 534-547. doi: DOI 10.1162/jocn.1997.9.4.534.
- Prime, G., Horn, G., & Sutor, B. (2000). Time-related changes in connexin mRNA abundance in the rat neocortex during postnatal development. *Brain Res Dev Brain Res*, 119(1), 111-125.
- Rasch, B., Büchel, C., Gais, S., & Born, J. (2007). Odor cues during slow-wave sleep prompt declarative memory consolidation. *Science*, 315, 1426-1429.
- Rash, J. E., Staines, W. A., Yasumura, T., Patel, D., Furman, C. S., Stelmack, G. L., & Nagy, J. I. (2000). Immunogold evidence that neuronal gap junctions in adult rat brain and spinal cord contain connexin-36 but not connexin-32 or connexin-43. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 97(13), 7573-7578.
- Robillard, R., Lanfranchi, P. A., Prince, F., Filipini, D., & Carrier, J. (2011). Sleep deprivation increases blood pressure in healthy normotensive elderly and attenuates the blood pressure response to orthostatic challenge. *Sleep*, 34(3), 335-339.
- Schmid SM, Hallschmid M, Schultes B. (2015). The metabolic burden of sleep loss. *Lancet Diabetes Endocrinol.*; 3:52-62.
- Schmitz, D., Schuchmann, S., Fisahn, A., Draguhn, A., Buhl, E. H., Petrasch-Parwez, E., Traub, R. D. (2001). Axo-axonal coupling. a novel mechanism for ultrafast neuronal communication. *Neuron*, 31(5), 831-840.
- Siapas, A. G., & Wilson, M. A. (1998). Coordinated interactions between hippocampal ripples and cortical spindles during slow-wave sleep. *Neuron*, 21(5), 1123-1128.

- Speckmann E. J., Hescheler J., Köhling R. (2008). Integrative Funktionen des Nervensystems. *Physiologie*, 3, 272-273.
- Squire, L. R., & Zola-Morgan, S. (1991). The medial temporal lobe memory system. *Science*, 253(5026), 1380-1386.
- Squire, L. R., & Zola, S. M. (1996). Structure and function of declarative and nondeclarative memory systems. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 93(24), 13515-13522.
- St-Onge, M. P., & Shechter, A. (2013). Sleep restriction in adolescents: forging the path towards obesity and diabetes? *Sleep*, 36(6), 813-814. doi: 10.5665/sleep.2694.
- Staedt, J., & Stoppe, G. (2001). [Evolution and function of sleep]. *Fortschr Neurol Psychiatr*, 69(2), 51-57. doi: 10.1055/s-2001-11170.
- Steyer, R., Schwenkmezger, P., Notz, P., Eid, M. (1997). Der Mehrdimensionale Befindlichkeitsfragebogen (MDBF). Handanweisung. Göttingen, Hogrefe.
- Stickgold, R., James, L., & Hobson, J. A. (2000). Visual discrimination learning requires sleep after training. *Nat Neurosci*, 3(12), 1237-1238. doi: 10.1038/81756.
- Suzuki, S. S., & Smith, G. K. (1988). Spontaneous EEG spikes in the normal hippocampus. IV. Effects of medial septum and entorhinal cortex lesions. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol*, 70(1), 73-83.
- Tulving, E., & Markowitsch, H. J. (1998). Episodic and declarative memory: role of the hippocampus. *Hippocampus*, 8(3), 198-204. doi: 10.1002/(SICI)1098-1063(1998)8:3<198::AID-HIPO2>3.0.CO;2-G.
- Tulving, E., & Schacter, D. L. (1990). Priming and human memory systems. *Science*, 247(4940), 301-306.

- van de Ven, G.M., Trouche, S., McNamara, C.G., Allen, K., Dupret, D. (2016). Hippocampal offline reactivation consolidates recently formed cell assembly patterns during sharp wave-ripples. *Neuron* 92, 968-974.
- van Essen, T. A., van der Giessen, R. S., Koekkoek, S. K., Vanderwerf, F., Zeeuw, C. I., van Genderen, P. J., de Jeu, M. T. (2010). Anti-malaria drug mefloquine induces motor learning deficits in humans. *Front Neurosci*, 4, 191. doi: 10.3389/fnins.2010.00191.
- Walker, M. P., Brakefield, T., Morgan, A., Hobson, J. A., & Stickgold, R. (2002). Practice with sleep makes perfect: Sleep-dependent motor skill learning. *Neuron*, 35(1), 205-211. doi: Doi 10.1016/S0896-6273(02)00746-8.
- Wehr, T. A. (1992). A brain-warming function for REM sleep. *Neurosci Biobehav Rev*, 16(3), 379-397.
- Wilson, M. A., & McNaughton, B. L. (1994). Reactivation of hippocampal ensemble memories during sleep. *Science*, 265(5172), 676-679.
- Zinke, K., Noack, H., Born, J. (2018). Sleep augments training-induced improvement in working memory in children and adults. *Neurobiol Learn Mem*, 147, 46-53.

7 Anhang

7.1 Probandenblatt

Probandenblatt

Gesundheit heute?

Medikamente/Drogen heute?

Wann zum letzten Mal Kaffee, Cola, Red Bull (oder ähnliches) oder Tee getrunken?

Heute besonderen Stress gehabt?

Hatten Sie in letzter Zeit besonderen Stress (z.B. Prüfungen)? Wenn ja, wann?

Werden Sie in nächster Zukunft besonderen Stress haben? Wenn ja, wann?

Zu welcher Uhrzeit gingen Sie letzte Nacht schlafen?

Wann sind Sie heute aufgestanden?

Wie viele Stunden schliefen Sie letzte Nacht?

Haben Sie heute tagsüber geschlafen?

Wenn ja, wann und wie viel?

Besonderheiten:

7.2 Stanford-Schläfrigkeits-Skala

Stanford-Schläfrigkeits-Skala

Im Folgenden soll der Grad der momentanen Schläfrigkeit (wie wach fühlen Sie sich **jetzt gerade?**) erhoben werden:

Kreuzen Sie bitte das entsprechende Kästchen an.

Schläfrigkeitsgrad	Ankreuzen	Punktwert
Ich fühle mich aktiv, lebhaft, aufmerksam oder sehr wach	<input type="radio"/>	1
Ich kann konzentriert arbeiten, habe aber kein Leistungshoch	<input type="radio"/>	2
Ich fühle mich wach, entspannt und aufnahmefähig aber nicht voll konzentriert	<input type="radio"/>	3
Ich fühle mich irgendwie träge	<input type="radio"/>	4
Ich fühle mich träge, verlangsamt, und könnte mich hinlegen	<input type="radio"/>	5
Ich fühle mich schläfrig, benebelt, kämpfe gegen die Müdigkeit und würde mich lieber hinlegen	<input type="radio"/>	6
Ich bin kurz vor dem Einschlafen und habe bereits Traumdeutungen	<input type="radio"/>	7
Ich schlafe	Nur zur Orientierung	8

7.3 Hunger und Durst

In welchem Ausmaß treffen folgende Aussagen zur Beurteilung ihres subjektiven Gefühles auf Sie zu? Bitte markieren Sie bei jeder Aussage die entsprechende Stelle auf der schwarzen Linie mit einem Kreuz.

Wie stark ist Ihr momentanes Bedürfnis nach Essen?

Überhaupt
nicht stark

...generell

Sehr stark

Überhaupt
nicht stark

...nach Süßem

Sehr stark

Überhaupt
nicht stark

...nach Herzhaftem

Sehr stark

Wie stark ist Ihr momentanes Bedürfnis nach Trinken?

Überhaupt
nicht stark

...generell

Sehr stark

7.4 Befindlichkeit

Befindlichkeit

In diesem Fragebogen geht es darum, wie Sie sich **jetzt gerade** in diesem Moment fühlen. Bitte kreuzen Sie an, was am ehesten auf Sie zutrifft.

Ich habe gerade folgende Empfindung...

	Ganz wenig oder gar nicht	ein bisschen	einigermaßen	erheblich	Äußerst
Übelkeit	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
Schwindel	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
Bauchschmerzen	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
Gleichgewichtsstörung	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
Kopfschmerzen	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
Schläfrigkeit	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
Schlaflosigkeit	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>

Andere ungewöhnliche Empfindungen:

8 Erklärung zum Eigenanteil

Die Arbeit wurde am Institut für Medizinische Psychologie und Verhaltensneurobiologie unter Betreuung von Prof. Dr. Manfred Hallschmid durchgeführt.

Die Versuche wurden nach Einarbeitung durch Dr. Gordon Feld und Prof. Dr. Manfred Hallschmid von mir eigenständig durchgeführt.

Die statistische Auswertung erfolgte eigenständig nach Anleitung durch Dr. Gordon Feld.

Ich versichere, das Manuskript selbständig verfasst zu haben und keine weiteren als die von mir angegebenen Quellen verwendet zu haben.

Calw, den 01.11.2018

Sandra Gebhardt

9 Danksagung

Besonderer Dank gilt meinem Doktorvater und Betreuer Prof. Dr. Manfred Hallschmid für die Überlassung des Dissertationsthemas sowie die exzellente Betreuung während des gesamten Promotionsvorhabens sowie für die Beratung und Korrektur während der Erstellung der Dissertationsschrift.

Weiter möchte ich meinem Betreuer Dr. Gordon B. Feld danken, besonders für die Einweisung in das Schlaflabor, sowie für die intensive Unterstützung während der Versuchsdurchführung und der Hilfe bei der statistischen Auswertung.

Ebenfalls bedanke ich mich bei Herrn Prof. Dr. med. Andreas Fritsche für die medizinische Betreuung der Versuchsdurchführung im Schlaflabor.

Bedanken möchte ich mich außerdem bei den Probanden für die zuverlässige Teilnahme an den Versuchsnächten.

Ein besonderer Dank gilt meiner Familie, meinem Freund sowie meinen Freunden, die mich immer wieder motiviert haben und somit wesentlich zur Fertigstellung der Arbeit beigetragen haben.