

Aus der Medizinischen Klinik I
der Universität zu Lübeck
Komm. Direktor Prof. Dr. Wagner

Modulation der hypoglykämie-induzierten Kortisolausschüttung durch intranasale und intravenöse Applikation von Growth Hormone Releasing Hormone (GHRH) bei gesunden Männern

Inauguraldissertation
zur
Erlangung der Doktorwürde
der Universität zu Lübeck
-aus der medizinischen Fakultät-

Vorgelegt von
Christian Metz aus Lübeck
Lübeck 2007

1. Berichterstatter: Priv.-Doz. Dr. med. Borris Perras
2. Berichterstatter: Prof. Dr. med. Olaf Hiort

Tag der mündlichen Prüfung: 01.12.2008
Zum Druck genehmigt. Lübeck, den 01.12.2008

gez. Prof. Dr. med. Werner Solbach
- Dekan der Medizinischen Fakultät -

I. Inhaltsverzeichnis

1.	Einleitung	8
1.1.	Stress – Definition und Funktion	8
1.2.	Die Hypothalamus-Hypophysen-Nebennieren (HHN)-Achse	10
1.2.1.	Die Physiologie der HHN-Achse	10
1.2.2.	Hormone der HHN-Achse	12
1.2.2.1.	Corticotropin Releasing Hormon (CRH)	12
1.2.2.2.	Adrenocorticotropes Hormon (ACTH)	13
1.2.2.3.	Kortisol	14
1.2.3.	Stimulation der HHN-Achse	16
1.3.	Die Somatotrope Achse	17
1.3.1.	Physiologie der somatotropen Achse	17
1.3.2.	Einfluss von GHRH auf die HHN-Achse	22
1.4.	Fragestellung	24
2.	Material und Methoden	25
2.1.	Versuchsaufbau	25
2.2.	Probanden	26
2.3.	Versuchsablauf	27
2.4.	Testsubstanz	32
2.4.1	Growth-Hormone-Releasing-Hormone (GHRH)	32
2.5.	Die Eigenschaftswörterliste (EWL)	33
2.6.	Chemische Untersuchungsmethoden	34

2.6.1.	Growth Hormone (GH)	34
2.6.2.	Growth Hormone Releasing Hormone (GHRH)	35
2.6.3.	Adrenocorticotropes Hormon (ACTH)	35
2.6.4.	Kortisol	36
2.7.	Statistische Auswertung	38
3.	Ergebnisse	39
3.1.	GHRH-Plasmakonzentration	39
3.2.	Effekt von GHRH auf die GH-Sekretion	42
3.3.	Effekt von GHRH auf die ACTH-Sekretion	44
3.4.	Effekt von GHRH auf die Kortisolsekretion	46
3.5.	Effekt von GHRH auf die Befindlichkeit	48
3.6.	Blutdruck und Puls	49
4.	Diskussion	50
5.	Zusammenfassung	57
6.	Literaturverzeichnis	59
7.	Anhang	70
7.1.	Lebenslauf	70
7.2.	Danksagung	72

II. Abkürzungsverzeichnis

Abb.	Abbildung
ACTH	Adrenocorticotropes Hormon
ANF	Atrialer natriuretischer Faktor
ANP	Atriales Natriuretisches Peptid
AUC	Area Under the Curve (Fläche unter der Kurve)
BNP	Brain natriuretic peptid
Bpm	Beats per minute (Herzfrequenz)
CAMP	cyclisches Adenosinmonophosphat
CGMP	cyclisches Guanosinmonophosphat
CNP	C-type natriuretisches Peptid
CRH	Corticotropin-Releasing-Hormon
CRIF	Corticotropin-release-inhibiting factor
EEG	Elektroenzephalogramm
GFR	glomeruläre Filtrationsrate
HHN-Achse	Hypothalamus-Hypophysen-Nebennierenachse
IHT	Insulin-Hypoglykämie-Test
i.v.	intravenös
MW	Mittelwert
NaCl	physiologische Natriumchloridlösung
PGE	Prostaglandin E
PGF	Prostaglandin F

RIA	Radioimmunoassay
SEM	Standard Error of the Mean (Standardfehler)
SWS	Slow Wave Sleep
VP	Vasopressin
ZNS	Zentrales Nervensystem

III. Abbildungsverzeichnis

Abb. 1	Schematische Darstellung der HHN-Achse
Abb. 2	Schematische Darstellung der somatotropen Achse
Abb. 3	Übersicht des Versuchsablaufs
Abb. 4	GHRH-Plasmakonzentration
Abb. 5	GH-Plasmakonzentration
Abb. 6	ACTH-Serumkonzentration
Abb. 7	Kortisol-Serumkonzentration

1. Einleitung

1. 1. Stress – Definition und Funktion

Aus historischer Sicht beschrieb W.B. Cannon Anfang des 20. Jahrhunderts die Fähigkeit des Körpers auf unterschiedliche physikalisch-chemische, psychische wie physische Druck und Spannung auslösende Faktoren zu reagieren, als Kampf- und Fluchtreaktion („fight and flight reaction“, Cannon 1915). Er erkannte, dass es dem menschlichen Körper möglich ist auf unterschiedliche Situationen zu reagieren und gleichzeitig die Homöostase aufrecht zu erhalten, um sein Überleben zu sichern. Ca. 20 Jahre später wurde von Hans Selye im Rahmen von Tierexperimenten die pathologische körperliche Anpassungsreaktion mit Hypertrophie der Nebennierenrinde auf verschiedene physische und psychosoziale Belastungen als Syndrom, dass durch diverse schädliche Wirkstoffe hervorgerufen wird, bezeichnet (a syndrome produced by diverse noxious agents, Selye 1936). Er schrieb der Hypothalamus-Hypophysen-Nebennieren (HHN)-Achse eine wichtige Funktion in der physiologischen wie pathologischen Regulation der Nebennierenrindenhormone zu (Selye 1946/ 1949). Er beobachtet schon damals, dass die Stressreaktion des Körpers nicht nur einen positiven, protektiven Charakter (Eustress) besitzt, sondern auch einen schädigenden, den Distress, und diskutierte den möglichen Zusammenhang zwischen Fehladaptation des Körpers und unmittelbarem Einfluss auf die Entwicklung von Krankheiten (Stress and Disease, Selye 1955).

Aktuelle Forschungsarbeiten konzentrieren sich auf genau diese Fehlfunktion und die potentielle Einflussnahme auf die Aktivität der HHN-Achse. In diesem Zusam-

menhang wurden die Begriffe „allostasis“ und „allostatic load“ geprägt. „Allostasis“ entspricht der aktiven Erhaltung der Homöostase. Einige Autoren verstehen hierunter die dynamische Anpassung homöostatischer Parameter an veränderte Bedingungen, bspw. im Rahmen eines arteriellen Hypertonus (Sterling und Eyer, 1988). Aktuellere Arbeiten definieren den Begriff breiter. Sie sehen in „allostasis“ die Variabilität und Anpassungsfähigkeit assoziierter Systeme, insbesondere der HHN-Achse und des sympathischen Nervensystems, zur Erhaltung der im engsten Sinne homöostatischen Parameter (McEwen 1993). Der Begriff ist somit als positiver Coping Mechanismus zu verstehen. Im Gegensatz dazu bezeichnet „allostatic load“ die dauerhaften funktionellen und strukturellen Veränderungen, die der Überbeanspruchung allostatischer Fähigkeiten folgen können. Es handelt sich dabei um eine pathologische Reaktion auf chronischen Stress, die sich u. a. in abnormen Sekretionsmustern der HHN-Achse zeigt. Vielfach wurde ein Zusammenhang mit Erkrankungen wie Diabetes mellitus Typ II, arteriellem Hypertonus, Depressionen etc. (McEwen 2000 und 2003, Rosmond 2003, Yehuda 2002) beschrieben. Unser therapeutisches Spektrum zur Kontrolle dieser Krankheiten könnte durch die Einflussnahme auf die inhibitorischen Mechanismen der HHN-Achse erweitert werden.

1.2. Die Hypothalamus-Hypophysen-Nebennierenachse

1.2.1. Physiologie der HHN-Achse

Hypothalamus, Hypophyse und Nebenniere bilden zusammen einen neuroendokrinen Regelkreis, dessen wichtigste Aufgabe es ist, einerseits die endogene, basale Aktivität zu steuern und andererseits auf endogene und exogene Stressoren zu reagieren. Die einzelnen Bestandteile sind dabei hierarchisch hintereinander geschaltet. Die freigesetzten Peptide stimulieren jeweils die untergeordnete Ebene, über ein negatives Feedback wird die Aktivität reguliert.

Zentrales Steuerelement der HHN-Achse ist der Hypothalamus, der Signale aus höheren Rindenregionen, über den Hippocampus oder direkt vom Hirnstamm empfängt. Beantwortet werden die Signale über die Sekretion des hypophyseotropen Corticotropin Releasing Hormone (CRH) aus den paraventriculären Kernen des Hypothalamus (Levin, 1998). CRH stimuliert die Freisetzung des Adrenocorticotropen Hormons (ACTH) aus der Hypophyse, das seinerseits über die Blutbahn die Nebenniere erreicht und dort die Ausschüttung von Kortisol aus der Zona fasciculata bewirkt. Der Kortisolplasmaspiegel steigt und hemmt über einen negativen Feedback-Mechanismus die Sekretion von ACTH und CRH in den übergeordneten Zentren Hypophyse und Hypothalamus.

Die oben genannte basale Funktion der HHN-Achse unterliegt einer circadianen Rhythmik. Unter Einfluss des Tag-Nacht-Rhythmus wechseln sich Sekretions- und Ruhephasen ab. So zeigt sich zu Beginn der Schlafphase während des langsam-welligen Schlafes eine ausgeprägte Inhibition der HHN-Aktivität. Gleichzeitig zum

Abfall des Kortisolplasmaspiegels steigt die Konzentration des Growth Hormone (GH) und der Tiefschlaf (slow wave sleep) nimmt zu (Späth-Schwalbe et al., 1994, Friess et al., 1995, Bierwolf et al., 1997, Wiedemann et al., 2000). Die Sekretionsphasen umfassen lediglich ein Viertel der Gesamtzeit, d. h. etwa sechs Stunden innerhalb eines 24-Stunden-Tages. Die übrigen 18 Stunden sind Ruhephasen des Systems (Weitzmann et al. 1971). Eine Sekretionsphase zeigt sich in einem steilen Anstieg der Plasmaspiegel von ACTH und Kortisol und einem nachfolgenden langsamen Abfall in der darauffolgenden Ruhephase. Die Höhe der Plasmahormonspiegel ist abhängig von Frequenz und Amplitude der sekretorischen Episoden. Diese basale Sekretion ist als Ausgangsaktivität in Abwesenheit jeglicher Stressoren zu werten.

Unter Einfluss von Stress zeigt sich ein anderes Sekretionsmuster. Für die Reaktion der HHN-Achse ist dabei nicht relevant, ob es sich um endogene oder exogene Stressoren handelt, sondern vielmehr, ob es sich um einen akuten oder chronischen Stressreiz handelt. Im akuten Stresszustand steigt die Konzentration von ACTH und Kortisol kurzfristig an, Aufmerksamkeit und Kurzzeitgedächtnis werden verbessert, die Immunfunktion des Körpers wird in eine erhöhte Abwehrbereitschaft versetzt und das System wird nach Beendigung des Stressimpulses rasch wieder auf das Ausgangsniveau abgesenkt (Sapolsky, 1999, Pacak et al., 2000, McEwen, 2000). Dieses Muster entspricht einer physiologischen Stressreaktion.

Unter chronischem Stress hingegen beobachtet man eine dauerhaft erhöhte Aktivität der HHN-Achse mit pathologisch erhöhten Kortisolspiegeln. In der Folge werden strukturelle und funktionelle Umbauten im Gehirn, eine verminderte Widerstandskraft der Neurone gegenüber Noxen und eine Atrophie von Dendriten be-

schrieben (Sapolsky, 1999). Insbesondere im Alter und im Zusammenhang mit altersbedingten Erkrankungen wurden pathologische HHN-Sekretionsmuster nachgewiesen. Ursächlich ist möglicherweise ein kumulativer Effekt von Stressoren über die gesamte Lebenszeit (allostatic load), der zu einer Reduktion von Cortikosteroidrezeptoren im Hypothalamus führt und die Abschwächung des negativen Feedback-Mechanismus zur Folge hat (Seemann und Robbins, 1994, Sapolsky, 1999, Seeman et al., 2001, McEwen 2003). Auch im Rahmen anderer Erkrankungen wie der arteriellen Hypertonie, Diabetes mellitus, Depressionen und posttraumatischen Belastungsstörungen wurden ähnliche pathologische Sekretionsmuster der HHN-Achse gefunden (McEwen 2000 und 2003, Rosmond 2003, Yehuda 2002).

1.2.2. Hormone der Hypothalamus-Hypophysen-Nebennieren-Achse

1.2.2.1. Corticotropin-Releasing-Hormon (CRH)

In den paraventriculären Kernen des Hypothalamus wird das CRH gebildet. Dabei handelt es sich um ein 41 Aminosäuren großes, artspezifisches Peptid, das über das portale Gefäßsystem die Hypophyse erreicht und dort an spezifische Rezeptoren bindet. Die Wirkung auf die Zelle wird über die Stimulation der Adenylatzyklase stimuliert. Als Mediator der endokrinen Stressreaktion bewirkt CRH die Sekretion von ACTH und β -Endorphinen aus der Hypophyse (Behan, 1995, Levin et al. 1998). In Abwesenheit weiterer Stressoren reguliert CRH den Grad der Wachheit

(Chang und Opp, 2001, Steiger 2002). Der CRH-Effekt auf die ACTH-Freisetzung wird durch Vasopressin potenziert (Späth-Schwalbe et al. 1987, Salata et al., 1988). ACTH seinerseits inhibiert ebenso wie Glucocorticoide (s. Abb. 1), Norepinephrin die CRH-Sekretion über einen negativen Feedback-Mechanismus (Engler et al. 1999).

1.2.2.2. Adrenocorticotropes Hormon (ACTH)

ACTH ist ein einkettiges Peptidhormon bestehend aus 39 Aminosäuren, dessen biologische Wirksamkeit seinem N-terminalen Anteil zuzuschreiben ist. Aus der Hypophyse freigesetzt erreicht es seinen hauptsächlichen Wirkort, die Nebenniere, auf dem Blutweg. Die biologische Wirksamkeit des ACTH liegt in der Steigerung der Kortikoidsynthese und –sekretion, adrenale Ascorbinsäureausschüttung und Steigerung der Nebennierengröße und –durchblutung. Der potenteste Releasing-Faktor für ACTH ist CRH (s. o.). Daneben verstärken auch Vasopressin, Adrenalin, Oxytocin und Cholezystokinin die ACTH-Sekretion (Späth-Schwalbe et al. 1988, Antoni und Dayanithi, 1990).

1.2.2.3. Kortisol

Kortisol wird als Steroidhormon in der Zona fasciculata der Nebennierenrinde gebildet. Seine Sekretion unterliegt der Steuerung durch CRH und ACTH in circadianer Rhythmik. Nach einem Tiefpunkt in der ersten Nachthälfte ist in den frühen Morgenstunden das Maximum des gesamten Tages zu verzeichnen (Brandenber-

ger et al. 1984). Zusätzliche Einflussfaktoren sind beispielsweise Hypoglykämie, körperliche Anstrengung, psychische Belastung und weitere endogene und exogene Reize. Die hauptsächliche Wirkung von Kortisol liegt entsprechend seiner Rolle in der Stressreaktion in der Bereitstellung von Energie in Form von Glukose und Fettsäuren. Eine überschießende Kortisolproduktion oder fehlende Inhibition der Kortisolsekretion führt zu Osteoporose, Hypertonie, Diabetes, Veränderungen des Blutbildes mit Leukozytose, zu Bindegewebsverlust infolge verminderter Fibroblastenaktivität und zu psychischen Veränderungen.

1.2.3. Stimulation der Hypothalamus-Hypophysen-Nebennieren-Achse

Die exogene Stimulation der HHN-Achse unter Versuchsbedingungen dient der Erzeugung eines kontrollierten Stressreizes. Die Stimulation ist auf verschiedene Weise möglich. Die drei am häufigsten verwendeten Verfahren sind dabei der ACTH-Test, der Insulin-Hypoglykämie-Test (IHT) und die Provokation durch die kombinierte Gabe von CRH und VP (Vasopressin). Die in dieser Arbeit verwendete insulininduzierte Hypoglykämie stimuliert die HHN-Achse auf hypothalamischer Ebene. Insbesondere in den ventromedialen Kernen des Hypothalamus wurden Neurone identifiziert, die ähnlich den pankreatischen β -Zellen über Glukosesensoren verfügen und auf ein Absinken des Blutglukosespiegels mit einer Aktivitätssteigerung reagieren (Yang et al. 1999). Dabei besteht kein Zusammenhang zwischen dem Ausmaß der Unterzuckerung und dem Grad der Aktivität (Nye et al. 2001). Da die glukosesensiblen Zellen ausschließlich im Hypothalamus vorkommen, ist die nachfolgende Aktivierung der HHN-Achse eindeutig der hypothalamischen Ebene zuzuordnen. Im Gegensatz dazu stimuliert die intravenöse CRH-Gabe über ihre Wirkung auf hypophysäre CRH-Rezeptoren die ACTH-Sekretion aus der Hypophyse. Vasopressin potenziert diese Wirkung (Holsboer et al., 1987, Späth-Schwalbe et al., 1987, Salata et al., 1988).

Beide Verfahren setzen einen Stressreiz, über eine Wirkung in übergeordneten Zentren kann jeweils keine Aussage getroffen werden. In der vorliegenden Studie wurde der Insulin-Hypoglykämie-Test zur Stimulation der HHN-Achse gewählt.

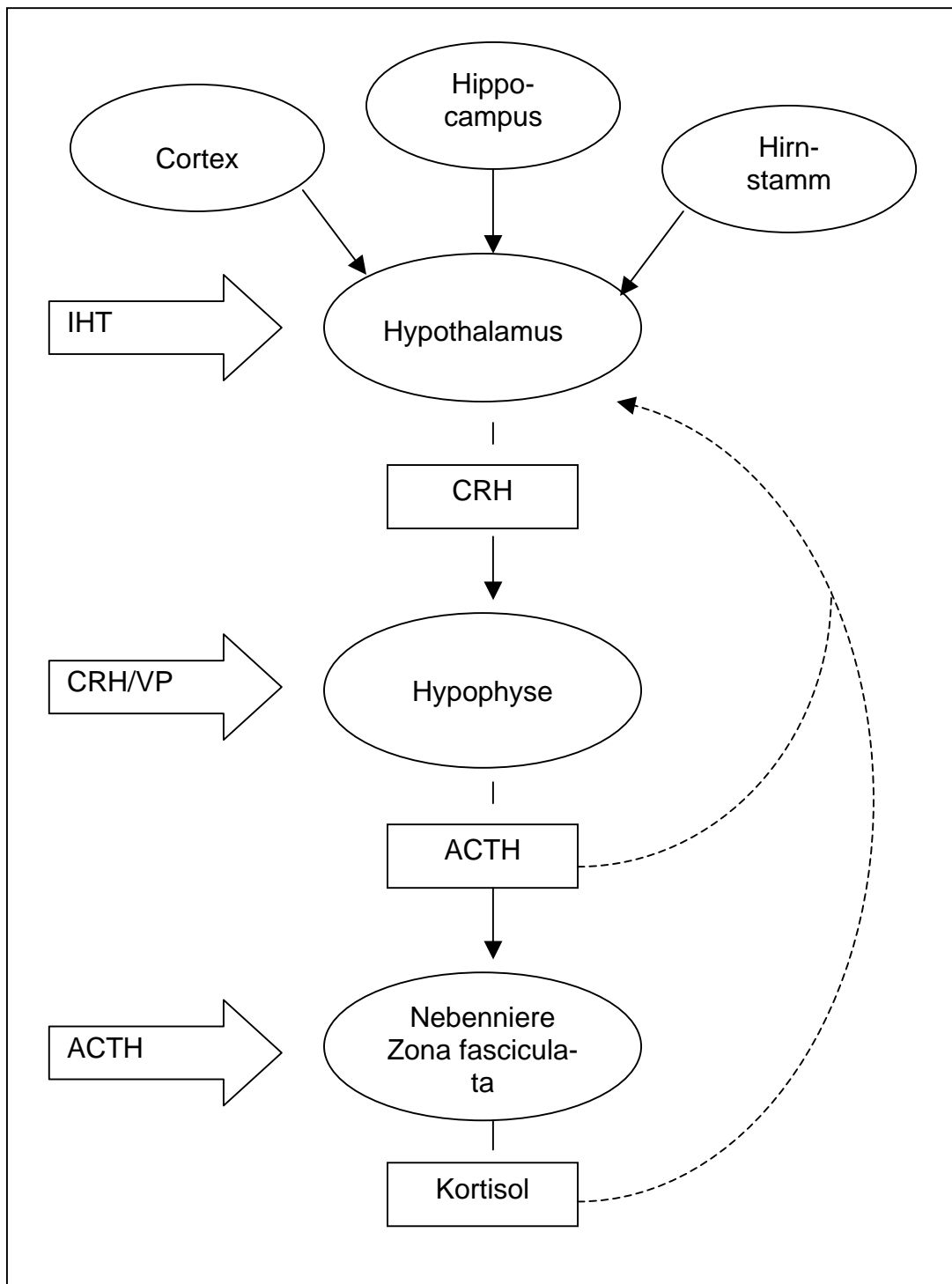


Abb. 1: Schematische Darstellung der HHN-Achse. Sekretionsfördernde Wirkung: durchgezogener Pfeil. Inhibitorische Wirkung: gestrichelter Pfeil. Mögliche exogene Stimulation: Blockpfeil.

1.3. Somatotrope Achse

1.3.1. Physiologie der somatotropen Achse

Die somatotrope Achse steuert in Form eines Regelkreises das Wachstum des Körpers, Zellwachstum, Chondrogenese, Muskel- und Knochenaufbau. Dabei unterliegt ihre Steuerung insbesondere dem komplexen Zusammenwirken von GHRH, Ghrelin, Somatostatin, die ihrerseits die Sekretion des Wachstumshormons steuern (s. Abb. 2).

Das **Growth Hormone Releasing Hormone (GHRH)** gehört zur Gruppe der hypothalamischen Releasing-Hormone und ist das wichtigste Stimulans der GH-Freisetzung. Nachdem seine Existenz bereits 20 Jahre zuvor erstmals vermutet wurde (Reichlin 1960), konnte es erst 1982 als vorerst letztes Peptid dieser Gruppe aus menschlichen Pankreastumoren isoliert werden (Guillemin et al., 1982, Rivier et al. 1982). Der Nachweis des hypothalamischen Ursprungs gelang wenig später (Bohlen et al. 1983). Zurückzuführen ist die verhältnismäßig späte Entdeckung vermutlich auf ausgesprochen geringe Gewebekonzentrationen des GHRH im Femtomolbereich. Im Vergleich dazu liegt die Konzentration der anderen hypothalamischen Neuropeptide im Pico- bzw. Nanomolbereich).

Die drei bekannten Peptide (GHRH1-44, GHRH 1-40, GHRH 1-37) bestehen aus 40-44 Aminosäuren, codiert auf dem Chromosom 20q. Die Freisetzung erfolgt aus Neuronen des in den Nuclei ventromedialis et arcuatus des Hypothalamus, gesteuert durch die negative Rückkopplung des IGF-I, aber auch durch ein komplexes System dopaminerger, serotonerger und adrenerger Signale sowie äußere

Einflüsse (z. B. Schlaf, Stress, Hypoglykämie). Über die Eminentia mediana wird das GHRH in das Portalvenensystem der Hypophyse abgegeben und erreicht von dort die somatotropen Zellen der Hypophyse, wo nach Bindung an einen spezifischen GHRH-Rezeptor das Signal über die Aktivierung von cAMP und Ca²⁺-Kanälen vermittelt wird. Dieser Reiz führt zur Sekretion von Growth Hormone (GH) aus Sekretgranula und induziert die GH- Transkription in der Zelle (Barinaga et al., 1983, Kato et al. 2002).

Neben GHRH wird die GH-Sekretion auch durch sog. **Growth Hormone Releasing Peptides (GHRP)** stimuliert. Dabei handelt es sich um unterschiedliche Peptide, deren bekanntestes das 28 Aminosäuren lange **Ghrelin** ist (Bowers et al., 1999, Kojima et al. 1999, Bowers 2001). Ghrelin-Rezeptoren wurden sowohl im Nucleus arcuatus des Hypothalamus, auch Hauptbildungsort des GHRH, wie auch in der Hypophyse nachgewiesen. Daneben wurde Ghrelin in den unterschiedlichsten Geweben wie Niere, Plazenta, Lunge etc. gefunden (Gnanapavan et al. 2002). Das freigesetzte Ghrelin zirkuliert im Blut und ist in der Lage die Blut-Hirnschranke zu passieren. Es fördert die Sekretion von GH und scheint dabei synergistisch mit GHRH zu wirken. Ghrelin fördert nicht nur die Sekretion von GH, sondern auch die Ausschüttung von Prolactin, Aldosteron, ACTH und Kortisol (Kojima et al. 1999, Arvat et al. 2000, Arvat et al. 2001). Damit besteht eine direkte Einflussnahme auf die Hypothalamus-Hypophysen-Nebennieren-Achse.

Somatostatin gilt als wichtigster Gegenspieler des GHRH und Ghrelin in der Regulation der GH-Sekretion. Es kommt nicht nur im Hypothalamus vor, sondern u-

biquitär im ZNS und in peripheren Geweben, insbesondere im Gastrointestinaltrakt. Dabei liegt es in mehreren Isoformen vor. Insbesondere Somatostatin-14 (SS14) und Cortistatin-14 werden die Inhibition der GHRH-induzierten GH-Sekretion zugeschrieben. Cortistatin-14 hemmt darüber hinaus die Ghrelin-induzierte GH-Ausschüttung (Broglia et al. 2002). Somatostatin hemmt neben der GH-Ausschüttung auch die Sekretion von Glucagon und Insulin. Des Weiteren werden Somatostatin immunmodulatorische Eigenschaften zugeschrieben (Weinstock und Ellis, 2000).

Das **Wachstumshormon** kommt in mehreren Varianten vor. Die häufigste Form ist ein einkettiges Peptidhormon, das als Prä-GH synthetisiert und in Sekretgranula in den somatotropen Zellen des Hypophysenvorderlappens (HVL) gespeichert wird. Dort entsteht durch enzymatische Abspaltung des N-terminalen Prekursor-segments das biologisch wirksame Growth Hormone (GH), bestehend aus 191 Aminosäuren. Die menschliche Hypophyse speichert GH in großen Mengen, ca. 4-6 mg. Die tägliche Bildung von GH beträgt dabei nur etwa 350 µg. Die Sekretion entspricht einem pulsatilem Muster, das der neuronalen Kontrolle des Hypothalamus unterliegt und durch die Sekretion von GHRH, Ghrelin und Somatostatin gesteuert wird. Dabei bestehen täglich 10 bis 20 sekretorische Episoden (Roelfsema et al., 2001). Reize für die GH-Sekretion sind beispielsweise die insulininduzierte Hypoglykämie, Arginin- oder L-Dopa-Applikation und Substanzen mit β -adrenerg blockierender Wirkung.

Die inhibitorische Kontrolle erfolgt einerseits über ein negatives Feedback. So hemmt GH selbst seine eigene Sekretion aus dem Hypothalamus, IGF-I inhibiert

die GH-Sekretion über seine Wirkung auf die GHRH- und Somatostatin-Ausschüttung. Aber auch Thyreotropin Releasing Hormone (TRH) zeigt eine hemmende Wirkung auf GH.

Die Wirkung von GH wird insbesondere durch den **Insulin-like Growth Factor (IGF-I)** vermittelt. Dieser wird als Antwort auf die GH-Sekretion in diversen Geweben exprimiert. Dabei wird IGF-I eine lokale parakrine bzw. autokrine Wirkung wie auch über Zirkulation im Serum eine hormonähnliche Wirkung zugeschrieben (Burren et al., 1999). Über die Bindung an spezifische Rezeptoren, die strukturell dem Insulinrezeptor gleichen, beeinflusst IGF-I in der Zelle die mitogene und metabolische Funktion (Carter-Su et al. 1998). So spielt GH eine zentrale Rolle in der Modulation des Größenwachstums von der Geburt bis zum Ende der Pubertät. Über die gesamte Lebensdauer steuert es das Zellwachstum, die Chondrogenese, die Muskel- und Knochenentwicklung.

Zusätzlich bestehen wechselseitige Einflüsse auf andere hormonelle Regelkreise. So erhöht GH die periphere Umwandlung von T4 zu T3, umgekehrt stimulieren Sexualhormone die GH-Sekretion und ein physiologischer Androgenspiegel ist Voraussetzung für die Synthese von IGF (Jorgensen et al., 1998, Ovesen et al. 1998). So ist die somatotrope Achse kein geschlossenes System, sondern ein offener Regelkreis mit vielfältigen externen Einflüssen und Wirkungen.

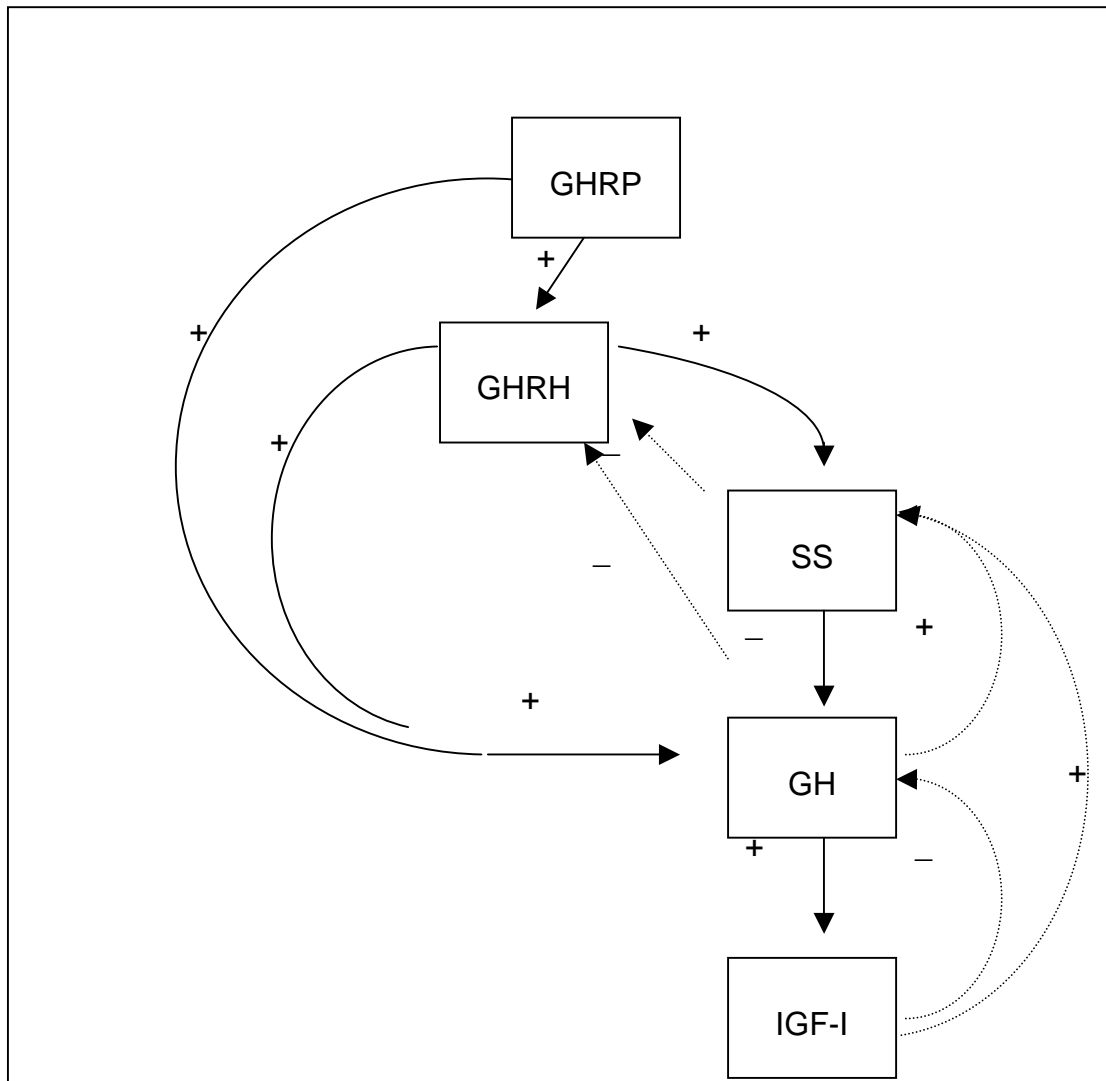


Abb. 2: Schematische Darstellung des somatotropen Regelkreises (modifiziert nach Veldhuis 2003). Durchgezogene Pfeile markieren die hierarchisch hintereinander geschaltete Steuerung des Regelkreises. Die gepunkteten Pfeile markieren das systemeigene Feedback (+: Stimulation, -: Hemmung)

1.3.2. Einfluss von GHRH auf die Hypothalamus-Hypophysen-Nebennieren-Achse

Grundlage der vorliegenden Arbeit ist die GHRH-induzierte Stimulation der GH-Sekretion in der ersten Nachthälfte. Gleichzeitig sinkt der Plasmakortisolspiegel auf die niedrigste Konzentration im Tagesverlauf und Tiefschlafphasen, die sich im EEG als langsamwellige Aktivität darstellen, nehmen zu. Umgekehrt ist bekannt, dass bei Vorherrschen von REM-Schlaf (rapid eye movement) in den frühen Morgenstunden Kortisol sein Tagesmaximum erreicht. Die Regulation der HHN-Achse unterliegt somit einer ausgeprägten zirkadianen Rhythmik. Eine Wechselwirkung mit den unterschiedlichen Schlafphasen wurde mehrfach belegt. Nach exogener Stimulation der ACTH-Ausschüttung bei wachen und schlafenden Probanden zeigte sich, dass der frühe Nachtschlaf und insbesondere der SWS mit der Hemmung der hypothalamisch-hypophysären Antwortbereitschaft eng assoziiert ist. Dabei wird ein bislang ACTH-Release Inhibiting Factor vermutet (Born , Fehm, 1998). Unbekannt ist bislang die Rolle des GHRH in diesem Zusammenhang.

In einigen Arbeiten wurde vermutet, dass GHRH einen inhibitorischen Effekt auf den Kortisolspiegel der frühen Schlafphase ausübt (Steiger et al., 1992, van Cauter et al. 1998, Perras et al. 1999). Darüber hinaus zeigten bisherige Studien eine Zunahme der Tiefschlafphasen nach exogener GHRH-Applikation (Kupfer et al., 1991, Steiger et al., 1992, van Cauter et al. 1998, Perras et al. 1999). Wegen des bekannten Zusammenhanges zwischen der Aktivität der HHN-Achse und dem Ausmaß des Tiefschlafes lässt sich der Einfluss des GHRH auf die Kortisolausschüttung sekundär über eine Stimulation des Tiefschlafanteils in der ersten

Nachhälfte postulieren. Diese Wirkung scheint dabei nach intranasaler Applikation besonders ausgeprägt (Perras et al., 1999). Andererseits wäre auch eine direkte inhibitorische Wirkung von GHRH auf die Hypothalamus-Hypophysen-Nebennieren-Achse denkbar. Dabei bleibt offen, auf welcher Ebene dieser Effekt wirksam wird.

Für die intranasale Applikation von Neuropeptiden wird angenommen, dass sie unter Umgehung der Blut-Hirn-Schranke direkt auf zentrale Strukturen wirken, systemisch verabreicht überwinden die meisten Peptide die Blut-Hirn-Schranke nicht oder nur in geringem Maße. So konnte für ACTH, Insulin und Vasopressin belegt werden, dass sie intranasal verabreicht, innerhalb von 30 Minuten im Liquor nachweisbar sind, ohne systemische Nebenwirkungen zu verursachen, und dass die Wirkung der so verabreichten Teststoffe deutlich länger anhält als nach i. v. Gabe (Pietrowsky et al., 1996, Born et al. 2002). Ähnliche Mechanismen werden für GHRH vermutet. Umgekehrt ist anzunehmen, dass eine intravenöse GHRH-Gabe eine Wirksamkeit auf die außerhalb der Blut-Hirn-Schranke gelegene Hypophyse ausübt, mögliche zentrale Effekte aber nicht nachweisbar sind.

In der vorliegenden Arbeit wurde der IHT (s. 2.2.) gewählt, um eine exogene Stimulation der HHN-Achse auf hypothalamischer Ebene zu erreichen. Eine Differenzierung des Angriffsortes des GHRH ist im Versuch über unterschiedliche Applikationswege möglich. So werden in der vorliegenden Studie die ACTH-, Kortisol- und GH-Spiegel nach intranasaler und intravenöser GHRH-Applikation verglichen.

1.4. Fragestellung

In der vorliegenden Arbeit soll die Kortisolsekretion nach Stimulation durch eine induzierte Hypoglykämie nach Vorbehandlung mit GHRH untersucht werden. Im Einzelnen sollen die folgenden Fragen beantwortet werden:

1. Hemmt GHRH die stimulierte Hypothalamus-Hypophysen-Achse bei gesunden jungen Männern?
2. Zeigen sich Unterschiede in der GHRH-Wirkung in Abhängigkeit von der Applikationsform (intranasal oder intravenös)?
3. Beeinflusst intranasal appliziertes GHRH die periphere GH-Konzentrationen?
4. Beeinflusst GHRH die Befindlichkeit der Probanden?

2. Material und Methoden

2.1 Versuchsaufbau

Für die Versuchsreihe wurden junge Männer im Alter von achtzehn bis fünfunddreißig Jahren gesucht. Jeder der Probanden nahm an drei Versuchen im Abstand von jeweils einer Woche teil. Die Studie wurde nach einem doppelt-blinden crossover-Design aufgebaut. Alle Probanden wurden mit Growth-Hormone-Releasing-Hormone behandelt. An jedem der Versuchstage erhielten die Probanden sowohl eine intravenöse wie auch eine intranasale Test-Probe. Dabei wurde der eigentliche Teststoff GHRH jeweils einmal intravenös und einmal intranasal verabreicht. Alle weiteren Proben enthielten physiologische Kochsalzlösung als Placebo. Die Verum-Versuche wurden zur Kontrolle einem Placeboversuch (physiologische Kochsalzlösung) gegenübergestellt. Hierbei enthielten weder intravenöse Probe noch intranasale Probe den Teststoff GHRH. Weder den Probanden, noch dem Versuchsleiter war bekannt, welche Probe den Teststoff enthielt.

Die Stimulation der Hypothalamus-Hypophysen-Nebennieren-Achse erfolgte gleich bleibend in allen drei Sitzungen durch den Insulin-Hypoglykämie-Test. Durch den hierdurch induzierten Stressreiz auf hypothalamischer Ebene sollten Veränderungen der Hormone GH, ACTH und Kortisol in Bezug auf die jeweilige Vorbehandlung mit GHRH oder Placebo bestimmt werden. Hierzu erfolgten regelmäßige Blutentnahmen sowie begleitend Blutzuckerkontrollen. Des Weiteren wurden auch Veränderungen der Pulsfrequenz und des Blutdruckes gemessen.

Zur Bestimmung der Aktivitäts- und Gemütslage der Probanden bearbeiteten die Teilnehmer die Eigenschaftswörterliste (EWL nach Jahnke und Debus) vor und nach dem Versuch.

Die Versuche begannen jeweils um 12.00 Uhr und enden um 16.30 Uhr, um den Einfluss der zirkadianen Rhythmik auszuschließen.

Die örtliche Ethikkommission äußerte gegenüber der Studie keine Bedenken.

2.2 Probanden

An den Versuchen nahmen vierzehn gesunde, männliche Probanden im Alter zwischen 24 und 31 Jahren teil. Das Durchschnittsalter betrug 26.4 Jahre. Erforderlich war ein Body-Mass-Index von < 26 . Als Ausschlusskriterien galten akute oder chronische Erkrankungen. Ferner sollten die Teilnehmer Nichtraucher sein und keinen Alkohol- oder Drogenabusus betreiben. Diabetes oder Bluthochdruck bei Verwandten ersten Grades durften nicht vorhanden sein. Sowohl psychische, kardiovaskuläre als auch metabolische Erkrankungen der Teilnehmer wurden im Vorfeld ausgeschlossen. Sie nahmen zum Zeitpunkt der Versuche keine Medikamente ein und wurden gebeten, in den Tagen vor Versuchsbeginn einen regelmäßigen Tag-Nacht-Rhythmus einzuhalten (7 – 8 Stunden Nachtschlaf). Außerdem sollten die Versuchspersonen in den vier Stunden vor den Versuchen nicht mehr essen und keinen Kaffee trinken. Das Kollektiv wurde auf Männer beschränkt, da nicht auszuschließen ist, dass zyklische Hormonschwankungen bei Frauen zu Interaktionen mit den Wirkungen der verabreichten Substanzen führen. Alle Versuchspersonen

sonen nahmen freiwillig und gegen Zahlung einer Aufwandsentschädigung teil. Vor Versuchsbeginn wurden sie persönlich und anhand eines Merkblattes über den Ablauf und die möglichen Nebenwirkungen der zu verabreichenden Medikamente aufgeklärt. Jeder einzelne Teilnehmer erteilte sein schriftliches Einverständnis.

2.3 Versuchsablauf

Die Versuche fanden jeweils mittags ab 12.00 Uhr im Schlaflabor der Klinik für Innere Medizin (Station 41c) des Universitätsklinikums Schleswig-Holstein, Campus Lübeck statt .

Die Versuchszeit wurde für alle Sitzungen beibehalten, um etwaige zirkadiane Einflüsse auf die Kortisol-Ausschüttung auszuschließen. Darüber hinaus wurde versucht, die Rahmenbedingungen konstant zu halten. So wurde darauf geachtet, störende äußere Einflüsse wie Lärm, zu unterbinden (schallarmer Raum). Die Probanden legten sich vor Versuchsbeginn in einer halbliegenden Position in ein Bett. In der Vorbereitungszeit wurde den Probanden am rechten Oberarm ein automatisches Blutdruckmeßgerät (boso-medicus) der Firma Bosch & Sohn GmbH und Co., Jungingen angelegt. In eine Antecubitalvene eines jeden Armes wurde je eine Venenverweilkanüle Venflon 2 der Firma BOC Ohmeda AB, Helsingborg, Schweden mit einem Durchmesser von 1.3 und 1.8 mm Durchmesser platziert. Die Verweilkanüle mit dem größeren Durchmesser diente dabei der Blutprobengewinnung, die kleinere der Applikation von Substanzen. Beide wurden im Verlauf durch eine 0.9%ige NaCl-Lösung der Firma Berlin-Chemie AG, Berlin über ein

Infusionsbesteck der Firma BD Infusion Therapie GmbH mit daran angeschlossenen Drei-Wege-Hahn (Discofix) der Firma Braun AG, Melsungen offen gehalten.

Um 12.30 Uhr war Versuchsbeginn ($t = -75$). Es erfolgte die Abnahme der ersten Blutprobenröhrchen/ Monovetten (9 ml Serum ohne Zusatz + 2 ml EDTA) der Firma Saarstedt, Nümbrecht zur Bestimmung der Basalwerte. Danach wurden die Probanden unter einer der folgenden Testbedingungen behandelt: I. 50 μg GHRH intravenös, II. 300 μg GHRH intranasal, III. Placebo (0.9%ige NaCl-

Lösung). Um doppelt-blind Bedingungen zu gewährleisten, wurde zur GHRH-Infusion (Testbedingung I.) begleitend ein Placebo-Nasenspray und umgekehrt zum GHRH-Nasenspray (Testbedingung II.) begleitend eine Placebo-Infusion verabreicht. Während des Placebo-Versuches (Testbedingung III.) enthielten sowohl das Nasenspray als auch die Infusion physiologische Kochsalzlösung (0.9%ige NaCl-Lösung). Für den intravenösen Versuch wurden 50 μg GHRH in 100 ml 0.9%iger Kochsalzlösung aufgelöst und über fünfzehn Minuten mit einer konstanten Geschwindigkeit infundiert. Für die intranasale Verabreichungsform wurden 300 μg GHRH in 3 ml 0.9%iger Kochsalzlösung aufgelöst und mittels eines Dosier-Nasensprayers im Abstand von 20 Sekunden in beide Nasenlöcher über 6 Minuten appliziert.

Zum Zeitpunkt $t = -15$ beantworteten die Probanden zunächst die mehrdimensionale Eigenschaftswörterliste (EWL). Bei Erreichen von $t = \pm 0$ wurde der Insulin-Hypoglykämie-Test (IHT) mit Humaninsulin (Actrapid) der Firma Novo Nordisk Pharma GmbH, Mainz vorgenommen. Für den IHT wurden 0.1 i.E. schnellwirkendes Insulin pro kg Körpergewicht intravenös als Bolus injiziert. Nachfolgend wurde die Blutzuckerkonzentration engmaschig alle fünf Minuten mit einem Beckmann

Glucose Analyzer 2, Beckmann Instruments, München (Glucose-Oxidase Methode) kontrolliert. Es wurde jeweils eine doppelte Bestimmung durchgeführt und der Mittelwert erhoben.

Bei Erreichen einer Hypoglykämie von ca. 45 mg/dl, wurde diese durch Gabe einer Glukoseinfusion (Glucosteril 20%) der Firma Fresenius Kabi GmbH, Bad Homburg beendet.

Für die Bestimmung der Plasmakonzentrationen von GH, ACTH und Kortisol nach der Stimulation wurden zwischen $t \pm 0$ und $t + 90$ Minuten alle 15 Minuten Blutproben entnommen. Danach erfolgten die Blutentnahmen alle 30 Minuten für die verbleibende Zeit bis $t + 150$. Die einzelnen Blutproben wurden zur weiteren Verarbeitung auf Eis gekühlt. Das Zentrifugieren der Blutröhrchen zur Gewinnung von Serum für die spätere Labordiagnostik wurde in einer Kältezentrifuge (2K15) der Firma Sigma, Deisenhofen bei 4000 Umdrehungen pro Minute und 4°Celsius über einen Zeitraum von fünf Minuten vorgenommen. Jeweils 1 ml des Serumüberstandes wurde mit Hilfe einer Pipette in eine 1.5 ml Eppendorfküvetten überführt und anschließend bei -20°Celsius tiefgefroren. Die späteren Bestimmungen der Serumkonzentrationen von GH, Kortisol und ACTH wurden mit Hilfe von verschiedenen Assays und Tests im Labor für klinische Chemie der Universitätsklinik Lübeck vorgenommen (siehe 2.6 Untersuchungsmethoden, Seite 34-37).

Der Blutdruck und die Pulsfrequenz wurden zu den gleichen Zeitpunkten bestimmt wie die Blutproben.

Die EWL wurde den Probanden nochmals zwei Stunden nach der Stimulation zur Bearbeitung vorgelegt.

In einer Untergruppe von sechs Probanden, erfolgte zusätzlich die Bestimmung der GHRH-Kinetik. Nach der GHRH-Applikation wurden in einem Abstand von 2.5 Minuten über insgesamt 10 Minuten Blutproben entnommen. Im Anschluss erfolgten diese alle fünf Minuten über weitere zwanzig Minuten. Das Zentrifugieren der Blutröhrchen zur Gewinnung von Serum für die spätere Labordiagnostik wurde ebenfalls in einer Kältezentrifuge (2K15) der Firma Sigma, Deisenhofen, Deutschland bei 4000 Umdrehungen pro Minute und 4°C über einen Zeitraum von fünf Minuten vorgenommen. Um die Konzentration von GHRH bestimmen zu können, wurden 9 ml Kalium-EDTA - Monovetten vor den Blutentnahmen mit jeweils 1000 µl Trasylol versetzt. Trasylol enthält Aprotinin, einen Kallikrein-Inhibitor aus der Wirkstoffklasse der Proteasen-Hemmer. Hierdurch wurde ein Abbau des zu bestimmenden GHRH vermieden. Verwendet wurde Trasylol der Firma Bayer Vital, Leverkusen. Von dem anschließend zentrifugierten Serumüberstand wurden ebenfalls je 1 ml in Eppendorfküvetten abpipettiert und bei -80°C tiefgefroren. Zur Laboranalyse wurden die Proben auf Trockeneis in das Labor von Prof. Dr. Strasburger im Institut für Innere Medizin des Klinikum Innenstadt der Ludwig-Maximilians Universität, München gesandt.

12.00 h	Vorbereitung: Platzieren des Probanden, Anlegen der Blutdruck- Messung und der Venenverweilkanülen antecubital links und rechts
12.30 h (t -75)	Blutentnahme, Blutdruck- und Pulsmessung, Blutzuckerbe- Stimmung. Gabe von Nasenspray und Kurzinfusion in den Bedingungen I., II., III.
13.30 h (t -15)	Eigenschaftswörterliste
13.45 h (t ±0)	Blutentnahme, Blutdruck- und Pulsmessung, zwischen t ±0 Blutzuckerbestimmung, Insulingabe i.v. und t +35 alle
14.00 h (t +15)	Blutentnahme, Blutdruck- und Pulsmessung, 5 Minuten BZ- Blutzuckerbestimmung Kontrolle,
14.15 h (t +30)	Blutentnahme, Blutdruck- und Pulsmessung, zwischen t +15 Blutzuckerbestimmung bis t +25 Beginn
14.30 h (t +45)	Blutentnahme, Blutdruck- und Pulsmessung, der Glucose- Blutzuckerbestimmung Infusion
14.45 h (t +60)	Blutentnahme, Blutdruck- und Pulsmessung, Blutzuckerbestimmung
15.00 h (t +75)	Blutentnahme, Blutdruck- und Pulsmessung, Blutzuckerbestimmung
15.15 h (t +90)	Blutentnahme, Blutdruck- und Pulsmessung, Blutzuckerbestimmung
15.45 h (t +120)	Eigenschaftswörterliste, Blutentnahme, Blutdruck- und Pulsmessung, Blutzuckerbestimmung
16.15 h (t +150)	Blutentnahme, Blutdruck- und Pulsmessung, Blutzuckerbestimmung

Abb. 3: Schematische Darstellung des Versuchsablaufes der IHT-Versuchsreihe

2.4 Testsubstanz

2.4.1 Growth Hormone – Releasing Hormone

Verwendet wurde für die Studie humanes GHRH₁₋₄₄ der Firma Ferring, Kiel, Deutschland.

Das Nasenspray zur intranasalen Gabe des GHRH enthielt 300 µg GHRH gelöst in 3 ml 0.9%iger Kochsalzlösung. Somit enthielt ein Hub des Sprays 10 µg unter Einbeziehung eines maximalen Rests von 0,5 ml. Die Konzentration betrug somit 100 µg auf 1 ml.

Für die Kurzinfusion wurden 50 µg GHRH in 100 ml 0.9%iger Kochsalzlösung gelöst und mit einer konstanten Rate infundiert. Die Konzentration betrug somit 0,5 µg auf 1 ml.

Nebenwirkungen des GHRH können laut Medikamentenbegleitschein Wärmegefühl im Kopf-, Hals- und Oberkörperbereich sein. Des Weiteren können Störungen des Geruchs- und Geschmacksempfinden auftreten. Leichte Veränderungen des Blutdruckes und der Herzfrequenz sind ebenfalls möglich. Nach intranasaler Applikation sind in seltenen Fällen Missempfindungen in der Nase beschrieben.

2.5. Eigenschaftswörterliste

Zur Erfassung der Befindlichkeit der Probanden vor und nach der Applikation von GHRH bzw. Placebo wurde die Eigenschaftswörterliste (EWL, Janke und Debus, Hogrefe Verlag 1978) eingesetzt. Die EWL ist ein mehrdimensionales Verfahren zur quantitativen Erfassung des aktuellen Befindens. Es handelt sich dabei um eine gebundene Selbstbeurteilung der Probanden. Eigene Befindlichkeit wird nicht frei, sondern anhand vorgegebener Aspekte durch „Zustimmung“ oder „Ablehnung“ beurteilt. Die EWL ist somit geeignet, Veränderungen des Befindens in Abhängigkeit von Interventionen zu erfassen. Sie liegt in einer längeren und einer Kurzform vor. Im Rahmen dieser Untersuchung kam die längere Version (EWL-N) zum Einsatz. Diese Version umfasst 161 Items. Folgende Bereiche und Subskalen werden erfragt:

- Leistungsbezogene Aktivität in den Subskalen „Aktiviertheit“ (A) und „Konzentriertheit“ (B)
- Allgemeine Desaktivität in den Subskalen „Deaktiviertheit“ (C), „Müdigkeit“ (D) und „Benommenheit“ (E)
- Extraversion/Introversion in den Subskalen „Extravertiertheit“ (F) und „Introvertiertheit“ (G)
- Allgemeines Wohlbefinden in den Subskalen „Selbstsicherheit“ (H) und „Gehobene Stimmung“ (I)
- Emotionale Gereiztheit in den Subskalen „Erregtheit“ (J), „Empfindlichkeit“ (K) und „Ärger“ (L)

- Angst in den Subskalen „Ängstlichkeit“ (M), „Deprimiertheit“ (N) und „Verträumtheit“ (O)

Dabei lassen sich die Subskalen A,B,F,G,H und I der positiven Befindlichkeit zuzuordnen, die Subskalen C, D, E, J, K, L, M, N und O der negativen.

2.6 Untersuchungsmethoden

Alle Blutproben wurden im Doppelansatz mit demselben Assay bestimmt und anschließend der Mittelwert der einzelnen Messungen gebildet. Es wurden halbautomatische Kits verwendet.

2.6.1 Growth Hormon (GH) bzw. somatotropes Hormon (STH)

Die Serumanalyse von GH wurde mittels eines Radioimmunassays der Firma DPC Biermann, Bad Nauheim durchgeführt.

Bei diesem doppelten Antikörper-hGH-Verfahren konkurriert Jod ¹²⁵ markiertes Wachstumshormon (Tracer) mit dem des Probandenserums um die gleiche Bindungsstelle an einem wachstumshormonspezifischen Antikörper (Kaninchen - Antikörper). Nach einer zeitlich begrenzten Inkubationszeit wurden die freie und die gebundene Fraktion mittels eines immunpräzipitierenden Reagenz, in dem ein zweiter Antikörper und Polyethylenglycol vorliegen, getrennt. Die entstandene Re-

agenzprobe wurde in einer Gamma-Zählkammer ausgewertet und war der freien Konzentration des hGH umgekehrt proportional. Die genaue hGH-Konzentrationsangabe erfolgte anhand einer Standardkurve.

(Sensitivität: 0,9 ng/ml; Variationskoeffizient: intraassay < 5,9 % zwischen 1,1 - 10,9 ng/ml, interassay < 8,3 % zwischen 1,1 - 10,7 ng/ml)

2.6.2 Growth Hormon Releasing Hormon (GHRH)

Für die quantitative Bestimmung von GHRH aus Kalium-EDTA-Plasma, dem zuvor Trasylol beigegeben wurde, ist ein Fluoreszenz-Immuno-Assay (FIA) verwendet worden.

Bei diesem Assay konkurriert das in der Probe enthaltene GHRH mit dem markierten GHRH (Tracer) um die Bindung an einen polyklonalen Antikörper.

(Sensitivität: 100 pg/ml; Variationskoeffizient: intraassay < 6,8 %, interassay < 8,9 % bei einer Konzentration von 1000 pg/ml)

2.6.3 Adrenocorticotropes Hormon (ACTH)

Das ACTH wurde mit einem Immunoluminometrischen Assay (LUMItest) der Firma Brahms Diagnostica, Hennigsdorf/ Berlin, Deutschland bestimmt.

In diesem Zweischnitt-Assay wurden ebenfalls zwei antigenspezifische monoklonale Antikörper (Mäuse-Antikörper) eingesetzt, die das freie ACTH₁₋₃₉ an ver-

schiedenen Determinanten binden. Einer war dabei lumineszenz-markiert (Tracer) und der andere an der Innenseite des Reagenzröhrchens fixiert. Zunächst wurde das ACTH gebunden und nach einem Waschvorgang markiert. Nach Reaktion sende wurde der überschüssige Tracer ausgewaschen und die verbliebene Lumineszenz gemessen. Dabei verhielt sich der gewonnene Wert direkt proportional zur Konzentration des freien ACTH. Die genaue Konzentrationsangabe erfolgte ebenso anhand einer Standardkurve (Lumineszenzsignal-Konzentrations-Profil). (Sensitivität: 1,0pg/ml; Variationskoeffizient: intraassay < 4,9 % zwischen 4,2 - 347 pg/ml, interassay <12,4 % zwischen 1,5 - 132,6 pg/ml)

2.6.4 Kortisol

Die Kortisolbestimmung wurde mit Hilfe eines Enzymun-Test ES 300 der Firma Boehringer Mannheim Immundiagnostica, Mannheim durchgeführt.

In diesem enzymimmunologischen in-vitro Test zur quantitativen Bestimmung von Kortisol wurde zunächst das Probandenserum und eine Inkubationslösung (Kortisol-POD-Konjugat) in mit Kortisol-Antikörpern (Schaf-Antikörper) beschichtete Kunststoffröhrchen gegeben. Nach Hinzufügen dieser beiden Lösungen erfolgte eine Immunreaktion an den gebundenen Antikörpern. In einem anschließenden Trennschritt wurden die ungebundenen Fraktionen mittels einer Waschlösung ausgespült. Nach dem Zufügen einer Substrat-Chromogen-Lösung, die als Indikator diente, wurde die Extinktion in einem Spektralphotometer (420nm Wellenlänge)

gemessen. Dabei war die Kortisol-Konzentration umgekehrt proportional zur Extinktion und wurde anhand einer Standardkurve angegeben.

(Sensitivität: ca. 1 µl/dl; Variationskoeffizienten: intraassay/interassay < 5,1 % zwischen 1 und 50 µg/dl)

2.5 Statistische Auswertung

Die Mittelwerte der gemessenen Blutparameter sowie von Blutdruck und Puls wurden mittels Kovarianzanalyse (ANCOVA) auf ihre Signifikanz überprüft. Die Analyse beinhaltete Messwertwiederholungsfaktoren für Behandlung (GHRH / Placebo) und Zeitpunkt (Messpunkt nach IHT). Die Messwerte zum Zeitpunkt $t \pm 0$ dienten als Kovariante. Auf diese Weise werden Baseline-Schwankungen berücksichtigt.

Die Auswertung der EWL erfolgte in den von Janke und Debus (1978) vorgegebenen 15 Dimensionen, denen die 161 Eigenschaftsworte aufgrund empirischer Untersuchungen zugeordnet werden. Die Auswertung der Subskalen erfolgte mittels Schablone. Die statistische Auswertung der Ergebnisse wurde getrennt nach den einzelnen Subskalen ebenfalls mit einer Kovarianzanalyse vorgenommen. Die Irrtumswahrscheinlichkeit wurde auf 5% festgelegt. Somit wurde ein p-Wert <0.05 als signifikant angesehen.

Die subjektiven Äußerungen der Probanden bezüglich Nebenwirkungen und körperlichen Empfindungen nach dem IHT sowie die Beurteilung ihrer körperlichen Verfassung durch den Versuchsleiter wurden prozentual auf die Gesamtzahl der durchgeführten IHT's (=100%) bezogen dargestellt.

3. Ergebnisse

3.1. GHRH Plasmakonzentration

Bei sechs der Studienteilnehmer wurde nach Beendigung der intravenösen Testbedingung (t -60) zusätzlich zu den Verlaufsparemtern von GH, ACTH und Kortisol auch die GHRH-Kinetik im Blut bestimmt.

Nach Beendigung der Infusion von 50 µg GHRH gelöst in 100ml 9% NaCl-Lösung stieg bei vier Teilnehmern schon nach 2.5 Minuten die maximale GHRH-Konzentration auf über 2000 pg/ml. Bei den zwei weiteren Probanden erreichte die GHRH-Konzentration nach 5 Minuten ihr Maximum. Hier waren jedoch die Werte mit <1600 pg/ml deutlich geringer. Die absoluten Maxima beliefen sich zwischen 1400 ng/ml und 2496 pg/ml. 10 Minuten nach Beendigung der Infusion verringerte sich bei allen sechs Probanden die Konzentration gleichmäßig. Weitere 20 Minuten später (t -30), bei der letzten GHRH-Bestimmung, betrug der Wert im Mittel 644 pg/ml und war damit weiterhin deutlich rückläufig.

Im selben Zeitfenster wurden aufgrund des doppelt-blind- Studiendesigns auch die Verlaufswerte der GHRH-Kinetik nach intranasaler Applikation von 300 µg GHRH gelöst in 3 ml 9% NaCl-Lösung bestimmt. Das Einnehmen des Nasensprays in 20 Sekunden-Abständen erfolgte bis zu dem Zeitpunkt t -69.

2.5 Minuten nach Beendigung der intravenösen Applikation, also 11.5 Minuten nach Beendigung der intranasalen Testbedingung war lediglich bei einem Probanden eine diskrete Erhöhung der Plasmakonzentration von GHRH messbar. Das

Maximum war 10 Minuten nach Meßbeginn mit 230 pg/ml erreicht. Auch hier erfolgte ähnlich den oben beschriebenen Verläufen eine kontinuierliche Abnahme der GHRH-Konzentration. Weitere 20 Minuten später betrug der letzte gemessene Wert 124pg/ml. Bei den übrigen Probanden blieben alle bestimmten Werte unterhalb der Nachweisgrenze des verwendeten Fluoreszenz- Immunoassays.

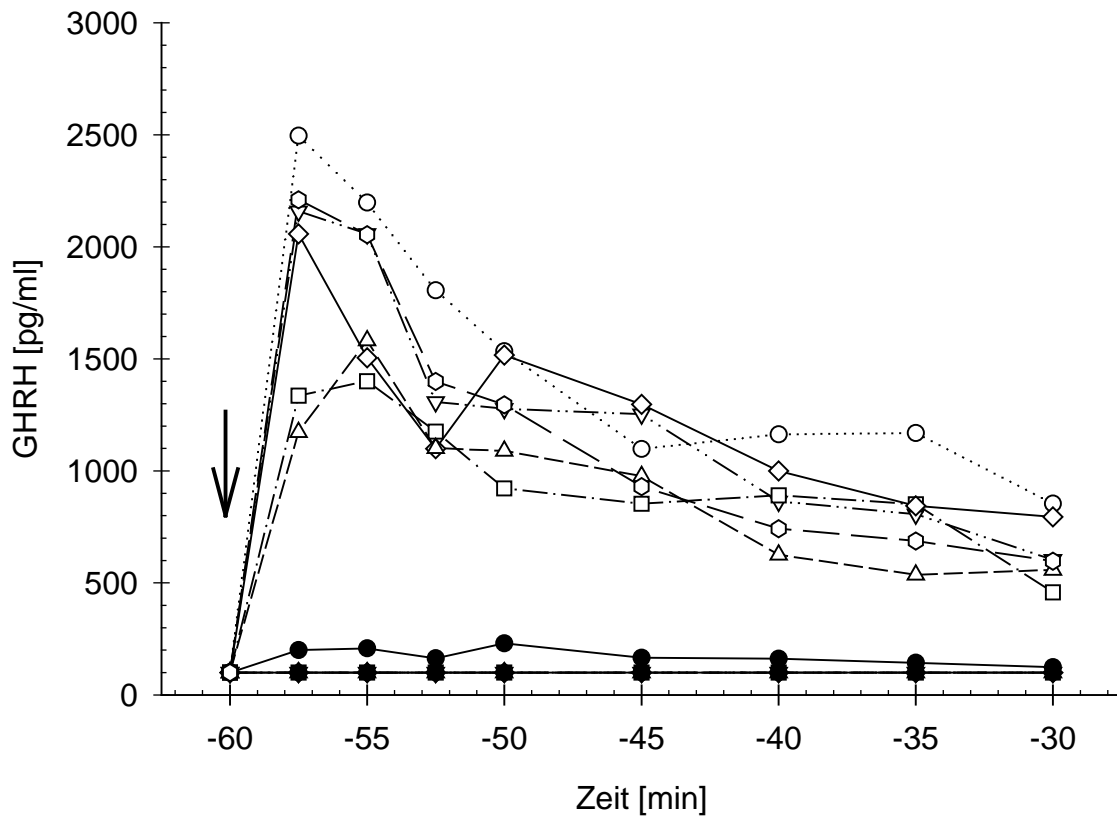


Abb. 4: Kinetik der absoluten GHRH-Plasmakonzentrationen bei sechs Probanden nach intravenöser Infusion von GHRH ($50\mu\text{g}$ GHRH in 100 ml 0.9% NaCl, offene Zeichen) und nach intranasaler Gabe von GHRH ($300\mu\text{g}$ GHRH in 3 ml 0.9% NaCl, schwarze Zeichen). Nach intranasaler Applikation zeigte nur ein Proband eine diskrete Erhöhung des GHRH-Plasmaspiegels, während bei den anderen fünf Probanden die GHRH-Spiegel im Blutserum unterhalb der Nachweisgrenze des Assays blieben. t -60 markiert dabei den Zeitpunkt der Beendigung der intravenösen Applikation (schwarzer Pfeil). t -62,5 markiert den Zeitpunkt der ersten Probenabnahme zur GHRH-Plasmakonzentrations-Bestimmung.

3.2 Effekte von GHRH auf die GH-Ausschüttung

Nach intravenöser Applikation von 50 µg GHRH gelöst in 100ml 9% NaCl-Lösung stiegen die Plasmakonzentrationen von GH bis zum Zeitpunkt t -30 auf den hochsignifikanten Maximalwert von 9.96 +/-2.16 ng/ml ($p < 0,01$). Im Anschluss bildeten sich die Werte bis zum Zeitpunkt t ±0 auf Ausgangsniveau wieder zurück. Die intranasale Testbedingung mit 300 µg GHRH gelöst in 3 ml 9% NaCl-Lösung vermochte trotz deutlich höherer Konzentration pro ml keine Veränderung der vorhandenen GH-Ausgangskonzentration zu bewirken. Ähnlich verhielt es sich mit der Placebo-Testbedingung. Zum Zeitpunkt t ±0 erfolgte der IHT mit 0.1 i.E. pro kg KG. Mit einer Zeitverzögerung von 15 Minuten nach Stressinduktion setzte bei allen Applikationsformen eine vermehrte GH-Freisetzung ein. Zum Zeitpunkt t +45 wurden unter intravenösen Bedingungen hochsignifikante Maxima von 20.25 +/-4.13 ng/ml ($p < 0.01$) gegenüber der Placebobedingung erreicht. War der Teststoff intranasal verabreicht worden oder hatten die Probanden nur Placebo erhalten, wurden die Maxima zum Zeitpunkt t +60 erreicht. Dabei lag das GH-Konzentrationsmaximum im Plasma bei der intranasal vorbehandelten Gruppe mit 14.01 +/-3.14 ng/ml über dem der Placebo-Vergleichsgruppe mit 10.90 +/-3.76 ng/ml bei gleichem Verlauf ($p > 0.5$) und einem verspäteten Maximum bei t+60. Im weiteren Verlauf vielen die Werte aller Gruppen wieder ab und erreichten zum Zeitpunkt t +120 annähernd die Ausgangswerte vor dem Versuch. Bis zur letzten Bestimmung t +150 blieben die Werte von im Mittel 2.13 ng/ml stabil.

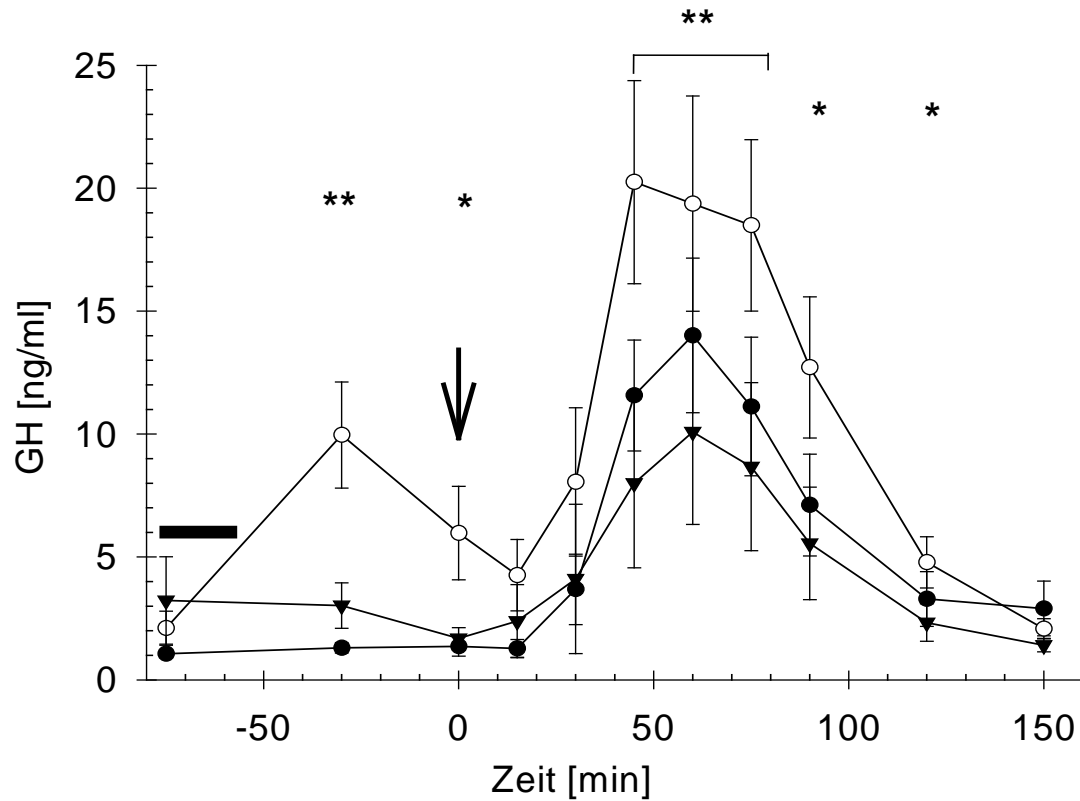


Abb. 5: Mittelwerte (\pm SEM) der Plasmaspiegel von GH bei vierzehn Probanden vor und nach der Stimulation der HHN- Achse durch einen IHT. Drei Bedingungen sind dargestellt: Vorbehandlung mit GHRH als intravenöse Kurzinfusion (50 μ g, offene Kreise) oder GHRH als intranasale Applikation (300 μ g, schwarze Kreise) und Placebo (NaCl 0.9%, sowohl i.v. als auch i.n., schwarze Dreiecke). Auf der Zeitachse markiert t -60 den Zeitpunkt der abgeschlossenen Infusion bzw. Entleerung des Nasensprays (schwarzer Balken), t \pm 0 den Zeitpunkt der Insulin-Stress-Stimulation (schwarzer Pfeil). ** $p < 0.01$, * $p < 0.05$ für Unterschiede im Vergleich zu den Effekten nach Placebobehandlung.

3.3 Effekt von GHRH auf die IHT-induzierte ACTH-Ausschüttung

Die Basalwerte der Serumkonzentration von ACTH war bis zum Zeitpunkt des IHT ($t \pm 0$) und bis $t +15$ unter jeder Versuchsbedingung gleich bleibend unter 20 pg/ml. Die Tiefstwerte vor dem IHT betragen für vorbehandelte Probanden mit GHRH intravenös 14.90 \pm 1.40 pg/ml; nach intranasaler Vorbehandlung 15.15 \pm 1.52 pg/ml; in der Placebogruppe 15.01 \pm 2.18 pg/ml (Mittelwert \pm SEM). 30 Minuten nach der IHT- Stimulation wurden unter i.v.-Bedingungen die Maximalwerte von 79.31 \pm 23.81 pg/ml (Mittelwert \pm SEM) erreicht. In den Intranasal- und Placebovergleichsgruppen traten diese bei $t +45$ auf. Bei mit GHRH i.n. vorbehandelten Probanden betrug dieser 73.55 \pm 22.14 pg/ml (Mittelwert \pm SEM), bei der Placebogruppe 69.72 \pm 25.47 pg/ml (Mittelwert \pm SEM). Für alle Vorbehandlungsmethoden war nach Erreichen ihrer Maxima ein gleichmäßiger Rückgang der Plasmawerte erkennbar. Ab $t +120$ befanden sich alle Werte wieder auf ihrem Ausgangsniveau. Signifikante Unterschiede zwischen den Behandlungsgruppen bestanden nicht.

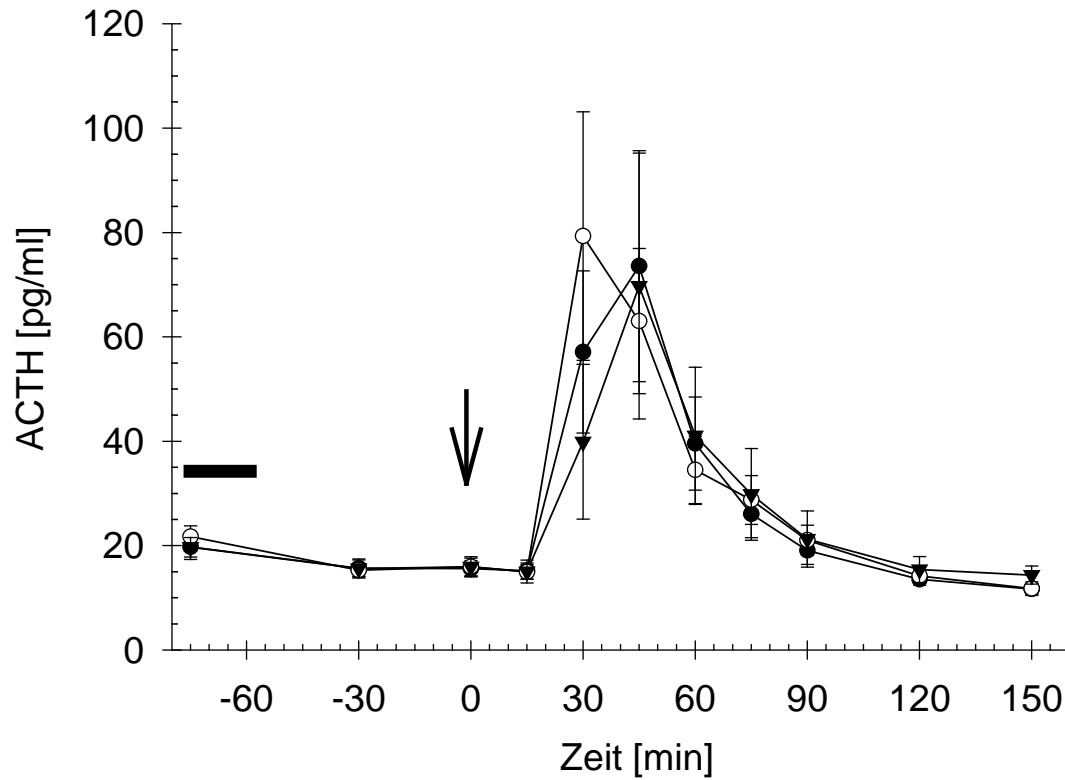


Abb. 6: Mittelwerte (\pm SEM) der Plasmaspiegel von ACTH bei vierzehn Probanden vor und nach der Stimulation der HHN- Achse durch einen IHT. Drei Bedingungen sind dargestellt: Vorbehandlung mit GHRH als intravenöse Kurzinfusion (50 μ g, offene Kreise) oder GHRH als intranasale Applikation (300 μ g, schwarze Kreise) und Placebo (NaCl 0.9%, sowohl i.v. als auch i.n., schwarze Dreiecke). Auf der Zeitachse markiert t -60 den Zeitpunkt der abgeschlossenen Infusion bzw. Entleerung des Nasensprays (schwarzer Balken), t \pm 0 den Zeitpunkt der Insulin-Stress-Stimulation (schwarzer Pfeil). ** $p < 0.01$, * $p < 0.05$ für Unterschiede im Vergleich zu den Effekten nach Placebobehandlung.

3.4. Effekt von GHRH auf die IHT-induzierte Kortisolausschüttung

Die Basalwerte der Serumkonzentration von Kortisol waren ausgehend von 9.45 pg/ml unter i.n.-Bedingungen, 10.58 pg/ml unter i.v.-Bedingungen und 9.47 pg/ml unter Placebobedingungen bis zum Zeitpunkt des IHT ($t \pm 0$) und sogar bis $t +15$ unter jeder Versuchsbedingung rückläufig. Die maximalen Tiefstwerte betragen zu diesem Zeitpunkt für vorbehandelte Probanden mit GHRH intravenös 6.33 ± 0.88 pg/ml; für vorbehandelte Probanden mit GHRH intranasal 6.03 ± 0.85 pg/ml; für vorbehandelte Probanden mit Placebo 5.72 ± 0.35 pg/ml (Mittelwert \pm SEM). 60 Minuten nach der IHT- Stimulation wurden unter allen Bedingungen die Maximalwerte erreicht. Sie betragen 16.20 ± 0.77 pg/ml (Mittelwert \pm SEM) für die Intravenösgruppe. In der Intranasalvergleichsgruppe stand der Wert bei 13.96 ± 1.51 pg/ml (Mittelwert \pm SEM) und in der Placebogruppe waren diese am niedrigsten mit 11.37 ± 1.85 pg/ml (Mittelwert \pm SEM). Signifikante Differenzen bestanden zum Zeitpunkt $t +45$ und $t +60$ sowohl für die intranasal als auch die intravenös behandelte Gruppe ($p < 0.05$). Dabei stieg die Kurve nach intravenöser Vorbehandlung höher als nach intranasaler. Für alle Vorbehandlungsmethoden war nach Erreichen ihrer Maxima ein gleichmäßiger Rückgang der Plasmawerte erkennbar. Ab $t +150$ befanden sich alle Werte wieder auf ihrem Ausgangsniveau.

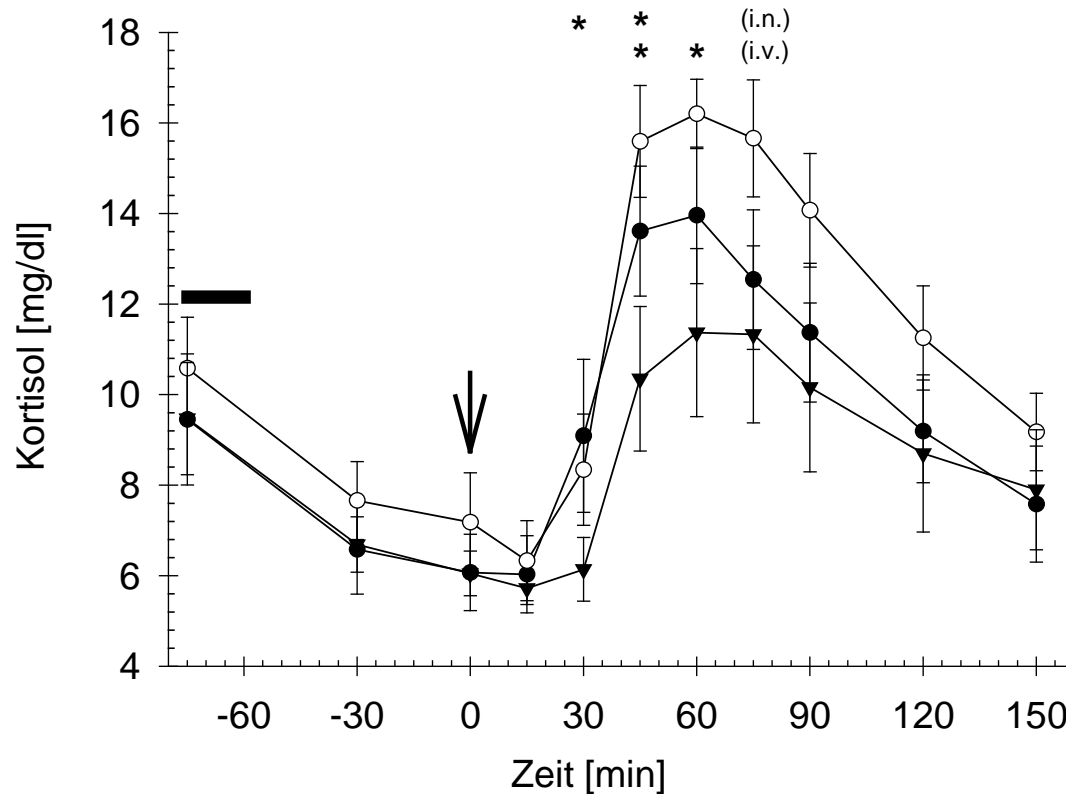


Abb. 7: Mittelwerte (\pm SEM) der Plasmaspiegel von Kortisol bei vierzehn Probanden vor und nach der Stimulation der HHN- Achse durch einen IHT. Drei Bedingungen sind dargestellt: Vorbehandlung mit GHRH als intravenöse Kurzinfusion (50 μ g, offene Kreise) oder GHRH als intranasale Applikation (300 μ g, schwarze Kreise) und Placebo (NaCl 0.9%, sowohl i.v. als auch i.n., schwarze Dreiecke). Auf der Zeitachse markiert t -60 den Zeitpunkt der abgeschlossenen Infusion bzw. Entleerung des Nasensprays (schwarzer Balken), t \pm 0 den Zeitpunkt der Insulin-Stress-Stimulation (schwarzer Pfeil). ** $p < 0.01$, * $p < 0.05$ für Unterschiede im Vergleich zu den Effekten nach Placebobehandlung.

3.5. Effekt von GHRH auf die Befindlichkeit

Die Auswertung der Eigenschaftswörterliste ergab signifikante Ergebnisse. Ausgewertet wurden die Daten auf der Ebene der Klassen (positive Befindlichkeit/ negative Befindlichkeit), der Bereiche (Leistungsbezogene Aktivität, Extraversion/ Introversion, Allgemeines Wohlbefinden, Allgemeine Desaktivität, Emotionale Geiztheit und Angst) und auf der Ebene der Subskalen (Aktiviertheit, Konzentriertheit, Extravertiertheit, Introvertiertheit, Selbstsicherheit, Gehobene Stimmung, Deaktiviertheit, Müdigkeit, Benommenheit, Erregtheit, Empfindlichkeit, Ärger, Ängstlichkeit, Deprimiertheit, Verträumtheit). Im Versuchsverlauf, d.h. zwischen dem Zeitpunkt der ersten Erfassung und dem Zeitpunkt der zweiten Erfassung zeigte sich signifikante Veränderung der Befindlichkeit für „Selbstsicherheit“ und „Empfindlichkeit“ der Probanden. Hierbei waren für „Selbstsicherheit“ nach beiden Applikationsformen von GHRH intranasal 5.26 ± 0.43 und GHRH intravenös 5.30 ± 0.47 die Werte im Vergleich zur Placebogruppe 3.44 ± 0.43 erhöht ($p < 0.05$). Bezüglich der „Empfindlichkeit“ bestand nach GHRH intranasal zum Ende des Experiments eine geringere Wertung im Vergleich zur Placebobedingung (0.87 ± 0.20 versus 0.13 ± 0.20 , $p < 0.02$). Nach GHRH intravenös betrug der Wert 0.54 ± 0.23 . Zwei Probanden beschrieben in der EWL eine ausgeprägte Abnahme der leistungsbezogenen Aktivität und eine Zunahme von Desaktivität im Verlauf. Diese Veränderung trat bei einem der Probanden unter intranasaler Applikation des GHRH, beim zweiten unter intravenöser Applikation auf. Möglicherweise handelt es sich bei diesem Effekt um Nebenwirkungen der Hypoglykämie in Abhängigkeit von der Tagesform der Probanden.

3.6 Blutdruck und Puls

Blutdruck und Herzfrequenz lagen vor Gabe des Teststoffes im normalen Bereich. Systolischer Blutdruck (mmHg): 129.6 ± 2.9 in der Placebogruppe, 127.0 ± 2.3 in der intravenösen Behandlungsgruppe, 131.3 ± 2.9 in der intranasalen Behandlungsgruppe. Diastolischer Blutdruck (mmHg): 74.1 ± 2.2 in der Placebogruppe, 74.0 ± 2.5 in der intravenösen Behandlungsgruppe, 75.4 ± 2.2 in der intranasalen Behandlungsgruppe. Herzfrequenz (bpm): 58.6 ± 2.3 in der Placebogruppe, 57.9 ± 2.6 in der intravenösen Behandlungsgruppe, 58.2 ± 2.3 in der intranasalen Behandlungsgruppe. Keiner dieser Parameter wurde durch die GHRH-Administration beeinflusst. Unter Hypoglykämie bestand ein Anstieg der Herzfrequenz, der jedoch in allen drei Behandlungsgruppen vergleichbar war und keine signifikanten Differenzen aufwies.

4. Diskussion

Die vorliegende Studie überprüfte die Hypothese, dass GHRH einen inhibitorischen Einfluss auf die stimulierte ACTH und Kortisol-Freisetzung des wachen Probanden ausübt. Dieser Hypothese liegt die Beobachtung zugrunde, dass während des frühen Nachtschlafes eine Koinzidenz der niedrigsten Kortisolwerte im Vierundzwanzig-Stunden-Verlauf mit gleichzeitig maximaler GH-Ausschüttung vorliegt. Diese hormonellen Veränderungen gehen einher mit einer Zunahme des langsamwelligen Schlafes (SWS) (Born et al., 1988, Born und Fehm, 1998). Unklar blieb bisher, ob GHRH einen direkten inhibitorischen Einfluss auf die HHN-Achse ausübt.

Die Ergebnisse des vorliegenden Experiment zeigen jedoch entgegen den Erwartungen in beiden Behandlungsgruppen auf die Vorbehandlung mit GHRH keine Abschwächung, sondern einen signifikanten Anstieg ($p < 0,01$) der Kortisolsekretion auf die Insulin-induzierte Hypoglykämie. Dieser war nach intravenöser Gabe ausgeprägter als nach intranasaler. Für den ACTH-Spiegel zeigte sich ein um 15 Minuten vorgezogener Peak nach intravenöser GHRH-Applikation, nach intranasaler Applikation erreichte der ACTH-Plasmaspiegel sein Maximum zur gleichen Zeit wie nach Placebogabe, die Konzentration lag dabei etwa 5 pg/ml höher und erreichte keine Signifikanz.

Vorausgegangene Studien zeigten eher differente Ergebnisse bzgl. Der Wirkung von GHRH auf die Stressreaktion. Eine parallel aufgebaute Untersuchung fand unveränderte Kortisol- und ACTH-Spiegel nach Stimulation der ACTH- und Korti-

sol-Sekretion mittels CRH/ Vasopressin (Perras et al. 2002). Die kombinierte Gabe von CRH/Vasopressin setzt den stimulierenden Reiz anders als der IHT auf hypophysärer Ebene (Fehm et al., 1988). Dieses Ergebnis legt nahe, dass der aktivitätssteigernde Einfluss von GHRH auf die hypophysär-adrenale Antwortbereitschaft auf einer der Hypophyse übergeordneten Ebene, vermutlich im Hypothalamus vermittelt wird.

14 gesunden Probanden wurde GHRH entweder intravenös oder intranasal verabreicht. Von der intranasalen Gabe wird angenommen, dass der Teststoff GHRH zentrale Regionen auf direktem Weg unter Umgehung der Blut-Hirn-Schranke erreicht (Fehm et al., 2000, Born et al., 2002). Nach intravenöser Gabe gelangt GHRH in den peripheren Blutkreislauf. Bislang gibt es keine sicheren Daten, ob GHRH die Bluthirnschranke passiert oder vollständig im peripheren Kreislauf verbleibt. In den nachfolgenden Messungen zeigt sich der erwartete Anstieg der GH-Konzentration auf 9.96 ng/ml nach intravenöser Administration, nach intranasaler Applikation bleibt der GH-Plasmaspiegel unverändert (s. Abb.5). Dieses Ergebnis legt nahe, dass das intranasal verabreichte GHRH nicht in den peripheren Kreislauf gelangt. So wurde auch im direkten GHRH-Nachweis kein Anstieg der Plasmakonzentration belegt (s. Abb.4).

Hinsichtlich der ACTH-Plasmaspiegel fanden sich in der vorliegenden Untersuchung keine signifikanten Unterschiede zwischen den zwei Behandlungsgruppen und der Placebogruppe. Da in der gesamten Studie die gemessenen ACTH-Werte einer breiten Variabilität unterlagen, schließt eine Beeinflussung der ACTH-

Sekretion nach GHRH-Vorbehandlung eine Vermittlung über die Hypophyse jedoch nicht aus. Der gleichermaßen signifikante Anstieg der adrenalen Aktivität nach intravenöser und intranasaler GHRH-Applikation stützt die Vermutung, dass die GHRH-Aktivität über den Hypothalamus vermittelt wird. Da die intranasale GHRH-Gabe zu keiner messbaren Erhöhung der GHRH-Konzentration im zirkulierenden Blut und zu keiner GH-Sekretion führte, ist eine direkte Wirkung auf die Hypophyse nicht plausibel. Trotzdem erhöhte auch das intranasal verabreichte GHRH die Insulin-induzierte Kortisolfreisetzung, wenn auch etwas weniger deutlich als die intravenöse Gabe. Diese Ergebnisse deuten darauf hin, dass intranasal verabreichtes GHRH zentrale Regionen direkt erreicht und seine mögliche Wirkung auf den Hypothalamus oder übergeordnete Zentren ausübt. Vorangehende Studien haben ähnliche Effekte für andere Neuropeptide wie Vasopressin, Insulin, MSH/ACTH4-10, Cholezystokinin und ANP beim Menschen nachgewiesen (Perras et al. 2004, Fehm et al., 2000, Pietrowsky et al., 1996a und b). Für einige dieser Peptide wurden erhöhte Liquorkonzentrationen nach intranasaler Applikation belegt (Born et al., 2002). Interessanterweise korrespondierte die erhöhte Liquorkonzentration nicht zwangsläufig mit einer erhöhten Konzentration im peripheren Blutkreislauf. Damit scheint eine direkte Passage ins Gehirn möglicherweise im Sinne eines retroaxonalen Transportes wahrscheinlich ohne vorherige Resorption in den Blutkreislauf.

Diese Vermutung wird gestützt durch Studien, die GHRH nach intravenöser Applikation zentrale psychotrope Wirkungen zuschreiben (Marshall et al., 1999). Subjektive Stimmungsparameter zeigten eine Veränderung wie beispielsweise eine Zunahme der „Selbstsicherheit“ und „Extraversion“ und eine Verminderung von

„Sensitivität“, die nicht der Aktivierung der HHN-Achse zuzuordnen ist (Plihal et al., 1996), sondern vielmehr der direkten zentralen GHRH-Wirkung. Diese Befunde ließen sich in der vorliegenden Studie z.T. reproduzieren. Die Auswertung der verwendeten Eigenschaftswörterliste (EWL) ergab signifikante Veränderung der aktuellen Befindlichkeit in 2 der 15 Subskalen. Die in Einzelfällen beschriebene Zunahme von Müdigkeit und Schwindel entspricht den vorbeschriebenen Befunden nicht und ist wohl eher als Nebenwirkung des IHT zu werten.

Alternativ zu einer direkten zentralen GHRH-Wirkung ist auch ein sekundärer Effekt des Peptids über seine Stimulierung der Somatostatin-Sekretion denkbar. Von Somatostatin ist ein inhibitorischer Einfluss auf die GHRH und GH-Sekretion bekannt (Aguila et al. 1985). In Übereinstimmung mit Studien, die eine vermehrte spontane Kortisol-Sekretion nach intravenöser Somatostatin-Applikation beschreiben (Ambrosio et al., 1998), könnten die Effekte der vorliegenden Untersuchung auch auf eine stimulierte Somatostatin-Sekretion hindeuten. Die Wirkung des GHRH auf die erhöhte Kortisolfreisetzung wäre dann kein direkter, sondern vielmehr ein indirekter Effekt. Dagegen spricht, dass in einer Studie nach Somatostatin-Gabe eine reduzierte Ansprechbarkeit der hypophysär-adrenalen Aktivität auf den IHT beobachtet wurde (Petraglia et al., 1986). In einem neueren Review wird sogar die Rolle von Somatostatin als CRIF (Corticotropin Release Inhibiting Factor) diskutiert (Engler et al., 1999).

Somatostatin nimmt jedoch keinen Einfluss auf die basalen ACTH-Spiegel oder die ACTH-Reaktion auf CRH, sodass es nicht auf hypophysärer Ebene die corti-

cotrope Funktion reguliert. Somatostatin vermindert die basalen ACTH-Spiegel bei Patienten mit M. Addison und hemmt die POMC und Cortisolsekretion nach IHT, woraus sich ein suprahypophysärer Angriffsort ableiten lässt (Engler, 1999).

Auch unsere Befunde, dass intravenös verabreichtes GHRH zu einem konsekutiven Anstieg der GH-Plasmaspiegel führte, spricht eher gegen einen Somatostatinvermittelten Effekt. Von einer vermehrten Somatostatin-Aktivität ist vielmehr eine Inhibition der GH-Sekretion zu erwarten. Gleichbleibende GH-Spiegel nach intranasaler GHRH-Gabe lassen eine Vermittlung über Somatostatin ebenfalls eher unwahrscheinlich werden.

Der IHT gilt als bekannter Stimulus für die GH-Sekretion und wird im klinischen Alltag zur Wachstumshormontestung bei Verdacht auf GH-Mangel verwandt. In der vorliegenden Untersuchung zeigte sich nach IHT in allen drei Behandlungsgruppen der erwartete GH-Anstieg. Dabei fand sich ein signifikant höherer GH-Plasmaspiegel in der intravenös vorbehandelten Gruppe im Vergleich zu den zwei anderen Behandlungsgruppen. Die vermehrte GH-Sekretion bei den intravenös vorbehandelten Probanden ist schwer zu interpretieren. Möglicherweise handelt es sich um einen Summationseffekt basierend auf der Stimulation der GH-Sekretion durch GHRH und den IHT. In anderen Studien konnten nach länger andauernder GHRH-Infusion ähnliche Reaktionen auf den IHT nicht beobachtet werden (Schulte et al., 1986). Die in dieser Untersuchung beobachtete vermehrte Ansprechbarkeit der GH-Sekretion auf den IHT nach einmaliger GHRH-Gabe wird bei längerfristiger Applikation möglicherweise maskiert im Sinne eines Desensibilisierungsprozesses auf hypophysärer Ebene.

Der Einfluss von Hormonen der HHN-Achse auf das Sekretionsmuster des somatotropen Systems ist Gegenstand vieler Forschungsprojekte. Im Gegensatz dazu ist über die Auswirkung der somatotropen Achse auf die ACTH- und Kortisolsekretion insbesondere beim gesunden Menschen nur wenig bekannt. Mehrere Studien konzentrierten sich auf die Wirkung von GHRH auf Schlaf. Die hier beobachtete Zunahme des langsamwelligen Schlafes nach GHRH-Gabe ist vermutlich ebenfalls als direkter zentraler Effekt zu werten. Nach intravenöser Gabe ist auch in diesen Untersuchungen von einer ausreichenden Passage der Blut-Hirn-Schranke auszugehen. In einigen Arbeiten wurde die Zunahme des Slow-wave-sleep (SWS) von niedrigen Kortisolspiegeln begleitet (Steiger et al., 1992, Perras et al., 1999). Diese Ergebnisse können einerseits als begleitende Effekte des SWS gedeutet werden. Dieser hemmt bekanntermaßen die HHN-Aktivität (Bierwolf et al., 1997, Späth-Schwalbe et al., 1993). Andererseits wäre auch ein direkter Einfluss von GHRH auf die HHN-Achse denkbar, erscheint aber eher unwahrscheinlich.

Einige Studien untersuchten das Zusammenspiel der somatotropen mit der HHN-Achse an Patienten mit spezifischen Erkrankungen des somatotropen oder hypophysär-adrenergen Systems. Jorgensen et al. diskutierten in einem Review die möglichen Auswirkungen der GHRH/GH-Aktivität auf die HHN-Achse bei GH-defizienten Patienten (1998). Nach GH-Administration zeigten einige dieser Patienten unveränderte Kortisolspiegel, andere wiederum einen Abfall der basalen Kortisolkonzentration (Juul et al. 1998, Toogood et al., 2000, Rodriguez-Arno et al., 1996). Bei Patienten, die unter einem Morbus Cushing leiden, wurde GH eine inhibitorische Wirkung auf die HHN-Achse zugeschrieben, dabei konnte die glei-

che Studie eine ähnliche Wirkung bei gesunden Probanden nicht nachweisen (Schteingart 1980). Im Tierversuch zeigten Mäuse mit einer erhöhten Expression des GRHR-Gens einen Anstieg der GH- und auch der Corticosteroidplasmaspiegel (Debeljuk et al., 1999). Diese Befunde sind jedoch kritisch zu bewerten, da Mäuse ausgeprägte intraindividuelle Schwankungen hormoneller Sekretionsmuster zeigten und die Ergebnisse keine einheitliche Interpretation zuließen. Genauso stellen auch Patienten mit GH-Mangel oder M. Cushing keine gesunde Stichprobe dar. Die gewonnenen Ergebnisse sind somit nicht als physiologisches Zusammenspiel der somatotropen mit der HHN-Achse zu werten. Die vorliegende Studie untersuchte erstmals den Effekt von GHRH auf die HHN-Achse beim gesunden, wachen Menschen.

Zusammenfassend spricht die gesteigerte adrenale Reaktion auf den IHT als Stimulationsreiz nach Vorbehandlung GHRH für eine mögliche stimulierende Wirkung des Teststoffes auf die HHN-Achse. Da intranasal verabreichtes GHRH nicht im Blutkreislauf nachgewiesen wurde und zu keiner peripheren GH-Sekretion führte, ist der Effekt am ehesten dem Hypothalamus oder übergeordneten Zentren zuzuordnen. Eine Passage der Blut-Hirn-Schranke des intravenös verabreichten GHRH ist anzunehmen. Ebenso ist von einem direkten zentralen GHRH-Effekt auszugehen, die Vermittlung über Somatostatin ist als eher unwahrscheinlich anzusehen. Somit sind die minimalen Kortisolspiegel im frühen Nachtschlaf höchstwahrscheinlich nicht auf einen direkten Einfluss der parallel stark erhöhten GH-Spiegel zurückzuführen, sondern im Rahmen des zentralnervösen Schlafgeschehens zu sehen.

5. Zusammenfassung

Grundlage der vorliegenden Studie ist die bekannte Hemmung der Kortisolsekretion in der ersten Nachthälfte. Gleichzeitig erreicht die GHRH-induzierte Sekretion des Wachstumshormons (GH) im Plasma zu dieser Zeit ihr Maximum im gesamten vierundzwanzigstündigen Tagesverlauf. In Koinkidenz mit diesen hormonellen Veränderungen nimmt der langsamwellige Schlaf (SWS) zu. Unklar bleibt die Rolle des GHRH in diesem Zusammenspiel. Vorausgegangene Studien belegen einen Zusammenhang zwischen der GHRH- und GH-Sekretion und der Zunahme des SWS. Ein direkter Einfluss von GHRH auf die Kortisolsekretion wurde mehrfach vermutet, konnte jedoch bislang nicht belegt werden.

Die vorliegende Arbeit überprüfte erstmals die These, ob GHRH einen direkten inhibitorischen Einfluss auf die mittels insulininduzierter Hypoglykämie stimulierte HHN-Achse des wachen Probanden ausübt. Die Hypoglykämie übt einen starken Stressreiz auf hypothalamischer Ebene aus, vermittelt über Glukosesensoren im Hypothalamus.

Untersucht wurden 14 männliche gesunde Probanden zur jeweils gleichen Tageszeit in einem doppel-blinden Versuchsdesign. Dabei wurde an drei Versuchstagen GHRH entweder intravenös oder intranasal oder aber ein Placebo verabreicht. Die Stimulation der adrenalen Aktivität erfolgte einheitlich durch die insulininduzierte Hypoglykämie.

Die Ergebnisse bestätigen die ursprüngliche Vermutung jedoch nicht. Sie legen vielmehr nahe, dass GHRH eine sekretionsfördernde Wirkung auf Kortisol ausübt. Nach intranasaler wie auch nach intravenöser Applikation wurde ein signifikant

höherer Anstieg der Kortisolplasmaspiegel als in der Placebogruppe beobachtet. Dabei war der beschriebene Effekt nach intravenöser Gabe des Teststoffs deutlicher zu beobachten als nach intranasaler Administration. Die ACTH-Spiegel wiesen keine signifikanten Differenzen zwischen den Behandlungsgruppen auf, unterlagen jedoch insgesamt einer breiten Variabilität.

Nach intranasaler Gabe von GHRH kam es weder zu einem GHRH-Anstieg im peripheren Kreislauf noch zu einer vermehrten GH-Sekretion, sodass davon auszugehen ist, dass der Teststoff zentralnervöse Regionen unter Umgehung des Blutkreislaufs erreicht. Auswirkungen auf Stimmungsparameter wurden kaum beobachtet, auf das Herz-Kreislaufsystem in keiner der Behandlungsgruppen beobachtet.

Das vorliegende Experiment zeigt, dass GHRH bei wachen Probanden die Kortisolsekretion steigert und dieser Effekt auf einer suprahypophysären Ebene vermittelt wird.

1. Literaturverzeichnis

1. Aguilera MC, McCann SM., (1985)
Stimulation of somatostatin release in vitro by synthetic human growth hormone-releasing factor by a nondopaminergic mechanism
Endocrinology. 117(2):762-5.
2. Ambrosio MR, Campo M, Zatelli MC, Cella SG, Trasforini G, Margutti A, Rigamonti AE, Muller EE, degli Uberti EC., (1998)
Unexpected activation of pituitary-adrenal axis in healthy young and elderly subjects during somatostatin infusion.
Neuroendocrinology. 68(2):123-8.
3. Antoni FA, Dayanithi G., (1990)
Secretion of ACTH by perfused isolated rat anterior pituitary cells: pulses of secretagogue enhance the secretory response and modify the effect of atriopeptin.
J Endocrinol. 125(3):365-73.
4. Arvat E, Di Vito L, Broglio F, Papotti M, Muccioli G, Dieguez C, Casanueva FF, Deghenghi R, Camanni F, Ghigo E., (2000)
Preliminary evidence that Ghrelin, the natural GH secretagogue (GHS)-receptor ligand, strongly stimulates GH secretion in humans.
J Endocrinol Invest. 23(8):493-5.
5. Arvat E, Maccario M, Di Vito L, Broglio F, Benso A, Gottero C, Papotti M, Muccioli G, Dieguez C, Casanueva FF, Deghenghi R, Camanni F, Ghigo E., (2001)
Endocrine activities of ghrelin, a natural growth hormone secretagogue (GHS), in humans: comparison and interactions with hexarelin, a nonnatural peptidyl GHS, and GH-releasing hormone.
J Clin Endocrinol Metab. 86(3):1169-74.

6. Barinaga M, Yamonoto G, Rivier C, Vale W, Evans R, Rosenfeld MG, (1983)
Independent effects of growth hormone releasing factor on growth hormone release and gene transcription.
Nature. 21-27;314(6008):279-81.
7. Bierwolf C, Struve K, Marshall L, Born J, Fehm HL, (1997)
Slow wave sleep drives inhibition of pituitary-adrenal secretion in humans.
J. Neuroendocrinol. 9:479-484
8. Behan DP, De Souza EB, Lowry PJ, Potter E, Sawchenko P, Vale WW, (1995)
Corticotropin releasing factor (CRF) binding protein: a novel regulator of CRF and related peptides.
Front Neuroendocrinol. 16(4):362-82. Review.
9. Bohlen P, Esch F, Brazeau P, Ling N, Guillemin R, (1983)
Isolation and characterization of the porcine hypothalamic growth hormone releasing factor.
Biochem Biophys Res Commun. 31;116(2):726-34.
10. Born J, Muth S, Fehm HL, (1988)
The significance of sleep onset and slow wave sleep for nocturnal release of growth hormone (GH) and Kortisol.
Psychoneuroendocrinology. 13(3):233-43.
11. Born J, Fehm HL, (1998)
Hypothalamus-pituitary-adrenal activity during human sleep: a coordinating role for the limbic hippocampal system.
Exp Clin Endocrinol Diabetes 106(3):153-63
12. Born J, Lange T, Kern W, McGregor GP, Bickel U, Fehm HL, (2002)
Sniffing neuropeptides: a transnasal approach to the human brain.
Nat. Neurosci. 5(6):514-6

13. Bowers CY, (1998)
Growth hormone-releasing peptide (GHRP).
Cell Mol Life Sci. 54(12):1316-29. Review.
14. Bowers CY, (2001)
Unnatural growth hormone-releasing peptide begets natural ghrelin.
J Clin Endocrinol Metab. 86(4):1464-9.
15. Broglio F, Koetsveld Pv P, Benso A, Gottero C, Prodam F, Papotti M, Muccioli G, Gauna C, Hofland L, Deghenghi R, Arvat E, Van Der Lely AJ, Ghigo E., (2002)
Ghrelin secretion is inhibited by either somatostatin or cortistatin in humans.
J Clin Endocrinol Metab. 87(10):4829-32.
16. Brandenberger G, Follenius M, Muzet A, Simeoni M, Reinhardt B., (1984)
Interactions between spontaneous and provoked Kortisol secretory episodes in man.
J. Endokrinol. Metab. 59:406-411
17. Burren CP, Wilson EM, Hwa V, Oh Y, Rosenfeld RG., (1999)
Binding properties and distribution of insulin-like growth factor binding protein-related protein 3 (IGFBP-rP3/NovH), an additional member of the IGFBP Superfamily.
J Clin Endocrinol Metab. 84(3):1096-103.
18. Cannon WB (1915)
Bodily changes in pain, hunger, fear and rage. Bradford, Boston
19. Carro F, Senaris R, Considine RV, Casanueva FF, Dieguez C (1977)
Regulation of in vivo growth hormone secretion by leptin.
Endocrinology 138: 2203-2206
20. Carter-Su C, Smit LS., (1998)
Signaling via JAK tyrosine kinases: growth hormone receptor as a model system.
Recent Prog Horm Res. 53:61-82; discussion 82-3. Review.

21. Chang FC, Opp MR., (1991)
Corticotropin-releasing hormone (CRH) as a regulator of waking.
Neurosci Biobehav. Rev. 25(5):445-453
22. Debeljuk L, Steger RW, Wright JC, Mattison J, Bartke A., (1999)
Effects of overexpression of growth hormone-releasing hormone on the hypothalamo-pituitary-gonadal function in the mouse.
Endocrine. 11(2):171-9.
23. Engler D, Redei E, Kola I., (1999)
The corticotropin-release inhibitory factor hypothesis: a review of the evidence for the existence of inhibitory as well as stimulatory hypophysiotropic regulation of adrenocorticotropin secretion and biosynthesis.
Endocr Rev. 20(4):460-500.
24. Fehm HL, Holl R, Spath-Schwalbe E, Born J, Voigt KH., (1988)
Ability of corticotropin releasing hormone to stimulate Kortisol secretion independent from pituitary adrenocorticotropin.
Life Sci. 42(6):679-86.
25. Fehm HL, Perras B, Smolnik R, Kern W, Born J., (2000)
Manipulating neuropeptidergic pathways in humans: a novel approach to neuropharmacology?
Eur. J. Pharmacol. 403:43-54
26. Friess E, Wiedemann K, Steiger A, Holsbroer F., (1995)
The hypothalamic-pituitary-adrenocortical system and sleep in man.
Neuroimmunol 5(2): 111-25
27. Gnanapavan S, Kola B, Bustin SA, Morris DG, McGee P, Fairclough P, Bhattacharya S, Carpenter R, Grossman AB, Korbonits M., (2002)
The tissue distribution of the mRNA of ghrelin and subtypes of its receptor, GHS-R, in humans.
J Clin Endocrinol Metab. 87(6):2988.

28. Guillemin R, Brazeau P, Bohlen P, Esch F, Ling N, Wehrenberg WB., (1982)
Growth hormone-releasing factor from a human pancreatic tumor that caused acromegaly.
Science. 218(4572):585-7.
29. Holsboer F, von Bardeleben U, Buller R, Heuser I, Steiger A., (1987)
Stimulation response to corticotropin-releasing hormone (CRH) in patients with depression, alcoholism and panic disorder.
Horm Metab Res Suppl. 16:80-8.
30. Jessop DS., (1999)
Review: Central non-glucocorticoid inhibitors of the hypothalamo-pituitary-adrenal axis.
J Endocrinol. 160(2):169-80.
31. Jorgensen JO, Vahl N, Hansen TB, Skjaerbaek C, Fisker S, Orskov H, Hagen C, Christiansen JS., (1998)
Determinants of serum insulin-like growth factor I in growth hormone deficient adults as compared to healthy subjects.
Clin Endocrinol (Oxf). 48(4):479-86.
32. Juul A, Scheike T, Pedersen AT, Main KM, Andersson AM, Pedersen LM, Skakkebaek NE., (1998)
Changes in serum concentrations of growth hormone, insulin, insulin-like growth factor and insulin-like growth factor-binding proteins 1 and 3 and urinary growth hormone excretion during the menstrual cycle.
Hum Reprod. 1997 Oct;12(10):2123-8
33. Kato Y, Murakami Y, Sohmiya M, Nishiki M., (2002)
Regulation of human growth hormone secretion and its disorders.
Intern Med. 41(1):7-13.
34. Kojima M, Hosoda H, Date Y, Nakazato M, Matsuo H, Kangawa K., (1999)
Ghrelin is a growth-hormone-releasing acylated peptide from stomach.
Nature. 402(6762):656-60.

35. Kupfer DJ, Jarrett DB, Ehlers CL., (1991)
The effect of GRF on the EEG sleep of normal males.
Sleep. 14(1):87-8.
36. Levin ER, Gardner DG, Samson WK (1998)
Natriuretic peptides.
N Engl J Med 339:321-328
37. McEwen BS. (2000)
The neurobiology of stress: from serendipity to clinical relevance.
Brain res. 886:172-189
38. McEwan BS (2003)
Mood disorders and allostatic load.
Biol Psychiatry; 54:200-207
39. Ovesen P, Vahl N, Fisker S, Veldhuis JD, Christiansen JS, Jorgensen JO (1998)
Increased pulsatile, but not basal, growth hormone secretion rates and plasma insulin-like growthfactor I. levels during the periovulatory interval in normal women.
J Clin Endocrinol Metab 83:1662-1667
40. Pacak K, Palkovits M, Kvetnansky R, yadid G, Kopin IJ, Goldstein DS, (2000)
Effects of various stressors on in vivo norepinephrine release in the hypothalamic paraventricular nucleus and on the pituitary-adrenocortical axis.
Physiol. Res. Suppl.1:511-7
41. Pandya N, DeMott-Friberg R, Bowers CY, Barkan AL, Jaffe CA, (1998)
Growth hormone (GH)-releasing peptide-6 requires endogenous hypothalamic GH-releasing hormone for maximal GH stimulation.
J Clin Endocrinol Metab. ;83(4):1186-9.

42. Perras B, Marshall L, Kohler G, Born J, Fehm HL (1999)
Sleep and endocrine changes after intranasal administration of growth hormone releasing hormone in young and aged humans.
*Psychoneuroendocrinology*24:743-757
43. Perras B, Schultes B, Schwaiger R, Metz C, Wesseler W, Born J, Fehm HL (2002)
Growth hormone-releasing hormone facilitates hypoglycemia-induced release of Kortisol.
Regul Pept 110:85-91
44. Perras B, Schultes B, Behn B, Dodt C, Born J, Fehm HL, (2004)
Intranasal atrial natriuretic peptide acts as central nervous inhibitor of the hypothalamo-pituitary-adrenal stress system in humans.
J Clin Endocrinol Metab.;89(9):4642-8.
45. Petraglia F, Facchinetti F, D'Ambrogio G, Volpe A, Genazzani AR, (1986)
Somatostatin and oxytocin infusion inhibits the rise of plasma beta-endorphin, beta-lipotrophin and Kortisol induced by insulin hypoglycaemia.
Clin Endocrinol (Oxf). 1986 Jun;24(6):609-16.
46. Pietrowsky R, Struben C, Mole M, Fehm HL, Born J, (1996)
Brain potential change after intranasal vs. intravenous administration of vasopressin: evidence for a direct nose-brain pathway for peptide effects in humans.
Biol. Psychiatry 39:332-340
47. Pietrowsky R, Thiemann A, Kern W, Fehm HL, Born J., (1996)
A nose-brain pathway for psychotropic peptides: evidence from a brain evoked potential study with cholecystokinin.
Psychoneuroendocrinology 21:559-572
48. Plihal W, Kug R, Pietrowsky R, Fehm HL, Born J (1996)
Corticosteroid receptor mediated effects on mood in humans
Psychoneuroendocrinology 21:515-523

49. Reichlin S, (1960)
Growth hormone content of pituitaries from rats with hypothalamic lesions.
Endocrinology. 1961 Aug;69:225-30.
50. Rivier J, Spiess J, Thorner M, Vale W., (1982)
Characterization of a growth hormone-releasing factor from a human pancreatic islet tumour.
Nature. 300(5889):276-8.
51. Rodriguez-Arno J, Perry L, Besser JM, Roos RJ (1996)
Growth hormone treatment in hypopituitary GH deficient adults reduces circulating cortisol levels during hydrocortisone replacement therapy
Clin Endocrinol (Oxf) 45:33-37
52. Roelfsema RF, Biermasz NR, Veldman RG, Veldhuis JD, Frolich M, Stokvis-Brantsma WH, Wit JM (2001)
Growth hormone secretion in patients with an inactivating defect of the GH-releasing hormone receptor is pulsatile: evidence for role for non GHRH inputs into the generation of GH pulses
J Clin Endocrinol Metab 86:2459-2464
53. Rosmond R. (2003)
Stress induced disturbances of the HPA axis: a pathway to Type 2 diabetes?
Med Sci Monit 9:RA35-RA39
54. Salata RA, Jarett DB, Berbalis AG., (1988)
Vasopressin stimulation of adrenocorticotropin hormone (ACTH) in humans.
J. Clin. Invest. 81:766-774
55. Sapolsky RM., (1999)
Glucocorticoids, stress and their adverse neurological effects: relevance to aging.
Exp. Gerontol. 34:721-732

56. Schteingart DE (1980)
Suppression of Kortisol secretion by human growth hormone
J Clin Endocrinol Metab 50:721-725
57. Seemann TE, Robbins RJ., (1994)
Aging and hypothalamic-pituitary-adrenal response to challenge in humans.
Endocr. Rev. 15:233-260
58. Seemann TE, McEwen BS, Rowe JW, Singer BH (2001)
Allostatic load as marker of cumulative biological risk: MacArthur studies of successful aging.
Proc Natl Acad Sci U S A 98:4770-4775
59. Selye H (1936)
A syndrome produced by divers nocuous agents
Nature 138:32
60. Selye H (1946)
The general adaptation syndrome and the diseases of adaptation.
J Clin Endocrinol 6:117-230
61. Selye H (1949)
Effects of ACTH and cortisone upon an "anaphylactoid reaction".
Can Med Assoc J 61:553-556
62. Seyle H (1956)
The stress of life.
McGraw-Hill, New York
63. Späth-Schwalbe E, Fehm HL, Born J, Pfeiffer EF (1987)
Combined corticotropin-releasing hormone-vasopressin test: a new test for the evaluation of the pituitary adrenal system.
Horm Metab Res 19:665-666

64. Späth-Schwalbe E, Piroth L, Pietrowsky R, Born J, Fehm HL (1988)
Stimulation of the pituitary adrenocortical system in man by cerulein, a
cholecystkinin-8-like peptide.
Clin Physiol Biochem 6:316-320
65. Späth-Schwalbe E, Uthgenannt D, Voget G, Kern W, Born J, Fehm HL, (1993)
Corticotropin releasing hormone-induced adrenocorticotropin and Kortisol secretion de-
pends on sleep and wakefulness.
J. Clin. Endocrinol. Metab. 77:1170-1173
66. Späth-Schwalbe E, Uthgenannt D, Körting N, Fehm HL Born J (1994)
Sleep and wakefulness affect the responsiveness of the pituitary-adrenocortical axis to
arginine vasopressin in humans.
Neuroendocrinology 60:544-548
67. Steiger A, Guldner J, Hemmeter U, Rothe B, Wiedemann K, Holsboer F (1992)
Effects of growth hormone-releasing hormone and somatostatin on sleep EEG and
nocturnal hormone secretion in male controls.
Neuroendocrinology 56:566-573
68. Steiger A. (2002)
Sleep and the hypothalamo-pituitary-adrenocortical system.
Sleep Med. Rev.6: 125-38
69. Tannenbaum GS, Bowers CY, (2001)
Interactions of growth hormone secretagogues and growth hormone-releasing hor-
mone/somatostatin.
Endocrine. 14(1): 21-7.
70. Toogood AA, Taylor NF, Shalet SM, Monson JP, (2000)
Modulation of Kortisol metabolism by low-dose growth hormone replacement in elderly
hypopituitary patients
J Clin Endocrinol 85: 1727-1730

71. Van Cauter E, Plat L, Copinschi G, (1998)
Interrelations between sleep and the somatotropic axis.
Sleep; 21(6): 553-66
72. Wiedemann K, Jahn H, Kellner M, (2000)
Effects of natriuretic peptides upon hypothalamp-pituary-adrenocortical system activity
and anxiety behaviour.
Exp. Clin. Endocrinol. 108: 5-13
73. Weinstock JV, Elliott D, (2000)
The somatostatin immunoregulatory circuit present at sites of chronic inflammation.
Eur J Endocrinol. ;143 Suppl 1:S15-9. Review.
74. Weitzmann ED, Fukushima D, Nogeire C, Roffwarg H, Gallagher TF, Hellmann L,
(1971)
Twentyfour hour pattern of the episodic secretion of Kortisol in normal subjects.
J. Endocrinol. Metab. 33:14-22
75. Yang XJ, Kow LM, Funabashi T, Mobbs CV, (1999)
Hyoothalamic glucose-sensor: similarities to and differenties from pancreatic beta-cell
mechanisms.
Diabetes 48:1763-1772
76. Yehuda R, (2002)
Current status of Kortisol findings in post-traumatic stress disorder.
Psychiatr Clin North Am 25:233-260

7. Anhang

7.1. Lebenslauf

Persönliche Daten

Name: Metz
Vorname: Christian
Geburtsdatum: 11.06.1973
Geburtsort: Lübeck

Schulbildung

1979-1983 Pestalozzi – Grundschule, Lübeck
1983-1989 Oberschule zum Dom, Lübeck
1989-1990 Bemidji-Highschool, MN, USA, Highschool-Diploma
1990-1993 Oberschule zum Dom, Lübeck, Abitur

Zivildienst

1993-1994 Rettungsdienst, Blut- und Organtransport, Johanniter-
Unfall-Hilfe

Studium

1994-2001 Medizinstudium an der Universität Lübeck
Sep. 1996 Ärztliche Vorprüfung
Aug. 1998 Erster Abschnitt der Ärztlichen Prüfung

Aug. 2000	Zweiter Abschnitt der Ärztlichen Prüfung
2000-2001	Praktisches Jahr
	Innere Medizin, Universitätsklinik Lübeck
	Chirurgie, Kantonsspital Luzern, Schweiz
	Anästhesie, Universitätsklinik Lübeck
Nov. 2001	Dritter Abschnitt der Ärztlichen Prüfung

Beruflicher Werdegang

Mai2002-	AIP und Assistent Dr. Horst-Schmidt Kliniken,
Dez.2003	Wiesbaden,
	Abteilung für Unfall-/ Hand- und
	Wiederherstellungschirurgie, Prof. Dr. Wenda
Jan.2004-	Assistent UKSH Campus Lübeck, Klinik für Chirurgie,
Jun.2004	Intensivstation, Prof. Dr. Bruch
Jul.2004-	Assistent Sana Klinik Ostholstein, Klinikum Eutin
März 2008	Chirurgisches Zentrum, PD. Dr. Maghsudi/ Dr. Seesko/ Dr. Grabener
März 2008	Facharzt für allgemeine Chirurgie
	Anmeldung Zusatzbezeichnung Rettungsmedizin

Seit Mai 2008

Facharzt in Weiterbildung,

Dr. Horst-Schmidt Kliniken, Wiesbaden

Abteilung für Unfall-/ orthopädische / Hand- und

Wiederherstellungs- Chirurgie, Prof. Dr. Wenda

Veröffentlichung:

Growth hormone-releasing hormone facilitates hypoglycemia induced release of cortisol

Regulatory Peptides, 110 (2002) 85-91; Elsevier

7.3. Danksagung

Mein besonderer Dank gilt meinem Doktorvater Herrn PD Dr. med. Boris Perras aus der Med. Klinik I. Ich danke für die Vergabe des Themas, die Anleitung und Betreuung des praktischen Teils meiner Arbeit, sowie für die Korrektur des Manuskripts.

Herrn emerit Prof. Dr. med. Horst Lorenz Fehm, Direktor der Medizinischen Klinik I des Universitätsklinikums Schleswig-Holstein – Campus Lübeck, danke ich für die Überlassung von Arbeitsplatz und Materialien.

Prof. Dr. J. Born, dem Direktor des Instituts für Neuroendokrinologie, danke ich für die zur Verfügung Stellung von Literatur und die Unterstützung bei der statistischen Auswertung.

Christiane Zinke aus dem Klinischen Labor der Klinik für Innere Medizin danke ich für die praktische Hilfe und Beratung in labortechnischen Fragen und für die Durchführung der zahlreichen Laborbestimmungen.

Frau Dr. med. Birte Behn gilt mein besonderer Dank für die Unterstützung und Motivation, diese Arbeit zu einem erfolgreichen Ende zu bringen. Ihre Beharrlichkeit und zahlreiche Gespräche trugen zu dem Endergebnis mit bei.

Und natürlich danke ich meinen Eltern, die mir das Studium und diese Dissertation ermöglicht haben.