

Aus dem Institut für Medizinische Psychologie
der Universität Tübingen

**Der Einfluss von Physostigmin auf die
geruchsinduzierte Reaktivierung von
Gedächtnisinhalten im Schlaf**

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

vorgelegt von

Lucke, geb. Kugler, Sabine Margret

2019

Dekan: Professor Dr. I. B. Autenrieth

1. Berichterstatter: Professor Dr. J. Born

2. Berichterstatter: Professor. Dr. M. Walter

Tag der Disputation: 11.10.2019

Inhaltsverzeichnis

Inhaltsverzeichnis.....	I
Verzeichnis der Abbildungen, Tabellen und des Anhangs.....	III
Abkürzungsverzeichnis	IV
1 Einleitung	1
1.1 Langzeitgedächtnis.....	1
1.2 Schlaf.....	3
1.3 Polysomnographie	3
1.4 Der Einfluss von Schlaf auf die Gedächtniskonsolidierung.....	6
1.5 Die Rolle von Acetylcholin	8
1.6 Der Acetylcholinesterase-Hemmer Physostigmin.....	10
1.7 Externe Beeinflussung der Gedächtniskonsolidierung	10
1.8 Die Funktion von Cortisol.....	12
1.9 Hypothese und Fragestellung	12
2 Material und Methoden	14
2.1 Probanden	14
2.2 Studiendesign	15
2.3 Gedächtnisaufgabe.....	18
2.4 Vitalparameter.....	20
2.5 Kontrollvariablen	21
2.6 Der Geruchstest.....	23
2.7 Elektrophysiologische Aufzeichnungen	24
2.8 Cortisol-Spiegel.....	26
2.9 Statistische Auswertung.....	26
3 Ergebnisse	27

3.1	Gedächtnisleistung	27
3.2	EEG	28
3.3	Geruchsstimulationen	30
3.4	Geruchserkennungstest.....	31
3.5	Herzfrequenz	31
3.6	Blutdruck	32
3.7	Blutzucker	34
3.8	Vigilanztest.....	34
3.9	Stanford Schläfrigkeitsskala.....	34
3.10	Multidimensionaler Befindlichkeitsfragebogen.....	35
3.11	Regensburger Wortflüssigkeits-Test.....	36
3.12	Symptom-Rating-Skala	37
3.13	Cortisol-Spiegel.....	37
4	Diskussion.....	39
5	Zusammenfassung.....	46
6	Literaturverzeichnis	48
7	Erklärung zum Eigenanteil	53
8	Anhang.....	54
9	Danksagung.....	61

Verzeichnis der Abbildungen, Tabellen und des Anhangs

Abbildung 1: Klassifikation der Gedächtnissysteme.....	2
Abbildung 2: Elektrokulographie und Elektromyographie.....	4
Abbildung 3: Schlafspindel und K-Komplex im EEG.....	5
Abbildung 4: EEG, EOG und EMG.....	6
Abbildung 5: Hypnogramm.....	7
Abbildung 6: Übersicht der ACh-Konzentration.....	9
Abbildung 7: Versuchsdesign.....	17
Abbildung 8: Elektrophysiologische Aufzeichnung.....	25
Abbildung 9: Gedächtnisleistung im Vergleich.....	28
Tabelle 1: Wiedererkannte Kartenpaare.....	29
Tabelle 2: Schlafdauer.....	30
Tabelle 3: Herzfrequenz.....	32
Tabelle 4: Blutdruck.....	33
Tabelle 5: Stanford Schläfrigkeitsskala.....	36
Tabelle 6: Multidimensionaler Befindlichkeitsfragebogen.....	37
Anhang 1: Einverständniserklärung.....	54
Anhang 2: Stanford Schläfrigkeitsskala.....	55
Anhang 3: Multidimensionaler Befindlichkeitsfragebogen.....	56
Anhang 4: Symptom-Rating-Skala.....	57
Anhang 5: Regensburger Wortflüssigkeits-Test.....	58
Anhang 6: Regensburger Wortflüssigkeits-Test.....	59
Anhang 7: Regensburger Wortflüssigkeits-Test.....	60

Abkürzungsverzeichnis

Abb.	Abbildung
ACh	Acetylcholin
EEG	Elektroenzephalographie
EMG	Elektromyographie
EOG	Elektrookulographie
fMRT	funktionelle Magnetresonanztomographie
MDBF	Multidimensionaler Befindlichkeitsfragebogen
NaCl 0,9 %	Isotone Lösung mit jeweils 154 mmol/l Natrium und Chlorid
Non-REM-Schlaf	Schlafstadien S1-S4
PET	Positronenemissionstomographie
RWT	Regensburger Wortflüssigkeits-Test
REM	Rapid Eye Movement
S1	Schlafstadium 1
S2	Schlafstadium 2
S3	Schlafstadium 3 (Tiefschlaf)
S4	Schlafstadium 4 (Tiefschlaf)
SWS	Slow Wave Sleep, Tiefschlaf; S3-S4
Tab.	Tabelle
W	Wachzustand

1 Einleitung

Etliche neurowissenschaftliche Studien befassen sich mit der Funktion des Schlafes. Schlaf ist nicht nur lebensnotwendig für unseren Organismus, sondern hat auch eine zentrale Bedeutung in der Gedächtnisbildung (Diekelmann & Born 2010). Wie genau der Schlaf auf die Gedächtnisbildung und die Festigung des Langzeitgedächtnisses wirkt und wie man dies modifizieren kann, ist Schwerpunkt verschiedenster Forschungszweige.

In dieser Arbeit soll der Einfluss eines erhöhten Acetylcholin (ACh)-Spiegels, induziert durch den Acetylcholinesterase-Hemmer Physostigmin, auf die geruchsinduzierte Reaktivierung von Gedächtnisinhalten während des Schlafes untersucht werden.

1.1 Langzeitgedächtnis

Beim Menschen werden grundlegend zwei Langzeitgedächtnissysteme unterschieden: Das hippocampusabhängige deklarative und das hippocampusunabhängige nicht-deklarative Langzeitgedächtnis (Squire 1992).

Die an den Innenseiten der Schläfenlappen liegenden Hippocampi bilden ein wichtiges Zentrum des deklarativen Gedächtnisses, welches in erster Linie vom Tiefschlaf (Slow Wave Sleep, SWS) profitiert (Born et al. 2006). Der Hippocampus erlaubt uns, auf explizite Erinnerungen für Fakten und Ereignisse (Squire 1992) zuzugreifen und diese zu verbalisieren. Im Laufe der Zeit werden die Gedächtnisinhalte allerdings hippocampusunabhängig, vermutlich durch eine allmähliche Umverteilung auf neocorticale Netzwerke (Sutherland & McNaughton 2000). Eine mögliche Aufgabe zur Überprüfung des deklarativen Gedächtnisses ist das Wiedererkennen von gelernten Bilderpaaren (Diekelmann et al. 2012).

Auf die Inhalte des nicht-deklarativen Gedächtnisses wird unbewusst zugegriffen. Es umfasst unter anderem das prozedurale Gedächtnis für automatisierte Fähigkeiten und Gewohnheiten, die motorische und sensorische Fertigkeiten erfordern. Es gehören noch weitere Subgruppen zum nicht-deklarativen Gedächtnis, wie zum Beispiel das Priming und die Konditionierung. All diese Gedächtnisformen hängen von unterschiedlichen Hirnarealen ab, eine gemeinsa-

me zentrale Struktur, wie die Hippocampi beim deklarativen Gedächtnis, gibt es hierbei nicht (Squire 1992). Das hippocampusunabhängige nicht-deklarative Langzeitgedächtnis scheint weniger vom SWS abzuhängen als vom REM-Schlaf (Rapid Eye Movement-Schlaf) (Born et al.2006) (siehe Abb. 1). Das Interesse dieser Studie gilt dem hippocampusabhängigen deklarativen Gedächtnis.

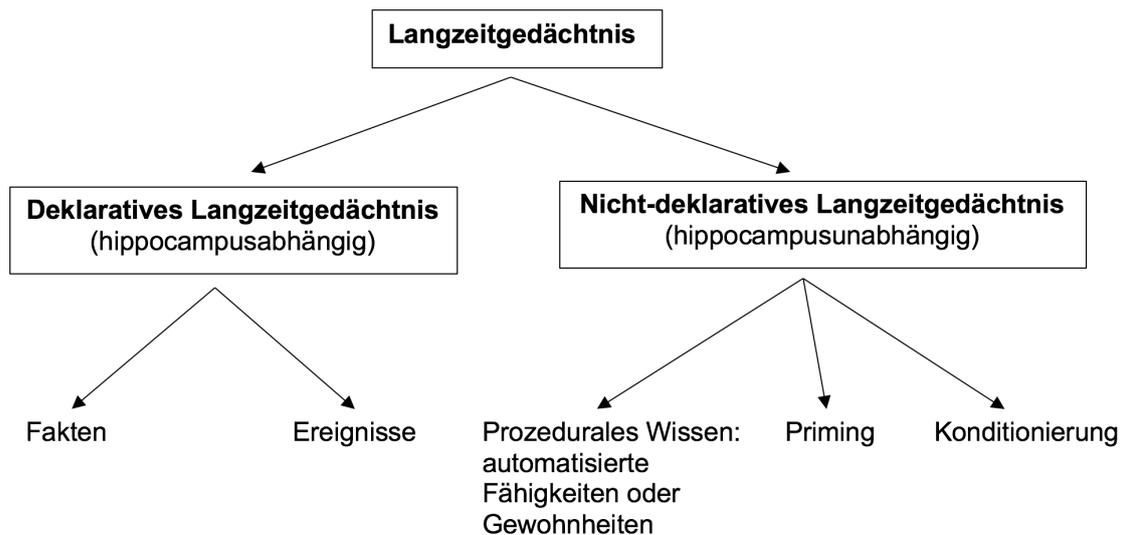


Abbildung 1: Klassifikation der Gedächtnissysteme. Das Langzeitgedächtnis wird grundlegend in zwei Langzeitgedächtnissysteme unterteilt: Das hippocampusabhängige deklarative und das hippocampusunabhängige nicht-deklarative Langzeitgedächtnis. Zu den Inhalten des deklarativen Langzeitgedächtnisses gehören Fakten und Ereignisse, auf die bewusst zugegriffen werden kann. Zu den Inhalten des nicht-deklarativen Langzeitgedächtnisses gehören weit mehr Subgruppen, wie beispielsweise Fähigkeiten und Gewohnheiten. Auf diese Inhalte wird unbewusst zugegriffen.

Bei der Entstehung des hippocampusabhängigen deklarativen Langzeitgedächtnisses werden grundlegend drei Prozesse unterschieden: Die Kodierung, die Konsolidierung und der Abruf. Die Kodierung bezieht sich auf die Verarbeitung neu erworbener Informationen. Dabei werden Informationen zuerst in neuronalen Spuren kodiert (Born et al. 2006), in denen sie jedoch anfällig gegenüber Störungen und Verfall (Interferenz) sind. Um die neu erlernten Inhalte gegen Interferenz zu schützen und sie in einen stabilen Zustand zu überführen, muss ein weiterer Prozess durchlaufen werden, die Konsolidierung. Hierbei handelt es sich zum einen um eine Art von Festigung der deklarativen Informationen, bei der neu erlernte Speicherspurten reaktiviert und in eine stabile Form

überführt werden. Zum anderen handelt es sich um die Integration von neu kodierten Informationen in bereits existierende Langzeiterinnerungen (Born et al. 2006). Der Vorgang des Übertragens von anfangs labilen Gedächtnisspuren in eine stabile Form ist im SWS am effektivsten (Diekelmann & Born 2010). Den dritten Prozess bezeichnet man als Abruf. Hierbei werden die gespeicherten Informationen nach erfolgreicher Kodierung und Konsolidierung wieder hergestellt um verwendet zu werden (Born et al. 2006).

1.2 Schlaf

Der Schlaf ist ein sich im zirkadianen Rhythmus wiederholender physiologischer Zustand, der mit einer rasch reversiblen Vigilanzminderung einhergeht (Klinke et al. 2009). Auch wenn die genaue Funktion des Schlafes zum jetzigen Zeitpunkt nicht vollständig verstanden ist, gibt es verschiedene Ansätze diesen Bewusstseinszustand mitsamt seiner Sinnhaftigkeit und seinen Zusammenhängen zu erklären. Der Schlaf lässt sich ganz allgemein in verschiedene Schlafstadien mit unterschiedlichen Charakteristika und vermutlich auch unterschiedlichen Aufgaben aufteilen und unterliegt einem Wechsel mit dem Wachzustand. Der Taktgeber dieses zirkadianen Rhythmus ist der hypothalamische Nucleus suprachiasmaticus, der oberhalb des Chiasma opticum beherbergt ist und dessen Aktivität durch lichtsensitive Ganglienzellen in der Retina beeinflusst wird (Abel et al. 2017). Eine der Kernaufgaben des Schlafes scheint die Gedächtnisbildung zu sein (siehe Abschnitt 1.1).

1.3 Polysomnographie

Die Polysomnographie ist eine Untersuchungsmethode um gleichzeitig kortikale elektrische Aktivitäten (Elektroenzephalographie, EEG), Augenbewegungen (Elektrookulographie, EOG) und Muskelbewegungen am Kinn (Elektromyographie, EMG) zu messen und diese graphisch in Abhängigkeit von der Zeit darzustellen (siehe Abb. 2). Die Messung und die Auswertung der Polysomnographie erfolgt nach den 1968 veröffentlichten Kriterien von Rechtschaffen & Kales (Rechtschaffen & Kales 1968). Hierbei werden die Aufzeichnungen in 30-

sekündige Epochen unterteilt und den Bezeichnungen Wachzustand, Non-REM-Schlafstadien 1 bis 4 (S1-S4) oder REM-Schlaf zugewiesen.

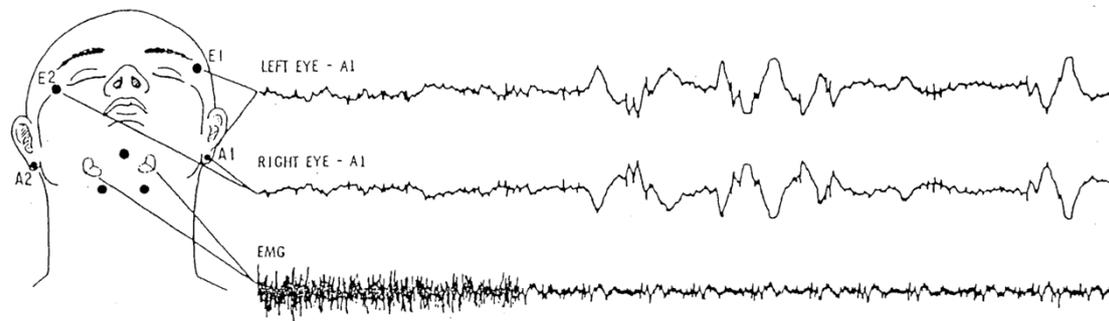


Abbildung 2: Elektrookulographie und Elektromyographie. Beispielhafter Übergang von Schlafstadium S1 in den REM-Schlaf mit schnellen Augenbewegungen und deutlich reduzierter Muskelaktivität (Abbildung: Rechtschaffen & Kales 1968).

Charakteristisch für den Wachzustand (W) sind breitbandige Frequenzen im EEG, wobei mindestens 50 % einer Epoche von Aktivität im α -Band (8 – 13 Hz) gekennzeichnet sein muss. Der Muskeltonus (sichtbar im EMG) ist meist erhöht, es tritt Augenblinzeln auf und gerade beim Übergang in den Schlaf werden im EOG langsame, rollende Augenbewegungen sichtbar (siehe Abb. 4).

Den Übergang vom Wachzustand in den Zustand des leichten Schlafes (Schlafstadium 2, S2) nennt man Schlafstadium 1 (S1). Dieses Schlafstadium wird meist innerhalb nur weniger Minuten durchlaufen. Zusätzlich kann es in Folge von Bewegungen im Schlaf (Bewegungsarousals), insbesondere wenn diese während des Schlafstadiums 2 auftreten, beobachtet werden. S1 ist definiert als flache, gemischte EEG-Aktivität mit weniger als 50 % α -Aktivität (siehe Abb. 4).

Sobald Schlafspindeln oder K-Komplexe auftreten, wird von Schlafstadium 2 gesprochen. Eine Schlafspindel ist eine zeitlich begrenzte elektrophysiologische Oszillation mit einer Frequenz von etwa 12 – 14 Hz. Sie ist durch ihre spindelartige Form (ein schnelles Ansteigen und anschließendes Abflachen) erkennbar und hat eine Dauer von 0,5 – 2 s (siehe Abb. 3). Ein K-Komplex dauert eben-

falls mindestens 0,5 s an, besteht jedoch aus einem steilen negativen Ausschlag, auf den direkt ein positiver Ausschlag folgt (siehe Abb. 3). Augenbewegungen und Muskelaktivität können im Schlafstadium 2 nur noch selten nachgewiesen werden (siehe Abb. 4).

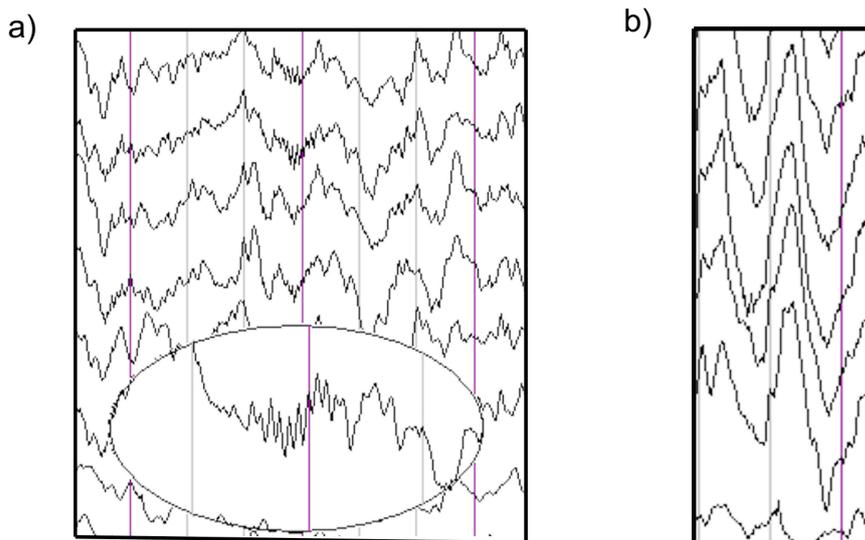


Abbildung 3: Schlafspindel und K-Komplex im EEG. EEG mit der für das Schlafstadium 2
a) typischer Schlafspindel und b) typischem K-Komplex.

An das Schlafstadium 2 schließt sich der Tiefschlaf (Slow Wave Sleep, SWS) an mit seinen charakteristischen langsamen Deltawellen (< 4 Hz) und einer hohen Amplitude im EEG. Dieser wird unterteilt in die Schlafstadien 3 (S3) und 4 (S4).

Dabei ist das Schlafstadium 3 (Tiefschlaf) im EEG charakterisiert durch das Auftreten von Slow Waves, welche mindestens 20 % und höchstens 50 % der Dauer dieser Schlafphase in Anspruch nehmen dürfen. Slow Waves sind langsame, wellenförmige Ausschläge im EEG, welche eine Frequenz zwischen 0,5 – 2 Hz und eine Amplitude $> 75 \mu\text{V}$ aufweisen. Schlafspindeln und K-Komplexe können weiterhin auftreten. Augenbewegungen sind eher selten und der Muskeltonus ist weiterhin reduziert (siehe Abb. 4).

Im Schlafstadium 4 (Tiefschlaf) überwiegen mit über 50 % die Slow Waves, an-

sonsten entsprechen die Messungen denen aus dem Stadium S3 (siehe Abb. 4).

Der REM-Schlaf unterscheidet sich von diesen vier Schlafstadien durch starke hirnpysiologische Veränderungen, die sich in höheren Frequenzen im EEG niederschlagen. Weitere polysomnographische Anzeichen für den REM-Schlaf sind schnelle Augenbewegungen und eine weitgehende Muskelatonie, die durch eine stark verringerte EMG-Amplitude erkennbar ist.

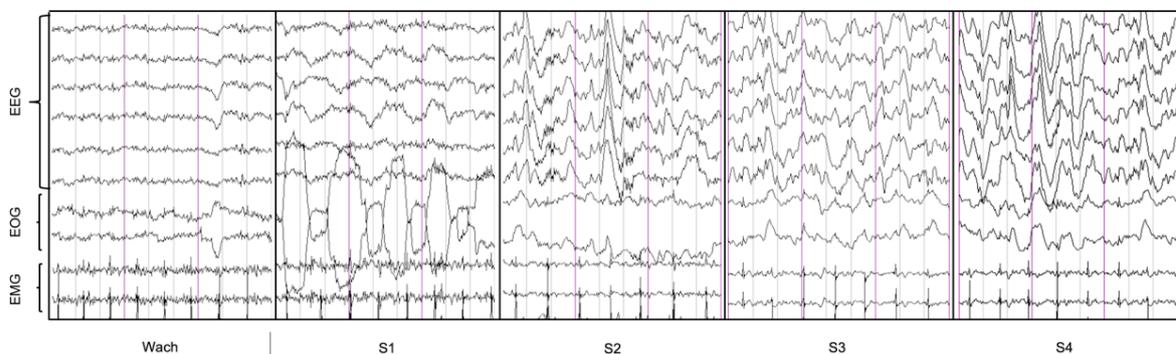


Abbildung 4: EEG, EOG und EMG. Darstellung der EEG-, EOG- und EMG-Ableitung im Wachzustand und den Non-REM Phasen S1-S4. Wach mit α -Wellen und/oder flache gemischt-frequente EEG-Aktivität. S1 mit langsam rollenden Augenbewegungen im EOG. S2 mit Spindeln und K-Komplexen. S3 mit 20-50 % Slow Waves und S4 mit > 50 % Slow Waves.

All diese Schlafphasen werden jede Nacht mehrfach in charakteristischer Reihenfolge durchlaufen, wobei ein Zyklus ungefähr 90 min dauert und vier bis sechs Mal pro Nacht wiederholt wird. Die erste Nachthälfte wird von Tiefschlafphasen, die zweite Nachthälfte von REM-Schlafphasen dominiert (siehe Abb. 5).

1.4 Der Einfluss von Schlaf auf die Gedächtniskonsolidierung

Während der Kodierung neuer Gedächtnisinhalte im Wachzustand werden die Informationen hauptsächlich vom Neocortex in den Hippocampus transferiert. Dort findet die Kurzzeitspeicherung statt (Buzsáki 1996).

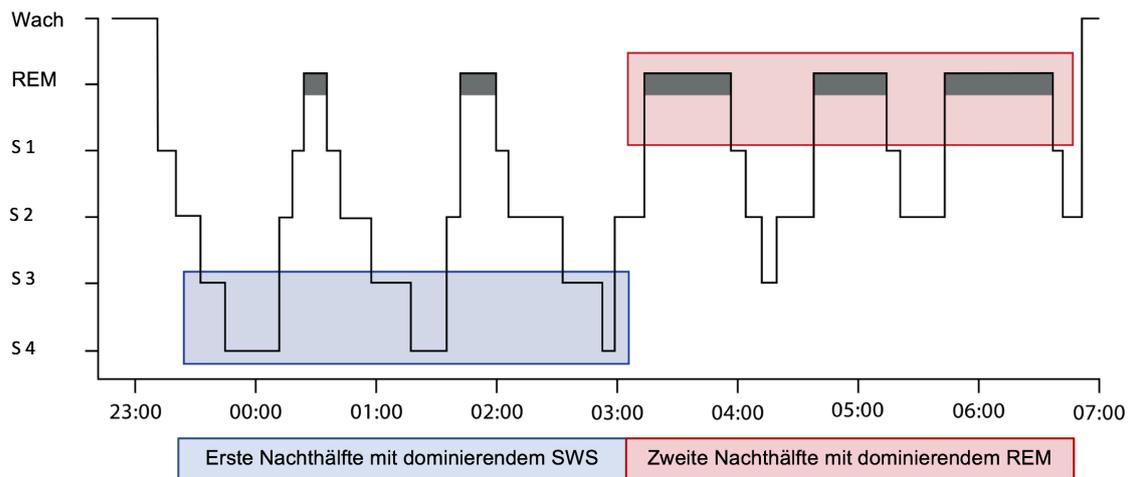


Abbildung 5: Hypnogramm. Der menschliche Schlaf zeigt einen zyklischen Wechsel zwischen REM-Schlaf und den Non-REM-Schlafstadien S1-S4. Im Allgemeinen dauert ein Zyklus circa 90 min und wird vier bis sechs Mal pro Nacht wiederholt. Dabei dominieren in der ersten Nachthälfte die Tiefschlaf-Phasen, in der zweiten Nachthälfte die REM-Schlaf-Phasen (Abbildung: CC BY 4.0 Jens Klinzing).

Der Prozess des Überführens von neu kodierten Gedächtnisinhalten in das Langzeitgedächtnis (Konsolidierung) wird durch den SWS begünstigt (Rasch et al. 2007). Dabei werden neuronale Verbindungen im hippocampus-neocorticalen System wiederholt spontan reaktiviert (Sutherland & McNaughton 2000), was elektrophysiologisch im Hippocampus in Form von hochfrequenten Sharp Wave-Ripples erkennbar ist. Es kommt zu einer Umkehr des Informationsflusses vom Hippocampus zurück in den Neocortex, wo die Langzeitspeicherung stattfindet (Diekelmann & Born 2010). Man spricht dabei von verdeckter Reaktivierung, da sie nicht mit einer bewussten Wiedererinnerung der Gedächtnisinhalte verbunden ist (Born et al. 2006). Die im EEG sichtbaren langsamen neocorticalen Oszillationen < 1 Hz scheinen eine Synchronisation der Schlafspindeln und der hippocampalen Sharp Wave-Ripples zu begünstigen, wodurch die Umverteilung von reaktivierten Gedächtnisinhalten vom Hippocampus zum Neocortex erleichtert und somit die Bildung des Langzeitgedächtnisses ermöglicht wird (Born et al. 2006).

Im Neocortex angekommen werden die Gedächtnisinhalte mit bereits bestehenden Inhalten verknüpft und somit langfristig integriert und konsolidiert (Born et al. 2006). So können durch die Reorganisation neue Einsichten gewonnen

werden (Wagner et al. 2004), unwichtige Informationen gehen verloren. Menschen mit fehlenden oder funktionslosen Hippocampi haben demnach eine anterograde Amnesie ab dem Zeitpunkt der Hippocampiverluste. Neue Informationen können nicht mehr in das Langzeitgedächtnis transferiert werden, während Informationen, die vor dem schädigenden Ereignis transferiert wurden, meist erhalten bleiben (Reed & Squire 1998).

1.5 Die Rolle von Acetylcholin

Ein Zusammenhang zwischen ausgewählten Neurotransmittern, deren Konzentrationen in Abhängigkeit der Tageszeit und deren Einfluss auf das Gedächtnis ist bekannt. Vermutlich spielt insbesondere der Neurotransmitter Acetylcholin (ACh) eine tragende Rolle im Dialog zwischen Hippocampus und Neocortex bei der Gedächtniskonsolidierung (Hasselmo 1999). Es gibt Hinweise dafür, dass Acetylcholin den Richtungswechsel des Informationsflusses im hippocampus-neocorticalen System zwischen der Kodierung im Wachzustand und der Konsolidierung im SWS reguliert (Hasselmo 1999).

Im Wachzustand ist der Acetylcholin-Spiegel natürlicherweise hoch. Dies hat nach dem Modell von Hasselmo zur Folge, dass der Informationsfluss vom Hippocampus zum Neocortex reduziert wird (Hasselmo 1999). Folglich ist die vorrangige Richtung des Informationstransfers im Wachzustand vom Neocortex in den Hippocampus, wo die Kurzzeitspeicherung stattfindet (Buzsáki 1996). Durch medikamentöse Blockierung der cholinergen Rezeptoren im Wachzustand, beispielsweise mittels des lipophilen Parasympatholytikums Scopolamin, und der damit entstandenen Unterdrückung der Acetylcholin-Wirkung, verschlechtert sich die Kodierung von neuen Gedächtnisinhalten deutlich (Born et al. 2006).

Die Konsolidierung im Schlaf hängt dagegen von einer Umkehr des Informationsflusses aus dem Hippocampus zurück in den Neocortex ab (Buzsáki 1996). Im Non-REM Schlaf ist der Acetylcholinspiegel natürlicherweise niedrig mit einem Minimum im Tiefschlaf. Dies ermöglicht die Bildung zusätzlicher assoziativer Speicherspuren im Hippocampus selbst und zwischen Hippocampus und Neocortex (Hasselmo 1999) (siehe Abb. 6).

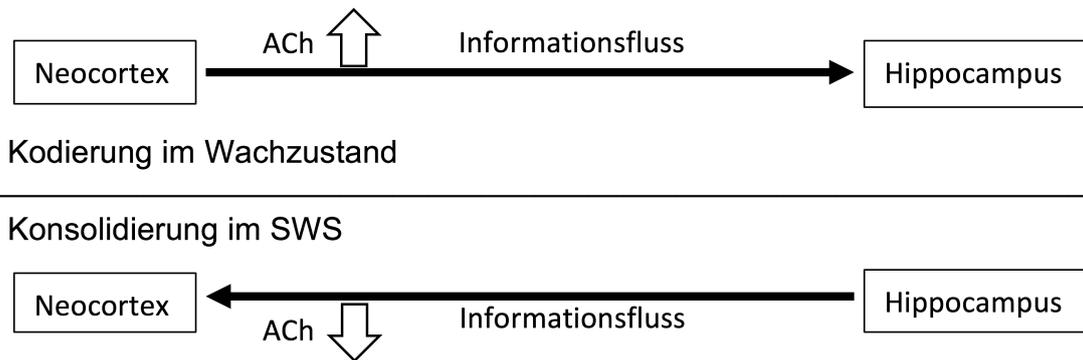


Abbildung 6: Übersicht der ACh-Konzentration. Die ACh-Konzentration beim Erwerb und bei der Langzeitspeicherung von Gedächtnisinhalten. Bei der Kodierung im Wachzustand ist der ACh-Spiegel hoch und es kommt zum Informationsfluss vom Neocortex zum Hippocampus (Hasselmo 1999; Buzsáki 1996). Bei der Konsolidierung im SWS ist der ACh-Spiegel niedrig und es kommt zum Informationsfluss in entgegengesetzter Richtung vom Hippocampus zum Neocortex (Hasselmo 1999; Buzsáki 1996).

Die Bedeutung des niedrigen Acetylcholinpiegels während des SWS für die hippocampusabhängige Gedächtniskonsolidierung konnten Gais & Born (2004) zeigen. Sie erhöhten die cholinerge Aktivität durch intravenöse Gabe des Acetylcholinesterase-Hemmers Physostigmin während des SWS. Die Leistungen der Probanden beim Abruf der am Abend zuvor gelernten Wortpaare brachten ein signifikant schlechteres Ergebnis in der Physostigmin-Gruppe im Vergleich zu der Placebo-Gruppe. Die Erklärung scheint eine Unterdrückung der schlafabhängigen Gedächtniskonsolidierung aufgrund des erhöhten Acetylcholinpiegels zu sein (Gais & Born 2004). Bemerkenswerterweise war die leistungsmindernde Wirkung von Physostigmin nicht von EEG-Veränderungen bezüglich der SWS- oder der Spindelaktivität abhängig, sondern trat auch bei Probanden ohne offensichtliche EEG-Veränderungen auf.

Die Annahme, dass der Neurotransmitter Acetylcholin wichtig für die Gedächtniskonsolidierung ist, wird zu großen Teilen von weiteren Studien unterstützt. So konnte Vandecasteele zeigen, dass Acetylcholin die Gedächtnisreaktivierung im Hippocampus unterdrückt (Vandecasteele et al. 2014). Weitere Studien von Hasselmo und Douchamps beschrieben eine Unterdrückung der hippocampus-neocorticalen Kommunikation durch den Neurotransmitter Acetylcholin (Douchamps et al. 2013; Hasselmo & Schnell 1994).

Zusammenfassend kann gesagt werden, dass eine erhöhte Acetylcholin-Konzentration im Wachzustand wahrscheinlich für den Erwerb von neuen Gedächtnisinhalten elementar ist. Für die Gedächtniskonsolidierung im SWS scheint wiederum ein niedriger Acetylcholin-Spiegel Voraussetzung zu sein.

Somit liegt die Annahme nahe, dass der Neurotransmitter Acetylcholin als eine Art Weichensteller des hippocampus-neocorticalen Systems gilt, indem es zwischen den Prozessen der Kodierung und der Konsolidierung von Wissen wechselt (Born et al. 2006; Hasselmo 1999).

1.6 Der Acetylcholinesterase-Hemmer Physostigmin

Das Medikament Physostigmin ist ein Acetylcholinesterase-Hemmer und zählt von seiner chemischen Struktur zu den Carbamaten. Physostigmin blockiert reversibel das Enzym Acetylcholinesterase, welches im aktiven Zustand den Neurotransmitter Acetylcholin in die Spaltprodukte Acetat und Cholin hydrolysiert. Das Enzym Acetylcholinesterase ist spezifisch für den Neurotransmitter Acetylcholin und wirkt vor allem im zentralen und peripheren Nervensystem sowie an neuromuskulären Synapsen. Nach Gabe von Physostigmin wird die Acetylcholinesterase blockiert, das Acetylcholin kann nicht mehr abgebaut werden und es kommt somit zu einer höheren ACh-Konzentration im synaptischen Spalt (Dvir et al. 2010). Physostigmin wirkt also indirekt parasymphomimetisch (Köhler Chemie GmbH 2011). Physostigmin wird teils hydrolytisch, teils enzymatisch abgebaut und zum größten Teil über den Urin ausgeschieden. Dieser Vorgang ist nach 24 Stunden beendet, lediglich die Verabreichung von hohen Dosen führt zu einer Akkumulation und somit einer längeren Verfügbarkeit. Aufgrund der strukturellen Eigenschaft der Lipophilie kann das Physostigmin auch bei intravenöser Gabe die Blut-Hirn-Schranke überwinden und somit direkt und schnell im zentralen Nervensystem wirken. Dabei ist die Eliminationshalbwertszeit nach intravenöser Gabe zwischen 18 – 30 min (Köhler Chemie GmbH 2011).

1.7 Externe Beeinflussung der Gedächtniskonsolidierung

Aktuelle Studien zeigen, dass die Gedächtniskonsolidierung im Schlaf nicht nur

spontan geschieht, sondern auch durch externe Reize, beispielsweise olfaktorischer oder akustischer Art, beeinflusst werden kann (Diekelmann et al. 2011; Rasch et al. 2007). Um den Tiefschlaf dabei nicht zu stören ist die Anwendung eines olfaktorischen Reizes in der Handhabung weniger risikobehaftet als beispielsweise ein akustischer Reiz. Wird ein olfaktorischer Reiz während des Annehmens von neuem Wissen präsentiert, so wird er mit dem erlernten Inhalt verknüpft. Bei erneuter Geruchsdarbietung im nachfolgenden SWS fungiert der olfaktorische Reiz als Fingerzeig, der die neuen Erinnerungen reaktiviert und dadurch die Konsolidierung verstärkt (Rasch et al. 2007). In den Studien von Rasch und Diekelmann konnten beim Abruf einer zuvor gelernten visuell-räumlichen Gedächtnisaufgabe mit anschließender Reaktivierung während des SWS durch einen olfaktorischen Reiz mehrere Hinweise auf eine schnellere und bessere Konsolidierung gesammelt werden. Es wurde eine verbesserte Konsolidierung schon nach einer Schlafphase von nur 40 min, ein stabilerer Zustand in Bezug auf Interferenzen sowie eine Verbesserung der Ergebnisse im Abruf des Gedächtnistests beobachtet (Diekelmann et al. 2012; Diekelmann et al. 2011; Rasch et al. 2007). Frühere Studien konnten keine Aussagen hinsichtlich der Schlafmenge, die für die reizinduzierte hippocampusabhängige Gedächtniskonsolidierung nötig ist, machen (Rasch et al. 2007). Der genaue neurophysiologische Mechanismus dahinter ist momentan noch nicht abschließend geklärt. Was jedoch bereits in funktionellen Magnetresonanztomographie-Studien (fMRT-Studien) gezeigt werden konnte, ist, dass durch den gedächtnisassoziierten Reiz eine metabolische Aktivität in den para- und hippocampalen Regionen (Rasch et al. 2007), teilweise zusätzlich auch im Neocortex, angeregt wird (Diekelmann et al. 2011).

Allgemein gibt es Hinweise darauf, dass die Reaktivierung von Gedächtnisspuren entgegengesetzte Auswirkungen auf die Gedächtnisbildung hat, je nachdem ob sie während der Wachheit oder während des Schlafes stattfindet. Eine Reaktivierung während der Wachheit destabilisiert das Gedächtnis, während die Reaktivierung während des Schlafs zu einer Stabilisierung führt (Diekelmann et al. 2011).

1.8 Die Funktion von Cortisol

Cortisol ist ein lebenswichtiges Hormon aus der Gruppe der Glucocorticoide. Es wird physiologisch im Körper in der Nebennierenrinde, genauer in der Zona fascicularis, aus dem Vorläufer Cholesterin gebildet. Das Cortisol folgt einem zirkadianen Rhythmus und wird pulsatil mit unregelmäßigen Sekretionsepisoden ausgeschüttet. Dabei kommt es zu einem Sekretionsmaximum in den Morgenstunden und zu einem Sekretionsminimum gegen Mitternacht (Klinke et al. 2009). Dementsprechend liegt in der SWS-reichen ersten Nachthälfte eine geringere Cortisolkonzentration vor als in der REM-Schlaf dominierten zweiten Nachthälfte. Weiterhin erfolgt eine vermehrte Ausschüttung in Stresssituationen wie bei körperlicher Arbeit oder psychischer Belastung (Klinke et al. 2009). Erfolgt solch eine vermehrte Cortisol-Ausschüttung in der ersten Nachthälfte, so wird die deklarative Gedächtnisbildung negativ beeinflusst (Plihal & Born 1999). Ebenso negative Auswirkungen auf die deklarative Gedächtnisbildung hat eine medikamentöse Unterdrückung der Cortisolsynthese (Wagner et al. 2005). Insgesamt sind die Aufgaben des Cortisols vielfältig und noch nicht endgültig geklärt (Klinke et al. 2009).

1.9 Hypothese und Fragestellung

Trotz der beschriebenen Forschungsarbeiten ist noch unklar inwieweit die Neurotransmitter, die an der spontanen Gedächtnisreaktivierung beteiligt sind, auch eine tragende Rolle bei der reizinduzierten Gedächtnisreaktivierung spielen. Hier gilt das Interesse insbesondere dem Neurotransmitter Acetylcholin. Angenommen, die reizinduzierte Gedächtniskonsolidierung beruht auf ähnlichen Mechanismen wie die spontane Konsolidierung, also einer Reaktivierung von Gedächtnisinhalten im Hippocampus mit Weiterleitung zum Neocortex, dann sollte dieser Vorgang ebenso abhängig von einer niedrigen Acetylcholin-Konzentration sein wie die spontane Reaktivierung.

Um diese Vermutung zu überprüfen wird in der vorliegenden Studie die Konzentration des Neurotransmitters Acetylcholin im Schlaf durch Infundierung des Acetylcholinesterase-Hemmers Physostigmin erhöht. Anschließend werden neu

erlernte Gedächtnisinhalte durch einen externen olfaktorischen Reiz während des SWS reaktiviert. Aufbauend auf obigen Gedanken ergibt sich die folgende Vorhersage: Der positive Nutzen des olfaktorischen Reizes auf die Gedächtniskonsolidierung wird durch die erhöhte Acetylcholin-Konzentration während des SWS unterdrückt.

2 Material und Methoden

2.1 Probanden

Das Experiment schloss insgesamt 29 männliche Probanden im Alter zwischen 20 und 30 Jahren (mittleres Alter \pm Standardabweichung $23,86 \pm 2,47$ Jahre) ein. Weitere acht Teilnehmer mussten, nachdem sie den kompletten Versuch durchlaufen hatten, von der Auswertung ausgeschlossen werden, da sie die Teilnahmevoraussetzungen bezüglich der Schlafdauer ($n = 7$) oder der Lernleistung ($n = 1$) nicht erfüllten. Keiner der Probanden hatte anamnestisch bedeutende akute, chronische oder zurückliegende Erkrankungen oder andere Gesundheitsprobleme. Medikamenteneinnahmen und relevante Allergien wie Medikamentenallergien bzw. -unverträglichkeiten wurden von allen Probanden verneint. Auch berichtete keiner der Probanden von Schlafstörungen. Um diese Punkte sicherzustellen durchliefen alle Teilnehmer vor Beginn der Experimente ein medizinisches Screening. Dieses Screening beinhaltete ein Interview zur Einschätzung der gesunden Psyche, eine orientierende körperliche Untersuchung inklusiv der Erhebung von Blutdruck- und Pulsparametern sowie eine standardisierte Blutwertanalyse. Die Ergebnisse des Screenings wurden mit dem betreuenden Studienarzt besprochen. Bei entscheidenden Abweichungen von der Norm kam es zum Ausschluss des potentiellen Teilnehmers. Zusätzliche Ausschlusskriterien umfassten sowohl Nachtarbeit oder Wechselschicht wie auch Stress (Lernstress, beruflicher Stress, privater Stress, etc.) in den letzten drei Wochen vor Beginn bzw. während des Experiments oder Prüfungen im Zeitraum der Experimente. Damit wurden externe Faktoren, die einen potentiellen Einfluss auf die Schlafarchitektur und den Cortisol-Haushalt haben, reduziert. Außerdem mussten die Probanden Nichtraucher sein um eine mögliche Auswirkung des Rauchens auf den Geruchssinn auszuschließen. Teilnehmer, die bereits an Studien mit der hier verwendeten Gedächtnisaufgabe oder in den letzten zwei Monaten an einer anderen Studie mit Medikamentengabe teilgenommen hatten, wurden ebenfalls ausgeschlossen um die Vergleichbarkeit zwischen den einzelnen Teilnehmern zu gewährleisten. Alle Probanden wurden vor Beginn der Studie über die grundsätzliche Forschungsfrage, den Ablauf, die

Vorgehensweise und die Risiken in verständlicher Form aufgeklärt, ohne dabei das genaue Ziel der Studie im Detail offenzulegen. Eine schriftliche Einverständniserklärung von Seiten des Probanden erfolgte zum Zeitpunkt der Screening-Untersuchung (siehe Anhang 1). Nach Beendigung der Experimentalnächte bekam jeder Proband eine Aufwandsentschädigung.

Die Studie wurde am 20.12.2012 von der Ethik-Kommission der Medizinischen Fakultät der Eberhard Karls Universität und des Universitätsklinikums Tübingen geprüft und genehmigt.

2.2 Studiendesign

Die Probanden wurden instruiert am Tag der Experimente tagsüber nicht zu schlafen, keine ungewohnten exzessiven körperlichen oder geistigen Anstrengungen zu vollführen und keine Genussmittel wie Koffein oder Alkohol zu konsumieren.

Alle Probanden verbrachten vor den Experimenten eine Eingewöhnungsnacht im Schlaflabor um sich mit den dortigen Bedingungen vertraut zu machen. Im Anschluss daran folgten die zwei Experimentalnächte in festgelegten zeitlichen Abständen. Dabei musste zwischen Eingewöhnungsnacht und erster Experimentalnacht ein zeitlicher Abstand von mindestens zwei Tagen, höchstens einer Woche liegen. Zwischen den beiden Experimentalnächten musste ein zeitlicher Abstand von mindestens zwei Wochen liegen um mögliche Interferenzen zu vermeiden. Jedem Probanden wurde in der einen Experimentalnacht während des SWS ein lernassoziiertes Geruch, in der anderen Nacht eine geruchsneutrale Trägersubstanz präsentiert (within-subject-design). Ein doppelblind und randomisiert ausgewählter Teil der Probanden (Physostigmin-Gruppe $n = 15$) erhielt zusätzlich in beiden Nächten während des SWS das Medikament Physostigmin (Hersteller: Sigma-Aldrich) intravenös über eine Infusionspumpe, während die anderen Probanden (Placebo-Gruppe $n = 14$) in beiden Nächten über die Infusionspumpe ein Placebo intravenös erhielten. Hierfür wurde NaCl 0,9 % verwendet.

In den Experimentalnächten wurde den Probanden nach deren Ankunft im

Schlaflabor um 20:30 Uhr die polysomnographischen Elektroden an Kopf und Thorax platziert und am nicht dominanten Arm ein intravenöser Zugang der Größe 18 G gelegt. Um 22:00 Uhr bearbeiteten die Probanden eine Gedächtnisaufgabe, bei der sie sich auf einem Computerbildschirm die zweidimensionale Lokalisation von Kartenpaaren merken mussten (siehe Abschnitt 2.3). Währenddessen erhielten sie den Geruch über eine in Form und Größe an die Gesichtsmorphologie des Probanden angepasste Nasenmaske. Gegen 23:15 Uhr gingen die Probanden zu Bett und schliefen ungefähr 40 min (Minimum 30 min, Maximum 90 min), wovon sie etwa 20 min (Minimum 15 min, Maximum 30 min) im SWS verbrachten. Schief ein Proband innerhalb von 60 min nicht ein oder verweilte er in einem Zeitraum von 90 min weniger als 15 min im SWS, so wurde das Experiment abgebrochen und der Proband aus der Studie ausgeschlossen.

Mit Einsetzen des Schlafes (Definition: Erste Epoche von S1, welcher S2 folgt) startete die intravenöse Gabe von mit NaCl 0,9 % verdünntem Physostigmin (Physostigmin-Gruppe) oder reinem NaCl 0,9 % (Placebo-Gruppe). Sowohl der Geruch als auch der geruchsneutrale Trägerstoff wurden über ein Olfaktometer dosiert und verabreicht. Im SWS angekommen begann die Stimulation mit dem Geruch (Bedingung Geruch) bzw. dem geruchsneutralen Trägerstoff (Bedingung Trägerstoff). Sie erfolgte alternierend über eine Dauer von 30 s mit einer Pause von ebenfalls 30 s um einen möglichen Habituationseffekt zu reduzieren. Dabei wurde unter der Bedingung Geruch der identische Geruch wie zuvor beim Lösen der Gedächtnisaufgabe verwendet. Bei unauffälligem Verlauf wurde nach 20-minütiger (maximal 30-minütiger) Geruchsstimulation bzw. Präsentation des geruchsneutralen Trägerstoffes und abgeschlossenem Infundieren von Physostigmin bzw. Placebo der Olfaktometer sowie die Infusionspumpe gestoppt und der Proband direkt aus dem SWS geweckt. Im Anschluss schauten die Probanden über einen Zeitraum von 90 min einen Film um potentielle Folgewirkungen des Medikaments auf die kognitiven und körperlichen Fähigkeiten des Probanden auszuschließen. Der Film musste die Probanden zum wachhalten und durfte sie zum anderen geistig nicht anstrengen. Es wurde der

Film „König der Löwen 2“ für die erste Experimentalnacht und „König der Löwen 3“ für die zweite Experimentalnacht gewählt.

Danach folgte eine Interferenz-Version der Gedächtnisaufgabe (siehe Abschnitt 2.3). Durch das Erlernen einer solchen Interferenz-Aufgabe kann die Stabilität des Gedächtnisses gegen neue, widersprüchliche Informationen überprüft werden. Außerdem erlaubt es einen Abfragetest bereits wenige Stunden nach dem Lernen der ursprünglichen Aufgabe, ohne dass sich die meisten Probanden am oberen Ende der möglichen Gedächtnisleistung befinden (Deckeneffekt). Zum Schluss erfolgte der Abruf der vor dem Schlafen erlernten Gedächtnisaufgabe (siehe Abb. 7).

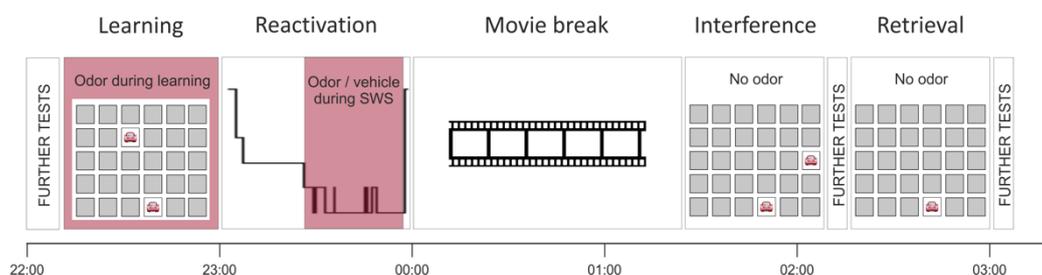


Abbildung 7: Versuchsdesign. Zu Beginn der Experimentalnacht wurden verschiedene Tests durchgeführt. Gegen 22:00 Uhr lernten alle Probanden eine Gedächtnisaufgabe. Zusätzlich erhielten sie über eine Nasenmaske den Geruch. Nachdem die Probanden gegen 23:20 Uhr eingeschlafen waren erhielten sie eine Infusion aus NaCl 0,9 % mit Physostigmin (Physostigmin-Gruppe) bzw. aus NaCl 0,9 % (Placebo-Gruppe). Im SWS bekamen alle Probanden in einer der beiden Experimentalnächte denselben Geruch wie in der vorangegangenen Gedächtnisaufgabe präsentiert. Nach einer ca. 20-minütigen Stimulation mit dem Geruch bzw. dem geruchsneutralen Trägerstoff wurden die Probanden geweckt und schauten 90 min einen Film. Anschließend bearbeiteten die Probanden die Interferenz-Version der Gedächtnisaufgabe und letztendlich den Abruf der ursprünglichen Gedächtnisaufgabe (Abbildung: Klinzing et al. 2018).

Das komplette Experiment inklusive aller Anweisungen, Aufgaben und Tests wurde in deutscher Sprache durchgeführt. Sowohl die Geruchsstimulationen während des Schlafes als auch die Medikamenten- bzw. Placebogabe erfolgte in doppelblindem und pseudorandomisiertem Studiendesign. Bei dem Geruch handelte es sich um eine Mischung aus Isobutyraldehyd (99 %) und 1,2-Propanediol im Verhältnis 1:50. Für den Trägerstoff wurde das nahezu vollständig geruchsneutrale 1,2-Propanediol verwendet. Beide Stoffe wurden je nach

zugeteilter Versuchsbedingung über einen computergesteuerten Olfaktometer dosiert und über eine Nasenmaske verabreicht.

Das Medikament Physostigmin (Handelsname: Anticholium) enthält als Wirkstoff Physostigminsalicylat, ein lipophiler Acetylcholinesterase-Hemmer, der den enzymatischen Abbau von Acetylcholin mit einer Eliminationshalbwertszeit von etwa 20 – 30 min unterdrückt (Aquilonius & Hartvig 1986). Es wurden jeweils 0,25 ml Anticholium, das entspricht 0,1 mg Physostigminsalicylat, mit 17 ml NaCl 0,9 % vermischt und mit einer Laufgeschwindigkeit von 25,5 ml/h über 40 min (beginnend mit dem Einsetzen des Schlafes) per Infusionspumpe verabreicht. Für das Placebo wurde NaCl 0,9 % verwendet, welches mit der identischen Laufgeschwindigkeit über die Infusionspumpe verabreicht wurde. Dabei stand die Infusionspumpe in einem separaten Raum, um weder durch die Kontrollleuchten oder Betriebsgeräusche der Infusionspumpe noch durch die Bedienung derselben das Schlafverhalten des Probanden zu beeinflussen.

Das medizinische Screening, die Eingewöhnungsnacht und die Experimentalnächte fanden ausschließlich im Schlaflabor des Instituts für Medizinische Psychologie und Verhaltensneurobiologie in der Medizinischen Universitätsklinik Tübingen statt.

2.3 Gedächtnisaufgabe

Die Gedächtnisaufgabe ist eine computergestützte Aufgabe, für deren Lösung das visuell-räumliche Gedächtnis gefordert wird. Die Probandenprägten sich dabei im zweidimensionalen Raum die Lokalisation von Kartenpaaren ein, ähnlich dem Spiel „Memory“ (Diekelmann et al. 2012; Diekelmann et al. 2011; Rasch et al. 2007). Den Probanden wurden am Computermonitor 30 Karten gezeigt, wovon immer zwei Karten ein Pärchen bildeten. Jedes Pärchen zeigte ein identisches, buntes Motiv aus dem Alltag oder der allgemein bekannten Tierwelt. Alle 30 Karten wurden verdeckt und zufällig auf einer fünf auf sechs Felder messenden Matrix verteilt. Die Aufgabe existierte in zwei unterschiedlichen Versionen (Version A und Version B), die sich in der Wahl der Motive und den Orten der gepaarten Karten unterschieden. Den zwei Experimentalnächten eines jeden Probanden wurde jeweils eine der beiden Versionen randomisiert

zugeteilt. Zusätzlich gab es für beide Versionen eine Interferenz-Version. Diese Interferenz-Version stellte dieselben Motive wie die entsprechende Original-Version dar, allerdings befand sich die zweite Karte eines jeden Pärchens an einer anderen Position.

Zu Beginn des Lernens wurde den Probanden zunächst der Ablauf der Aufgabe erklärt, im Anschluss las jeder Proband eine schriftliche Anleitung am Computermonitor selbstständig durch. Nach diesen Erklärungen folgte ein Probegang zur Verdeutlichung des gehörten und gelesenen mit zwei Kartenpaaren. Die eigentliche Gedächtnisaufgabe begann mit der Lernphase. Dabei wurden dem Probanden alle Pärchen zweimal präsentiert: Zuerst wurde die erste Karte des Pärchens für 1 s alleine auf dem Bildschirm aufgedeckt, dann kam die zweite Karte dazu. Beide Karten blieben gemeinsam für 3 s aufgedeckt bevor sie wieder zugedeckt wurden. Nach einer 3 s dauernden Pause wurde das nächste Pärchen nach dem gleichen Prinzip präsentiert. Während des Lernens wurde den Probanden unabhängig der Gruppe und der Bedingung der Geruch über eine Nasenmaske präsentiert. Die Geruchsstimulation erfolgte jeweils während den kompletten 4 s der Pärchenpräsentation. Nachdem jedes Pärchen in zwei aufeinander folgenden Durchgängen präsentiert wurde, erfolgte der Abruf. Bei dieser Leistungskontrolle wurde dem Probanden jeweils die erste Karte eines jeden Pärchens präsentiert und er musste mit der Computer-Maus die zweite Karte aus den restlichen 29 möglichen verdeckten Karten aussuchen. Nach Anklicken der gewählten Karte wurde diese für 2 s aufgedeckt. Handelte es sich dabei um die richtige Karte, so leuchtete ein grünes Häkchen auf der Karte auf. Handelte es sich um die falsche Karte, erschien ein rotes Kreuz und die richtige Lokalisation des Pärchenpartners wurde für 2 s angezeigt, sodass sich der Proband den Ort erneut einprägen konnte. Der Test wiederholte sich automatisch so lange, bis der Proband mindestens 60 % der Pärchen in dem jeweiligen Testdurchlauf korrekt zugeordnet hatte. Benötigte der Proband mehr als sechs Durchgänge um die Aufgabe zu beenden, wurde er von der Studie ausgeschlossen.

Bei der Interferenz-Version der Aufgabe lernten die Probanden ohne Geruchspräsentation dieselben Kartenpaare wie zuvor, nur befand sich dieses Mal die

zweite Karte eines jedes Pärchens an einer anderen Lokalisation. Die Interferenz-Version begann, identisch mit der ursprünglichen Aufgabe, mit einer Lernphase, in der jedes Pärchen zweimal präsentiert wurde. Im Anschluss erfolgte der Abruf, bei dem wieder die richtige Zuordnung mit einem grünen Häkchen und die falsche Zuordnung mit einem roten Kreuz visuell verdeutlicht wurde. Bei dieser Version endete die Aufgabe bereits nach einem Durchgang, um für alle Probanden eine vergleichbare Interferenz sicherzustellen (Diekelmann et al. 2012; Diekelmann et al. 2011).

Zuletzt wurde die Erinnerung an die zuerst gelernte, ursprüngliche Version der Gedächtnisaufgabe überprüft. Bei diesem Durchgang gab es keine Lernphase, es begann direkt der Abruf. Von jedem Paar wurde die erste Karte gezeigt und der Proband musste die Lokalisation der zweiten Karte mit der Computermaus markieren. Dabei gab es kein Feedback in Form eines grünen Häkchens oder roten Kreuzes und die korrekte Kartenposition wurde nicht angezeigt. Die Gedächtnisstabilität wurde als Prozentsatz der korrekt erinnerten Kartenpositionen beim Abruf relativ zu der Anzahl der korrekten Kartenpositionen beim Abruf der ursprünglichen Gedächtnisaufgabe berechnet und als Gedächtnisleistung definiert.

2.4 Vitalparameter

In jeder Experimentalnacht wurde der Blutdruck, die Herzfrequenz und der Blutzuckerspiegel der Probanden zu fünf festgelegten Zeitpunkten (vor dem Lernen gegen 22:00 Uhr, vor dem Schlafen gegen 23:15 Uhr, direkt nach dem Erwachen gegen 00:00 Uhr, nach der Interferenz-Aufgabe gegen 02:15 Uhr und nach dem Abruf gegen 03:00 Uhr) bestimmt und dokumentiert. Während der Medikamentenapplikation wurde die Herzfrequenz über zwei thorakal platzierte Elektroden der Polysomnographie überwacht. Durch die Überwachung all dieser Vitalparameter konnten Rückschlüsse über das körperliche Wohlergehen der Probanden gezogen werden. Dadurch wurden zum einen Störfaktoren auf die Gedächtnisleistung durch eine Kreislaufdysregulation ausgeschlossen und zum anderen mögliche Gesundheitsprobleme aufgrund der Belastung oder der Medikamentengabe rechtzeitig erkannt und ggf. behoben. So konnte jederzeit

eine Vergleichbarkeit zwischen den Probanden gewährleistet werden.

2.5 Kontrollvariablen

Zu drei bestimmten Zeitpunkten (vor dem Lernen gegen 22:00 Uhr, nach der Interferenz-Aufgabe gegen 02:15 Uhr und nach dem Abruf gegen 03:00 Uhr) bearbeiteten die Probanden diverse Tests und Fragebögen. Diese dienten dazu, mögliche Störfaktoren wie starke Müdigkeit, Unwohlsein oder Konzentrationsverlust akut oder in der Verlaufsbeobachtung zu erkennen und somit eine Gleichheit der verschiedenen Probandengruppen in Bezug auf ihre kognitiven Leistungen zu erlangen.

2.5.1 Vigilanztest

Bei dem Vigilanztest handelt es sich um einen computergestützten Test, der die Aufmerksamkeit und die Wachheit der Probanden im Verlauf der Nacht überprüfte. Nachdem der Ablauf des Tests den Probanden mündlich und schriftlich erläutert wurde, erschien auf dem schwarzen Bildschirm ein roter Punkt mit einem Durchmesser von 1 cm an wechselnder, zufälliger Lokalisation im zeitlichen Abstand von 2 – 10 s. Erschien der rote Punkt auf der linken Bildschirmhälfte, musste der Proband auf der Computertastatur die Taste ‚X‘ drücken, erschien der Punkt auf der rechten Bildschirmhälfte, musste der Proband die Taste ‚N‘ drücken. Das Betätigen der Taste musste so schnell und präzise wie möglich erfolgen. Dabei durften die Finger des Probanden während des gesamten Tests auf den jeweiligen Tasten verbleiben. Als Feedback und Motivation für noch bessere Leistungen erschien nach dem Drücken der jeweiligen Taste die Reaktionszeit in Millisekunden. Wählte der Proband die falsche Taste, erschien der Wortlaut „FALSCH“ in prominenter roter Schrift auf dem Bildschirm. Insgesamt wurden bei dem Vigilanztest 160 rote Punkte in etwa 10 Minuten abgefragt.

2.5.2 Stanford Schläfrigkeitsskala

Die Stanford Schläfrigkeitsskala wurde 1973 von Hoddes et al. („Stanford Sleepiness Scale“) in englischer Sprache entwickelt und später ins Deutsche übersetzt. Mithilfe dieser Skala bewerteten die Probanden ihre subjektive Müdigkeit indem sie auf einer Punkte-Skala von 1 („Ich fühle mich aktiv, vital, aufmerksam

und hellwach“) bis 7 („Ich kann nicht länger gegen den Schlaf ankämpfen, werde bald einschlafen; habe traumähnliche Gedanken“) den Wert auswählten, der am besten zu ihrem momentan subjektiv empfundenen Zustand passte (siehe Anhang 2).

2.5.3 Multidimensionaler Befindlichkeitsfragebogen

Der Multidimensionale Befindlichkeitsfragebogen (MDBF), oder im englischen Original Multidimensional Mood State Questionnaire (MDMQ), von R. Steyer ist seit 1994 in validiertem Gebrauch. In der hier verwendeten verkürzten Form des MDBF gaben die Probanden anhand des bipolar konzipierten Fragebogens Auskunft über ihre momentane Befindlichkeit. Dafür bewerteten sie verschiedene stimmungsbeschreibende Adjektive anhand einer fünfstufigen Antwortskala mit den Polen „Im Moment fühle ich mich überhaupt nicht“ und „Im Moment fühle ich mich sehr“. Die Zwischenwerte erhielten keine verbale Beschreibung (siehe Anhang 3). Zur Auswertung wurden die zwölf Adjektive drei Kategorien zugeteilt. Jede Kategorie beinhaltete zwei positive und zwei negative Adjektive. Die Kategorien mit zugehörigen Adjektiven lauten: Gute/Schlechte Stimmung: zufrieden, schlecht, gut, unwohl; Wachheit/Müdigkeit: ausgeruht, schlapp, müde, munter; Ruhe/Unruhe: ruhelos, gelassen, unruhig, entspannt. Die drei Kategorien wurden getrennt voneinander ausgewertet, wobei zur einheitlichen Bewertung bei negativen Adjektiven die beiden Pole gespiegelt werden mussten. Demzufolge deutete in der Kategorie „Gute/Schlechte Stimmung“ ein hoher Skalenwert auf eine insgesamt positive Stimmungslage hin, ein niedriger Skalenwert deutete auf eine gedrückte Stimmungslage hin. In der Kategorie „Wachheit/Müdigkeit“ beschrieb ein hoher Skalenwert einen wachen und munteren, ein niedriger Skalenwert einen müden und schlappen Probanden. In der Kategorie „Ruhe/Unruhe“ zeigte ein hoher Skalenwert einen innerlich ruhigen und gelassenen, ein niedriger Skalenwert einen innerlich unruhigen Probanden.

2.5.4 Symptom-Rating-Skala

Bei diesem Test gab der Proband Auskunft über das Vorhandensein und die Ausprägung subjektiver Symptome, welche durch mögliche Nebenwirkungen und unerwünschte Arzneimittelwirkungen des eingesetzten Acetylcholinesterase-Hemmers Physostigmin hervorgerufen werden konnten. Die Probanden be-

werteten 27 Symptome auf einer Likert-Skala von 0 („schwach ausgeprägt“) bis 9 („stark ausgeprägt“). Die Themen lauteten: Angst, Schwitzen, körperliches Unwohlsein, innere Unruhe, Kribbelgefühl, Zittern, verstärkter Tränenfluss, Herzklopfen, verschwommenes Sehen, Konzentrationsfähigkeit, verstärkter Speichelfluss, Ärger, Kopfschmerzen, Durchfall, Übelkeit, Traurigkeit, Atembeschwerden, Sprachstörungen, Müdigkeit, Schwindel, Nervosität, Muskelzucken/-zittern, Juckreiz, Schwäche, Wärme, Aktivität, Völlegefühl (siehe Anhang 4).

2.5.5 Regensburger Wortflüssigkeits-Test

Der deutschsprachige Regensburger Wortflüssigkeits-Test von Aschenbrenner et al. 2000 diente der Beurteilung der verbalen formallexikalischen und semantischen Wortflüssigkeit in der deutschen Sprache. Die formallexikalische Wortflüssigkeit wird durch das Aufzählen von Worten mit einem bestimmten Anfangsbuchstaben, die semantische Wortflüssigkeit durch das Aufzählen von Wörtern einer vorgegebenen Kategorie überprüft. Die Probanden wurden angewiesen innerhalb von 2 min möglichst viele Wörter mit einem vorgegebenen Anfangsbuchstaben („B“, „K“, „M“ oder „P“) oder möglichst viele Wörter zu einem vorgegebenen Thema („Beruf“ oder „Hobby“) von Hand auf den Testbogen zu schreiben. Dabei wurden der jeweilige Buchstabe und das Thema randomisiert zugeteilt. Es galten folgende Regeln: 1.) Kein Wort darf mehrfach genannt werden. 2.) Es dürfen keine Eigennamen benutzt werden (diese Regel gilt nicht für die Themen „Beruf“ und „Hobby“). 3.) Die Wörter dürfen nicht mit dem gleichen Wortstamm beginnen (siehe Anhang 5 – 7).

2.6 Der Geruchstest

Bevor und nachdem der Geruch zeitgleich mit der ursprünglichen Gedächtnisaufgabe verabreicht wurde, durchlief jeder Proband einen Geruchstest. Ziel des Geruchstests war, bei allen Teilnehmern die olfaktorische Sensitivität sicherzustellen. Dafür bekam der Proband die Nasenmaske aufgesetzt, welche an den computergesteuerten Olfaktometer angeschlossen war. Nachdem der Test dem Probanden mündlich und schriftlich erläutert wurde, erschien auf dem Computermonitor ein Fragezeichen. Durch Einatmen über die Nase musste der Pro-

band feststellen, ob ihm ein Geruch dargeboten wurde oder nicht und entsprechend die Tasten „0“ für „Kein Geruch“ oder „1“ für „Geruch“ auf der Computertastatur betätigen. Dieser Versuch wurde zehn Mal durchgeführt, wobei eine Erkennungsrate von mindestens 80 % gefordert wurde. Im Anschluss musste der Proband bewerten wie „vertraut“, „anregend“, „intensiv“ und „stehend“ er den Geruch empfunden hat. Dafür stand ihm eine Skala von 0 („gar nicht“) bis 9 („sehr“) zur Verfügung.

2.7 Elektrophysiologische Aufzeichnungen

Zur Aufzeichnung und späteren Auswertung der elektrophysiologischen Aktivitäten während des Schlafes wurde ein polysomnographisches Verfahren mit einer Elektroenzephalographie (EEG), einer Elektromyographie (EMG) und einer Elektrokulographie (EOG) verwendet. Die Polysomnographie wurde um zwei thorakal platzierte Elektroden erweitert. Diese dienten lediglich der Herzfrequenzüberwachung während der Medikamentenapplikation und nicht der Auswertung.

Das Cranium (Schädel), welches in das Neurocranium (Gehirnschädel) und das Viscerocranium (Gesichtsschädel) unterteilt werden kann und aus vielen Einzelknochen besteht, ist individuell verschieden geformt. Anhand von definierten Messpunkten, Linien und Winkeln kann die äußere Gestalt des Craniums beschrieben und in unterschiedliche Schädelformen kategorisiert werden. Um den verschiedenen Schädelkonfigurationen gerecht zu werden und um das EEG als ein objektives und vergleichbares Messverfahren unabhängig der verschiedenen physiologischen Schädelformen zu bewerten, wurde das Internationale 10-20 System verwendet (Klem et al. 1958). Anhand dieses Systems wurden die Elektroden bei jedem Probanden an die Positionen F3, F4, C3, C4, P3 und P4 platziert. Zusätzlich wurden zwei Referenzelektroden auf der Pars mastoidea (Warzenfortsatz) beidseits (Ref) und eine Erdungselektrode (Gnd) auf der Stirn angebracht. Die Augenbewegungen wurden über das EOG abgeleitet, wofür zwei Elektroden seitlich des lateralen Augenwinkels (links etwas über dem Auge, rechts etwas unter dem Auge) platziert wurden. Die elektrophysiologische

Aktivität der mimischen Muskulatur wurde mithilfe des EMGs durch zwei am Kinn angebrachte Elektroden erfasst (siehe Abb. 8).

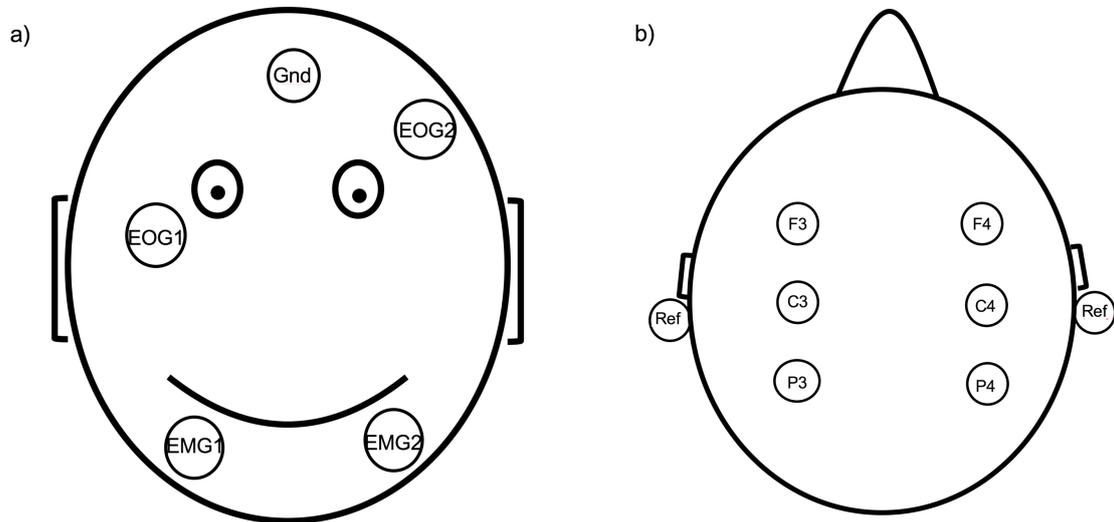


Abbildung 8: Elektrophysiologische Aufzeichnung. a) Korrekte Platzierung der Erdungselektrode (Gnd), der Elektroden für die Elektrookulographie (EOG1 und EOG2) und für die Elektromyographie (EMG1 und EMG2). b) Korrekte Platzierung der Elektroden F3, F4, C3, C4, P3 und P4 sowie der Referenzelektroden (Ref) auf der Pars mastoidea beidseits zur korrekten Ableitung des EEGs.

Zur Anbringung der Elektroden bei individuell stark variierender Form und Größe des Schädels wurde nach folgendem Schema vorgegangen: Anhand der Kopfgröße des Probanden und den Abständen zwischen den Referenzpunkten Protuberantia occipitalis externa, Übergang des Os nasale in das Os frontale sowie den beiden Processus mastoidei wurde zuerst eine Mützensgröße und dann die richtige Mützenposition bestimmt. Mit einem Stift konnte mittels einer Schablone die korrekte Position der Elektroden markiert werden. Im Anschluss wurden die markierten Stellen mit nicht-rückfettendem Desinfektionsmittel (beispielsweise Softasept® N von B. Braun) gereinigt und mit einer Peeling-Paste von überschüssigen Hautzellen befreit. Die Elektroden wurden nun mithilfe einer stark leitenden Kontaktpaste und Leukosilk (BSN medical Leukosilk 2,5 cm) an der entsprechenden Stelle fixiert. Durch dieses Vorgehen wurde der elektrische Widerstand der Haut so gering wie möglich gehalten und eine möglichst störungsfreie Ableitung gewährleistet. Nach erfolgreichem Anbringen der Elekt-

roden wurden diese über einen Verstärker mit dem Computer verbunden. Der Verstärker wurde zwangsläufig benötigt, da die auf der Kopfhaut abgeleiteten elektrischen Signale nur zwischen 5 - 100 μV liegen. Nun konnte die Polysomnographie digital auf dem Computer gespeichert werden.

Die Aufnahmen wurden vom Versuchsleiter online und offline (in „Echt-Zeit“ und „rückblickend“) nach den Standardkriterien von Rechtschaffen & Kales (1968) in die Schlafstadien S1-S4 (mit SWS in S3 und S4), REM Schlaf und Wachphasen unterteilt. Bewegungen (Movements) wurden dabei extra markiert und berücksichtigt.

2.8 Cortisol-Spiegel

Der Cortisol-Spiegel im Blut wurde bei jedem Probanden zu drei verschiedenen Zeitpunkten gemessen (vor dem Lernen gegen 22:00 Uhr, direkt nach dem Erwachen gegen 00:00 Uhr und nach der Interferenz-Aufgabe gegen 02:15 Uhr). Anhand dieser Ergebnisse konnte das Stress-Level der Probanden beurteilt werden um eine Vergleichbarkeit zu gewährleisten.

2.9 Statistische Auswertung

Zur Auswertung wurde das statistische Programm SPSS Version 24.0 verwendet. Für die Gedächtnisleistung, die Schlafdaten, die Vitalparameter und die Kontrollvariablen wurden die Varianzanalysen (ANOVAs) mit den Zwischensubjekt Faktoren „Physostigmin vs. Placebo“ und den Innensubjekt Faktoren „Geruch vs. Trägerstoff“ analysiert. Die Effektstärken wurden als partielles eta-Quadrat (η^2) oder Cohens d dargestellt. Die Kontrollparameter wurden für die Anzahl der verbundenen Messungen Bonferroni-korrigiert um der Alphafehlerkumulierung entgegenzuwirken. Im Falle von Verletzungen der Sphärizitätsvermutung wurden Greenhouse-Geisser-korrigierte Testergebnisse berichtet. Ein p-Wert von $\leq 0,05$ wurde als signifikant angesehen.

3 Ergebnisse

3.1 Gedächtnisleistung

Die Auswertung der Gedächtnisleistung (also der Anteil, der beim Abruf richtig lokalisierten Karten im Vergleich zum Lernen am Vortag) ergab, entgegen unserer Hypothese, dass der positive Effekt des olfaktorischen Reizes auf die Gedächtniskonsolidierung nicht durch eine erhöhte Acetylcholin-Konzentration unterdrückt wird. Die vorhergesagte Interaktion zwischen den Faktoren Physostigmin vs. Placebo und Geruch vs. Trägerstoff war nicht signifikant ($p = 0,560$). Über beide Gruppen hinweg gab es einen deutlichen Unterschied zwischen den Bedingungen Geruch und Trägerstoff. Dies zeigte sich durch einen Haupteffekt bezüglich Geruch vs. Trägerstoff mit signifikant besserer Leistung unter der Geruchsbedingung ($p = 0,026$, $\eta^2 = 0,171$). Dort wurden $63,68 \pm 3,64$ % (Mittelwert \pm Standardfehler) der Kartenpaare richtig erkannt, im Vergleich zur Trägerstoffbedingung mit $51,94 \pm 2,85$ %.

Es gab keinen signifikanten Haupteffekt in der Gedächtnisleistung zwischen den Gruppen Physostigmin und Placebo (Haupteffekt Physostigmin vs. Placebo: $p = 0,485$, $\eta^2 = 0,018$) (siehe Abb. 9). Im Abruf erkannte die Physostigmin-Gruppe insgesamt $59,31 \pm 2,94$ % der Kartenpaare (Bedingung Geruch $63,71 \pm 6,05$ % vs. Trägerstoff $54,91 \pm 4,27$ %; $p = 0,31$). Die Placebo-Gruppe erkannte im Abruf insgesamt $56,31 \pm 3,05$ % der Kartenpaare (Bedingung Geruch $63,65 \pm 3,84$ % vs. Trägerstoff $48,97 \pm 3,73$ %; $p = 0,013$). Insgesamt konnten sich die Probanden beim Abruf an $57,81 \pm 2,12$ % Kartenpaare erinnern (siehe Abb. 9).

Ebenso gab es keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen Physostigmin vs. Placebo und den Bedingungen Geruch vs. Trägerstoff in der Anzahl der richtig lokalisierten Karten beim Lernen oder bei der Interferenz-Aufgabe (alle $p > 0,079$). Beim Lernen erkannte die Physostigmin-Gruppe unter der Geruchsbedingung $10,40 \pm 0,27$ Kartenpärchen in $2,47 \pm 0,31$ Durchgängen, unter der Trägerstoffbedingung $10,80 \pm 0,46$ Kartenpärchen in $2,13 \pm 0,35$ Durchgängen. Die Placebo-Gruppe erkannte unter der Bedingung Geruch $9,64 \pm 0,25$ Kartenpärchen in $2,57 \pm 0,42$ Durchgängen und unter der Bedin-

gung Trägerstoff $10,29 \pm 0,35$ Kartenpärchen in $2,43 \pm 0,42$ Durchgängen. Bei der Interferenz-Aufgabe erkannte die Physostigmin-Gruppe unter der Bedingung Geruch $8,53 \pm 0,92$, unter der Bedingung Trägerstoff $8,33 \pm 0,82$ Kartenpärchen. Die Placebo-Gruppe erkannte unter der Bedingung Geruch $7,93 \pm 0,84$ und unter der Bedingung Trägerstoff $7,43 \pm 0,82$ Kartenpärchen. Im Abruf erkannte die Physostigmin-Gruppe unter der Bedingung Geruch $6,67 \pm 0,67$, unter der Bedingung Trägerstoff $5,93 \pm 0,50$ Kartenpärchen. Die Placebo-Gruppe erkannte unter der Bedingung Geruch $6,14 \pm 0,39$ und unter der Bedingung Trägerstoff $5,07 \pm 0,45$ Kartenpärchen (siehe Tab. 1).

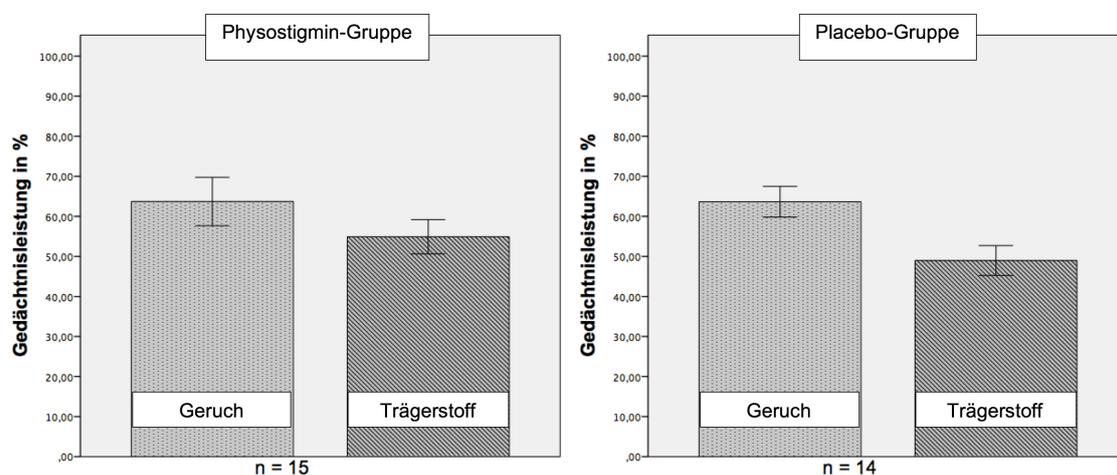


Abbildung 9: Gedächtnisleistung im Vergleich. Die Gedächtnisleistung erbrachte im Abruf keinen bedeutenden Unterschied zwischen den Gruppen Physostigmin und Placebo. Im Gegensatz dazu zeigten die Probanden unter der Bedingung Geruch deutlich bessere Gedächtnisleistungen als unter der Bedingung Trägerstoff ($p = 0,026$). In der Grafik ist die Gedächtnisleistung im Abruf (in %) als Mittelwert \pm Standardfehler in den Gruppen Physostigmin vs. Placebo und unter den Bedingungen Geruch vs. Trägerstoff zu sehen.

3.2 EEG

Im EEG konnte gezeigt werden, dass sich die Gesamtschlafdauer der Teilnehmer nicht zwischen den Gruppen Physostigmin vs. Placebo oder den Bedingungen Geruch vs. Trägerstoff unterschied (alle $p > 0,360$).

Bemerkenswert sind allerdings Veränderungen in der Schlafarchitektur in der Physostigmin-Gruppe. Die Physostigmin-Gruppe verbrachte signifikant mehr Zeit (prozentual zur Gesamtschlafdauer) in S3 (Physostigmin-Gruppe vs. Pla-

cebo-Gruppe $p = 0,012$, $\eta^2 = 0,21$. Physostigmin-Gruppe $39,76 \pm 2,82$ %, Placebo-Gruppe $28,90 \pm 2,92$ %) und weniger Zeit in S4 (Physostigmin-Gruppe vs. Placebo-Gruppe $p = 0,105$, $\eta^2 = 0,09$. Physostigmin-Gruppe $11,09 \pm 3,22$ %, Placebo-Gruppe $18,86 \pm 3,34$ %) als die Placebo-Gruppe, was eine insgesamt reduzierte Schlaftiefe beschreibt.

Tabelle 1: Wiedererkannte Kartenpaare. Die Anzahl der wiedererkannten Kartenpaare in den Gruppen Physostigmin und Placebo sowie unter den Bedingungen Geruch und Trägerstoff. Lernen: Anzahl der richtig erkannten Pärchen im letzten Durchgang der ursprünglichen Gedächtnisaufgabe. Durchgänge: Anzahl der Wiederholungen, die nötig waren, um mindestens 60 % der Karten-Pärchen korrekt zu lokalisieren. Interferenz: Anzahl der korrekt erkannten Kartenpärchen bei der Interferenz-Aufgabe. Abruf: Anzahl der korrekt erkannten Kartenpärchen beim abschließenden Abruf. Jeweils Mittelwert \pm Standardfehler.

	Physostigmin		Placebo	
	Geruch	Trägerstoff	Geruch	Trägerstoff
Lernen	$10,40 \pm 0,27$	$10,80 \pm 0,46$	$9,64 \pm 0,25$	$10,29 \pm 0,35$
Durchgänge	$2,47 \pm 0,31$	$2,13 \pm 0,35$	$2,57 \pm 0,42$	$2,43 \pm 0,42$
Interferenz	$8,53 \pm 0,92$	$8,33 \pm 0,82$	$7,93 \pm 0,84$	$7,43 \pm 0,82$
Abruf	$6,67 \pm 0,67$	$5,93 \pm 0,50$	$6,14 \pm 0,39$	$5,07 \pm 0,45$

Die Darbietung des Geruchs hatte keinerlei Auswirkungen auf die Schlafarchitektur. Es konnten keine signifikanten Unterschiede zwischen der Bedingung Geruch vs. Trägerstoff festgestellt werden (Geruch vs. Trägerstoff und Geruch vs. Trägerstoff \times Physostigmin vs. Placebo: alle $p > 0,380$). In der prozentualen Wachzeit während der Gesamtschlafdauer und den Schlafstadien S1 und S2 konnte kein signifikanter Unterschied zwischen den Gruppen Physostigmin vs. Placebo beobachtet werden (alle $p > 0,240$). Auch gab es keinen signifikanten Unterschied zwischen den Gruppen Physostigmin vs. Placebo und den Bedingungen Geruch vs. Trägerstoff in der anamnestisch erhobenen Schlafdauer in der Nacht vor den Versuchen (alle $p > 0,170$) (siehe Tab. 2).

3.3 Geruchsstimulationen

Es gab keine Unterschiede in der Anzahl der Geruch- oder Trägerstoff-Stimulationen während des SWS zwischen den Gruppen Physostigmin vs. Placebo und den Bedingungen Geruch vs. Trägerstoff (alle $p > 0,120$; Mittelwert \pm Standardfehler der Anzahl der Stimulationen: Physostigmin-Gruppe: Anzahl Geruchsstimulationen $21,27 \pm 0,32$, Anzahl Trägerstoffstimulationen $20,53 \pm 0,73$ vs. Placebo-Gruppe: Anzahl Geruchsstimulationen $22,36 \pm 0,79$, Anzahl Trägerstoffstimulationen $20,86 \pm 0,73$) (siehe Tab. 2). Insgesamt gab es unter der Bedingung Geruch $21,79 \pm 0,42$, unter der Bedingung Trägerstoff $20,69 \pm 0,51$ Stimulationen.

Tabelle 2: Schlafdauer. Schlafdauer: Gesamte Schlafdauer in Minuten. S1-S4: Schlafstadien S1-S4 als relativer Anteil der Gesamtschlafdauer in Prozent. Wach: Zeit des Wachzustandes nach Beginn der Schlafphase als relativer Anteil der Gesamtschlafzeit. Stimulationen: Anzahl der Stimulationen mit Geruch oder mit dem geruchsneutralen Trägerstoff. Die Physostigmin-Gruppe verbrachte dabei signifikant mehr Zeit in S3 (* $p = 0,012$). Weitere signifikante Ergebnisse gab es hierbei nicht.

Gruppen:	Physostigmin		Placebo	
	Geruch	Trägerstoff	Geruch	Trägerstoff
Schlafdauer (min)	46,93 \pm 2,95	46,17 \pm 2,56	47,32 \pm 3,35	43,68 \pm 3,73
S1 (%)	5,21 \pm 1,15	5,57 \pm 1,28	5,82 \pm 0,90	5,46 \pm 0,70
S2 (%)	41,37 \pm 3,15	41,21 \pm 2,23	46,32 \pm 2,66	44,20 \pm 3,19
S3 (%)*	39,71 \pm 3,42	39,81 \pm 3,69	27,36 \pm 3,18	30,44 \pm 2,93
S4 (%)	10,79 \pm 3,58	11,39 \pm 2,95	19,60 \pm 3,55	18,12 \pm 4,51
Wach (%)	2,75 \pm 1,74	1,90 \pm 1,77	0,86 \pm 0,42	1,53 \pm 1,06
Stimulationen (Anzahl)	21,27 \pm 0,32	20,53 \pm 0,73	22,36 \pm 0,79	20,86 \pm 0,73

3.4 Geruchserkennungstest

Die Genauigkeitsrate im Geruchserkennungstest war sehr hoch, es wurden durchschnittlich 95 % der Teststimulationen korrekt der Bedingung Geruch oder geruchsneutraler Trägerstoff zugeordnet. Dabei wurde unter der Bedingung Geruch der Geruch auf der Skala von 0 („gar nicht“) bis 9 („sehr“) zu Mittelwert \pm Standardfehler $5,50 \pm 4,52$ als vertraut, zu $3,72 \pm 4,46$ als erregend, zu $6,00 \pm 2,67$ als intensiv und zu $4,62 \pm 4,53$ als stechend beschrieben. Unter der Bedingung „geruchsneutraler Trägerstoff“ wurde der Geruch auf der Skala von 0 („gar nicht“) bis 9 („sehr“) zu Mittelwert \pm Standardfehler $5,64 \pm 4,33$ als vertraut, zu $3,38 \pm 4,30$ als erregend, zu $6,03 \pm 2,66$ als intensiv und zu $4,52 \pm 4,13$ als stechend beschrieben.

3.5 Herzfrequenz

Die Herzfrequenz wurde zu fünf definierten Zeitpunkten gemessen (vor dem Lernen gegen 22:00 Uhr, vor dem Schlafen gegen 23:15 Uhr, direkt nach dem Erwachen gegen 00:00 Uhr, nach der Interferenz-Aufgabe gegen 02:15 Uhr und nach dem Abruf gegen 03:00 Uhr). Dabei gab es keine signifikanten Unterschiede zwischen der Physostigmin vs. Placebo-Gruppe ($p = 0,516$; Mittelwert \pm Standardfehler der Herzfrequenz: Physostigmin-Gruppe $59,58 \pm 1,96/\text{min}$ vs. Placebo-Gruppe $63,54 \pm 2,03/\text{min}$) und den Bedingungen Geruch vs. Trägerstoff ($p = 0,576$; Mittelwert \pm Standardfehler der Herzfrequenz: Bedingung Geruch $62,13 \pm 1,53/\text{min}$ vs. Bedingung Trägerstoff $60,99 \pm 1,41/\text{min}$).

Insgesamt lag die mittlere Herzfrequenz bei $61,56 \pm 1,41/\text{min}$ mit einem Minimum bei $37/\text{min}$ und einem Maximum bei $95/\text{min}$ (Mittelwert \pm Standardfehler der Herzfrequenz: Physostigmin-Gruppe mit Geruch $60,03 \pm 2,12/\text{min}$, Physostigmin-Gruppe ohne Geruch $59,13 \pm 1,97/\text{min}$; Placebo-Gruppe mit Geruch $64,23 \pm 2,20/\text{min}$, Placebo-Gruppe ohne Geruch $62,84 \pm 2,03/\text{min}$).

Zeitlich gesehen war jedoch in der Physostigmin-Gruppe die mittlere Herzfrequenz zu Beginn der Experimentalnächte signifikant niedriger als in der Placebo-Gruppe (Physostigmin vs. Placebo \times Zeit $p < 0,003$; $\eta^2 = 0,18$) (siehe Tab. 3).

Tabelle 3: Herzfrequenz. Die Herzfrequenz (Herzschläge/min) wurde zu definierten Zeitpunkten gemessen. Dabei galt Zeitpunkt 1: vor dem Lernen, Zeitpunkt 2: vor dem Schlafen, Zeitpunkt 3: direkt nach dem Erwachen, Zeitpunkt 4: nach der Interferenz-Aufgabe und Zeitpunkt 5: nach dem letzten Abruf. Hierbei fällt auf, dass die mittlere Herzfrequenz zu Beginn der Experimentalnächte in der Physostigmin-Gruppe signifikant niedriger war als in der Placebo-Gruppe (Physostigmin vs. Placebo \times Zeit $p < 0,003$; $\eta^2 = 0,1$).

Zeitpunkt	Physostigmin	Placebo
1 (ca. 22:00 Uhr)	60,70 \pm 2,23	69,07 \pm 2,31
2 (ca. 23:15 Uhr)	58,50 \pm 2,05	64,64 \pm 2,37
3 (ca. 00:00 Uhr)	62,23 \pm 2,29	64,00 \pm 2,37
4 (ca. 02:15 Uhr)	57,40 \pm 2,08	61,68 \pm 2,15
5 (ca. 03:00 Uhr)	59,07 \pm 2,16	58,29 \pm 2,24

3.6 Blutdruck

Bezüglich der Blutdruckwerte gab es weder signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen Physostigmin vs. Placebo (Mittelwert \pm Standardfehler des Blutdrucks: diastolischer Blutdruck in der Physostigmin-Gruppe 74,10 \pm 1,78 mmHg, in der Placebo-Gruppe 71,79 \pm 1,85 mmHg; systolischer Blutdruck in der Physostigmin-Gruppe 126,19 \pm 1,69 mmHg, in der Placebo-Gruppe 121,14 \pm 1,75 mmHg) noch zwischen den Bedingungen Geruch vs. Trägerstoff (Mittelwert \pm Standardfehler des Blutdrucks: diastolischer Blutdruck unter der Bedingung Geruch 72,80 \pm 1,24 mmHg, unter der Bedingung Trägerstoff 73,09 \pm 1,60 mmHg; systolischer Blutdruck: unter der Bedingung Geruch 124,10 \pm 1,49 mmHg, unter der Bedingung Trägerstoff 123,23 \pm 1,16 mmHg). Dabei waren alle $p > 0,144$.

Jedoch veränderte sich der systolische Blutdruck signifikant mit der Zeit ($p = 0,009$) zu den definierten Messzeitpunkten vor dem Lernen gegen 22:00 Uhr, vor dem Schlafen gegen 23:15 Uhr, direkt nach dem Erwachen gegen 00:00 Uhr, nach der Interferenz-Aufgabe gegen 02:15 Uhr und nach dem

Abruf gegen 03:00 Uhr (siehe Tab. 4). Der diastolische Blutdruck unterliegt hierbei keinen signifikanten Änderungen ($p = 0,204$) bezüglich der verschiedenen Messzeitpunkten (siehe Tab. 4).

Tabelle 4: Blutdruck. Der diastolische und systolische Blutdruck wurde zu definierten Zeitpunkten gemessen. Dabei galt Zeitpunkt 1: vor dem Lernen, Zeitpunkt 2: vor dem Schlafen, Zeitpunkt 3: direkt nach dem Erwachen, Zeitpunkt 4: nach der Interferenz-Aufgabe und Zeitpunkt 5: nach dem letzten Abruf. Hierbei fällt auf, dass der systolische Blutdruck sich signifikant mit der Zeit ändert ($p = 0,009$), der diastolische Blutdruck nicht ($p = 0,204$).

Zeitpunkt	Systolischer Blutdruck	Diastolischer Blutdruck
1 (ca. 22:00 Uhr)	125,65 ± 1,40	74,58 ± 1,43
2 (ca. 23:15 Uhr)	125,70 ± 1,46	73,70 ± 1,35
3 (ca. 00:00 Uhr)	123,00 ± 1,47	71,26 ± 1,69
4 (ca. 02:15 Uhr)	122,00 ± 1,36	72,58 ± 1,35
5 (ca. 03:00 Uhr)	122,00 ± 1,45	72,61 ± 1,57

Insgesamt lag der mittlere Blutdruck in der Diastole bei $72,94 \pm 1,28$ mmHg und in der Systole bei $123,67 \pm 1,22$ mmHg. Das diastolische Minimum war bei 51 mmHg, das diastolische Maximum bei 96 mmHg (Mittelwert ± Standardfehler des diastolischen Blutdrucks in der Physostigmin-Gruppe: mit Geruch $73,60 \pm 1,73$ mmHg, ohne Geruch $74,60 \pm 2,22$ mmHg; diastolischer Blutdruck in der Placebo-Gruppe mit Geruch $72,00 \pm 1,79$ mmHg, ohne Geruch $71,57 \pm 2,30$ mmHg).

Das systolische Minimum lag bei 96 mmHg, das systolische Maximum bei 144 mmHg (Mittelwert ± Standardfehler des systolischen Blutdrucks in der Physostigmin-Gruppe mit Geruch $127,08 \pm 2,07$ mmHg, ohne Geruch $125,29 \pm 1,61$ mmHg; systolischer Blutdruck in der Placebo-Gruppe mit Geruch $121,11 \pm 2,14$ mmHg, ohne Geruch $121,17 \pm 1,67$ mmHg).

3.7 Blutzucker

Es gab signifikante Blutzucker-Unterschiede zwischen der Physostigmin- und der Placebo-Gruppe ($p = 0,030$; Mittelwert \pm Standardfehler des Blutzuckers in der Physostigmin-Gruppe $94,95 \pm 2,60$ mg/dl vs. Placebo-Gruppe $86,00 \pm 2,83$ mg/dl). Zwischen den Bedingungen Geruch und geruchsneutraler Trägerstoff gab es keine signifikanten Unterschiede in den Blutzuckerwerten ($p = 0,140$; Mittelwert \pm Standardfehler des Blutzuckers unter der Geruchsbedingung $90,00 \pm 2,24$ mg/dl vs. Trägerstoffbedingung $88,94 \pm 2,10$ mg/dl). Zwischen den Blutzuckerwerten bezüglich der Messzeit gab es keine signifikanten Unterschiede ($p = 0,244$). Insgesamt lag der mittlere Blutzuckerwert bei $90,47 \pm 1,92$ mg/dl mit einem Minimum bei 45 mg/dl und einem Maximum bei 161 mg/dl (Mittelwert \pm Standardfehler des Blutzuckers in der Physostigmin-Gruppe mit Geruch $97,91 \pm 3,03$ mg/dl, ohne Geruch $91,99 \pm 2,84$ mg/dl vs. Blutzucker in der Placebo-Gruppe mit Geruch $86,09 \pm 3,29$ mg/dl, ohne Geruch $85,90 \pm 3,08$ mg/dl).

3.8 Vigilanztest

Bezüglich der Reaktionszeit im Vigilanztest gab es zwischen den Gruppen Physostigmin vs. Placebo und den Bedingungen Geruch vs. Trägerstoff keine signifikanten Unterschiede in der Reaktionszeit (alle $p > 0,108$). Die Reaktionszeit der Probanden lag bei $357,38 \pm 8,14$ msec (Mittelwert \pm Standardfehler), dabei war die Reaktionszeit in der Physostigmin-Gruppe $358,75 \pm 11,31$ msec mit einem Minimum bei 289,99 msec und einem Maximum bei 516,58 msec. Die Reaktionszeit in der Placebo-Gruppe war $356,00 \pm 11,70$ msec mit einem Minimum bei 284,75 msec und einem Maximum bei 436,50 msec. Die Reaktionszeit unter der Bedingung Geruch lag bei $353,44 \pm 9,20$ msec mit einem Minimum bei 290,83 msec und einem Maximum bei 477,05 msec. Die Reaktionszeit unter der Bedingung Trägerstoff lag bei $361,31 \pm 7,68$ msec mit einem Minimum bei 284,75 msec und einem Maximum bei 482,55 msec.

3.9 Stanford Schläfrigkeitsskala

Bei der Stanford Schläfrigkeitsskala gab es keine signifikanten Unterschiede

bezüglich der Gruppen Physostigmin vs. Placebo ($p = 0,567$; Mittelwert \pm Standardfehler der Müdigkeit auf einer Skala von eins bis sieben: Physostigmin-Gruppe $3,667 \pm 0,229$ vs. Placebo-Gruppe $3,857 \pm 0,237$) und den Bedingungen Geruch vs. Trägerstoff ($p = 0,555$; Bedingung Geruch $3,717 \pm 0,174$ vs. Bedingung Trägerstoff $3,806 \pm 0,187$). Es wurde im Mittel die Müdigkeitsstufe $3,762 \pm 0,164$, mit einem Minimum bei 1 und einem Maximum bei 7 (Mittelwert \pm Standardfehler der Müdigkeit auf einer Skala von eins bis sieben in der Physostigmin-Gruppe mit Geruch $3,578 \pm 0,241$, ohne Geruch $3,756 \pm 0,260$; in der Placebo-Gruppe mit Geruch $3,857 \pm 0,250$, ohne Geruch $3,857 \pm 0,269$) angegeben.

Wie erwartet gab es in Bezug auf den Zeitpunkt der Messungen signifikante Unterschiede der Müdigkeit zu den drei Messzeitpunkten ($p < 0,001$) unabhängig von den Gruppen Physostigmin vs. Placebo und den Bedingungen Geruch vs. Trägerstoff. Dabei galt als Messzeitpunkt 1: vor der ersten Gedächtnisaufgabe um ca. 22:00 Uhr, Zeitpunkt 2: nach der Interferenz-Aufgabe um ca. 02:15 Uhr und Zeitpunkt 3: nach dem letzten Abruf um ca. 03:00 Uhr. Die subjektive Müdigkeit war demnach zum Zeitpunkt 1 zwischen der Beschreibung für 2 Punkte: „Ich funktioniere sehr gut, aber nicht mit Spitzenleistung; ich kann mich konzentrieren“ und der Beschreibung für 3 Punkte: „Ich bin wach, aber entspannt; ich kann reagieren, bin aber nicht voll aufmerksam“. Nach der Interferenz-Aufgabe und dem Abruf schätzen die Probanden ihre Müdigkeit deutlich schwerwiegender ein, sie befanden sich zwischen der Beschreibung für 4 Punkte: „Ich bin etwas müde, fühle mich schlapp“ und der Beschreibung für 5 Punkte: „Ich fühle mich müde und verlangsamt; ich habe keine Lust mehr wach zu bleiben“ (siehe Tab. 5).

3.10 Multidimensionaler Befindlichkeitsfragebogen

Im Multidimensionalen Befindlichkeitsfragebogen konnten keine signifikanten Unterschiede bezüglich der Stimmung in den drei Untergruppen Gute/Schlechte Stimmung, Wachheit/Müdigkeit, Ruhe/Unruhe zwischen den Gruppen Physostigmin vs. Placebo und den Bedingungen Geruch vs. Trägerstoff gezeigt werden (alle $p > 1$ nach Bonferroni-Korrektur).

Tabelle 5: Stanford Schläfrigkeitsskala. Zu den verschiedenen Messzeitpunkten nahm die subjektiv empfundene Müdigkeit der Probanden erwartungsgemäß deutlich zu.

Zeitpunkt	Grad der Schläfrigkeit
1 (ca. 22:00 Uhr)	2,696 ± 0,141
2 (ca. 02:15 Uhr)	4,036 ± 0,227
3 (ca. 03:00 Uhr)	4,554 ± 0,222

Deutliche Unterschiede zeigten sich in der Stimmung zu den verschiedenen Testzeitpunkten in den drei Untergruppen Gute/Schlechte Stimmung, Wachheit/Müdigkeit, Ruhe/Unruhe (alle $p < 0,006$ nach Bonferroni-Korrektur). In jeder Kategorie gab es im Laufe der Experimentalnächte eine signifikante Abnahme der positiven Befindlichkeit zugunsten der negativen Befindlichkeit. Die in der Tab. 6 dargestellten Mittelwerte und Standardfehler zeigen die Verteilung der Werte in allen drei Kategorien. Die Antwortskala reicht dabei in jeder Kategorie von 4 Punkte: „Im Moment fühle ich mich überhaupt nicht“ bis 20 Punkte: „Im Moment fühle ich mich sehr“. Gemessen wurde zu drei definierten Zeitpunkten: vor der ersten Gedächtnisaufgabe um ca. 22:00 Uhr, nach der Interferenz-Aufgabe um ca. 02:15 Uhr, nach dem letzten Abruf um ca. 03:00 Uhr (siehe Tab. 6).

3.11 Regensburger Wortflüssigkeits-Test

Beim Regensburger Wortflüssigkeits-Test gab es keine signifikanten Unterschiede bezüglich der Gruppen Physostigmin vs. Placebo ($p = 0,804$; Mittelwert ± Standardfehler der Anzahl der korrekt aufgeschriebenen Worte in der Physostigmin-Gruppe $19,13 \pm 0,92$ vs. Placebo-Gruppe $19,46 \pm 0,95$) und der Bedingungen Geruch vs. Trägerstoff ($p = 0,44$; Mittelwert ± Standardfehler der Anzahl der korrekt aufgeschriebenen Worte unter der Bedingung Geruch $19,75 \pm 0,70$ vs. Bedingung Trägerstoff $18,84 \pm 0,69$). Es wurden im Mittel innerhalb von

2 min $19,30 \pm 0,66$ Worte notiert, mit einem Minimum bei 5 und einem Maximum bei 32 Worten (Mittelwert \pm Standardfehler in der Physostigmin-Gruppe mit Geruch $19,91 \pm 9,76$, ohne Geruch $18,36 \pm 0,95$; in der Placebo-Gruppe mit Geruch $19,60 \pm 1,01$, ohne Geruch $19,33 \pm 0,99$).

Tabelle 6: Multidimensionaler Befindlichkeitsfragebogen. Bezüglich der Zeit nahm die positive Befindlichkeit der Probanden in allen drei Kategorien deutlich ab. * mit der Zeit signifikante Abnahme der Stimmung.

Kategorie	Zeitpunkt 1 ca. 22:00 Uhr	Zeitpunkt 2 ca. 02:15 Uhr	Zeitpunkt 3 ca. 03:00 Uhr
Gute/Schlechte Stimmung*	$17,15 \pm 0,33$	$16,32 \pm 0,46$	$15,92 \pm 0,42$
Ruhe/Unruhe*	$16,64 \pm 0,39$	$15,55 \pm 0,51$	$14,96 \pm 0,43$
Wachheit/Müdigkeit*	$12,92 \pm 0,38$	$9,41 \pm 0,59$	$8,57 \pm 0,53$

3.12 Symptom-Rating-Skala

Bei der Symptom-Rating-Skala gab es keine signifikanten Unterschiede bezüglich den Gruppen Physostigmin vs. Placebo und den Bedingungen Geruch vs. Trägerstoff (alle $p > 0,189$). Jedoch fanden sich auch hier signifikante Unterschiede bezüglich des Messzeitpunktes bei den Symptomen 10 „Konzentrationsfähigkeit“, 19 „Müdigkeit“, 26 „Aktivität“ und 27 „Völlegefühl“ (alle $p < 0,027$).

3.13 Cortisol-Spiegel

Es gab keine signifikanten Unterschiede im Cortisolspiegel zwischen den Gruppen Physostigmin vs. Placebo und den Bedingungen Geruch vs. Trägerstoff (alle $p > 0,160$). Lediglich bezüglich der Zeit gab es signifikante Veränderungen des Cortisolspiegels ($p = 0,001$). Dabei war bei der ersten Messung gegen 23:15 Uhr der Mittelwert \pm Standardfehler bei $76,49 \pm 8,11$ nmol/l, bei der zwei-

ten Messung gegen 00:00 Uhr bei $44,27 \pm 3,87$ nmol/l und bei der dritten Messung gegen 02:15 Uhr bei $108,37 \pm 16,58$ nmol/l.

4 Diskussion

In meiner Arbeit habe ich den Zusammenhang zwischen der synaptischen Verfügbarkeit des Neurotransmitters Acetylcholin und der geruchsinduzierten Gedächtnisreaktivierung untersucht. Es wurde angenommen, dass eine niedrige Acetylcholin-Konzentration entscheidend für die extern getriggerte Gedächtnisreaktivierung durch einen olfaktorischen Reiz ist, ganz so wie bei der spontanen Gedächtnisreaktivierung.

Im Gegensatz zu unserer Arbeitshypothese unterdrückte eine medikamentös erzeugte hohe Verfügbarkeit von Acetylcholin während des SWS die Effekte der geruchsinduzierten Gedächtnisreaktivierung nicht. Es wird vermutet, dass speziell der Neurotransmitter Acetylcholin (ACh) eine tragende Rolle im Dialog zwischen Hippocampus und Neocortex bei der Gedächtniskonsolidierung im SWS (Hasselmo 1999) spielt. Im Tiefschlaf ist der Acetylcholin-Spiegel am niedrigsten, hierbei kommt es zum Informationsfluss vom Hippocampus in den Neocortex (Buzsáki 1996) und zur Bildung zusätzlicher assoziativer Gedächtnis Spuren im Hippocampus selbst sowie zwischen Hippocampus und Neocortex (Hasselmo 1999). Auch Gais & Born konnten 2004 die Bedeutung eines niedrigen Acetylcholin-Spiegels im Schlaf für die spontane hippocampusabhängige Gedächtniskonsolidierung zeigen (Gais & Born 2004). Daraus entstand die Vermutung, dass ein erhöhtes Acetylcholinlevel im SWS zur Hemmung von hippocampalen Feedbacksynapsen führt (Born et al. 2006) und damit zu einer schlechteren Konsolidierung des deklarativen Gedächtnisses. Des Weiteren ist bekannt, dass Gedächtnisinhalte nicht nur spontan, sondern auch durch externe Reize getriggert werden können (Diekelmann et al. 2012; Rasch et al. 2007). Dabei kommt es sowohl zu einer schnelleren und besseren Konsolidierung als auch zu einem stabileren Zustand in Bezug auf Interferenz und zu einem besseren Abruf im Vergleich zu der spontanen Gedächtnisreaktivierung (Diekelmann et al. 2012; Diekelmann et al. 2011; Rasch et al. 2007). In der Studie von Bendor & Wilson (2012) wurden zur externen Stimulation auditorische Reize verwendet. Es konnte bei Ratten eine durch auditorische Stimulation gehäufte Reaktivierung im Hippocampus gezeigt werden (Bendor & Wilson 2012). All diese Informationen ließen die Schlussfolgerung zu, dass der positive Effekt der

geruchsinduzierten Gedächtnisreaktivierung während des SWS auf ähnlichen Mechanismen wie die spontane Gedächtnisreaktivierung beruht. Das bedeutet, dass es auch bei der extern getriggerten Gedächtnisreaktivierung zu einem Informationsfluss vom Hippocampus zum Neocortex kommen muss, welcher ebenso von einer niedrigen AcetylcholinKonzentration abhängt. Infolgedessen würde ein hoher Acetylcholinspiegel während des SWS den positiven Effekt der extern getriggerten Gedächtnisreaktivierung außer Kraft setzen. Jedoch zeigen die Ergebnisse der vorliegenden Studie, dass die geruchsinduzierte Gedächtnisreaktivierung unabhängig von der Gabe des Acetylcholinesterase-Hemmers eine signifikant bessere Lernleistung hervorbrachte als die spontane Gedächtnisreaktivierung. Dies deutet darauf hin, dass die extern getriggerte Gedächtnisreaktivierung unter Umständen nicht auf einer Umkehr des Informationsflusses vom Hippocampus zurück zum Neocortex beruht.

Drei alternative Modelle, wie die reizinduzierte Gedächtnisreaktivierung die Gedächtnisleistung unabhängig von dem Informationsfluss zwischen Hippocampus und Neocortex positiv beeinflussen kann, sollen hier diskutiert werden. Ein mögliches Modell ist die Gedächtnisreaktivierung nur innerhalb des Hippocampus. Dabei führt die geruchsgesteuerte Gedächtnisreaktivierung zu einer Stärkung der assoziativen Bahnen innerhalb des Hippocampus, ganz ohne Beteiligung des Neocortex. Dieses Modell wird von der Studie von Zelano & Sobel (2005) gestützt. Darin wurde gezeigt, dass olfaktorische Informationen direkt mit dem Hippocampus verknüpft werden können. Das führt möglicherweise speziell bei lernassoziierten olfaktorischen Reizen zu einer unmittelbaren Reaktivierung im Hippocampus und somit zu einer neuronalen Verstärkung ohne Beteiligung des Neocortex. Unterstützt wurde diese Theorie 2007 durch die fMRT-Studie von Rasch et al.. In dieser Studie wurde ein mit derselben Gedächtnisaufgabe wie in der vorliegenden Studie assoziierter Geruch verwendet. Während der erneuten Darbietung des lernassoziierten Geruches im SWS kam es im Vergleich zum Wachzustand zu einer verstärkten hippocampalen Aktivierung (Rasch et al. 2007). Dies zeigt eine Beteiligung des Hippocampus an der verbesserten Gedächtnisreaktivierung ausgelöst durch einen olfaktorischen Reiz.

Ein weiteres mögliches Modell beschreibt die Gedächtnisreaktivierung lediglich

innerhalb des Neocortex. Dabei führt die geruchsgesteuerte Gedächtnisreaktivierung zu einer Ausbildung von Gedächtnisnetzwerken im Neocortex, ganz ohne Beteiligung des Hippocampus. Zwar werden olfaktorische Informationen bevorzugt direkt mit dem Hippocampus verknüpft, allerdings konnte auch eine Beteiligung verschiedener neocorticaler Areale in der Verarbeitung dieser Informationen gezeigt werden (Royet & Plailly 2004). Es ist bekannt, dass die Langzeitspeicherung von mit einem Geruch assoziierten Gedächtnisinhalten im piriformen (olfaktorischen) Cortex von einer höheren cholinergen Konzentration profitiert (Patil et al. 1998). In einer aktuellen fMRT-Studie konnte zusätzlich gezeigt werden, dass neocorticale Areale schon nach wenigen Lernwiederholungen einer räumlichen Aufgabe die Rolle des Langzeitspeichers übernehmen (Brodt et al. 2016). Aus diesen Studien erfolgt die Annahme, dass die geruchsassoziierte Gedächtnisaufgabe aus der vorliegenden Studie insoweit von der neocorticalen Konsolidierung im Schlaf profitiert, sodass die verbesserte Leistung ohne Unterstützung von Seiten des Hippocampus erfolgen kann. Inwieweit dabei das hier verwendete spezifische Studiendesign mit der räumlichen Gedächtnisaufgabe eine tragende Rolle spielt, muss in weiteren Studien untersucht werden.

Diese zwei auf den ersten Blick konträr wirkenden Modelle können auch parallel existieren. So kann beispielsweise der lernassoziierte Geruch die Reaktivierung in beiden Arealen unabhängig voneinander auslösen, was die Ergebnisse einer weiteren fMRT-Studie möglicherweise unterstreichen würde. Hierbei konnte gezeigt werden, dass es bei der olfaktorischen Reaktivierung der Inhalte einer ähnlichen wie der hier verwendeten Gedächtnisaufgabe zur verstärkten metabolischen Aktivität sowohl im Hippocampus als auch im Neocortex kommt (Diekelmann et al. 2011). In dieser Bildgebung war es nicht möglich zwischen einer Reaktivierung beider Areale aufgrund eines Informationsflusses vom Hippocampus zu Neocortex und einer Aktivierung beider Areale unabhängig voneinander zu unterscheiden.

Um diese drei Schemata genauer zu beschreiben und voneinander abgrenzen zu können, sind weitere Studien notwendig. Es ist wichtig eindeutig differenzieren zu können, ob die Reaktivierung von Gedächtnisinhalten durch einen lern-

assoziierten Geruch im Hippocampus, im Neocortex oder in beiden Strukturen simultan oder voneinander unabhängig abläuft. Um dieser Erkenntnis einen Schritt näher zu kommen, könnten weitere Bildgebungsstudien, beispielsweise mithilfe einer Positronenemissionstomographie, von Nutzen sein. Hierbei kann das Aktivierungsmuster in den verschiedenen Hirnarealen während der Präsentation des lernassoziierten Geruchs im SWS bei hoher und niedriger Acetylcholin-Konzentration zu verschiedenen Zeitpunkten bildlich dargestellt werden.

Auffällig an der vorliegenden Studie ist, dass in der Physostigmin-Gruppe der Unterschied in der Gedächtnisleistung zwischen der Geruchs- und der Trägerstoffbedingung geringer ausfiel als in der Placebo-Gruppe. Obwohl der Unterschied nicht signifikant war, war er doch von mittlerer Effektstärke ($d = 0,27$). Die Differenz in der Leistung zwischen beiden Gruppen unterschied sich dabei bei der Bedingung Geruch nur unwesentlich, was eine Wechselwirkung durch den Geruch ausschloss. Dies könnte ein Hinweis darauf sein, dass es doch einen Einfluss des Acetylcholinlevels auf die extern getriggerte Gedächtnisreaktivierung gibt. Daher sollte man in zukünftigen Studien mit einer höheren Dosis des Acetylcholinesterase-Hemmers Physostigmin arbeiten. Zusätzlich sollten mehr Probanden an der Studie teilnehmen um eine größere statistische Power zu erlangen.

In der Überwachung der Herzfrequenz zeigte sich wider Erwarten in der Physostigmin-Gruppe eine signifikant niedrigere Herzfrequenz zu Beginn der Experimentalnächte. Eine geringere Herzfrequenz aufgrund der unerwünschten Arzneimittelwirkung des Physostigmis kann zu diesem Zeitpunkt der Experimentalnächte ausgeschlossen werden, da noch kein Physostigmin verabreicht wurde. Eine beruhigende Wirkung des Versuchsleiters speziell auf die Probanden der Physostigmin-Gruppe mit daraus folgender innerer Ruhe und Abnahme der Herzfrequenz kann durch den doppelblinden Versuchsaufbau ebenfalls ausgeschlossen werden. Vermutlich handelt es sich hierbei um eine zufällig aufgetretene Schwankung. Da sich jeder Proband zu jedem Zeitpunkt in einem individuell angepassten normofrequenten Ruhepulsbereich befand, bleibt diese Auffälligkeit für den Versuchsablauf und die Ergebnisse mit hoher Wahrscheinlichkeit

folgenlos.

Es zeigten sich ebenfalls signifikante Unterschiede der systolischen Blutdruckwerte zu den verschiedenen Messzeitpunkten, wobei es im Laufe der Experimentalnächte zu einem Abfall der Blutdruckwerte kam. Dies ist bei zunehmender Müdigkeit physiologisch und war demnach vorauszusehen. Da sich alle Blutdruckwerte zu jedem Zeitpunkt in den individuell physiologischen Normen befanden, sind Auswirkungen auf die Gedächtnisleistungen nicht zu erwarten.

Im multidimensionalen Befindlichkeitsfragebogen zeigten sich keinerlei Unterschiede bezüglich der Bedingungen oder der Gruppenzugehörigkeit. Das zeigt, dass es keine relevanten Unterschiede in der Befindlichkeit gab und somit die Gedächtnisleistungen zwischen den Gruppen Physostigmin vs. Placebo und den Bedingungen Geruch vs. Trägerstoff vergleichbar waren. Wie erwartet nahm die Befindlichkeit im Laufe der Experimentalnächte signifikant ab, was sich alleine durch die zunehmende Müdigkeit nach der nur kurzen Schlafphase erklären lässt. Auch in der Stanford Schläfrigkeitsskala gab es keine signifikanten Unterschiede bezüglich der Gruppen Physostigmin vs. Placebo oder der Bedingungen Geruch vs. Trägerstoff. Das zeigt, dass die Müdigkeit zwischen allen Probanden vergleichbar war und somit keinen relevanten Einfluss auf die Unterschiede der Gedächtnisleistung nehmen kann. Dabei nahm, wie erwartet, die subjektive Müdigkeit bei allen Probanden im Laufe der Experimentalnächte deutlich zu. Bei der Symptom-Rating-Skala gab es keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen Physostigmin und Placebo, was das unbeobachtete Auftreten von Nebenwirkungen oder unerwünschten Arzneimittelwirkungen ausschloß. Die signifikanten Veränderungen bei einzelnen Symptomen unabhängig der Gruppen- und Bedingung-Zuteilung lässt sich mit der erheblichen Zunahme der Müdigkeit der einzelnen Probanden erklären.

Die signifikant unterschiedlichen Messergebnisse des Cortisolspiegels bezüglich des Messzeitpunktes sind mit dem physiologischen zirkadianen Rhythmus der Cortisol-Ausschüttung zu vereinbaren.

Ein genereller Kritikpunkt an wohlkontrollierten und daher eher artifiziellen Gedächtnisaufgaben ist, dass sie sich oft nicht unmittelbar auf komplexe Gedäch-

nisleistungen in natürlichen Situationen außerhalb des Labors übertragen lassen.

Um ein vollständigeres Bild der Effekte synaptischer Acetylcholinverfügbarkeit auf deklarative Gedächtnisprozesse zu erhalten, sollten weitere Studien mit verschiedenen deklarativen Gedächtnisaufgaben durchgeführt werden.

Die 40-minütige Schlafdauer dieser Studie wurde bewusst gewählt, um die Wirkung des lernassoziierten Geruchs auf die Gedächtniskonsolidierung von der spontanen Gedächtniskonsolidierung zu trennen. Vermutlich existiert auch während diesem kurzen Schlafintervall ein gewisses Maß an spontaner Reaktivierung, jedoch scheint dieser Effekt im Vergleich zum Effekt der Geruchsstimulation eher gering zu sein. Diese Annahme beruht auf einer Studie, bei der gezeigt wurde, dass ein Schlafintervall von 40 Minuten nur dann einen positiven Nutzen auf die Gedächtniskonsolidierung hat, wenn die Reaktivierung durch einen olfaktorischen Reiz extern getriggert wird (Diekelmann et al. 2012; Diekelmann et al. 2011). In der Studie von Gais & Born (2004) konnte im Gegensatz zu der vorliegenden Studie gezeigt werden, dass eine hohe AcetylcholinKonzentration im SWS die Konsolidierung von deklarativem Wissen zuvor gelernter Wortpaare vermindert. Jedoch schliefen die Probanden bei der Studie von Gais & Born deutlich länger (3 Stunden im Vergleich zu 40 Minuten), wodurch der spontanen Gedächtniskonsolidierung ein viel höherer Stellenwert zukommt.

Die Wirkstoffkonzentration aus der vorliegenden Studie scheint physiologisch aktiv gewesen zu sein. Das ist eindeutig an der Schlafarchitektur mit einer Verschiebung hin zu den leichteren Schlafstadien zu erkennen, ein Phänomen, das bereits Gais & Born (2004) beschrieben hatten. Es ist bekannt, dass die lipophilen Eigenschaften und die höhere Affinität des Physostigmins zu dem zentralvenös beherbergten Enzym Acetylcholinesterase dazu führt, dass schon geringere Dosen zur Erzielung eines Effektes ausreichend sind (Köhler Chemie GmbH 2011). Für eine korrekt beschriebene Dosis-Wirkungs-Beziehung des Acetylcholins auf die Gedächtniskonsolidierung im SWS bedarf es weiterer Untersuchungen.

Zukünftige Studien mit identischen Rahmenvoraussetzungen sollten die Gedächtnisleistungen in Bezug auf unterschiedliche Wirkstoffmengen des Acetylcholinesterase-Hemmers Physostigmin untersuchen und die Ergebnisse mit EEG Veränderungen im SWS vergleichen. Möglicherweise treten Veränderungen in der Schlafarchitektur bereits auf bevor eine Wirkung des veränderten Acetylcholin-Spiegels auf die Gedächtniskonsolidierung gemessen werden kann.

Zusammenfassend lässt die Interpretation der Studienergebnisse die Vermutung zu, dass eine niedrige Acetylcholinkonzentration bei der geruchsinduzierten Reaktivierung von räumlichen Gedächtnisinhalten keine Rolle spielt oder diese Rolle in ihrer Effektgröße unter der liegt, die in der vorliegenden Studiengröße erkennbar ist. Um diese Interpretation zu festigen, müssten weitere Studien mit einem deutlich größeren Probandenkollektiv gewählt werden. So könnte gegebenenfalls auch eine geringe Wirkung des Physostigmins auf die Gedächtnisreaktivierung gemessen werden.

5 Zusammenfassung

Viele Studien haben gezeigt, dass der Schlaf die Bildung von deklarativem Gedächtnis fördert. Dieser Prozess der Gedächtnisbildung kann spontan erfolgen oder durch externe Reize induziert werden. Die spontane Gedächtnisreaktivierung ist dabei von einem niedrigen Acetylcholinpiegel während des Tiefschlafs abhängig. Die vorliegende Studie hat die Arbeitshypothese, dass die durch einen olfaktorischen Reiz induzierte Gedächtnisreaktivierung auf ähnlichen Mechanismen beruht wie die spontane Gedächtnisreaktivierung. Das bedeutet, dass es zuerst zu einer Reaktivierung der erlernten deklarativen Gedächtnisinhalte im Hippocampus und im Anschluss zum Informationsfluss vom Hippocampus zum Neocortex kommt. Dieser Annahme zufolge ist die reizinduzierte Reaktivierung ebenso von einem niedrigen Acetylcholinpiegel abhängig wie die spontane Gedächtnisreaktivierung. Um diese Annahme zu bestätigen, wurde ein Probandenkollektiv aus 29 jungen gesunden Männern doppelblind randomisiert in die Gruppen Physostigmin und Placebo eingeteilt. Alle Probanden bearbeiteten einen Gedächtnistest, bei dem sie sich im zweidimensionalen Raum die Lokalisation von Kartenpaaren merken mussten. Zeitgleich erhielten sie einen definierten Geruch über eine Nasenmaske. Während des folgenden ca. 40 min andauernden Schlafes bekamen die Probanden je nach Gruppenzugehörigkeit das Medikament Physostigmin, ein indirekt parasymphathomimetisch wirkender Acetylcholinesterase-Hemmer welcher die synaptische Verfügbarkeit von Acetylcholin erhöht, oder das Placebo NaCl 0,9 % über eine Infusionspumpe infundiert. Im Tiefschlaf angekommen, wurde den Probanden je nach Bedingung der lernassoziierte Geruch oder der neutrale Trägerstoff präsentiert. Nach einer ca. 20-minütigen Geruchsstimulation wurde diese beendet, die Infusionspumpe gestoppt und der Proband geweckt. Im Anschluss an den darauffolgenden 90-minütigen Film erfolgte die Interferenz-Aufgabe um die Stabilität des Gedächtnisses in Bezug auf die ursprüngliche Gedächtnisaufgabe zu überprüfen. Zuletzt durchliefen alle Probanden den Abruf, bei dem die Gedächtnisleistung der ursprünglichen Gedächtnisaufgabe überprüft wurde. Zu festgelegten Zeitpunkten erfolgten während der kompletten Zeit regelmäßige Überprüfungen der Vitalparameter, des Cortisolspiegels im Blut sowie Tests um

die Aufmerksamkeit, die Wachheit, die subjektive Müdigkeit, mögliche unerwünschte Medikamentenwirkungen oder -nebenwirkungen zu erfassen.

Wider Erwarten zeigte sich, dass die Leistungen der Probanden im Abruf keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen Physostigmin und Placebo erbrachten. Jedoch gab es signifikante Unterschiede zwischen den Bedingungen Geruch und Trägerstoff. Aus der Tatsache, dass es im Gegensatz zu der Arbeitshypothese zu keinem Nachteil bezüglich der Gedächtnisleistung durch die Physostigmin-Gabe kam, folgt das Resultat: Das erhöhte Acetylcholinlevel bei einer olfaktorisch induzierten externen Gedächtnisreaktivierung hat keinen Einfluss auf die Gedächtnisleistung. Während des Schlafes konnte anhand des EEGs gezeigt werden, dass es sich bei der verwendeten Physostigminkonzentration um eine Dosierung handelt, die den erwünschten Effekt auf die Schlafarchitektur zeigt. Alle weiteren Tests und die Überwachung der Vitalparameter brachten keine nennenswerten Unterschiede zwischen den einzelnen Gruppen und Bedingungen. Das Widerlegen der Arbeitshypothese zeigt, dass die extern getriggerte Gedächtnisreaktivierung durch einen olfaktorischen Reiz nicht auf denselben Mechanismen beruhen kann wie die spontane Gedächtnisreaktivierung. Möglicherweise kommt es bei der reizinduzierten Gedächtnisreaktivierung nicht zum Transfer von Informationen vom Hippocampus in den Neocortex, sondern die Gedächtniskonsolidierung findet nur in einem der beiden Hirnbereiche statt – entweder im Hippocampus oder im Neocortex. Eine weitere Möglichkeit ist, dass beide Hirnbereiche an der reizinduzierten Gedächtnisaktivierung beteiligt sind, jedoch völlig unabhängig voneinander agieren. Um dies zu präzisieren sind weitere Studien mit einem größeren Probandenkollektiv nötig. Hierbei sollten auch weitere bildgebende Verfahren eingesetzt werden um die genaue Gehirnaktivität zu den verschiedenen Zeitpunkten zu zeigen. Weiterhin sind Auswertungen bezüglich verschiedener Dosierungen des Acetylcholinesterase-Hemmers Physostigmin und unterschiedlicher Schlafzeiten nötig.

6 Literaturverzeichnis

Abel, J. H., Meeker, K., Granados-Fuentes, D., John, P. C., Wang, T. J., Bales, B. B., Iii, F. J., Herzog, E. D. & Petzold, L. R. (2016). SI Correction (2017). Functional network inference of the suprachiasmatic nucleus. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America PNAS* 114(44).

<http://www.pnas.org/content/pnas/early/2016/04/01/1521178113.full.pdf>

Aquilonius, S. & Hartvig, P. (1986). Clinical Pharmacokinetics of Cholinesterase Inhibitors. *Clin Pharmacokinet* 11:236-249.

<https://doi.org/10.2165/00003088-198611030-00005>

Aschenbrenner, S., Tucha, A. & Lange, K. (2000). Regensburger Wortflüssigkeits-Test. Hogrefe. Verlag für Psychologie.

Bendor, D. & Wilson, M. A. (2012). Biasing the content of hippocampal replay during sleep. *Nature Neuroscience*, 15(10), 1439–1444

<https://doi.org/10.1038/nn.3203>

Born, J., Rasch, B. & Gais, S. (2006). Sleep to remember. *Neuroscientist*, 12(5), 410–424.

<https://doi.org/10.1177/1073858406292647>

Brodts, S., Pöhlchen, D., Flanagin, V. L., Glasauer, S., Gais, S. & Schönauer, M. (2016). Rapid and independent memory formation in the parietal cortex. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 113(46), 13251–13256.

<https://doi.org/10.1073/pnas.1605719113>

Buzsáki, G. (1996). The hippocampo-neocortical dialogue. *CerebCortex*, 6:81-92.

Diekelmann, S. & Born, J. (2010). The memory function of sleep. *Nature Reviews. Neuroscience*, 11(2), 114–26.

<https://doi.org/10.1038/nrn2762>

- Diekelmann, S., Büchel, C., Born, J. & Rasch, B. (2011). Labile or stable: Opposing consequences for memory when reactivated during waking and sleep. *Neuroforum*, 17(2), 74–76.
<https://doi.org/10.1038/nn.2744>
- Diekelmann, S., Biggel, S., Rasch, B. & Born, J. (2012). Offline consolidation of memory varies with time in slow wave sleep and can be accelerated by cuing memory reactivations. *Neurobiology of Learning and Memory*, 98(2), 103–111.
<https://doi.org/10.1016/j.nlm.2012.07.002>
- Diekelmann, S., Biggel, S., Rasch, B. & Born, J. (2012). Neurobiology of Learning and Memory Offline consolidation of memory varies with time in slow wave sleep and can be accelerated by cuing memory reactivations. *Neurobiology of learning and memory*, 98(2), 103–111.
<https://doi.org/10.1016/j.nlm.2012.07.002>
- Douchamps, V., Jeewajee, A., Blundell, P., Burgess, N. & Lever, C. (2013). Evidence for Encoding versus Retrieval Scheduling in the Hippocampus by Theta Phase and Acetylcholine. *Journal of Neuroscience*, 33(20), 8689–8704.
<https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.4483-12.2013>
- Dvir, H., Silman, I., Harel, M., Rosenberry, T. L. & Sussman, J. L. (2010). Acetylcholinesterase: From 3D Structure to Function. *Chemico-Biological Interactions*, 187(1–3), 10–22.
<https://doi.org/10.1016/j.cbi.2010.01.042>. Acetylcholinesterase
- Gais, S. & Born, J. (2004). Low acetylcholine during slow-wave sleep is critical for declarative memory consolidation. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 101(7), 2140–2144.
<https://doi.org/10.1073/pnas.0305404101>
- Hasselmo, M. E. (1999). Neuromodulation: Acetylcholine and memory consolidation. *Trends in Cognitive Sciences*, 3(9), 351–359.
[https://doi.org/10.1016/S1364-6613\(99\)01365-0](https://doi.org/10.1016/S1364-6613(99)01365-0)

Hasselmo, M. E. & Schnell, E. (1994). Laminar selectivity of the cholinergic suppression of synaptic transmission in rat hippocampal region CA1: computational modeling and brain slice physiology. *The Journal of Neuroscience : The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 14(6), 3898–3914.

<http://www.jneurosci.org/content/14/6/3898.full.pdf>

Hoddes, E., Zarcone V., Smythe H., Phillips, R. & Dement, W. C. (1973). Quantification of sleepiness: a new approach. *Psychophysiology* 10:431-436.

<https://doi.org/10.1111/j.1469-8986.1973.tb00801.x>

Karow, T. & Lang-Roth, R. (2013). *Allgemeine und Spezielle Pharmakologie und Toxikologie 2014*, Seite 95-97.

Klinzing, J. G., Kugler, S., Soekadar, S. R., Rasch, B., Born, J. & Diekelmann, S. (2018). Odor cueing during slow-wave sleep benefits memory independently of low cholinergic tone. *Psychopharmacology*, 235(1), 291–299.

<https://doi.org/10.1007/s00213-017-4768-5>

Klem, G., Lüders, H. O., Jasper, H. H., & Elger, C. (1958). The ten twenty electrode system of the international federation. *Electroencephalography and Clinical Neurophysiology*, 10(2), 370–375.

[https://doi.org/10.1016/0013-4694\(58\)90053-1](https://doi.org/10.1016/0013-4694(58)90053-1)

Klinke, R., Pape, H., Kurtz, A. & Silbernegel, S. (2009). *Physiologie 6. Auflage*, Thieme Verlag Stuttgart, Seite 541-546.

Köhler Chemie GmbH (2011). *Fachinformation Anticholinium Injektionslösung*.

Patil, M. M., Linster, C., Lubenov, E. & Hasselmo, M. E. (1998). Cholinergic agonist carbachol enables associative long-term potentiation in piriform cortex slices. *Journal of Neurophysiology*, 80(5), 2467–2474.

<https://doi.org/10.1152/jn.1998.80.5.2467>

Plihal, W. & Born, J. (1999). Memory Consolidation in human sleep depends on inhibitions of glucocorticoid release. *Neuroreport*, 10(13), 2741–7.

<https://insights.ovid.com/pubmed?pmid=10511433>

- Rechtschaffen A. & Kales A. (1968). A manual of standardized terminology, techniques and scoring system for sleep stages of human subjects. Bethesda, MD: US Department of Health, Education and Welfare.
- Rasch, B. H., Born, J. & Gais, S. (2006). Combined blockade of cholinergic receptors shifts the brain from stimulus encoding to memory consolidation. *Journal of Cognitive Neuroscience*, 18(5), 793–802.
<https://doi.org/10.1162/jocn.2006.18.5.793>
- Rasch, B., Buchel, C., Gais, S. & Born, J. (2007). Odor Cues During Slow-Wave. *Science*, 315, 1426–1429.
<https://doi.org/10.1126/science.1138581>
- Reed, J. M. & Squire, L. R. (1998). Retrograde amnesia for facts and events: findings from four new cases. *J Neurosci*, 18(10), 3943–3954.
<https://doi.org/10.1093/neucas/2.4.259-aw>
- Royet, J. P. & Plailly, J. (2004). Lateralization of olfactory processes. *Chemical Senses*, 29(8), 731–745.
<https://doi.org/10.1093/chemse/bjh067>
- Steyer, R., Schwenkmezger, P., Notz, P. & Eid, M. (1994) Test-theoretical analyses of the multidimensional mood state questionnaire (MDBF). *Diagnostica* 70:320-328.
- Squire, L.R. (1992). Declarative and Nondeclarative Memory: Multiple Brain Systems Supporting Learning and Memory. *Journal of Cognitive Neuroscience* 232-243.
<https://www.mitpressjournals.org/doi/pdf/10.1162/jocn.1992.4.3.232>
- Sutherland, G. R. & McNaughton, B. (2000). Memory trace reactivation in hippocampal and neocortical neuronal ensembles. *Current Opinion in Neurobiology*, 10(2), 180–186.
[https://doi.org/10.1016/S0959-4388\(00\)00079-9](https://doi.org/10.1016/S0959-4388(00)00079-9)

Vandecasteele, M., Varga, V., Berényi, A., Papp, E., Barthó, P., Venance, L. & Buzsáki, G. (2014). Optogenetic activation of septal cholinergic neurons suppresses sharp wave ripples and enhances theta oscillations in the hippocampus. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 111(37), 13535–13540.

<https://doi.org/10.1073/pnas.1411233111>

Wagner, U., Gais, S., Haider, H., Verleger, R. & Born, J. (2004). Sleep inspires insight. *Nature*, 427(6972), 352–355.

<https://doi.org/10.1038/nature02223>

Wagner, U., Degirmenci, M., Drosopoulos, S., Perras, B. & Born, J. (2005). Effects of cortisol suppression on sleep-associated consolidation of neutral and emotional memory. *Biological Psychiatry*, 58(11), 885–893.

<https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2005.05.008>

Zelano, C. & Sobel, N. (2005). Humans as an animal model for systems-level organization of olfaction. *Neuron*, 48(3), 431–454.

<https://doi.org/10.1016/j.neuron.2005.10.009>

7 Erklärung zum Eigenanteil

Die Arbeit wurde am Institut für Medizinische Psychologie und Verhaltensneurobiologie unter Betreuung von Herrn Prof. Dr. Jan Born und Herrn Dr. Jens Klinzing durchgeführt.

Medizinisch wurde die Studie von Herrn Dr. Surjo Soekadar betreut. Die Konzeption der Studie erfolgte durch Frau Dr. Susanne Diekelmann, Herrn Dr. Jens Klinzing und Herrn Prof. Dr. Jan Born.

Sämtliche Versuche wurden von Herrn Dr. Jens Klinzing und mir mit Unterstützung durch die Studentin der Humanmedizin Helen Pan durchgeführt. Die statistische Auswertung erfolgte eigenständig durch mich nach Anleitung durch Herrn Dr. Jens Klinzing.

Die Studie wurde in einer internationalen Fachzeitschrift veröffentlicht:

Klinzing JG, Kugler S, Soekadar SR, Rasch B, Born J, Diekelmann S (2018). Odor cueing during slow-wave sleep benefits memory independently of low cholinergic tone. *Psychopharmacology* 235:291–299.

Ich versichere, das Manuskript selbstständig verfasst zu haben und keine weiteren als die von mir ausdrücklich bezeichneten Quellen und Hilfsmittel benutzt zu haben. Alle wörtlich oder inhaltlich übernommenen Stellen wurden als solche gekennzeichnet. Die vorgelegte Dissertation wurde bisher weder im In- noch im Ausland in gleicher oder ähnlicher Form in einem anderen Promotionsverfahren vorgelegt. Es wurde an keiner anderen Hochschule von mir ein Promotionsverfahren oder ein entsprechendes Prüfungsverfahren beantragt.

Tübingen, den _____, _____

Sabine Lucke

8 Anhang

		Medizinische Fakultät Institut für Medizinische Psychologie und Verhaltensneurobiologie
<small>Universität Tübingen · Inst. Med. Psych. · FiN-Gebäude, Ebene 6 · Otfried-Müller-Str. 25 · 72074 Tübingen</small>		<small>Institutsleitung: Prof. Dr. Dr. h.c. Niels Birbaumer Prof. Dr. Jan Born</small>
 Einverständniserklärung		
Studienbezeichnung:	Der Einfluss von Physostigmin auf die geruchsinduzierte Reaktivierung von Gedächtnisinhalten im Schlaf	
Versuchsleiter:	Sabine Kugler	Tel.: 01742022008
Probandenhonorar:	_____	
Versuchsdatum (letzter Termin):	_____	
 Probandeninformation (Bitte in Druckbuchstaben ausfüllen)		
Name, Vorname	_____	Geburtsdatum: _____
Straße	_____	
PLZ, Ort	_____	
Tel.:	_____	
Kontonr.:	_____	BLZ: _____
 Hiermit versichere ich, dass ich freiwillig an dieser Studie teilnehme, wobei ich mir vorbehalte, meine Mitwirkung jederzeit ohne Angabe von Gründen zu beenden. In diesem Fall werde ich für meine Teilnahme anteilmäßig bezahlt. Honorare werde ich ggf. selbstständig versteuern.		
Ich wurde über den Inhalt, die Vorgehensweise und die Risiken der Studie in verständlicher Form aufgeklärt. Darüber hinaus habe ich eine Kopie der Studieninformation erhalten. Meine Fragen wurden ausreichend und verständlich beantwortet. Ich hatte genügend Zeit, mich gegen eine Teilnahme an der Studie zu entscheiden und willige hiermit in diese ein.		
Ich habe in den letzten zwei Monaten an keinem anderen Experiment teilgenommen, bei dem mir Medikamente verabreicht wurden und nehme auch zurzeit keine Medikamente ein. Sollte sich dies während meiner Teilnahme am Experiment ändern, werde ich den Versuchsleiter sofort davon unterrichten.		
Hiermit nehme ich zur Kenntnis, dass die Datenerhebung im Rahmen dieser wissenschaftlichen Studie zum Zweck des oben genannten Studienziels erfolgt. Erhoben werden die folgenden Daten: Name, Vorname, Geburtsdatum, Adresse, Kontaktmöglichkeiten, und studienbezogene Messungsdaten. Die Daten werden in pseudonymisierter Form, d.h. ohne direkten Bezug zu meinem Namen, auf Papier und elektronisch gespeichert und ausgewertet. Die Zuordnung der verschlüsselten Daten zu meiner Person ist nur anhand einer Probandenliste möglich, die getrennt von den Studienunterlagen aufbewahrt wird und nur Mitarbeitern der Studie zugänglich ist. Die Daten werden für die Dauer von 10 Jahren im Institut für Medizinische Psychologie und Verhaltensneurobiologie aufbewahrt. Die Bestimmungen des Datenschutzgesetzes werden eingehalten. Sollte ich von der Studie zurücktreten, kann ich entscheiden, ob die bereits vorliegenden Daten vernichtet werden müssen oder weiterverwendet werden dürfen. Ich kann jederzeit meine Daten beim Studienleiter einsehen.		
Tübingen, den _____ Unterschrift: _____		

Anhang 1: Einverständniserklärung. Diese Einverständniserklärung wurde zum Zeitpunkt des Screenings mit jedem Probanden ausführlich besprochen und im Anschluss von ihm ausgefüllt und unterschrieben.

Stanford Schläfrigkeitsskala

Probanden - Code:

Uhrzeit:

Dies ist ein kurzer Fragebogen, um zu erfassen wie munter Sie sich fühlen. Bitte schätzen Sie ein, wie Sie sich jetzt im Moment fühlen, indem Sie die jeweilige Zahl ankreuzen (es ist nur ein Kreuz möglich)!

Grad der Schläfrigkeit	Einschätzung
Ich fühle mich aktiv, vital, aufmerksam und hellwach	1
Ich funktioniere sehr gut, aber nicht mit Spitzenleistung; ich kann mich konzentrieren	2
Ich bin wach, aber entspannt; ich kann reagieren, bin aber nicht voll aufmerksam	3
Ich bin etwas müde, fühle mich schlapp	4
Ich fühle mich müde und verlangsamt; habe keine Lust mehr wach zu bleiben	5
Ich fühle mich schläfrig, benebelt; kämpfe mit dem Schlaf; würde mich lieber hinlegen	6
Ich kann nicht länger gegen den Schlaf ankämpfen, werde bald einschlafen; habe traumähnliche Gedanken	7
Schlafen	X

Anhang 2: Stanford Schläfrigkeitsskala. Aus der englischen Stanford Sleepiness Scale (Hoddes et al. 1973) zur Beurteilung der subjektiven Müdigkeit.

MDBF-Kurzform A

Datum und Uhrzeit

Im Moment
fühle ich mich

überhaupt
nicht

sehr

1 2 3 4 5

- | | | | | | |
|---------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|
| 1. zufrieden | <input type="radio"/> |
| 2. ausgeruht | <input type="radio"/> |
| 3. ruhelos | <input type="radio"/> |
| 4. schlecht | <input type="radio"/> |
| 5. schlapp | <input type="radio"/> |
| 6. gelassen | <input type="radio"/> |
| 7. müde | <input type="radio"/> |
| 8. gut | <input type="radio"/> |
| 9. unruhig | <input type="radio"/> |
| 10. munter | <input type="radio"/> |
| 11. unwohl | <input type="radio"/> |
| 12. entspannt | <input type="radio"/> |

überhaupt
nicht

sehr

GS

WM

RU

© by Hogrefe-Verlag GmbH & Co. KG, Göttingen • Nachdruck und jegliche Art der Vervielfältigung verboten • Best.-Nr. 0117504

Anhang 3: Multidimensionaler Befindlichkeitsfragebogen (MDBF). Mit dem Fragebogen von Steyer et al. (1994) wurde die Stimmung der Probanden zu drei verschiedenen Zeitpunkten der Experimentalnächte abgefragt.

Symptom-Rating-Skala

Datum:

Bedingung: 1. Nacht 2. Nacht

Pb – Code:

Symptom:	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
	<small>schwach</small>				<small>mittel</small>					<small>stark</small>
1. Angst	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
2. Schwitzen	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
3. Körperliches Unwohlsein	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
4. Innere Unruhe	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
5. Kribbelgefühl	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
6. Zittern	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
7. Verstärkter Tränenfluss	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
8. Herzklopfen	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
9. Verschwommenes Sehen	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
10. Konzentrationsfähigkeit	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
11. Verstärkter Speichelfluss	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
12. Ärger	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
13. Kopfschmerzen	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
14. Durchfall	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
15. Übelkeit	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
16. Traurigkeit	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
17. Atembeschwerden	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
18. Sprachstörungen	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
19. Müdigkeit	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
20. Schwindel	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
21. Nervosität	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
22. Muskelzucken/-zittern	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
23. Juckreiz	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
24. Schwäche	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
25. Wärme	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
26. Aktivität	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
27. Völlegefühl	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9

Anhang 4: Symptom-Rating-Skala. Dieser Test gibt Auskunft über subjektive Symptome, die möglicherweise Nebenwirkungen oder unerwünschte Arzneimittelwirkungen des eingesetzten Physostigmins beschreiben.

RWT

Untertest:

K-Wörter

B-Wörter

Probanden-Code:

Datum:

Uhrzeit:

Bei dieser Aufgabe sollen Sie innerhalb von 2 Minuten möglichst viele verschiedene Wörter mit einem bestimmten Anfangsbuchstaben aufschreiben, den Ihnen der Versuchsleiter nennen wird. Dabei dürfen Sie keine Wörter mehrfach nennen, keine Eigennamen benutzen (z.B. Paris oder Peter wäre falsch) und die Wörter dürfen nicht mit dem gleichen Wortstamm anfangen (z.B. Sport, Sportplatz, Sportschuhe wäre falsch).
Bitte versuchen Sie möglichst schnell viele verschiedene Wörter aufzuschreiben.

Anhang 5: Regensburger Wortflüssigkeits-Test. Prüfung der formallexikalischen Wortflüssigkeit indem innerhalb von 2 Minuten möglichst viele Worte mit dem randomisiert zugeteilten Anfangsbuchstaben „K“ oder „B“ aufgeschrieben werden müssen (Aschenbrenner et al. 2000).

RWT

Untertest:

P-Wörter

M-Wörter

Probanden-Code:

Datum:

Uhrzeit:

Bei dieser Aufgabe sollen Sie innerhalb von 2 Minuten möglichst viele verschiedene Wörter mit einem bestimmten Anfangsbuchstaben aufschreiben, den Ihnen der Versuchsleiter nennen wird. Dabei dürfen Sie keine Wörter mehrfach nennen, keine Eigennamen benutzen (z.B. Paris oder Peter wäre falsch) und die Wörter dürfen nicht mit dem gleichen Wortstamm anfangen (z.B. Sport, Sportplatz, Sportschuhe wäre falsch).
Bitte versuchen Sie möglichst schnell viele verschiedene Wörter aufzuschreiben.

Anhang 6: Regensburger Wortflüssigkeits-Test. Prüfung der formallexikalischen Wortflüssigkeit indem innerhalb von 2 Minuten möglichst viele Worte mit dem randomisiert zugeteilten Anfangsbuchstaben „P“ oder „M“ aufgeschrieben werden müssen (Aschenbrenner et al. 2000).

RWT

Untertest:

Berufe

Hobbys

Probanden-Code:

Datum:

Uhrzeit:

Bei dieser Aufgabe sollen Sie innerhalb von 2 Minuten möglichst viele verschiedene Wörter aus einer bestimmten Kategorie aufschreiben, die Ihnen der Versuchsleiter nennen wird. Dabei dürfen Sie keine Wörter mehrfach nennen und die Wörter dürfen nicht mit dem gleichen Wortstamm anfangen (z.B. Fischer, Fischverkäufer, Fischhändler wäre falsch). Bitte versuchen Sie möglichst schnell viele verschiedene Wörter aufzuschreiben.

Anhang 7: Regensburger Wortflüssigkeits-Test. Prüfung der semantischen Wortflüssigkeit indem innerhalb von 2 Minuten möglichst viele Worte zu dem randomisiert zugeteilten Thema „Berufe“ oder „Hobbys“ aufgeschrieben werden müssen (Aschenbrenner et al. 2000).

9 Danksagung

An dieser Stelle möchte ich meinen besonderen Dank nachstehenden Personen entgegen bringen, ohne deren Mithilfe die Anfertigung der vorliegenden Promotionsschrift in dieser Art nicht möglich gewesen wäre.

Ein herzlicher Dank an Herrn Prof. Dr. Jan Born für die Überlassung dieses Dissertationsthemas, das Bereitstellen der finanziellen Mittel und des Arbeitsplatzes mitsamt all der benötigten Materialien im CIN und im Schlaflabor in der Medizinischen Klinik.

Ein besonderen Dank gilt Herrn Dr. Jens Klinzing für die hervorragende und jederzeit zuverlässige Betreuung dieser Arbeit von der Einarbeitung über die Versuchsnächte bis hin zur statistischen Auswertung und Ausarbeitung. Er hat mit viel Geduld, Engagement und flottem Handeln beim Lösen der alltäglichen und speziellen Probleme und Fragen vieles unmöglich erscheinende möglich gemacht.

Herzlichen Dank an Herrn Dr. Surjo Soekadar für die ärztliche Betreuung der Arbeit und die bedingungslose Hilfestellung bei allen medizinischen Fragen.

Vielen Dank an Frau Dr. Susanne Diekelmann für die permanente Unterstützung bei der Planung, Durchführung und Auswertung dieser Studie.

Auch bei allen weiteren Mitarbeiterinnen und Mitarbeiter des Instituts für Medizinische Psychologie und Verhaltensneurobiologie möchte ich mich für die immer freundliche und entgegenkommende Zusammenarbeit bedanken.

Ein großes Dankeschön an meinen Mann, an meine Schwester und an meine Eltern. Sie alle haben mich immer wieder aufs Neue unterstützt und motiviert.