

Bedeutung von Uhrengenen in *Epiphysis cerebri* und endokrinem Pankreas

1. Circadiane Rhythmen

Erste Beobachtungen tageszeitlicher Rhythmen erfolgten bereits in der Antike. Androstenes von Thassos, Begleiter Alexanders des Großen (356 bis 323 v. Chr.) auf dessen Feldzügen, beschrieb die täglichen Blattbewegungen der Tamarinde (*Tamarindus indicus*) auf der Insel Tylus (heute Bahrein) im Persischen Golf.¹ Auch Charles Darwin (1809 bis 1882) befasste sich bereits mit den Blattbewegungen der Bohne.

Die wissenschaftliche Auseinandersetzung mit diesem Phänomen begann 1729 mit den Beobachtungen des französischen Geophysikers, Astronomen und auch frühen Chronobiologen Jean-Jacques d'Ortous de Mairan (1678 bis 1771). Dieser führte Untersuchungen an heliotropen, also sonnenausgerichteten Pflanzen durch, so an der Mimose. Er stellte fest, dass die täglichen Blattbewegungen dieser Pflanze auch in völliger Dunkelheit abliefen. De Mairan berichtete 1729 über diese Beobachtungen in der Königlichen Akademie der Wissenschaften in Paris (siehe Abb. 1).² Damit war erstmalig der innere (endogene) Ursprung einer circadianen Rhythmik belegt. Allerdings war zum damaligen Zeitpunkt und auch über ein Jahrhundert später dieser Befund nicht allgemein akzeptiert.

Berühmt wurde die »Blumenuhr« des Ritters Carl von Linné (1707 bis 1778) von 1745, durch die sich die Tageszeit an der Öffnung von Blüten nachverfolgen ließ (Abb. 2).

Es blieb aber dem deutschen Biologen Erwin Bünning (1906 bis 1990) vorbehalten, die bis dahin gültige »Stundenglas«-Hypothese zu widerlegen.³

1 Siehe dazu Hugo Bretzl, *Botanische Forschungen des Alexanderzuges*, Leipzig 1903, S. 120–132.

2 Jean-Jacques d'Ortous de Mairan, »Observation Botanique«, in *Histoire de l'Académie royale des sciences, avec les mémoires de mathématique et de physique 1729*, Paris 1731, S. 35.

3 Erwin Bünning, »Untersuchungen über die autonomen tagesperiodischen Bewegungen der Primärblätter von *Phaseolus multiflorus*«, in *Jahrbücher für wissenschaftliche*

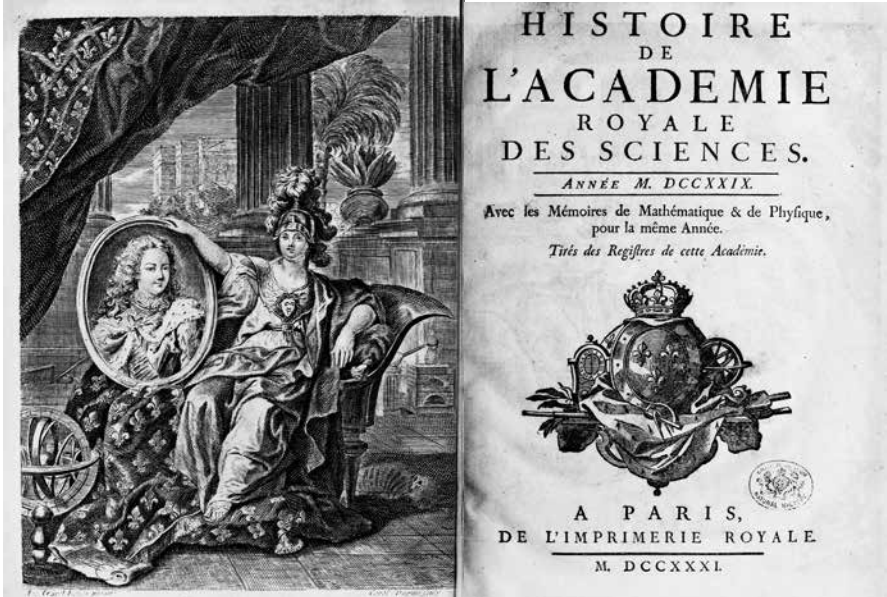


Abb. 1: Titelblatt der *Histoire de l'Académie royale des sciences, avec les mémoires de mathématique et de physique* 1729, Paris 1731. Hierin beschreibt De Mairan erstmals die Tagesperiodik einer Pflanze. Foto: Biodiversity Heritage Library. Digitalisat der Natural History Museum Library, London, <http://www.biodiversitylibrary.org/bibliography/4004#/summary> (CC BY-NC 3.0).

Diese postulierte, dass der beobachtete circadiane Rhythmus eines Organismus ausschließlich durch das externe Licht angetrieben wird und ein internes Stundenglas täglich neu gestellt würde. Bünning hingegen argumentierte aufgrund seiner Beobachtungen, dass Blattbewegungen sich auch in der Dunkelheit vollziehen, dass biologische Rhythmen endogen erzeugt werden und durch tägliche Stimuli synchronisiert würden. In fundamentalem Gegensatz zur bis dahin gültigen Lehrmeinung entstand, seiner Ansicht nach, ein circadianer Rhythmus durch Interaktion eines circadianen Schrittmachers mit externen Signalen, nicht durch letztere allein. Dieses generelle Prinzip Bünning's, über alle Organismengrenzen hinaus, bildet auch heute noch die Basis aller

Botanik 75 (1931), S.439–480; ders., »Über die Erbllichkeit der Tagesperiodizität bei den Phaseolus-Blättern«, in *Jahrbücher für wissenschaftliche Botanik* 77 (1932), S.283–320; ders., »Zur Kenntnis der erblichen Tagesperiodizität bei den Primärblättern von Phaseolus multiflorus«, in *Jahrbücher für wissenschaftliche Botanik* 81 (1935), S.411–418; ders., »Die endogene Tagesrhythmik als Grundlage der photoperiodischen Reaktion«, in *Berichte der Deutschen Botanischen Gesellschaft* 54 (1936), S.590–607.

modernen chronobiologischen Konzepte. In der Folge konzentrierte sich das Interesse mehr auf Rhythmen bei Tieren, wobei vor allem die beiden »Väter« der Rhythmusforschung, der in Amerika tätige britische Biologe Colin Pittendrigh (1918 bis 1996) und der deutsche Verhaltensphysiologe Jürgen Aschoff (1913 bis 1998), grundlegende Experimente durchführten. Auf dem ersten großen Kongress über Rhythmusforschung im Jahre 1960 in Cold Spring Harbor wurde deutlich, dass Tagesrhythmen in der belebten Natur weitverbreitet sind.

Kurzer historischer Abriss der Chronobiologie (verändert nach Golombek und Rosenstein).⁴

1729	Veröffentlichung von Jacques d’Ortous de Mairan über die Blattbewegungen der Mimose bei konstanter Dunkelheit
1751	Carl von Linné stellt seine »Blumenuhr« in seiner Zeitschrift <i>Philosophia botanica</i> vor, und stellt fest, dass die Tageszeit anhand von Blütenöffnungszeiten erfasst werden kann
1832	Augustine De Candolle berichtet die circadiane Periode von 22 Stunden als Zeitabschnitt von Blattbewegungen
1880	Charles Darwin veröffentlicht <i>The power of movement in plants</i> und darin in Kapitel 7 die Analyse der »sleep movements of leaves«
1920/30er	Studien von Erwin Bünning über die Erbllichkeit circadianer Rhythmen
1920er	Beschreibung endogener circadianer Rhythmen bei der Ratte (Curt P. Richter)
1959	Franz Halberg prägt die Bezeichnung »circadian«
1960er	Analyse der humanen circadianen Rhythmen in temporärer Isolierung (Jürgen Aschoff)
1968	Beschreibung der biologischen Uhr in der Pinealdrüse des Vogels (Michael Menaker)
1971	Entdeckung der <i>per</i> -Mutation bei der Fruchtfliege (Ronald J. Konopka, Seymour Benzer)
1972	Beschreibung der Rolle des Suprachiasmatischen Nucleus für die circadiane Rhythmizität (Irving Zucker, Robert Y. Moore)
1984	Klonierung des <i>per</i> -Gens (Uhrengens) der Fruchtfliege
1988	Entdeckung der <i>tau</i> -Mutation beim Sibirischen Hamster
1990er	Beschreibung des Transcriptions-Translations »negative-feedback« Modells der circadianen Uhr in verschiedenen Säugern, Klonierung von wesentlichen Uhrengenen

⁴ Diego A. Golombek und Ruth E. Rosenstein, »Physiology of Circadian Entrainment«, in *Physiological Reviews* 90 (2010), S. 1063–1102, hier S. 1064.

1994	Erzeugung der <i>clock</i> -Mutante in der Maus
1998–2000	Entdeckung der zellulären und physiologischen Basis der Photorezeption in Säugern; Beschreibung von peripheren circadianen Uhren
2000	Klonierung der <i>tau</i> -Mutation des Sibirischen Hamsters
2000er	erste circadiane Transkriptomanalysen



Abb. 2: Abbildung einer Blumenuhr, einer Zusammenstellung von Gewächsen, deren Blüten sich zu verschiedenen Tagesstunden öffnen und schließen; zuerst von Carl von Linné für 24 Stunden angelegt. Gezeichnet von Ursula Schleicher-Benz, Lindauer Bilderbogen, Erste Folge, Nr. 5, herausgegeben von Friedrich Boer, Jan Thorbecke Verlag, Lindau 1948.

2. Biologische Zeitmessung als universelles Prinzip

Frühe Untersuchungen aus dem Tierreich zu chronobiologischen Rhythmen sind von Arthur Kiesel (1894)⁵ bekannt, der die endogenen täglichen Rhythmen von Augenpigmentbewegungen einer nachtaktiven Motte beschrieb. Diese Befunde wurden 1930 von John H. Welsh (1901 bis 2002) bestätigt.⁶ Dieser berichtete, dass die distalen Pigmentzellen der Facettenaugen bestimmter Krabben (*Macrobrachium olfersii* bzw. *M. acanthurus*) einen circadianen Rhythmus der Pigmentbewegung zeigten. Sogar unter konstantem Licht wanderte das Pigment distal am frühen Abend und verblieb während der subjektiven Nacht. Die

⁵ Arthur Kiesel, »Untersuchungen zur Physiologie des facettierten Auges«, in *Sitzungsberichte der Kaiserlichen Akademie der Wissenschaften in Wien* 103 (1894), S. 97–139.

⁶ John H. Welsh, »Diurnal Rhythm of the distal pigment cells in the eyes of certain crustaceans«, in *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 16 (1930), S. 386–395.

Wanderung der Augenpigmente spiegelte damit auch das Aktivitätsmuster des Tieres wider.

Curt P. Richter (1894 bis 1988) war der erste, der um 1920 systematische Untersuchungen zu circadianem Verhalten von Säugern durchführte.⁷ Er entdeckte und beschrieb ein Phänomen bei Ratten, welches später als Futtererwartungsverhalten (»food anticipatory activity«) bezeichnet wurde.

Zusammengefasst lässt sich sagen, dass circadiane Rhythmen bei Pro- und Eukaryonten, Pilzen, Pflanzen und Tieren gefunden wurden und temperaturkompensiert ablaufen. Darunter fallen so verschiedene Vorgänge wie: Stoffwechselaktivitäten, Wachstums- und Differenzierungsprozesse, Aktivitätszyklen und, bei Pflanzen, auch photoperiodisch gesteuerte Entwicklungsvorgänge (siehe hierzu auch Abb. 3).

3. Einige Begriffserklärungen der Chronobiologie

Besonders Jürgen Aschoff, der zusammen mit Colin Pittendrigh als Vater der Chronobiologie angesehen wird, hat mit seinen Versuchen zur »inneren Uhr« des Menschen Aufsehen erregt.⁸ Durch seine Versuche wurden zentrale Erkenntnisse der Chronobiologie gewonnen, beispielsweise durch seine berühmt gewordenen »Bunkerversuche«, bei denen menschliche Probanden von Außeninflüssen isoliert wurden. So gelangte Aschoff zu dem Ergebnis, dass bei Abkopplung von äußeren Faktoren, die er »Zeitgeber« nannte, diese Menschen ihren eigenen Tag/Nacht-Rhythmus fanden. Der endogene Rhythmus wich

7 Curt P. Richter, »A behavioristic study of the activity of the rat«, in *Comparative Psychology Monographs* 1 (1922), S. 1–55.

8 Jürgen Aschoff, »Exogenous and Endogenous Components in Circadian Rhythms«, *Cold Spring Harbor Symposia of Quantitative Biology* 25 (1960), S. 11–28; ders. u. a., »Human Circadian Rhythms in Continuous Darkness: Entrainment by Social Cues«, in *Science* 171 (1971), S. 213–215; ders., »Thermal conductance in mammals and birds: Its dependence on body size and circadian phase«, in *Comparative Biochemistry and Physiology* 69A (1981), S. 611–619; Hiromi Tokura und Jürgen Aschoff, »Effects of temperature on the circadian rhythm of pig-tailed macaques *Macaca nemestrina*«, in *The American Journal of Physiology* 245 (1983), S. R800–804.; Jürgen Aschoff, »Masking of circadian rhythms by zeitgebers as opposed to entrainment«, in Wim Hekkens u. a. (Hg.), *Trends in Chronobiology*, Oxford/New York 1988, S. 149–161; ders., »Masking and Parametric Effects of High-Frequency Light-Dark Cycles«, in *Japanese Journal of Physiology* 49 (1999), S. 11–19; ders., »Circadian Rhythms in Man«, in *Science* 148 (1965), S. 1427–1432; Colin S. Pittendrigh, »Circadian Rhythms and the Circadian Organization of Living Systems«, in *Cold Spring Harbor Symposia of Quantitative Biology* 25 (1960), S. 159–184.

dabei immer weiter von der aktuellen Tageszeit ab, je länger die Isolation anhielt. Nach über 20 Jahren der Aufzeichnungen solcher Schlaf-Wach-Zyklen, der Auswertung von Veränderungen der Körpertemperatur im Tagesverlauf und der Untersuchungen von Urinproben, hatte Aschoff einen Beweis für die Existenz einer »endogenen circadianen Uhr« auch beim Menschen gefunden.⁹ Darüber hinaus fand er Belege, dass die Aktivitätsphasen von nachtaktiven Tieren unter konstantem Licht sich verkürzten, bei tagaktiven hingegen sich verlängerten (»Alpha Kompression« und »Alpha Expansion«, von Pittendrigh auch als »Aschoff's rule«¹⁰ bezeichnet).

Einige der von Aschoff und Pittendrigh aber auch Franz Halberg (1919 bis 2013) geprägten Begriffe der Chronobiologie bedürfen hier einer Erklärung und Definition, da diese im Verlaufe der Ausführungen wiederholt verwendet werden:

circadian

von *circa* (ungefähr) und *dies* (Tag), ein Zeitabschnitt von (nur) ungefähr 24 Stunden. Endogene Uhren bedürfen deshalb der »Korrektur« durch geophysikalische Einflüsse, insbesondere durch Licht, um mit dem 24 Stunden-Rhythmus synchronisiert zu werden.

Synchronisation

Anpassung der frei laufenden endogenen Rhythmik an den Tag/Nacht-Wechsel entsprechend dem Vor- oder Nachstellen einer mechanischen Uhr.

circadiane Periode

Zeitintervall für den Ablauf einer vollständigen circadianen Oszillation (nach Franz Halberg zwischen 20 und 28 Stunden).

Zeitgeber

Synchronisierendes Signal für circadiane Oszillationen.

⁹ Aschoff u. a., Human Circadian Rhythms (Fn. 8); Aschoff, Circadian Rhythms in Man (Fn. 8).

¹⁰ Pittendrigh, Circadian Rhythms and the Circadian Organization (Fn. 8), S. 174.

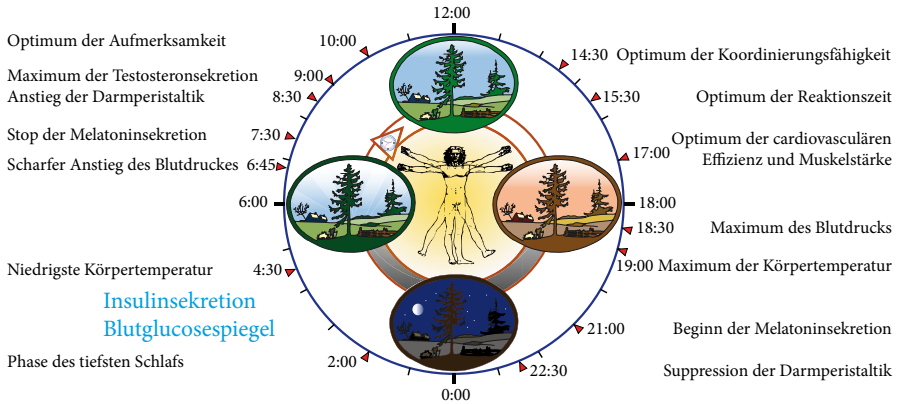


Abb. 3: Die innere circadiane Uhr des Menschen steuert im Tagesverlauf viele Körperfunktionen, mit Reaktions- bzw. Effektmaxima zu genau definierten Tageszeiten. Diese Funktionen werden anhand eines Tageskreises dargestellt. Hervorzuheben ist, dass das Inselhormon Insulin sowie der Blutzuckerspiegel ebenfalls im Tagesgang schwanken. Verändert nach: Michael Smolensky und Lynne Lamberg, *The Body Clock Guide to Better Health*, New York 2000; Grafikvorlage: Wikimedia Commons (CC BY-SA 3.0).

4. Das hierarchische System der inneren Uhr

Durch Läsionsexperimente konnte für den Säuger nachgewiesen werden, dass der Sitz der circadianen Uhr ein Nervenzentrum des Hypothalamus ist, nämlich der *Nucleus suprachiasmaticus* (SCN).¹¹ Spezialisierte Neuronen des paarig angelegten hypothalamischen Kerns generieren einen circadianen Rhythmus und bilden den zentralen circadianen Schrittmacher. Die Bedeutung dieses Oszillators äußert sich beim Menschen in der circadianen Beeinflussung vielfältiger Körperfunktionen wie z. B. Blutdruck, Darmbewegung, Schlafbedürfnis oder Konzentrationsvermögen. Eine Übersicht hierzu wird in Abb. 3 vermittelt.

Im Körper des Säugers finden sich neben der Zentraluhr im SCN auch circadiane Uhren in Organen wie Herz, Leber und Pankreas.¹² Nach gegenwärtigen

¹¹ Martin R. Ralph u. a., »Transplanted Suprachiasmatic Nucleus Determines Circadian Period«, in *Science* 247 (1990), S. 975–978

¹² Martin E. Young u. a., »Alterations of the Circadian Clock in the Heart by Streptozotocin-induced Diabetes«, in *Journal of Molecular and Cellular Cardiology* 34 (2002), S. 223–231; Francesca Damiola u. a., »Restricted feeding uncouples circadian oscillators in peripheral tissues from the central pacemaker in the suprachiasmatic nucleus«, in *Genes and Development* 14 (2000), S. 2950–2961; Eckhard Mühlbauer u. a., »Indication of circadian oscillations in the rat pancreas«, in *FEBS Letters* 564 (2004), S. 91–96.

gem Kenntnisstand haben diese Uhren keine oder nur begrenzte Autonomie, da der von ihnen generierte Rhythmus, *in vitro*, also nach Gewebsentnahme und Einflussentzug vom zentralen circadianen Oszillator, einer raschen Dämpfung unterliegt.¹³ Elmar und Dorothee Peschke wiesen allerdings nach, dass isolierte pankreatische Inseln der Ratte über mehrere Tage ihren Rhythmus beibehalten.¹⁴ Eine neuere Arbeit von Pamela Pulimeno u. a. konnte zudem durch circadiane Fluktuation eines implantierten Leuchtgens zeigen, dass Uhren von dissoziierten pankreatischen Inselzellen eher mit zunehmender Zeitdauer desynchronisieren, als aufhören zu funktionieren.¹⁵ Nach heutiger Lehrmeinung werden periphere Uhren, im Gegensatz zur Zentraluhr, aufgrund angenommener mangelnder Autonomie als Uhren 2. Ordnung aufgefasst. Diese sind der Zentraluhr untergeordnet und werden daher auch, im Gegensatz zur »master clock« des SCN, als »slave oscillators« bezeichnet¹⁶ (schematische Darstellung in Abb. 4). Es ist dabei essentiell, dass Organe wie Leber und Pankreas, die gemeinsame Funktionen erfüllen, wie z. B. die Regulation der Blutglukose, auch im circadianen Ablauf untereinander synchronisiert sein müssen.

Während der zentrale Oszillator im SCN wesentlich durch das Licht synchronisiert wird, gilt das nicht für Uhren in Organen der Peripherie. Diese Oszillatoren werden im Wesentlichen durch humorale Faktoren beeinflusst. Auch durch neuronale Kopplung können, vom SCN ausgehend, synchronisierende Einflüsse vermittelt werden.¹⁷ Aufgrund der Verbreitung von Melatoninrezeptoren kann das pineale Hormon Melatonin, neben seiner bekannten Wirkung auf den SCN, Leber, pankreatische Insel¹⁸ und Niere beeinflussen. Auch den Glucokorticoiden, die in der Blutkonzentration einen Tagesrhythmus aufweisen, wird synchronisierende Funktion zugesprochen. Francesca Damiola u. a.

13 Stephen M. Reppert und David R. Weaver, »Coordination of circadian timing in mammals«, in *Nature* 418 (2002), S. 935–941.

14 Elmar Peschke und Dorothee Peschke, »Evidence for a circadian rhythm of insulin release from perfused rat pancreatic islets«, in *Diabetologia* 41 (1998), S. 1085–1092.

15 Pamela Pulimeno u. a., »Autonomous and self-sustained circadian oscillators displayed in human islet cells«, in *Diabetologia* 56 (2013), S. 497–507.

16 Reppert und Weaver, Coordination of circadian timing (Fn. 13).

17 Andries Kalsbeek und Ruud M. Buijs, »Output pathways of the mammalian suprachiasmatic nucleus: coding circadian time by transmitter selection and specific targeting«, in *Cell and Tissue Research* 309 (2002), S. 109–118.

18 Eckhard Mühlbauer und Elmar Peschke, »Evidence for the expression of both the MT1- and in addition, the MT2-melatonin receptor, in the rat pancreas, islet and beta-cell«, in *Journal of Pineal Research* 42 (2007), S. 105–106; Elmar Peschke u. a., »Melatonin and type 2 diabetes – a possible link?«, in ebd., S. 350–358; Eckhard Mühlbauer u. a., »Loss of melatonin signalling and its impact on circadian rhythms in mouse organs regulating blood glucose«, in *European Journal of Pharmacology* 606 (2009), S. 61–71.

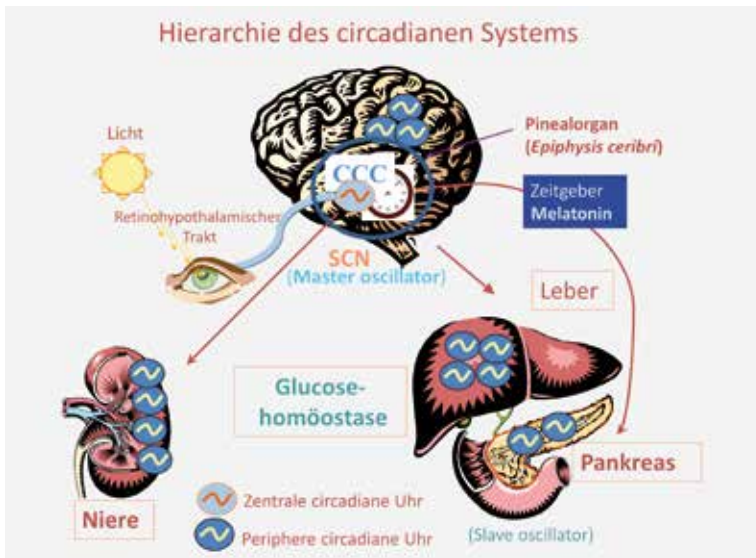


Abb. 4: Das circadiane Uhrensystem des Säugers besteht aus einer Hierarchie im Körper verteilter Oszillatoren. Die zentrale circadiane Uhr (»Master Clock« oder auch »Central Circadian Clock« (CCC) [Reppert und Weaver, Coordination of circadian timing (Fn. 13)].) befindet sich im *Nucleus suprachiasmaticus* (SCN), bestehend aus zahlreichen neuronalen Uhrenzellen. Dieser zentrale Oszillator empfängt Lichtsignale über das Auge und den retinohypothalamischen Trakt, um die circadiane Uhr auf den 24-Stunden-Tag einzustellen (»entrainment«). Die dergestalt synchronisierte Zentraluhr vermag nun wiederum den Takt der peripheren Uhren (»slave oscillators«) in Leber, Pankreas oder Niere zu synchronisieren. Diese Organe sind essentiell für die Regelung der Glukosehomöostase. Zusätzlich vermag das circadiane Pinealhormon Melatonin synchronisierend auf Organe und Zellen der Peripherie einzuwirken.

sowie Karl-Arne Stokkan u. a. haben zeigen können, dass bei einem nacht-aktiven Tier wie der Ratte eine Futterbeschränkung auf eine begrenzte Zeitspanne am Tag, die Phasenlage der inneren Uhren von Leber und Pankreas verschiebt.¹⁹ Das kann bis zur vollständigen Entkopplung der peripheren Uhr vom zentralen Rhythmusgenerator, dem SCN, führen. Wie zuvor erwähnt, gilt beim Säuger auch die Körpertemperatur als wichtiger Synchronisator von inneren Uhren, die allgemein eine Vielzahl von Körperprozessen steuern.²⁰

19 Francesca Damiola u. a., Restricted feeding (Fn. 12); Karl-Arne Stokkan u. a., »Entrainment of the Circadian Clock in the Liver by Feeding«, in *Science* 291 (2001), S. 490–493.

20 Etienne Challet u. a., »Phase-advanced Daily Rhythms of Melatonin, Body Temperature, and Locomotor Activity in Food-Restricted Rats Fed during Daytime«, in *Journal*

5. Der Uhrenmechanismus

Auf molekularer Ebene wird der circadiane Rhythmus sowohl im SCN als auch in peripheren Uhren durch circadiane Expression sogenannter Uhrengene in transkriptionellen/translationellen Rückkopplungsschleifen generiert. Diese Gene codieren für bestimmte Proteine mit transkriptioneller Aktivität, also für spezielle, tageszeitgesteuerte Transkriptionsfaktoren. Dabei führt die Aktivität von transkriptionell positiv agierenden Genprodukten wie BMAL1, welches als Heterodimer mit CLOCK über cis-Elemente (E-box) im Promotorbereich transkriptionell aktivierend wirkt, zur zeitabhängigen Aufregulation einer zweiten Gruppe von negativen Faktoren. Diese Transkriptionsfaktoren, der Period-Gruppe zugehörig (z. B. PER1), wirken zusammen mit Proteinen der Cryptochrome (z. B. Cry1) hemmend und drosseln im Gegenzug die Neusynthese von CLOCK/BMAL1, wodurch ein circadianer Zyklus geschlossen wird. Weiterhin können BMAL1/CLOCK-Faktoren sogenannte »clock-output«-Gene aktivieren und die circadiane Information auf weitere Gene im Zuge einer circadianen Aktivierungskaskade übertragen, da die »output«-Gene, wie beispielsweise das in der Leber und auch im Pankreas ausgeprägte *Dbp*, selbst Transkriptionsfaktoren sind. Ein circadianes System besteht daher aus drei Komponenten: a) dem Oszillator, der von außen durch b) Zeitgeber synchronisiert wird und seinerseits c) ein nach außen gerichtetes Signal erzeugt (»output«), welches in die Peripherie weitergegeben wird. Vermutlich wird ein großer Teil von Genen einer Zelle circadian gesteuert (bis zu 10%).²¹ Durch Messung von Transkriptänderungen der Uhrengene *Per1*, *Bmal1*, *Per2*, *Cry1*, *Cry2* und *Tim* über den Tagesverlauf konnte gezeigt werden, dass zentrale genetische Determinanten der »biologischen Uhr« im Rattenpankreas aktiv sind.²² Speziell die Transkriptschwankungen für die funktionell gegenläufigen Faktoren *Per1* und *Bmal1* zeigten ein inverses Verlaufsmuster – charakteristisch für jeden bislang untersuchten Oszillator, ob im SCN oder anderen Organen und Zellen. Des Weiteren konnten Elmar und Dorothee Peschke *in vitro* an separierten Ratteninseln in Langzeitexperimenten zeigen, dass das Pinealhormon Melatonin (als »Hormon der Nacht«) Zeitgeberfunktion für dieses Organ

of Biological Rhythms 12 (1997), S. 65–79; Trinitat Cambras u. a., »Circadian desynchronization of core body temperature and sleep stages in the rat«, in *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 104 (2007), S. 7634–7639.

21 Satchidananda Panda u. a., »Coordinated Transcription of Key Pathways in the Mouse by the Circadian Clock«, in *Cell* 109 (2002), S. 307–320; Kai-Florian Storch u. a., »Extensive and divergent circadian gene expression in liver and heart«, in *Nature* 417 (2002), S. 78–83.

22 Mühlbauer u. a., Indication of circadian oscillations in the rat pancreas (Fn. 12).

hat und eine Verschiebung (Vorverlegung) der Sekretionsphasen um 9 Stunden bewirken kann.²³ In weiteren Arbeiten belegten Elmar Peschke und seine Mitarbeiter in funktionellen Untersuchungen einen lähmenden Einfluss des Melatonins auf den cAMP-Signaltransduktionsweg der Insel oder der β -Zelle (gezeigt am Zellkulturmodell der Ratteninsulinomazelllinie INS-1).²⁴ Der Nachweis gelang dabei wesentlich aufgrund von Beobachtungen an isolierten Ratteninseln oder INS-1 Zellen mittels Perfusionstechnik. Es zeigte sich, dass die forskolinstimulierte Insulinsekretion durch Melatoningabe verringert und durch den bekannten kompetitiven Melatoninrezeptor-Antagonisten Luzindol wieder auf das Ausgangsniveau zurückgeführt werden konnte. Damit war auf pharmakologischem Wege bewiesen worden, dass die Melatoninwirkung mit der Funktion eines membranständigen Rezeptors verknüpft ist. Eine synchronisierende Wirkung und Zeitgeberfunktion von Melatonin auf die Funktion der inneren Uhr der Insel war damit belegt.

6. Circadiane Rhythmen der *Epiphysis cerebri*

Als Syntheseort des Indolamins Melatonin kommt dem Pinealorgan, auch *Epiphysis cerebri* genannt, eine besondere Bedeutung zu. Melatonin wird fast ausschließlich während der Dunkelheit synthetisiert und ohne Verzögerung und Zwischenspeicherung in die Blutbahn abgegeben, wo es mit einer mittleren Halbwertszeit von etwa 20 Minuten zirkuliert. Aufgrund dieser charakteristischen Fluktuation im Tagesverlauf wird Melatonin als hormoneller »output« der circadianen Uhr angesehen. Da sehr viele der Organe und Organzellen die charakteristischen, G-Protein-gekoppelten Melatonin-Membranrezeptoren exprimieren, kann Melatonin an vielen Stellen im Körper synchronisierende Wirkung entfalten, so auch in der pankreatischen Insel, als Organ der Blutglukosesteuerung²⁵ als auch an Neuronen des SCN. Melatonin vermag über einen »feedback«-Mechanismus steuernd auf die Zentraluhr rückzuwirken. Während der Pinealozyt unter neuronaler Kontrolle des SCN steht und des-

23 Peschke und Peschke, Evidence for a circadian rhythm of insulin release (Fn. 14).

24 Elmar Peschke u. a., »Evidence for a melatonin receptor within pancreatic islets of neonate rats: functional, autoradiographic, and molecular investigations«, in *Journal of Pineal Research* 28 (2000), S. 156–164; ders. u. a., »Receptor (MT(1)) mediated influence of melatonin on cAMP concentration and insulin secretion of rat insulinoma cells INS-1«, in *Journal of Pineal Research* 33 (2002), S. 63–71.

25 Elmar Peschke, Ina Bähr und Eckhard Mühlbauer, »Experimental and clinical aspects of melatonin and clock genes in diabetes«, in *Journal of Pineal Research* 59 (2015), S. 1–23.

sen Tag/Nachtaktivität widerspiegelt, hat man durch Microarray-Analyse auch Hinweise auf circadiane Oszillatoren in den Pinealozyten selbst gefunden.²⁶ Kürzlich erschienene Untersuchungen an spontandiabetischen Ratten konnten zeigen, dass unter ausgeprägter diabetischer Stoffwechsellaage die Rhythmusgenerierung durch Uhrengene im Pinealozyten nicht betroffen ist.²⁷ Ähnliche Befunde waren zuvor an chemisch induzierten (durch das Diabetogen Streptozotocin ausgelöst) Typ1-diabetischen Ratten gemacht worden.²⁸ Nach Lydia Engel u. a. ist die circadiane Uhr in der Epiphyse zudem an jahreszeitlichen Phänomenen beteiligt.²⁹

7. Die Uhr funktioniert auf der Ebene einzelner Zellen

Wesentliche Arbeiten, z. B. von Aurélio Balsalobre oder David K. Welsh, haben zeigen können, dass die Generierung circadianer Rhythmen nicht auf Organismen, Organgruppen oder Organe beschränkt ist, sondern selbst auf der Ebene der einzelnen Körperzelle möglich ist.³⁰ Balsalobre und seine Mitautoren konnten 1998 nachweisen, dass die kurzzeitige Applikation einer hohen Serumkonzentration zum Zellkulturmedium von Rattenfibroblasten einer über viele Jahre in Kultur befindlichen Zelllinie (Rat-1) die Expression der Uhrengene *Per1*, *Per2* und der Uhrengen-getriebenen *RevErb α* und *Dbp* circadian fluktuieren lässt.³¹ Dabei schwankte von Experiment zu Experiment die Periodenlänge τ der »messenger« RNA von *Per1* nach Synchronisation zwischen 20 und 27 Stunden und betrug im Mittel 22,5 Stunden. Nichtzyklische Gene wie β -Aktin ließen sich auch *in vitro* nicht circadian induzieren. Die Autoren die-

26 David. C. Klein u. a., »Pineal Function: Impact of Microarray Analysis«, in *Molecular and Cellular Endocrinology* 314 (2010), S. 170–183.

27 Elmar Peschke u. a., »The insulin-melatonin antagonism: studies in the LEW.1AR1-iddm rat (an animal model of human type 1 diabetes mellitus)«, in *Diabetologia* 54 (2011), S. 1831–1840.

28 Elmar Peschke u. a., »Increased melatonin synthesis in pineal glands of rats in streptozotocin induced type 1 diabetes«, in *Journal of Pineal Research* 45 (2008), S. 439–448.

29 Lydia Engel u. a., »The photoperiod entrains the molecular clock of the rat pineal«, in *European Journal of Neuroscience* 21 (2005), S. 2297–2304.

30 Aurélio Balsalobre, Francesca Damiola und Ueli Schibler, »A Serum Shock Induces Circadian Gene Expression in Mammalian Tissue Culture Cells«, in *Cell* 93 (1998), S. 929–937; David K. Welsh u. a., »Bioluminescence Imaging of Individual Fibroblasts Reveals Persistent, Independently Phased Circadian Rhythms of Clock Gene Expression«, in *Current Biology* 14 (2004), S. 2289–2295.

31 Balsalobre, Damiola und Schibler, A Serum Shock (Fn. 30).

ser Studie konnten diese Befunde später an H35 Hepatoma-Zellen erhärten und inzwischen ist davon auszugehen, dass generell *in vitro* gehaltene Zellen über innere Uhren verfügen. Dabei gibt es zwei grundlegende Hypothesen zur Erklärung des zuvor geschilderten Phänomens. Während eine Reihe von Forschern annahm, dass die circadiane Uhr einzelner Zellen durch eine hohe Serumkonzentration (aber auch durch Dexametason und andere Agenzien) sozusagen *de novo* in Gang gebracht werden, gibt es inzwischen Hinweise, dass die zellulären Uhren nur synchronisiert werden müssen, um im Gleichklang zu schwingen und damit messbar zu werden. Die Uhr von Zellen in Kultur stoppt also vermutlich niemals über viele Zellteilungszyklen hinweg, aber es kommt ohne externe Zeitgeber zu einer zunehmenden Desynchronisation der Oszillationen.

Mühlbauer u. a. haben belegt, dass eine funktionsfähige innere Uhr von pankreatischen β -Zellen in Kultur am Modell der Ratteninsulinoma Zelllinie INS-1 nach Serumschock nachweisbar ist (Abb. 5).³² Damit lässt sich auch das von Peschke und Peschke und Edson Delattre u. a. publizierte tagesrhythmische Fluktuieren der Insulinsekretion aus isolierten Ratteninseln in Perfusion erklären.³³ Eine kürzlich erschienene Arbeit von Pamela Pulimeno u. a. ergänzt die vorherigen Befunde an Inselzellen.³⁴ Die Autoren hatten mithilfe von Genkonstrukten in Lentiviren (vom humanen Immundefizienzvirus HIV-abgeleitete Retroviren), die das Leuchtkäfergen Luciferase unter Kontrolle des Uhrengens *Bmal1* exprimierten, diese Leuchtfähigkeit in humane Inselzellen eingeschleust und circadiane Leuchtsignale in Inselzellen aufzeichnen können. Diese, mithilfe einer lichtstarken Kamera dokumentierten Lichtschwankungen konnten auf Einzelzellebene sichtbar gemacht und in Echtzeit aufgezeichnet werden. Damit war zum ersten Mal das Funktionieren der circadianen Uhr in einzelnen Insulin-produzierenden β -Zellen bewiesen worden. Aus diesem Befund lässt sich zweifelsfrei ein Zusammenhang zwischen innerer Uhr und Inselfunktion postulieren.

32 Eckhard Mühlbauer u. a., »Differential and day-time dependent expression of nuclear receptors ROR α , ROR β , ROR γ and RXR α in the rodent pancreas and islet«, in *Molecular and Cellular Endocrinology* 365 (2013), S. 129–138.

33 Peschke und Peschke, Evidence for a circadian rhythm of insulin release (Fn. 14); Edson Delattre, José Cipolla-Neto und Antonio Boschero, »Diurnal variations in insulin secretion and K⁺ permeability in isolated rat islets«, in *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology* 26 (1999), S. 505–510.

34 Pulimeno u. a., Autonomous and self-sustained circadian oscillators (Fn. 15).

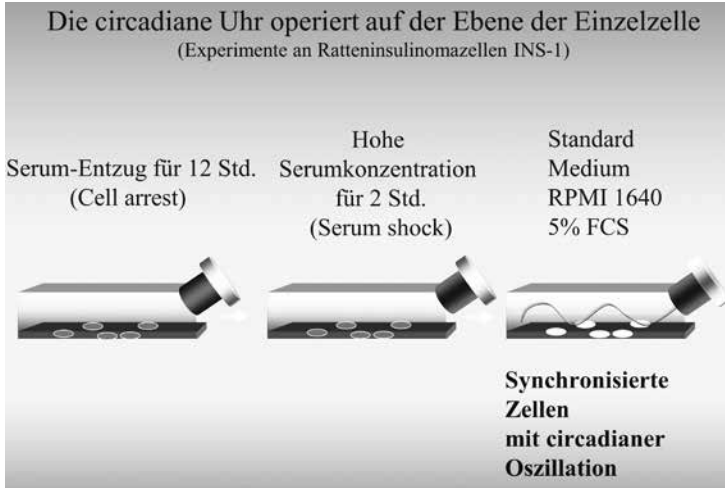


Abb.5: Ratteninsulinoma β -Zellen in Kultur lassen nach Serumschocksynchronisation einen circadianen Rhythmus erkennen. Das Experiment beginnt mit einem Entzug von Wachstumsfaktoren enthaltenden fötalem Kälberserum (FCS) aus dem Zellkulturmedium. Dadurch kommt es zu einem Stopp des Zellwachstums. Nach einer Entzugsphase von 12 Stunden wird ein »Serumschock« durch kurzzeitige Zugabe einer hohen (50% v/v) Konzentration an Serum appliziert. Dadurch kommt es zu einem Neustart des zellulären Wachstums und zur Synchronisation der inneren Uhr. Dieses Phänomen lässt sich auf molekularer Ebene durch tageszeitliche Erfassung der Genexpression von Uhrgenen nachweisen (Mühlbauer u. a., Differential and day-time dependent expression of nuclear receptors (Fn. 32).

8. Folgen einer dysfunktionalen circadianen Uhr

Wir leben inzwischen in einer Welt, die durch künstliche Lichtquellen den menschlichen Körper sowohl von jahreszeitlichen als auch von circadianen Rhythmen weitgehend abkoppelt. Das kann nicht ohne Folgen für die Gesundheit bleiben. Es ist seit einigen Jahren bekannt, dass viele Aspekte menschlicher Gesundheit, aber auch Krankheit, sowohl saisonalen als auch Tag/Nacht-Fluktuationen unterliegen. Beispielsweise zeigen Herzattaken, Lungenödeme und Bluthochdruck Wahrscheinlichkeitsspitzen zu bestimmten Tageszeiten. Mehrere Studien haben zudem belegt, dass Schichtarbeiter und Menschen mit Schlafentzug ein erhöhtes Risiko zeigen, am metabolischen Syndrom zu erkranken.³⁵ Auch viele metabolische Prozesse unterliegen also circadianer

35 Eve Van Cauter u. a., »Modulation of Glucose Regulation and Insulin Secretion by

Kontrolle,³⁶ und gestörter Schlaf beeinflusst Vorgänge wie Fett- und Glukosestoffwechsel, Hormonspiegel, Blutdruck- und Gerinnungsvorgänge negativ.³⁷ Das Blutglukoseniveau des Menschen zeigt eine Konzentrationsspitze kurz vor Beginn der Aktivitätsperiode, damit verknüpft sinkt die Insulinsensitivität in den Nachmittags- und Abendstunden, parallel zu einer Verringerung der Insulinsekretion.³⁸ Dieser natürliche Rhythmus geht im Übrigen beim Diabetiker verloren, sodass eine enge Verknüpfung der Tageszeit mit metabolischen Prozessen inzwischen als gesichert gilt. Untersuchungen an Tiermodellen, denen essentielle Uhrengene (*Bmal1* und/oder *Clock*) gentechnisch mutiert und damit dysfunktional wurden (sog. »knockout«-Modelle), unterstützen eine enge Verbindung zwischen Uhrenfunktion und einer Volkskrankheit wie Diabetes.³⁹

Circadian Rhythmicity and Sleep«, in *Journal of Clinical Investigation* 88 (1991), S. 934–942.

36 Eve Van Cauter u. a., »Metabolic consequences of sleep and sleep loss«, in *Sleep Medicine* 9, Suppl. 1 (2008), S. 23–28.

37 Esra Tasali u. a., »Slow-wave sleep and the risk of type 2 diabetes in humans«, in *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 105 (2008), S. 1044–1049.

38 Günther Boden u. a., »Evidence for a circadian rhythm of insulin secretion«, in *American Journal of Physiology* 271 (1996), S. 246–252.

39 Biliana Marcheva u. a., »Disruption of the clock components CLOCK and BMAL1 leads to hypoinsulinaemia and diabetes«, in *Nature* 466 (2010), S. 627–631.