

Aus der Medizinischen Klinik I
der Universität zu Lübeck
Direktor: Prof. Dr. med. Hendrik Lehnert

**Wirkungen von
preproTRH₍₁₅₈₋₁₈₃₎ und Magnesium auf die stimulierte
Hypothalamus-Hypophysen-Nebennieren-Achse
bei gesunden Menschen**

Inauguraldissertation

zur
Erlangung der Doktorwürde
der Universität zu Lübeck
- aus der Medizinischen Fakultät -

vorgelegt von
Eva Berkemeier
aus Bünde

Lübeck 2008

1. Berichtstatter: Priv.-Doz. Dr. med. Boris Perras

2. Berichtstatter: Prof. Dr. rer. nat. Walter Raasch

Tag der mündlichen Prüfung: 06.03.2009

Zum Druck genehmigt. Lübeck, den: 06.03.2009

**„Die unbekannte Funktion der Nebenniere
sichert dieses Organ vor lästigen Nachfragen in der
Heilwissenschaft“**

Lehrbuch der Anatomie des Menschen von Hyrtl, Wien 1889

Inhaltsverzeichnis

Inhaltsverzeichnis	I
Abbildungs- und Tabellenverzeichnis	III
Abkürzungsverzeichnis	IV
1. Einleitung.....	1
1.1 Allgemeine Einführung und klinische Relevanz der Studien	1
1.2 Hypothalamus-Hypophysen-Nebennieren- (HHN-)Achse	4
1.2.1 Physiologie der HHN-Achse	4
1.2.2 Hormone der HHN-Achse.....	8
1.2.2.1 Corticotropin-releasing hormone	8
1.2.2.2 Vasopressin.....	9
1.2.2.3 Adrenocorticotropes Hormon.....	10
1.2.2.4 Kortisol	11
1.3 Weitere für die Studien relevante Hormone	12
1.3.1 Thyreotropin (TSH) und Thyroxin (freies T4)	12
1.3.2 Prolaktin	13
1.3.3 Growth Hormon (GH)	13
1.4 Preprothyreotropin-releasing hormone (preproTRH ₍₁₅₈₋₁₈₃₎) und sein Einfluss auf die HHN-Achse	14
1.5 Der Mineralstoff Magnesium	17
1.6 Einfluss von Magnesium auf die HHN-Achse.....	19
1.7 Fragestellung	21
2. Material und Methoden.....	22
2.1 Probanden	22
2.2 Versuchsaufbau	22
2.3 Versuchsablauf	23
2.4 Verwendete Substanzen und Testverfahren	26
2.4.1 PreproTRH ₍₁₅₈₋₁₈₃₎	26
2.4.2 Magnesium	26
2.4.3 Corticotropin-releasing hormone (CRH)	26
2.4.4 Arginin-Vasopressin (AVP)	26
2.4.5 CRH/Vasopressin Stimulationstest.....	26
2.5 Blutdruck und Pulsmessung.....	27
2.6 Eigenschaftswörterliste	27
2.7 Laborchemische Untersuchungsmethoden.....	27
2.7.1 Kortisol	27
2.7.2 ACTH.....	28
2.7.3 Prolaktin, TSH, fT4, LH, GH und FSH	29
2.7.4 Blutbild, Elektrolyte	29
2.8 Statistische Auswertung.....	30
3. Ergebnisse.....	31
3.1 PreproTRH ₍₁₅₈₋₁₈₃₎ - Effekte ACTH und Kortisol.....	31
3.2 PreproTRH ₍₁₅₈₋₁₈₃₎ - Effekte auf GH, Prolaktin, LH und FSH	34
3.3 PreproTRH ₍₁₅₈₋₁₈₃₎ - Effekte auf TSH und fT4	36

3.4	PreproTRH ₍₁₅₈₋₁₈₃₎ - Effekte auf die Routine Bluttests und die kardiovaskulären Parameter	38
3.5	PreproTRH ₍₁₅₈₋₁₈₃₎ - Effekte auf die Selbstbeurteilung	39
3.6	Nebenwirkungen unter preproTRH ₍₁₅₈₋₁₈₃₎	40
3.7	Konzentration von Magnesium und dessen Effekte auf ACTH und Kortisol	41
3.8	Magnesium- Effekte auf die Elektrolyte und die kardiovaskulären Parameter	45
3.9	Magnesium- Effekte auf die Selbstbeurteilung	46
3.10	Nebenwirkungen unter Magnesium	47
4.	Diskussion	48
4.1	PreproTRH ₍₁₅₈₋₁₈₃₎	48
4.2	Magnesium	54
5.	Zusammenfassung	60
6.	Literaturverzeichnis	61
7.	Anhang	75
7.1	Versuchsprotokolle	75
7.1.1	Versuchsprotokoll preproTRH ₍₁₅₈₋₁₈₃₎	75
7.1.2	Versuchsprotokoll Magnesium	76
7.2	Ergebnistabellen	77
7.2.1	Tabelle preproTRH ₍₁₅₈₋₁₈₃₎	77
7.2.2	Tabelle Magnesium	78
7.3	Nebenwirkungen	79
7.4	Ethikantrag	80
8.	Danksagung	81
9.	Lebenslauf	83
10.	Veröffentlichungen	84

Abbildungs- und Tabellenverzeichnis

Abb. 1.1:	Hypothalamus-Hypophysen-Nebennieren Achse	6
Abb. 1.2:	Zirkadianer Rhythmus (Kortisol/ACTH).....	8
Abb. 1.3:	preproTRH und das Spaltprodukt preproTRH(158-183).....	17
Abb. 3.1:	ACTH Plasmakonzentrationen unter preproTRH(158-183)	32
Abb. 3.2:	Kortisol Serumkonzentrationen unter preproTRH(158-183).....	33
Abb. 3.3:	GH Serumkonzentrationen unter preproTRH(158-183)	35
Abb. 3.4:	TSH Serumkonzentrationen unter preproTRH(158-183)	37
Abb. 3.5:	Systolischer Blutdruck unter preproTRH(158-183)	39
Abb. 3.6:	Objektivierung der Selbstbeurteilung während des preproTRH(158-183) Versuchs.....	40
Abb. 3.7:	Magnesium Konzentration	42
Abb. 3.8:	ACTH Plasmakonzentrationen unter Magnesium	43
Abb. 3.9:	Kortisol Serumkonzentrationen unter Magnesium	44
Abb. 3.10:	Systolischer Blutdruck unter Magnesium	46
Abb. 7.1:	Nebenwirkungen des CRH/Vasopressin Tests unter preproTRH(158-183)/Placebo.....	79
Abb. 7.2:	Aufgetretene Nebenwirkungen unter den Testsubstanzen Magnesium/Placebo.....	79
Tab. 3.1:	Vitalparameter unter Magnesium.....	45
Tab. 7.1:	Ergebnistabelle preproTRH(158-183)	77
Tab. 7.2:	Ergebnistabelle Magnesium.....	78

Abkürzungsverzeichnis

Abb.....	Abbildung
ACTH	Adrenocorticotropes Hormon
ADH.....	Antidiuretisches Hormon, Synonym: Vasopressin
ANP	Atriales Natriuretisches Peptid
AUC	area under curve (Fläche unter der Kurve)
AVP	Arginin-Vasopressin
CRH	corticotropin-releasing hormone
CRIF	Corticotropin-release-inhibiting factor
EEG	Elektroenzephalographie
et al.	et alii, und andere
EWL	Eigenschaftswörterliste
Fa.	Firma
FSH	Follikel stimulierendes Hormon
fT3	freies Trijodthyronin (T3)
fT4	freies Thyroxin (T4)
GABA	γ -Aminobuttersäure
GH	growth-hormone (Wachstums Hormon)
GHRH	growth-hormone-releasing hormone
hGH	human-growth-hormone (humanes Wachstumshormon)
HHN-Achse	Hypothalamus-Hypophysen-Nebennieren-Achse
HPLC	high performance liquid Chromatographie (Hochleistungs-Flüssigkeits Chromatographie)
I.E.	Internationale Einheiten
i.v.	intravenös
IGF	insulin-like growth factor
LH	Lutenisierendes Hormon
mRNA	messenger ribonukleic acid
MSH	Melanozyten stimulierendes Hormon
NaCl	Natriumchlorid (physiologische Kochsalz Lösung)
NMDA	N-Methyl-D-aspartat
PGE	Prostaglandin E
PGF ₂ α	Prostaglandin F ₂ α

p-gp	p-Glykoprotein
POMC	Proopiomelanocortin
PreproTRH	Prepro Hormon des thyreotropin-releasing hormone (TRH)
RIA	radioimmuno assay
SEM	standard error of the mean, Standardfehler
StAR- Proteine	steroidogenic acute regulatory protein
STH	Somatotropes Hormon
SWS	slow wave sleep (Tiefschlaf)
TBG	Thyroxin-bindendes-Globulin
TRH	thyreotropin-releasing hormone
TSH	Thyroidea stimulierendes Hormon
TSST	Trier Social Stress Test
VIP	vasoaktive intestinale Polypeptide
VP	Vasopressin
vs.	versus

1. Einleitung

1.1 Allgemeine Einführung und klinische Relevanz der Studien

Bereits 1915 sah Walter B. Cannon als erster Wissenschaftler einen Zusammenhang zwischen einer vom Stammhirn vermittelten Aktivierung des Sympathikus und der als Konsequenz unmittelbar folgenden Kampf- und Fluchtreaktion (fight or flight reaction) (Cannon, 1915; Brown und Fee, 2002).

Am 4. Juli 1936 berichtete dann Hans Selye in einer Ausgabe der Zeitschrift Nature in „A Syndrom Produced by Diverse Nocuous Agents“ von einem von ihm an kranken Menschen beobachteten Syndrom (Selye, 1936). Dieses basierte auf einer in drei Stadien unterteilten Reaktion des Organismus auf Stressoren: die initiale Phase, die prolongierte Phase des Widerstandes und die Phase der Erschöpfung. Er nannte dies eine generelle Alarmreaktion entsprechend der ersten Phase (general alarm reaction) und ein generelles Anpassungs-Syndrom (general adaptation syndrom) in Folge dessen. Damit einhergehend beschrieb er zahlreiche körperliche Veränderungen, unter anderem die Hypertrophie der Nebennieren. Er prägte den Begriff „Stress“ im medizinischen Sinne und definierte ihn als unspezifische Reaktion des Körpers auf eine von außen kommende Belastung, die das Gleichgewicht stört. Im weiteren Verlauf seiner Studien vermutete er die Rolle der HHN-Achse und Kortisol im Speziellen in der Stressantwort (Selye, 1946; 1949). Man erkannte schließlich auch, dass Kortikoide notwendig sind, um eine erhöhte Widerstandskraft gegen eine Überreaktion auf Stress zu haben. Zum einen braucht der Körper eine gewisse Adaptation an solche Bedingungen, zum anderen sind Kortikoide notwendig um die Homöostase nach Stresseinwirkung wieder herzustellen (McEwen, 2002; Redei, 2008). Es zeigte sich, dass Menschen mit niedrigen Kortisolspiegeln, also auch in den späten Abendstunden, erheblich empfänglicher für Stress sind, als solche mit hohen Spiegeln (Ichikawa et al, 1972).

In der heutigen Zeit sind wir jedoch mit lange andauernden Belastungen konfrontiert, so dass sich die protektiv gemeinten Eigenschaften des Kortisols auch schädigend auf den Organismus auswirken können (McEwen, 2002). Der amerikanische Stressforscher Bruce McEwen unterscheidet daher zwischen Allostase und allostatischer Last. Während Allostase die Antwort auf eine akute Stresssituation beschreibt, handelt es sich bei allostatischer Last um die

Folgeerscheinungen einer chronischen oder einer fehlregulierten Antwort (McEwen, 2007).

Betrachten wir Stress auf physiologischer Ebene. Die auslösenden Stressoren sind vielfältig. Dazu gehören neben dramatischen Ereignissen wie Verletzungen, Infektionen, Prüfungen, Verluste geliebter Personen u.a. besonders die kleinen alltäglichen Belastungen. Schlafmangel, beruflicher Stress, Toxikomanie und Überernährung sind nur einige davon (McEwen, 2006). Individuelle Unterschiede im Umgang und in der Erfahrung mit diesen Faktoren spielen ebenso eine Rolle, wie der Gesundheitszustand und genetische Voraussetzungen der betroffenen Person (McEwen, 1998; McEwen, 2002; Romeo et al. 2007).

Ein Kontakt mit diesen Stressoren führt einerseits zu einer verstärkten Aktivierung der HHN-Achse, andererseits auch zu einer Aktivierung der korrespondierenden vegetativen Achse im Sinne einer vermehrten Katecholaminausschüttung. Es lässt sich in einer akuten, heftigen Stresssituation (major life event) ein steiler Anstieg der HHN-Aktivität gefolgt von einem exponentiellen Abfall jener beobachten. Analog dazu steigen die Plasmakonzentrationen von ACTH und Kortisol an (Pacak et al., 1995; Sapolsky, 1999). Ein ähnliches Phänomen zeigt sich auch unter einer chronischen Stressbelastung (minor day-to-day-Stress). In diesem Fall ist die basale Aktivität dauerhaft erhöht und es kommt letztendlich zu einer lang anhaltenden gesteigerten Ausschüttung von Glukokortikoiden. Die Folgen sind sowohl ein vermindertes Profil der zirkadianen Rhythmik von Kortikoiden als auch eine Rückkopplungsstörung an der Hypothalamus-Hypophysen-Nebennieren-Achse (van Coervorden et al., 1991; Opstad, 1994; Seemann und Robbins, 1994; Sapolsky, 1999; McEwen, 2000; Swaab et al, 2005). Nach Redei liegt dieser Rückkopplungsstörung die herabgesetzte Effizienz des negativen Feedbackmechanismus unter Krankheit und chronischem Stress zugrunde (Redei et al., 1998).

Aus dem Genannten resultieren eine verminderte Widerstandskraft der Neurone gegenüber Noxen, Dendritenatrophie sowie weitere funktionelle und strukturelle Umbauten im Gehirn und auch eine Beeinflussung des Kurzzeitgedächtnisses sind die Folgen (McEwen et al., 1995; Kirschbaum et al., 1996; Sapolsky, 1999). Eine besonders ausgeprägte Vulnerabilität für hohe Kortisolkonzentrationen zeigt sich in Bereichen um die Amygdala, die unter anderem eine wichtige Funktion bei

verschiedenen Arten des Lernens und im Bereich des Gedächtnisses hat (McEwen, 2005). Es konnte auch gezeigt werden dass der Kortisolspiegel die Nervenbahnung im primären Motorkortex und das intracortical hemmende GABAerge System beeinflusst (Sale et al., 2008).

Auch ist Hyperkortisolismus ein bekannter Prediktor in der Entstehung und Exazerbation von psychiatrischen Erkrankungen, insbesondere der Depression (Swaab et al., 2005; McEwen et al., 2005). Steckler et al. diskutierten 1999 funktionelle Veränderungen der Formatio reticularis, im Limbischen System und im frontalen Kortex unter gesteigertem Kortisoleinfluss als Ursache für die Entstehung entsprechender Symptome (Steckler et al., 1999). McEwen sah neben einer Atrophie im Hippocampus und präfrontalen Kortex auch eine Hyperaktivität der Amygdala unter lang andauernder Depression. Diese übernimmt neben anderen zum Teil genannten Aufgaben eine mediatorische Funktion in der Verhaltensantwort auf Stress. Betroffen sind insbesondere Angst und starke Emotionen (McEwen, 2005).

Nicht weniger von Bedeutung ist die Entstehung des Metabolischen Syndroms und die Beteiligung der HHN-Achse daran (Chrousos, 2000; Buckley und Schatzberg, 2005; Jacobson, 2005). Hyperkortisolismus wird wiederholt im Zusammenhang mit einer Insulinresistenz gesehen (Räikkönen et al., 1996; Buckley und Schatzberg, 2005; Darmon et al., 2006). Definiert durch abdominale Adipositas, erhöhte Plasmatriglyceride, gesteigerten nüchtern Blutzucker, Hypertonie und vermindertes HDL-Cholesterin geht dieses Syndrom mit einem massiven Anstieg kardiovaskulärer Morbidität und Mortalität einher. Es stellt also ein enormes Gesundheitsproblem unserer modernen Wohlstandsgesellschaft dar. Des Weiteren wurde schon mehrfach der Verdacht geäußert, dass ein Zusammenhang zwischen altersassoziierten Erkrankungen und hohen Kortisolspiegeln besteht (Seemann und Robbins, 1994; Sapolsky, 1999). Einerseits nimmt die tagesdurchschnittliche Kortisolkonzentration mit steigendem Alter zu, und andererseits zeigten Versuche an präpubertären und erwachsenen Ratten eindeutige Unterschiede in der Verarbeitung von Stress (Bergendahl et al., 2000). Während jugendliche Ratten eine normale hormonale Stressantwort auf akuten Stress zeigten, war jene bei den erwachsenen Tieren nach chronischem Stress sehr langsam rückläufig und damit dauerhaft gesteigert (Romeo et al., 2006).

Letztendlich sind auch Prozesse des Immunsystems von erhöhten Kortisolspiegeln beeinflusst. So wird es primär in erhöhte Abwehrbereitschaft versetzt und somit langfristig geschwächt (Saplosky, 1999; McEwen, 2000).

1.2 Hypothalamus-Hypophysen-Nebennieren- (HHN-)Achse

1.2.1 Physiologie der HHN-Achse

Hypothalamus, Hypophyse und Nebennierenrinde bilden gemeinsam eine funktionelle, endokrine Einheit. Diese Stationen sind in einem Regelkreis hintereinander geschaltet und können auf jeder Ebene beeinflusst werden. Der zum Diencephalon gehörende Hypothalamus fungiert in diesem Zusammenhang als oberstes Integrationsorgan und übernimmt die Steuerung. Gerendai und Halasz beschrieben ihn 2000 als Schnittstelle für Signale des endokrinen Systems mit dem Immunsystem und dem autonomen Nervensystem (Gerendai und Halasz, 2000). So unterliegen zahlreiche Funktionen des Körpers, wie etwa Kreislauf und Atmung, Flüssigkeitsaufnahme und Nahrungsaufnahme, die Körpertemperatur und der Schlaf-Wach-Rhythmus der Regulation durch den Hypothalamus. Er verfügt über zahlreiche Afferenzen aus höheren Rindenregionen, dem Hirnstamm und dem limbischen System. Das macht die Beeinflussung vegetativer Parameter durch exogene Impulse, wie beispielsweise psychische Belastung, verständlich. Seine Efferenzen hingegen leiten zum überwiegenden Teil Neurotransmitter in ihre Zielgebiete, wie z.B. die Hypophyse. In diesem Zusammenhang spielen das Releasing Hormon CRH (corticotropin-releasing hormone) und Vasopressin eine entscheidende Rolle. Vasopressin kann über das Gefäßnetz der Neurohypophyse in den peripheren Blutkreislauf und in den Portalkreislauf der Adenohypophyse gelangen. Die Neurohypophyse bildet den hinteren Teil der Hypophyse und gehört embryonalgeschichtlich zum Hypothalamus. Sie setzt neben dem erwähnten Vasopressin auch Oxytocin frei. Der vordere Teil, die Adenohypophyse, ist kein Bestandteil des Gehirns und besteht dementsprechend nicht aus neuronalem Gewebe, sondern aus Drüsengewebe. Hier wird das Adrenocorticotrope Hormon (ACTH) gebildet und durch die Liberine CRH und Vasopressin vermehrt synthetisiert und sezerniert (Rivier et al., 1982). Ein hier zu vernachlässigender Teil der Hypophyse, der Mittellappen (Pars intermedia), spielt in der

Schwangerschaft, beim Fetus und bei manchen Tumoren eine Rolle. Auf hämatogenem Weg erreicht ACTH die Nebennierenrinde. In der zona fasciculata stimuliert es die Bildung und Abgabe des Steroidhormons Kortisol, so dass man nur wenige Minuten nach ACTH-Freisetzung einen Anstieg des Plasmakortisolspiegels beobachten kann. Die Biosynthese erfolgt akut, denn der intraadrenale Speicher ist sehr klein (Dickerman et al., 1984). Über einen negativen Feedbackmechanismus besteht für Kortisol die Möglichkeit, als lipophiles Hormon die Blut-Hirn-Schranke mit einem Transportprotein (p-Glykoprotein, p-gp) zu passieren und über spezielle Glukokortikoidrezeptoren auf den verschiedenen, oben erläuterten Ebenen inhibitorisch zu wirken (Ueda et al., 1992; Karssen et al., 2001). Interessanterweise gibt es Hinweise darauf, dass auch am Hippocampus eine Reaktion auf entsprechende Hormonspiegel in Form einer Downregulation der Glukokortikoid- und Mineralokortikoidrezeptoren stattfindet (Murck, 2002). Der oben angesprochene Regelkreis schließt sich dann auf diese Weise. Es existieren zwei Varianten des negativen Feedbackmechanismus: der schnelle (2-30 Minuten), welcher das Glukokortikoidlevel im Rahmen der akuten Stressantwort reguliert, und der langsame, level-sensitive Mechanismus. Letztgenannter steuert die Größenordnung der Kortisolausschüttung bei einer prolongierten Stressantwort durch Eingriff in die Genexpression von POMC und CRH (Redei et al., 1998). *Abbildung 1.1* zeigt die HHN-Achse in schematischer Darstellung.

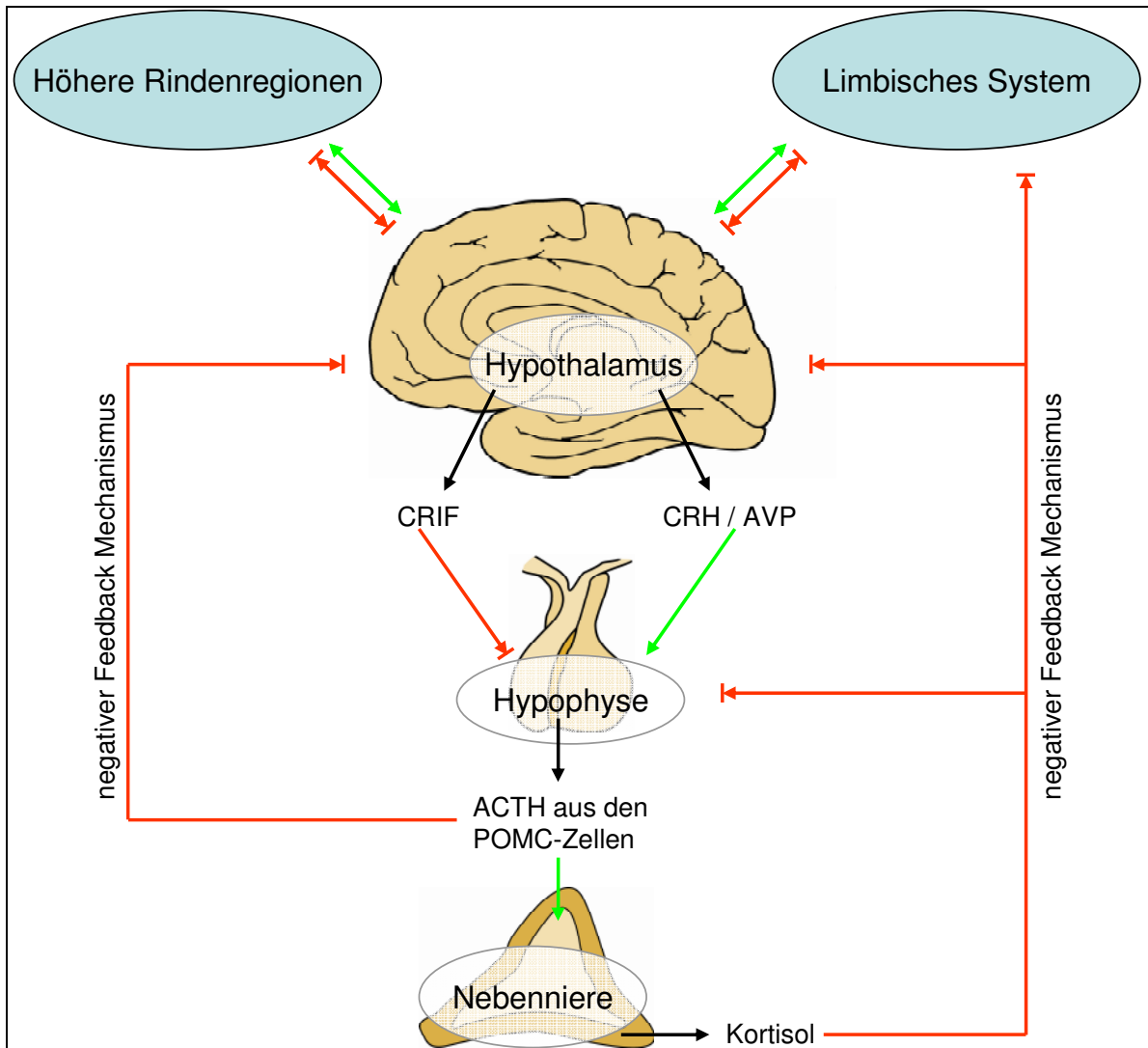


Abb. 1.1: Hypothalamus-Hypophysen-Nebennieren-Achse

Initial erfolgt eine Interaktion von höheren Rindenregionen und dem limbischen System mit dem Hypothalamus. Hier wird die Freisetzung von CRIF, CRH und AVP mit inhibitorischer und stimulatorischer Wirkung auf die Hypophyse veranlasst. Die Abgabe von ACTH aus den POMC-Zellen führt zu einer Stimulierung der Kortisolbildung und -ausschüttung aus der Nebennierenrinde. Über einen negativen Feedbackmechanismus inhibiert Kortisol auf allen Ebenen, ACTH hingegen nur am Hypothalamus. Inhibitorisch = rote Pfeile, stimulatorisch = grüne Pfeile.

Zunächst besteht die Funktion des Regelkreises darin, eine gewisse Basalsekretion aufrecht zu erhalten. Auf die Funktion in der Auseinandersetzung mit Stress wird in Kap. 1.4 näher eingegangen. Die Basalsekretion bestimmt den Grad der Wachheit des Organismus (Chang und Opp 2001; Steiger, 2002). In Abwesenheit jeglicher Stressoren folgt sie einem strengen zirkadianen Rhythmus (lateinisch: circa = herum, dies = der Tag). Dieser ist synchronisiert zum Hell-Dunkel-Rhythmus und wird über den nucleus suprachiasmaticus vermittelt (Berson, 2002). Man beobachtet ein Maximum in den frühen Morgenstunden, gefolgt von einer exponentiellen Abnahme über den Tag und einem Minimum am späten Abend. Die Sekretionszeit beläuft sich auf nur sechs Stunden pro Tag, die verbleibenden achtzehn Stunden ist das System nahezu inaktiv (Weitzman et al., 1971). Zu erwähnen bleibt, dass in diesen Ablauf in nicht pathologischer Weise unter anderem die Nahrungsaufnahme eingreift. Der zirkadiane Rhythmus ist in *Abbildung 1.2* schematisch dargestellt.

Interessant ist die Erkenntnis, dass eine verminderte Kortisolsekretion mit einer im EEG aufgezeichneten Delta Aktivität während des non REM- Schlafs korreliert (Grönfier et al., 1998). Dieser findet sich überwiegend in der ersten Nachthälfte, also in den späten Abendstunden. In Anlehnung daran zeigten neben einigen anderen auch Born und Fehm eine verminderte Stimulierbarkeit der ACTH- und Kortisolausschüttung nach CRH Gabe in der ersten Nachthälfte (Bierwolf et al., 1997; Born und Fehm, 1998; van Eekelen et al., 2003).

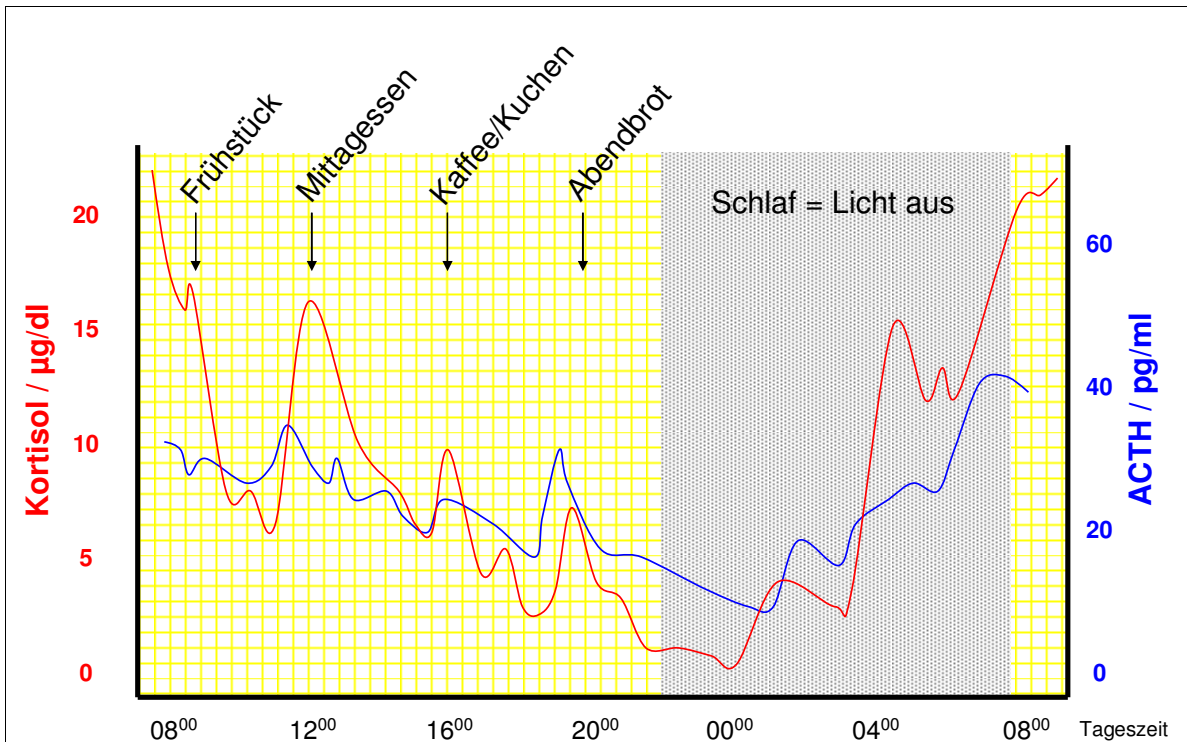


Abb. 1.2: Zirkadianer Rhythmus (Kortisol/ACTH).

Auf der Ordinate links aufgetragen sieht man die Kortisolkonzentration in $\mu\text{g/dl}$, rechts die ACTH-Konzentration in pg/ml und auf der Abszisse die Tageszeit. Klar erkennbar ist eine zirkadiane Rhythmik von Kortisol (rote Kurve) und von ACTH (blaue Kurve) mit Tageshöchstwerten in den Morgenstunden und einem Tiefpunkt in der Nacht (Licht aus). Ebenfalls zu sehen sind deutliche Peaks zu den Mahlzeiten. Siehe auch Kap. 1.2.2.3 und 1.2.2.4. Modifiziert nach Klinkle und Silbernagl, 2001

1.2.2 Hormone der HHN-Achse

1.2.2.1 Corticotropin-releasing hormone

Das 1981 erstmals isoliert und sequenzierte corticotropin-releasing hormone (CRH) ist ein aus 41 Aminosäuren bestehendes Peptid, welches als maßgebender physiologisch stimulierender Sekretionsfaktor für ACTH gilt (Vale et al., 1981; Rivier et al., 1982; Vale et al., 1983). Darüber hinaus ist CRH das bisher einzig bekannte Neuropeptid, das einen Anstieg der Genexpression von Proopiomelanocortin (POMC) zu induzieren vermag (Redei et al., 1998). Synthetisiert wird CRH im Wesentlichen von den parvozellulären Zellen des

nucleus paraventricularis des Hypothalamus (Swanson et al., 1983). Über dessen Neurone gelangt CRH in das hypophysäre Pfortadersystem und kommt von dort aus in den Blutkreislauf. Über stimulierte hypophysäre Proopiomelanokortinzellen findet eine vermehrte Ausschüttung von ACTH und β -Endorphinen statt (Watanabe et al., 1987; Pritchard und White, 2007). Potenziert wird diese Wirkung durch die gleichzeitige Anwesenheit von Vasopressin (Gillies et al., 1982; Spath-Schwalbe et al., 1987; Salata et al., 1988; Swaab et al., 2005).

CRH zirkuliert im Plasma gebunden an ein hoch affinitives Bindungsprotein, welches die Bioaktivität vermindert und wesentlich an der Modulation der Stressantwort beteiligt ist (Orth et al., 1987; Linton et al., 1988; Potter et al., 1991). Es findet sich eine physiologische Plasmakonzentration von 1-10pg/ml.

Sekretionshemmend wirken freie Glukokortikoide, ACTH, Melantonin und Norepinephrin mittels Regulation über einen negativen Feedbackmechanismus (Engler et al., 1999). Sekretionsfördernd wirken Acetylcholin, Epinephrin, Histamin, Prostaglandin F₂ α (PGF₂ α) und Prostaglandin E (PGE).

1.2.2.2 Vasopressin

Vasopressin (Synonyme: Antidiuretisches Hormon (ADH), Adiuretin) ist ein Nonapeptid, welches in den magnozellularen Neuronen des nucleus supraopticus und paraventricularis des Hypothalamus synthetisiert wird. Nach Erreichen der eminentia mediana per axonalem Transport wird Arginin-Vasopressin (AVP) in das hypophysäre Pfortadersystem des Hypophysenhinterlappens und somit in den Blutkreislauf sezerniert. Man bezeichnet es auch als neurohypophysäres Hormon. Dort kann es seinen beiden namengebenden Hauptfunktionen, dem antidiuretischen Effekt an den Sammelrohren der Niere (V2 Rezeptoren) sowie der Vasokonstriktion (V1 Rezeptoren) nachkommen. Des Weiteren fungiert AVP gemeinsam mit CRH auch als Stimulator für die Ausschüttung von ACTH (V3 Rezeptoren) und steigert in geringem Maße die Plättchenaggregation (Späth-Schwalbe et al., 1987; Salata et al., 1988; Sugimoto et al., 1994; Bierwolf et al., 1997). Die Regulation der Freisetzung von AVP wird über verschiedene Mechanismen, wie zum Beispiel die Plasmaosmolarität im peripheren Blut, gesteuert. Bei Anstieg dieser wird die Ausschüttung gesteigert und über second Messenger die Wasserrückresorption am distalen Tubulus der Niere veranlasst. Parallel dazu greift bei größeren Volumenverlusten der Gauer-Henry-Reflex. Über

eine geringere Dehnung des Vorhofes wird ein afferentes Signal an den Hypothalamus gesendet, der mit einer erhöhten Freisetzung von AVP reagiert. Hohe Plasmakonzentrationen wirken zudem vasokonstriktorisch (Cunningham und Sawchenko, 1991). Zahlreiche Faktoren, wie etwa Blutdruckabweichungen, Medikamente, Nikotin und Alkohol beeinflussen die Wirkung von AVP zum Teil erheblich. Die physiologische Plasmakonzentration liegt bei 0,5-6pg/ml.

1.2.2.3 Adrenocorticotropes Hormon

Das Adrenocorticotrope Hormon, ACTH, gilt als der entscheidendste Stimulator für die Ausschüttung und Synthese von Kortisol. Es handelt sich um ein aus 39 Aminosäuren bestehendes Peptid, wobei die ersten 24 N-terminalen Aminosäuren für die biologische Aktivität verantwortlich sind (Löffler und Petrides, 2003a). In den vorwiegend in der Adenohypophyse exprimierten Proopiomelanocortin-Zellen (POMC-Zellen) wird das 241 Aminosäuren umfassende Proopiomelanocortin gespalten, und es entstehen neben dem Hauptprodukt ACTH auch das Lipotrophe Hormon (LPH), Beta-Endorphin und das Melanozyten stimulierende Hormon (MSH) (Takahashi et al., 1981; Lundblad et al., 1988; Pritchard und White, 2007). Die Freisetzung dieser Peptide unterliegt einer Pulsatilität (siehe Kap. 1.2.1) und wird wiederum durch zahlreiche andere Hormone reguliert. Die wichtigste Rolle spielen hierbei das CRH und AVP, eine untergeordnete Rolle nehmen zum Beispiel Oxytocin, Angiotensin II, Cholecystokinin, vasoaktive intestinale Polypeptide (VIP), Atriales Natriuretisches Peptid (ANP), Opioide, Serotonin und Katecholamine ein (Antoni et al., 1986; Taylor et al., 1988; Jones und Gillham, 1988). Aber auch andere Faktoren wie etwa der zirkadiane Rhythmus, negatives Feedback der Glukokortikoide und Stress nehmen Einfluss auf die Freisetzung von ACTH.

Über den peripheren Blutkreislauf erreicht ACTH schließlich die Nebennierenrinde und fungiert dort als maßgeblicher Stimulator für die Kortikosteroidsynthese und -sekretion. Auf diese Weise wird auch die Größe der Nebenniere mitbestimmt. Des Weiteren werden wiederholt Einflüsse direkter Art auf das Immunsystem beschrieben (Besedovsky et al., 1996; De Kloet et al., 1998; McEwen, 2000).

Die physiologischen Plasmakonzentrationen unterliegen starken tageszeitlichen Schwankungen: am Morgen liegt die ACTH-Konzentration bei 10-60pg/ml und kurz nach dem zu Bett gehen, spät am Abend, fällt sie auf etwa 6-30pg/ml.

1.2.2.4 Kortisol

Kortisol ist das Endprodukt einer Stimulation der HHN-Achse und gilt allgemein als das Stresshormon. Es gehört zu den Glukokortikoiden, die in der zona fasciculata der Nebenniere gebildet werden. Der Vorläufer aller Kortikoide ist das Cholesterin. Es wird zum überwiegenden Teil aus den im Blut zirkulierenden Lipoproteinen gewonnen und zu einem weitaus geringeren Teil aus der De-Novo-Synthese von Acetyl-Coenzym-A. Cholesterin gelangt über in der Mitochondrienmembran lokalisierte StAR-Proteine (steroidogenic acute regulatory Proteine) in die Zellen der Nebennierenrinde (Lin et al., 1995; Waterman, 1995). Hier erfolgt die Biosynthese durch spezielle Enzyme der Gruppe Cytochrom P450, und es entsteht zu 95% Kortisol und zu 5% Kortikosteron. Stimuliert wird die Bildung durch die Ausschüttung von ACTH (Keller- Wood und Dallman, 1984). Von dem im Plasma befindlichen Kortisol sind etwa 5% frei zirkulierend und damit umgehend verfügbar. Die verbleibenden 95% binden entweder an Albumin oder, zu einem weit größeren Anteil, an Kortikosteroid bindendes Globulin (Dallman et al., 1987). Die meisten Steroidhormone, so auch Kortisol, binden an intrazelluläre Rezeptoren, welche über Konformationsänderung aktiviert werden. Im Gehirn und in der Hypophyse wurden bisher zwei für die Steuerung der HHN-Achse entscheidende Rezeptoren identifiziert: zum einen Mineralkortikoidrezeptoren, deren Zuständigkeit darin liegt, die basale Sekretion und damit die Stressanfälligkeit zu steuern. Zum anderen Glukokortikoidrezeptoren, die mit einer 10-mal niedrigeren Affinität ihre Relevanz in der Vermittlung eines negativen Feedback bei hohen Kortisolspiegeln haben. Damit wirken sie einer Überaktivität des Regelkreises entgegen (De Kloet et al., 1998; Reul et al., 2000). Die intracerebralen Mineralkortikoidrezeptoren findet man nahezu ausschließlich im Hippocampus (Reul et al., 2000). Im Gegensatz dazu finden sich intracerebrale Glukokortikoidrezeptoren ubiquitär mit einer gewissen Häufung in hypothalamischen CRH produzierenden Neuronen sowie ebenfalls im Hippocampus (Sapolsky, 1996).

Die Effekte von Kortisol sind vielfältig, von genomischen Wirkungen, welche immunsuppressive und antiphlogistische Auswirkungen einschließen, bis zu der großen Anzahl von nicht genomischen (metabolischen) Wirkungen. Im Gegensatz zu erstgenannten geschieht hier die Reaktion nicht auf intrazellulärer Ebene sondern auf Membranebene. Sie dienen gemäß der Stressmodulatorrolle von Kortisol der Bereitstellung von Energie in Form von Fettsäuren und Glukose. Daher kommt es zur Steigerung der Gluconeogenese in einer katabolen Stoffwechsellage und damit zu einer Erhöhung des Blutzuckerspiegels. Es zeigen sich eine Steigerung der Lipolyse und ein vermehrter Knochenstoffwechsel. Weitere Konsequenzen sind unter anderem die oben kurz erwähnten Interaktionen mit einer Vielzahl von Immunprozessen sowohl auf zellulärer als auch auf humoraler Ebene. Auch spricht man von einem so genannten permissiven Effekt, der hier eine Potenzsteigerung in Bezug auf andere Signalsubstanzen beschreibt, sowie von einer Beeinflussung des zentralen Nervensystems im Sinne einer Änderung von Verhaltensweisen (de Kloet et al., 1998; Linthorst et al., 2000; Wiegers et al., 2000).

Auch für Kortisol richten sich die Referenzbereiche nach der Tageszeit. In den frühen Morgenstunden finden sich Maximalwerte zwischen 5 und 25µg/dl, diese sind assoziiert mit den hier vorherrschenden REM Schlafphasen. Nachmittags fallen die Werte exponentiell und am späten Abend, kurz nach dem zu Bett gehen, liegen sie zwischen 2,5 und 12,5µg/dl und erreichen somit das Tagesminimum.

1.3 Weitere für die Studien relevante Hormone

1.3.1 Thyreotropin (TSH) und Thyroxin (freies T4)

TSH ist das Thyroidea stimulierende Hormon und übernimmt die Regulierung der Schilddrüsenfunktion und somit die Freisetzung von Trijodthyronin (fT3) und Thyroxin (fT4). Die Synthese und Sekretion dieses Glykoproteins erfolgt nach Stimulation durch das thyreotropin-releasing hormone (TRH) in und aus den Zellen der Adenohypophyse. Auch TSH erfährt eine Regulation über einen negativen Feedbackmechanismus, vermittelt durch die frei zirkulierenden Hormone fT3 und fT4. Zwar besteht auch hier ein geringfügig ausgeprägter

zirkadianer Rhythmus, dennoch reicht es aus, einen Referenzwert für die euthyreote Stoffwechsellage anzugeben: TSH 0,4-4 μ IU/ml.

Thyroxin ist das Hauptprodukt der Schilddrüse. Die Synthese und die Sekretion unterliegen komplexen Vorgängen. Zum überwiegenden Teil (99,95%) liegt es in gebundener Form (Thyroxin-bindendes-Globulin, TBG) vor und besitzt somit eine relativ geringere biologische Aktivität. Schilddrüsenhormone greifen in Wachstum und Entwicklung ein und stabilisieren zahlreiche metabolische Prozesse (Engler und Burger, 1984). Bei euthyreoter Stoffwechsellage finden sich Normwerte für freies Thyroxin zwischen 0,8 und 1,9ng/dl.

1.3.2 Prolaktin

Es handelt sich um ein für den Reproduktionsprozess essentielles Polypeptid aus den mammotropen Zellen der Adenohypophyse. Stimulierend wirken TRH, Östradiol, endogene Opioide, vasoaktive intestinale Polypeptide und Angiotensin II. Eine der Hauptfunktionen von Prolaktin, die Steuerung der Laktation, wird impliziert durch den Namen. Von nicht geringerer Bedeutung ist jedoch der Einfluss auf den weiblichen Reproduktionszyklus (Neville et al., 2002). Auch eine immunmodulatorische Rolle wird Prolaktin zugeschrieben. Referenzwerte unterliegen großen geschlechtsspezifischen Unterschieden: Männer 6,2ng/dl; Frauen 9,4ng/dl.

1.3.3 Growth Hormon (GH)

Das Wachstumshormon GH (hGH = human-growth-hormone, auch STH = Somatotropes Hormon) ist ein einkettiges Proteohormon aus der Adenohypophyse (Hartman et al., 1993). Die Biosynthese wird vermittelt über das growth-hormone-releasing hormone (GHRH) und Östrogen. Sekretionsfördernd sind im wesentlichen GHRH und IGF (Insulin-like growth factor) (Bertherat et al., 1995; Burren et al., 1999; Kato et al., 2002). In der juvenilen Phase des Lebens ist GH ein wesentlicher Faktor des Längenwachstums und an diversen Stoffwechselprozessen beteiligt. Dazu gehören insbesondere der Protein-, Kohlenhydrat- und Fettstoffwechsel, aber auch der Wasser- und Elektrolythaushalt. Maximale GH-Konzentrationen finden sich im frühen Nachtschlaf parallel zu dem maximalen Abfall von Kortisol, die

geschlechtsabhängigen durchschnittlichen Referenzwerte sind wie folgt: Männer <1ng/ml; Frauen <10ng/ml.

1.4 Preprothyreotropin-releasing hormone (preproTRH₍₁₅₈₋₁₈₃₎) und sein Einfluss auf die HHN-Achse

Schon in den 60er Jahren und erneut Ende der 80er Jahre von Engler et al. und Mercer et al. aufgegriffen, konnte nach Durchtrennung des Hypophysenstiels und somit fehlendem CRH eine erhöhte ACTH-Konzentration beobachtet werden (Egdahl, 1960; Halasz et al., 1967; Engler et al., 1988; Mercer et al., 1989). Diese ließ sich offenbar nicht allein durch einen negativen Feedbackmechanismus erklären, was die Vermutung eines weiteren Inhibitors hypothalamischen Ursprungs nahe legte. Bekräftigt wurde diese Annahme durch Untersuchungen im Schlaf, die eine deutlich verminderte Ansprechbarkeit von CRH und Vasopressin vor allem im frühen Nachtschlaf zeigten (Spath-Schwalbe et al., 1993, 1994; Bierwolf et al., 1997; Born und Fehm, 1998; Engler et al., 1999; Buckley und Schatzberg, 2005; van Eekelen et al., 2003). Diese Beobachtungen führten dazu, dass die Existenz eines corticotropin-release-inhibiting factor (CRIF) postuliert wurde. Es handelt sich um einen Faktor, der direkt an der Adenohypophyse wirkt und sowohl die Basalsekretion als auch die stimulierte ACTH-Synthese und Sekretion hemmt. Neuropeptide wie etwa Somatostatin, Oxytocin, Substanz P, endogene Opiate, atriales natriuretisches Peptid (ANP) und das Melanozyten stimulierende Hormon (MSH) wurden als Kandidaten für einen CRIF genannt, jedoch erfüllte keine dieser Substanzen die Anforderungen, die an diesen endogenen CRIF gestellt wurden (Redei et al., 1995b).

In diversen klinischen Studien fiel auf, dass Patienten mit einem isolierten ACTH-Mangel erhöhte TSH-Werte bei normwertigen peripheren Schilddrüsenhormonen zeigten (Steinberg et al., 1954; Yamamoto et al., 1992). Man suchte den Grund zunächst in einer isoliert gesteigerten TRH-Synthese, stellte jedoch fest, dass TRH selbst keinen inhibitorischen Einfluss auf die ACTH-Sekretion ausübt. Die These über einen gleichzeitig mit TRH freigesetzten CRIF, entstehend bei der Spaltung des preproTRH Vorläufers, wurde formuliert (Redei et al., 1995a).

Noch im selben Jahr konnten Redei et al. aus Ratten gewonnene preproTRH DNA in AtT20 Zellen der Adenohypophyse von Mäusen einbringen. Resultat waren sowohl eine verminderte Synthese von POMC mRNA als auch eine verminderte

ACTH-Sekretion (Redei et al., 1995a). Da bei der posttranslationalen Verarbeitung von preproTRH jedoch mehr als nur ein biologisch aktives Spaltprodukt entsteht, isolierten Redei et al. unter anderem preproTRH₍₁₇₈₋₁₉₉₎. Dieses lag zum TRH in einem Verhältnis von 1:5 im Hypothalamus der Ratte vor (Redei et al., 1995b, 1998). Es erfüllte zum einen die physiologischen und zum anderen die anatomischen Anforderungen an einen CRIF. Mit Hilfe von spezifischen Antikörpern gegen preproTRH₍₁₇₈₋₁₉₉₎ lokalisierte man in den periventriculären nuclei (PVN) des Hypothalamus und in Bereichen der eminentia mediana entsprechende immunpositive Zellkörper (Redei et al., 1998). Die Konzentration dieser ändert sich während einer Konfrontation des Organismus mit Stress (Redei et al., 1998). Interessanterweise blieb nach Hinzugabe des größeren Fragments preproTRH₍₁₁₉₋₂₂₉₎ der inhibitorische Effekt aus, so dass eine Deaktivierung vermutet wurde.

Ein Zusammenhang zu TRH konnte auch auf Rezeptorebene hergestellt werden. Mit dem Wissen um eine noradrenerge Kontrolle der TRH-Sekretion registrierten Kovacs und Makara, dass sich bei Stimulation von α 2-Rezeptoren mittels Clonidin bei gesunden Tieren eine Hemmung der ACTH-Antwort auf CRH und Vasopressin auslösen lässt. Ein solcher Effekt kann bei Tieren mit einer Läsion im PVN Bereich des Hypothalamus nicht nachgewiesen werden (Kovacs und Makara, 1993). Diese und auch andere ähnliche Studien suggerieren, dass aktivierte α 2-Rezeptoren eine Freisetzung von CRIF aus den PVN veranlassen. Eine Aussage, die sich mit den vorher beschriebenen Ergebnissen deckt.

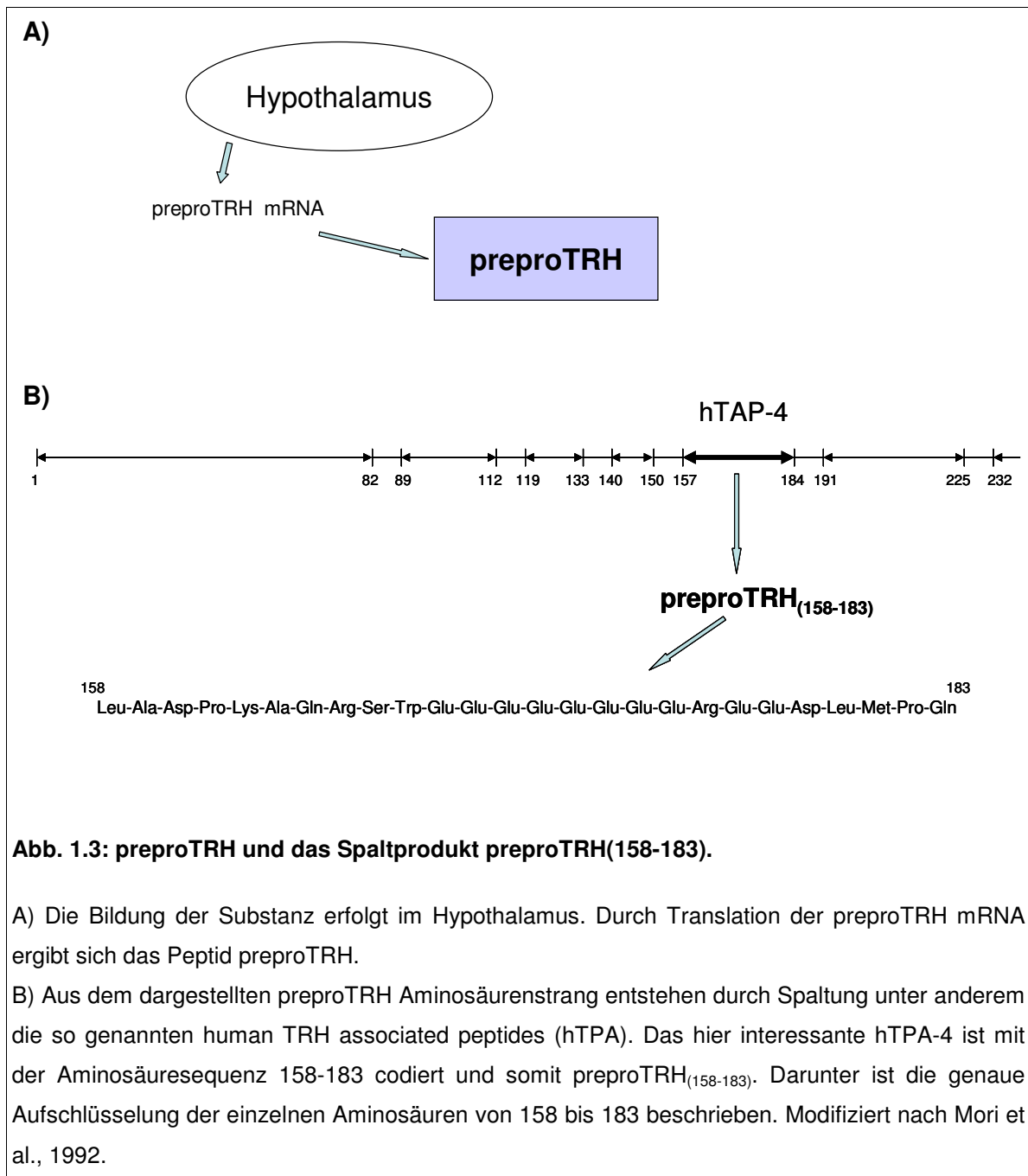
Der CRIF Mechanismus präsentiert sich als unabhängig von CRH. Gestützt auf folgende Aussagen lässt sich dies untermauern: Erstens, die basale Synthese und Sekretion von ACTH wird in vitro auch ohne Anwesenheit von CRH gehemmt. Zweitens, bei einer Trennung von Hypothalamus und Hypophyse ergibt sich trotz der resultierenden Abwesenheit von CRH ein ACTH-Anstieg (Redei et al, 1995b). CRIF und CRH konkurrieren also vermutlich nicht um denselben Rezeptor.

1997 begannen McGivern et al. mit in vivo Studien in Ratten zu diesem Thema. Bei diesem Setting war es möglich neben der HHN-Achsen-Aktivität auch das Verhalten der Versuchstiere zu analysieren (McGivern et al., 1997). Seit Jahren schreibt man POMC eine Funktion als homöostatisches Kontroll-System diesbezüglich zu (de Wied und de Kloet, 1987). Und auch Feldmann et al.

berichteten 1995 über zahlreiche stressbezogene, CRH vermittelte Verhaltensänderungen (Feldman et al., 1995). Wie die oben beschriebene anatomische Lokalisation der preproTRH aktiven Bereiche vermuten lässt, bestätigten sich auch für dieses Peptid zentral modulatorische Einflüsse auf stressbedingtes Verhalten. Beobachtet wurden eine deutliche Reduktion von Angst und eine Steigerung des Wachheitsgrades (McGivern et al., 1997). Auf neuroendokriner Ebene waren neben der Hemmung von ACTH sowohl eine gleichzeitig reduzierte Ausschüttung von Prolaktin als auch eine verminderte, durch TRH induzierte GH-Freisetzung signifikant.

Während die bislang genannten Erkenntnisse alle aus Experimenten mit Tieren gewonnen wurden, liegen keine Versuche am Menschen vor.

1992 gewannen Mori et al. erstmalig aus der Plazenta und dem Hypothalamus des Menschen DNA, welche preproTRH codierte. Es ließen sich sechs verschiedene TRH-assoziierte Peptide (hTAP, human TRH-associated peptide) identifizieren, die unterschiedliche Aminosäuresequenzen beinhalteten. Darunter auch das als hTAP-4 (human TRH-associated peptide) bezeichnete preproTRH₍₁₅₈₋₁₈₃₎ mit der Aminosäuresequenz Leu-Ala-Asp-Pro-Lys-Ala-Gln-Arg-Ser-Trp-Glu-Glu-Glu-Glu-Glu-Glu-Glu-Arg-Glu-Glu-Asp-Leu-Met-Pro-Gln (Mori et al., 1992). Es stellte sich heraus, dass eine 40-60%ige Übereinstimmung mit dem bereits vorher von Yamada et al. entschlüsselten preproTRH der Ratte vorliegt (Yamada et al., 1990). Eine schematische Darstellung des Peptids findet sich in *Abbildung 1.3*.



1.5 Der Mineralstoff Magnesium

Magnesium (Symbol: Mg²⁺) ist ein zweifach positiv geladenes Ion (divalent) und gehört somit zu den chemischen Elementen. Es trägt die Ordnungszahl 12 und gilt als das achthäufigste Element der Erde. Als Mineralstoff ist Magnesium für Mensch und Tier unentbehrlich, allerdings kann der Organismus diese notwendige Substanz nicht selbst produzieren. Magnesium ist daher essentiell und muss

täglich in ausreichender Menge mit der Nahrung aufgenommen werden. Die Deutsche Gesellschaft für Ernährung empfiehlt etwa 350mg/Tag. Reich daran sind neben grünem Blattgemüse aufgrund seines hohen Chlorophyllgehaltes auch Nüsse, Vollkornprodukte, Mineralwasser und verschiedene andere Lebensmittel (Saris et al., 2000). Den größten Speicher stellt der Knochen dar, weshalb eine negative Bilanz zu schleichendem Knochenabbau führt. Hier befinden sich etwa 67% des im Alter abnehmenden Gesamtbestandes, 31% sind in Organen mit großer Stoffwechselaktivität angereichert (Herz, Leber, Zentrales Nervensystem und Muskulatur), und den verbleibenden weitaus geringsten Anteil enthält der Extrazellularraum (Löffler und Petrides, 2003b). Die Konzentration im Blut liegt zwischen 0,8 und 1,0mmol/l, davon sind ungefähr 32% an Proteine, Phosphate und Zitate gebunden. Da die Konzentration im Liquor cerebrospinalis mit 1,25-1,5mmol/l fast doppelt so groß ist, deutet alles auf ein aktives Transportsystem zwischen beiden Kompartimenten hin (Murck, 2002). Magnesium wird zu etwa 60-79% über den Stuhl ausgeschieden, während die verbleibenden 21-40% über die Niere abgegeben werden. Eine Resorption findet sowohl im Ileum und im Kolon als auch in der Henleschen Schleife der Niere statt (Kisters, 1998; Saris et al., 2000). Die vollständige Regulation des Magnesiumstoffwechsels ist jedoch weitaus komplexer und bis heute nicht komplett aufgeklärt (Saris et al., 2000). Man weiß jedoch, dass eine vermehrte Mineralo- und Glukokortikoidsekretion zu einer vermehrten Magnesiumausscheidung führt, und umgekehrt ein Mangel dieser Hormone eine Verminderung der Magnesiumausscheidung bewirkt (Kisters, 1998). Auch die Schilddrüsenhormone spielen eine entscheidende Rolle. So ist die Bilanz unter Substitution jener positiv und bei einer Unterfunktion negativ (Löffler und Petrides, 2003b). Das legt die Vermutung nahe, dass die Ionen für die Wirkung dieser Hormone von großer Bedeutung sind.

Die Funktionen von Magnesium sind vielfältig. Es nimmt an mehr als 300 verschiedenen Reaktionen des Körpers teil. Dazu gehören insbesondere die Erregbarkeit von Membranen, zahlreiche Enzym- und Coenzym Funktionen, sowie eine Schlüsselrolle im zellulären Kalzium-Transport (Saris et al., 2000). Dementsprechend sind die Zeichen einer Magnesiumstörung vielgestaltig. Sie umfassen aber im Wesentlichen folgende Bereiche: Neuromuskuläre, kardiovaskuläre, psychisch-vegetative sowie gynäkologisch/geburtshilfliche Störungen und Komplikationen (Siegenthaler, 2005). Die Ursache einer solchen

Entgleisung ist meist in mangelnder Zufuhr (Malnutritions- und Malabsorptionssyndrome), in Verteilungsstörungen und Verlusten zu suchen. Die Diagnosestellung dessen erweist sich oft als schwierig, da in 50% der Fälle ein zellulärer Mangel besteht. Dieser lässt sich im Blutserum nicht nachweisen (Kisters, 1998).

1.6 Einfluss von Magnesium auf die HHN-Achse

Über die genauen Interaktionen von Magnesium mit der HHN-Achse ist bisher wenig bekannt. Die Hypothese, dass Magnesium als Inhibitor dieses Systems fungieren kann, begründet sich jedoch in folgenden Beobachtungen: Magnesium wurde wiederholt als NMDA (N-Methyl-D-aspartat) -Rezeptor Antagonist sowie als GABA (γ -Aminobuttersäure) -Agonist identifiziert (Murck und Steiger, 1998; Held et al., 2002). Bei der an den NMDA-Rezeptoren wirkenden Substanz handelt es sich um Glutamat. Dies ist der wirksamste exzitatorische Neurotransmitter des menschlichen Gehirns, GABA hingegen ist der wichtigste inhibitorische Botenstoff (Löffler und Petrides, 2003b). Zwar sind für Magnesium zahlreiche Effekte auf das Gehirn belegt, interessant für den vorliegenden Versuch sind aber die Zusammenhänge dieser Komponenten zum neuroendokrinen System. So hängt die Funktion der HHN-Achse unter anderem von NMDA antagonistischen sowie GABA agonistischen Einflüssen an unterschiedlichen Angriffspunkten ab (Murck und Steiger, 1998; Murck, 2002). Akuter Stress beeinflusst zum Beispiel NMDA-Rezeptor abhängige synaptische Plastizität im Bereich des Hippocampus, einer Region, die bekannterweise für Gedächtnisbildung und das Entstehen von Emotionen verantwortlich ist (Chaouloff et al., 2007). Nach Jezova hat eine glutaminerge Regulation neben einer entscheidenden Rolle in der Entwicklung auch einen signifikanten Einfluss auf die ACTH-Freisetzung in der Antwort auf Stress (Jezova, 2005). Studien von Harvey et al., sprechen von einer Dysregulation der γ -Aminobuttersäure nach stressinduziertem Glukokortikoid Anstieg, und die Arbeitsgruppe um Verkuyl sieht eine persistierende Inhibition der GABAergen parvozellulären hypothalamischen Neurone unter erhöhten Glukokortikoiden (Harvey et al., 2004; Verkuyl et al., 2005). Könnte also Magnesium bei derartigen Reaktionen antagonistisch oder entsprechend agonistisch einwirken, wäre dies eine Möglichkeit, therapeutisch in einer HHN-Achsen Regulationsstörung zu intervenieren.

Des Weiteren gibt es Studien, die Magnesium, vermutlich auf Grund der beschriebenen Wirkungen, in einen Zusammenhang mit der Schlafqualität stellen. Ein Mangel dessen ist als alltäglicher Stressor für dauerhaft erhöhte Kortisolspiegel mitverantwortlich (McEwen, 2006). Es zeigte sich, dass die schlafassoziierte Hormonsekretion bei älteren Patienten unter mehrtägiger oraler Magnesiumgabe deutlich verbessert werden konnte: Tiefschlafphasen häuften sich und die Kortisolsekretion konnte in der ersten Nachthälfte signifikant gesenkt werden (Held et al., 2002). Tramer und Kollegen stellten in einer Doppelblindstudie nach intravenöser Applikation einer Magnesiumsulfatlösung eine erheblich bessere Schlafqualität im Sinne einer Stabilisierung dessen fest (Tramer et al., 1996). Diese stabilisierende Rolle ist möglicherweise ebenfalls auf die genannten antagonistischen bzw. agonistischen Wirkungen auf NMDA-Rezeptoren bzw. GABA zurückzuführen (Murck und Steiger, 1998).

Experimente hinsichtlich der Fragestellung sind rar. In den Versuchen der Arbeitsgruppe um Zofkova et al. sah man keine Veränderungen der Kortisolsekretion nach intravenöser Gabe von Magnesium am Tage (Zofkova et al., 1993). Murck und Steiger hingegen untersuchten hormonelle Veränderungen im frühen Nachtschlaf. Hier erhielten die Probanden eine kontinuierliche intravenöse Administration von Magnesium, worunter sich zwar eine Reduktion der ACTH Sekretion einstellte, jedoch keine Veränderungen der Kortisolspiegel (Murck und Steiger, 1998). Über Studien mit Magnesium auf die stimulierte HHN-Achse des Menschen wurde bisher nicht berichtet.

1.7 Fragestellung

In der vorliegenden Arbeit werden zwei unterschiedliche Substanzen mit der Frage untersucht, ob sie die Aktivität der HHN-Achse zu hemmen vermögen. Es werden Versuche mit einem potentiell hochspezifischen Inhibitor (preproTRH₍₁₅₈₋₁₈₃₎) und einem eher unspezifischen Hemmstoff (Magnesium) beschrieben. Als Stimulator dient die gleichzeitige Applikation von CRH und Vasopressin, welche beide auf Hypophysenebene angreifen und in Kombination zu den stärksten stimulierenden Substanzen der ACTH Sekretion gehören.

Die Versuche sind Teil eines Projektes, in dem mehrere denkbare Inhibitoren systematisch auf ihre Fähigkeit zur Hemmung der Kortisolsekretion erforscht wurden.

Mit der vorliegenden Arbeit sollen folgende Hypothesen untersucht werden:

- I. PreproTRH₍₁₅₈₋₁₈₃₎ hemmt nach intravenöser Applikation die basale und die stimulierte Aktivität des Hypothalamus-Hypophysen-Nebennieren-Systems am gesunden Menschen.

- II. Magnesium hemmt nach intravenöser Applikation die basale und die stimulierte Aktivität des Hypothalamus-Hypophysen-Nebennieren-Systems am gesunden Menschen.

Zusätzlich waren im Falle von preproTRH₍₁₅₈₋₁₈₃₎ mögliche Einflüsse der Testsubstanz auf die anderen Achsen der Hypophyse, den Blutzucker und das Blutbild, sowie die aktuelle Befindlichkeit und die kardiovaskulären Parameter von Interesse.

Bei Magnesium wurden weiterhin Effekte der Testsubstanz auf andere Elektrolyte und die aktuelle Befindlichkeit sowie die kardiovaskulären Parameter untersucht.

2. Material und Methoden

2.1 Probanden

Die Studien wurden mit insgesamt 20 freiwilligen Versuchspersonen durchgeführt. An der preproTRH₍₁₅₈₋₁₈₃₎-Studie nahmen 8 Probanden teil, an der Magnesium-Studie 12. Es handelte sich um gesunde Männer, im ersten Fall in einem Alter zwischen 23 und 26 Jahren (Median 23,5 Jahre), im zweiten Fall zwischen 20 und 28 Jahren (Median 24 Jahre). Der durchschnittliche body mass index (Mittelwert \pm Standardfehler: preproTRH₍₁₅₈₋₁₈₃₎ $22,5 \pm 0,8$ kg/m²; Magnesium $24,4 \pm 0,5$ kg/m²) sowie der Blutdruck lagen im Normalbereich. Auf kardiovaskuläre, pulmonologische, metabolische, neurologische und psychiatrische Erkrankungen gab es keine Hinweise. Alle Probanden waren Nichtraucher, und eine Vorgeschichte bezüglich Alkohol- oder Drogenabusus lag nicht vor. Die Probanden nahmen zum Zeitpunkt der Versuche keine Medikamente ein und waren nicht im Schichtdienst tätig. Sie wurden im Vorfeld angehalten, an den Versuchstagen ausgeschlafen zu erscheinen, und in den fünf Stunden vor Versuchsbeginn nichts mehr zu essen, keinen Kaffee, keine anderen koffeinhaltigen Getränke und keinen Alkohol zu trinken.

Alle Versuchspersonen wurden anhand eines Merkblattes im persönlichen Gespräch über den Sinn, die Inhalte und den Ablauf des Versuchs aufgeklärt. Auf mögliche Nebenwirkungen der verabreichten Medikamente sowie mögliche Nebenwirkungen bei der Anlage der Venenverweilkanülen wiesen wir hin. Den Teilnehmern wurde versichert, jederzeit das Experiment abbrechen zu können, ohne dass Ihnen daraus Nachteile entstehen würden. Alle Probanden gaben ihr schriftliches Einverständnis dafür. Sie wurden für die Teilnahme mit 80 Euro vergütet. Die Ethikkommission der Universität zu Lübeck genehmigte die Studie unter dem Aktenzeichen 02-084.

2.2 Versuchsaufbau

Es fanden zwei Studien unabhängig voneinander statt. Die Untersuchung der sehr spezifischen Testsubstanz preproTRH₍₁₅₈₋₁₈₃₎ erstreckte sich von September 2004 bis Januar 2005 mit acht Probanden.

Die Untersuchung der etwas unspezifischeren Testsubstanz Magnesium erstreckte sich von Oktober 2005 bis Dezember 2005 mit zwölf Probanden.

Die Experimente waren als randomisierte, placebo-kontrollierte, Doppel-blind-Studie mit einem within-subject design aufgebaut. Die Zuordnung der Versuchstage (Verum vs. Placebo) erfolgte nach dem Zufallsprinzip. Zwischen beiden Versuchstagen wurde ein Mindestabstand von einer Woche eingehalten.

In der preproTRH₍₁₅₈₋₁₈₃₎-Studie setzten wir als Testsubstanz preproTRH₍₁₅₈₋₁₈₃₎ ein, als Placebo diente physiologische Kochsalzlösung (NaCl 0.9%, Fa. Berlin Chemie AG). In der Magnesium-Studie handelte es sich bei der Testsubstanz um Magnesiumsulfat (Fa. Inresa Arzneimittel, Freiburg, Deutschland), als Placebo wurde ebenfalls physiologische Kochsalzlösung verwendet.

Die Stimulation der Hypothalamus-Hypophysen-Nebennieren-Achse (HHN-Achse) erfolgte mit einem standardisierten CRH/Vasopressin Stimulationstest. Die Versuchstage begannen um 12.00Uhr, wobei die preproTRH₍₁₅₈₋₁₈₃₎ Versuche um 16.15Uhr endeten, die Magnesium Versuche dagegen um 15.45Uhr.

Alle Versuche fanden im Schlaflabor der Medizinischen Klinik I des Universitätsklinikums Schleswig-Holstein, Campus Lübeck, statt.

2.3 Versuchsaufbau

Die Experimente starteten um 12.00Uhr. Die Probanden lagen mit erhöhtem Oberkörper auf einem Bett und durften lesen oder ruhige Musik hören. Es wurde nach höchstens zweimaliger Punktion je ein venöser Zugang (OPTIVA*2 18G, Fa. Johnson & Johnson) in die rechte und in die linke Cubitalvene gelegt. Einer davon diente zur Applikation des Stimulationstests und der Testsubstanz, der andere zur Blutentnahme. Um eine Gerinnung im System zu vermeiden, wurde dieser nach jeder Entnahme mit 2ml NaCl 0,9% (NaCl 0,9%, 0,5l, Fa. Berlin Chemie AG) gespült. Der Venenverweilkanüle nachgeschaltet wurde je ein Dreiwegehahn (Discofix -3, Fa. B. Braun Melsungen AG). Hier angeschlossen war auf der Seite der Applikation ein Druckschlauch (Combidyn Druckschlauch PE 1,0 x 2,0mm, Fa. B. Braun) und daran eine 50ml Perfusorspritze (BD Perfusion 50ml, Fa. Luer Lok). Des Weiteren wurden Blutdruck und Puls maschinell (boso-medicus, Fa. Bosch & Sohn GMBH & Co) am Arm der Blutentnahme gemessen; die Manschette beließen wir über den gesamten Versuch an diesem Arm.

Bei der preproTRH₍₁₅₈₋₁₈₃₎-Studie wurden entsprechend dem Versuchsprotokoll (siehe Anhang) die Hormone Kortisol, ACTH, TSH, GH, LH, FSH, Prolaktin und

fT4 sowie Blutbild, Blutzucker und die Elektrolyte Natrium, Kalium, Kalzium gemessen.

Bei der Magnesium-Studie bestimmten wir entsprechend des Versuchsprotokolls (siehe Anhang) Kortisol, ACTH und die Elektrolyte Magnesium, Natrium, Kalium, Kalzium.

Um 13.10Uhr dienten eine Messung von Blutdruck und Puls sowie eine erste Blutprobe als Ausgangswerte, um dann um 13.15Uhr ($t=0$) den Perfusor (PerfusorSecura FT, 50ml, Fa. B. Braun) mit den entsprechenden Testsubstanzen anzuschließen und somit den Versuch zu beginnen.

Da die pharmakologischen Eigenschaften des Peptides preproTRH₍₁₅₈₋₁₈₃₎ beim Menschen bisher nicht getestet wurden, orientierten wir uns an den bei Ratten mit Erfolg verwendeten Mengen (McGivern et al., 1997) und starteten mit einer Dosis von 10 μ g preproTRH₍₁₅₈₋₁₈₃₎/kg Körpergewicht bei zwei Probanden. Im Tierversuch zeigte sich bereits hier eine Inhibition der Kortisolsekretion von 50%. Wir konnten hingegen bei dieser Dosierung keine klaren Effekte beobachten, so dass wir sukzessiv die Dosis auf zunächst 25 μ g/kg Körpergewicht ($n=2$), dann auf 50 μ g/kg Körpergewicht ($n=2$) erhöhten. Um eine mögliche Umkehrung der Wirkung auszuschließen, bekamen letztlich zwei der Probanden eine erheblich kleinere Dosis von 5 μ g/kg Körpergewicht ($n=2$). Zusätzlich wurden alle Probanden, wie bereits beschrieben, auch unter Placebo Bedingungen getestet.

Die Testsubstanz wurde 15 Minuten vor Start des Perfusors in NaCl 0,9% gelöst.

Im Falle der Magnesium-Studie enthielt die Infusion entweder eine 10ml Ampulle Mg 50% Inresa, mit 5g Magnesium (Fa. Inresa Arzneimittel, Freiburg, Deutschland) verdünnt mit 40ml NaCl 0,9% auf insgesamt 50ml, oder 50ml NaCl 0,9% ohne weitere Zusätze als Placebo.

Als loading dose wurden 2,5g Magnesium über 30 Minuten (Perfusor mit 100mg Magnesium/ml für 30 Minuten mit 50ml/h), dann eine Erhaltungsdosis von 2,5g Magnesium/h (Perfusor mit 100mg Mg/ml mit 15ml/h) appliziert.

In beiden Fällen wurde engmaschig Blut entnommen (Monovetten S (Fa. Sarstedt)). Davon wurden die ersten 2ml des zuvor mit NaCl 0,9% gespülten Systems verworfen.

Bei der preproTRH₍₁₅₈₋₁₈₃₎-Studie fanden die Abnahmen zwischen den Zeitpunkten t=0 bis t=30 alle 5 Minuten statt, zwischen den Zeitpunkten t=30 bis t=130 alle 15 Minuten und zwischen den Zeitpunkten t=130 bis t=190 alle 30 Minuten.

Die Blutentnahmen während der Magnesium-Studie erfolgten zwischen den Zeitpunkten t=0 bis t=90 alle 15 Minuten, zwischen den Zeitpunkten t=90 bis t=150 alle 30 Minuten.

Nach 12 Minuten wurde zur Stimulation der HHN-Achse eine Stressreaktion mit dem CRH/Vasopressin Test provoziert.

Hierzu bekam der Proband zunächst eine Kurzinfusion mit 0,5IE Arginin-Vasopressin (Fa. American Regent, Shirley NY, USA) in 100ml NaCl 0,9% über 6 Minuten in den Arm der Blutentnahme infundiert. In der dritten Minute (also 15 Minuten nach dem Start der preproTRH₍₁₅₈₋₁₈₃₎ bzw. der Placebo Infusion, t=15) wurden zusätzlich 50µg CRH (FA. Ferring, Kiel, Deutschland) als Bolus gespritzt.

Zur Beurteilung des Befindens während des Versuchs füllten die Probanden vor Beginn des Versuchs (t=-5), zu den Zeitpunkten t=45 (nach dem Kernstück des Versuchs) und t=130 (preproTRH₍₁₅₈₋₁₈₃₎) bzw. t=120 (Magnesium) eine Eigenschaftswörterliste (EWL-K, Verlag für Psychologie, Dr. C. J. Hogrefe, Göttingen, Deutschland) aus.

Für die Bestimmung von ACTH verwendeten wir 9ml Blut in einem EDTA Plasmaröhrchen. Für die Bestimmung von Kortisol, TSH, GH, LH, FSH, Prolaktin und fT4 fanden 4ml Serumröhrchen Verwendung. Die Proben wurden bei einer Temperatur von 4°C und einer Umdrehungszahl von 4000/Minute zentrifugiert (Labofuge 400B, Fa. Heraeus Instruments, Kendro Laboratory Produkts) und danach der Überstand in 1,5ml Eppendorfgefäße (Fa. Sarstedt) pipettiert. Sofort im Anschluss wurden die Proben bis zum Zeitpunkt der Messung bei -20°C tiefgefroren. Für die Bestimmung der Elektrolyte Natrium, Kalium, Kalzium, Magnesium und für die Bestimmung des Blutbildes wurden je 1ml Blut in eine Heparin bzw. EDTA Monovette abgenommen und umgehend in die Klinische Chemie und in das Institut für Hämatologie des Universitätsklinikums SH, Campus Lübeck, eingesandt.

2.4 Verwendete Substanzen und Testverfahren

2.4.1 PreproTRH₍₁₅₈₋₁₈₃₎

Die Herstellung des Peptids übernahm die Firma Jerini (FA. Jerini, Berlin, Deutschland), die Aufbereitung für den Gebrauch am Menschen die Firma Clinalfa (Fa. Clinalfa, Merck Biosciences, Läfelfingen, Schweiz). Eine Reinheit von mehr als 95% und die Vollständigkeit des Peptids wurden durch HPLC (high performance liquid chromatography, Hochleistungsflüssigkeitschromatographie) und Massen Spektroskopie bestätigt. Insgesamt standen uns 10mg der Testsubstanz zur Verfügung. Eine schematische Darstellung von preproTRH und seinem hier verwendeten Spaltprodukt zeigt *Abbildung 1.3*.

2.4.2 Magnesium

Verwendet wurde Magnesium der Firma Inresa Arzneimittel (Fa. Inresa Arzneimittel, Freiburg, Deutschland). Einer 10ml Ampulle Mg50% wurden 5g Mg hinzugefügt und mit 40ml NaCl (NaCl 0,9%, Fa. Berlin Chemie AG) verdünnt. Das mögliche Auftreten folgender Nebenwirkungen bei pharmakologischer Anwendung wird berichtet: Müdigkeit, Diarrhoe, ZNS-Störungen, Herz-Rhythmus-Störungen, Muskelschwäche, Atemdepression.

2.4.3 Corticotropin-releasing hormone (CRH)

Die Probanden erhielten im Rahmen des unten beschriebenen Stimulationstests eine Gesamtdosis von 50µg CRH (Firma Fering, Kiel, Deutschland).

2.4.4 Arginin-Vasopressin (AVP)

Wir setzten 0,5IE Arginin-Vasopressin der Firma American Regent ein (FA. American Regent, Shirly, New York, USA).

2.4.5 CRH/Vasopressin Stimulationstest

Die verwendete Kombination von Arginin-Vasopressin und CRH ist ein gut untersuchter Stimulator der ACTH Sekretion (Spath-Schwalbe et al., 1987). Die Effekte von Arginin-Vasopressin potenzieren die von CRH, es entsteht also mehr als eine additive Reaktion (Liu et al., 1983; DeBold et al., 1984).

Nebenwirkungen können sein: Wärmegefühl im Kopf-, Hals- und Oberkörperbereich, Störungen des Geruchs- und Geschmacksempfindens, leichter Blutdruckanstieg, Herzklopfen, Gesichtsrötung, Unwohlsein.

2.5 Blutdruck und Pulsmessung

Die Messung von Blutdruck und Puls erfolgte elektronisch mittels einer Manschette am Oberarm mit einem Gerät der Firma Bosch & Sohn (bosomedicus, Fa. Bosch & Sohn GmbH). Die Manschette wurde über den gesamten Versuch in dieser Position belassen. Die Messungen erfolgten regelmäßig parallel zur Blutentnahme.

2.6 Eigenschaftswörterliste

Die Eigenschaftswörterliste (EWL-K, Verlag für Psychologie, Dr. C. J. Hogrefe, Göttingen, Deutschland) umfasst 123 Eigenschaftswörter, die in einem dichotomen Fragebogen formuliert sind. Es handelt sich um eine mehrdimensionale Methode zur Beschreibung von insgesamt 14 Aspekten des Befindens, die sich wiederum 6 größeren Bereichen zuordnen lassen (Jahnke und Debus, 1978). Die 14 Subskalen werden durch entsprechend ausgewählte Items gewichtet. Die Probanden waren angehalten, die jeweiligen Adjektive auf ihre augenblickliche, individuelle Gültigkeit zu überprüfen (trifft zu / trifft nicht zu). Entscheidend war, dass die Versuchspersonen unverzüglich antworteten und dabei kein Wort ausließen.

2.7 Laborchemische Untersuchungsmethoden

Nach Gewinnung des Materials erfolgte eine sofortige Zentrifugierung mit anschließender Gefrierung bei -20°C bis zur weiteren Verarbeitung. Alle Blutproben eines Probanden wurden im Doppelansatz mit demselben Assay bestimmt. Anschließend bildeten wir Mittelwerte der einzelnen Messungen. Hierzu verwendeten wir halbautomatische Kits.

2.7.1 Kortisol

Kortisol wurde mittels eines frei verkäuflichen Radioimmuno Assay RIA bestimmt („Coat-A-Count“[®] Cortisol RIA, Fa. DPC Biermann GmbH, Bad Nauheim, Deutschland). Bei diesem hochspezifischen Messverfahren konkurriert von Tieren

gewonnenes, radioaktiv markiertes Kortisol (I^{125}) mit dem in dem Probandenserum befindlichen Kortisol um die Bindungsstellen von kortisolspezifischen Antikörpern (Tracer). Die entstehenden Antigen-Antikörperkomplexe werden dann im Gamma Counter gemessen. Hier nimmt mit steigender Kortisolkonzentration im Probandenplasma die Zählrate dementsprechend ab, die Counts sind also umgekehrt proportional zur Konzentration. Zum Vergleich dienen Standardseren mit genau definiertem Kortisolgehalt, so dass man aus einer Standardkurve den zugehörigen Wert ablesen kann. Der Messbereich reicht von $1\mu\text{g/dl}$ bis etwa $50\mu\text{g/dl}$. Der Referenzbereich ist abhängig von der Tageszeit, am Morgen zwischen 5 und $25\mu\text{g/dl}$ und am Abend zwischen $2,5$ und $12,5\mu\text{g/dl}$. Bei Konzentrationen zwischen $1\mu\text{g/dl}$ und $50\mu\text{g/dl}$ beträgt der Intravariationskoeffizient $<3\%$ und der Intervariationskoeffizient $<5\%$. (Gebrauchsanweisung Coat-A-Count[®] Cortisol, PITKCO-2, 2003-07-08, DPC Biermann GmbH).

2.7.2 ACTH

Die quantitative Bestimmung von intaktem ACTH wurde mittels eines frei verkäuflichen immunoluminometrischen Zweischnitt-Assays durchgeführt (LUMItest[®] ACTH, Fa. Brahms Diagnostika GmbH, Henningsdorf, Deutschland). Das Testverfahren beruht auf der Coated-tube-Technik. Dabei werden zwei antigenspezifische monoklonale Antikörper im Überschuss mit dem gewonnenen Probandenplasma zusammengebracht. Diese anti-ACTH-Antikörper binden an das ACTH der Probanden. Nach weiterer Zugabe eines Lumineszenz-markierten Antikörpers (dem Tracer) bindet dieser ebenfalls an das ACTH und es entsteht ein so genannter Sandwich-Komplex. Dieser gebundene Anteil wird schließlich anhand des Lumineszenzsignals gemessen. Dieses verhält sich direkt proportional zu der ACTH-Konzentration und kann in einer Standardkurve abgelesen werden. Das Dedektionslimit dieses Assays beträgt 2pg/ml . Der Referenzbereich ist ebenfalls abhängig von einem zirkadianen Rhythmus und bewegt sich am Morgen zwischen 10 - 60pg/ml und liegt am Abend zwischen 6 - 30pg/ml . Der Intravariationskoeffizient ist $<4\%$ und der Intervariationskoeffizient $<8\%$ bei Konzentrationen zwischen 10pg/ml und 1000pg/ml . (Gebrauchsanweisung LUMItest[®] ACTH, Version R04, Brahms Diagnostika)

2.7.3 Prolaktin, TSH, fT4, LH, GH und FSH

Die quantitative Bestimmung dieser Hormone erfolgte mittels der Chemielumineszenzreaktion, einem frei verkäuflichen immunometrischen Assay (Fa. DPC Biermann GmbH, Bad Nauheim, Deutschland). Dieses gehört zum IMMULITE[®]-System. In dem für diesen Test vorgesehenen Röhrchen befinden sich auf der Festphase (einer Kugel) entsprechende monoklonale Mausantikörper. Nach Hinzufügen des Probandenmaterials findet der erste Reaktionsschritt statt: Das Reagenz, ein alkalisches Phosphatase-Konjugat, ebenfalls an entsprechende Antikörper gebunden, wird beigemischt und während der Inkubationszeit durch eine Immunreaktion gebunden. Ein Sandwich-Komplex entsteht. Nach dem obligatorischen Waschvorgang fügt man dem Ganzen luminogenes Substrat hinzu, und ein Photomultiplier misst die freigesetzten Lichtimpulse. Die Menge der gebundenen alkalischen Phosphatase und somit die Menge der entstehenden Lichtreaktionen ist proportional zur Konzentration des Analyten in der Probe. Die Normwerte für männliche Probanden sind wie folgt: Prolaktin 6,2ng/ml, TSH 0,4-4µIU/ml, fT4 0,8-1,9ng/dl, LH 2,4mIU/ml, GH <1ng/ml, FSH 3,8mIU/ml. Der Intervariationskoeffizient kann mit 12,6% zwischen 0,27mIU/ml und 60,0mIU/ml für LH angegeben werden. Die Intravariationskoeffizienten gestalten sich wie folgt: Prolaktin 6,1% zwischen 16,3 und 36,6ng/ml; TSH 6,2% zwischen 1,3 und 20,3 µIU/ml; fT4 6,7% zwischen 0,089 und 0,267 ng/dl; LH 5,9% zwischen 53,9 und 164 mIU/ml; GH 5,8% zwischen 3,1 und 31ng/ml; FSH 6,1% zwischen 19,7 und 42,5mIU/ml. (IMMULITE[®] Bedienungshandbuch, Gebrauchsanweisung IMMULITE[®] / IMMULITE[®] 1000 systems: Prolaktin (PILKPR-5, 2005-05-16), TSH (PILKTS-8, 2005-03-18), Freies T4 (PILKF4-6, 2004-10-11), LH (PILKLH-9, 2003-08-12), hGH (PILKGH-12, 2005-05-09), FSH (PILKFS-5, 2003-08-12)).

2.7.4 Blutbild, Elektrolyte

Die Differenzierung des Blutbildes erfolgte nach den üblichen Standardverfahren im Institut für Hämatologie des Universitätsklinikums Schleswig-Holstein, Campus Lübeck. Eine Analyse der Elektrolyte Natrium, Kalium, Kalzium und Magnesium führte das Institut für Klinische Chemie des Universitätsklinikums Schleswig-Holstein, Campus Lübeck, mit etablierten Standardverfahren durch.

2.8 Statistische Auswertung

Zur statistischen Analyse der preproTRH₍₁₅₈₋₁₈₃₎-Experimente wurden zunächst die individuellen Verläufe der Hormonkonzentrationen getrennt für jede Dosis betrachtet und mit der entsprechenden Placebo-Bedingung verglichen. Da unter keiner Dosis eindeutige Effekte auftraten, wurden die Daten der unterschiedlichen Dosierungen zusammengelegt und mittels einer Varianzanalyse (ANOVA) ausgewertet. Die Ergebnisse der Magnesium-Experimente wurden ebenfalls einer ANOVA unterzogen. Anschließend wurden in beiden Experimenten paarweise Vergleiche zu einzelnen Messzeitpunkten angeschlossen. Die Auswertung wurde für die Originaldaten und für baseline korrigierte Daten vorgenommen (indem von allen Messpunkten die individuelle Baseline abgezogen wurde). Da beide Analysen zum selben Ergebnis führten, werden hier nur die baseline korrigierten Daten berichtet. Die Fläche unter der Kurve (area under the curve, AUC) zwischen CRH Injektion und t=165 und die Maximalkonzentration wurde für jedes Hormon berechnet.

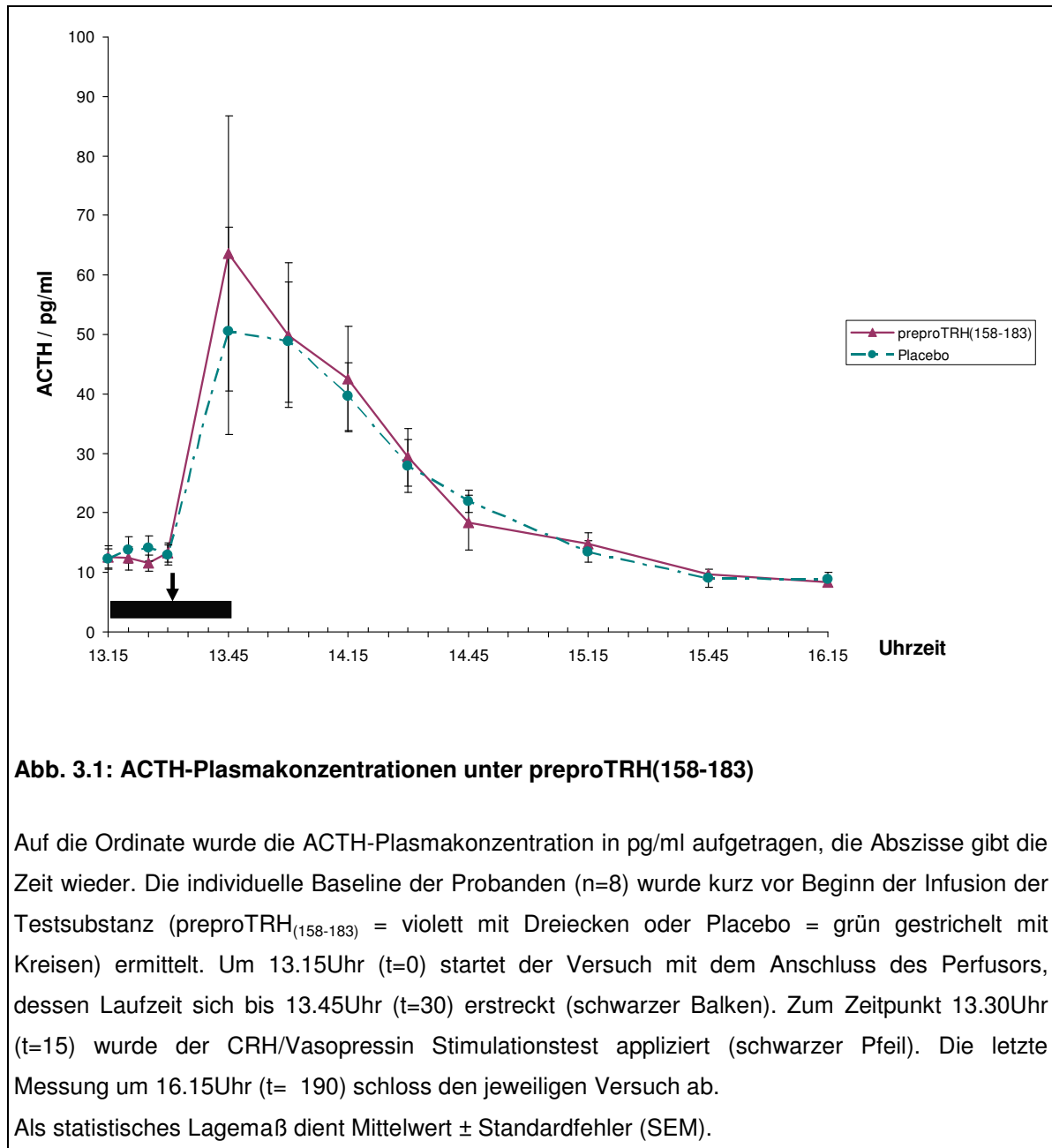
Die Eigenschaftswörterlisten wurden, wie von Jahnke und Debus 1978 beschrieben, ausgewertet und dann mit nicht-parametrischen Tests analysiert (Wilcoxon, Friedmann). Die Irrtumswahrscheinlichkeit war bei 5% definiert, entsprechend wurde ein p-Wert von <0,05 als signifikant erachtet.

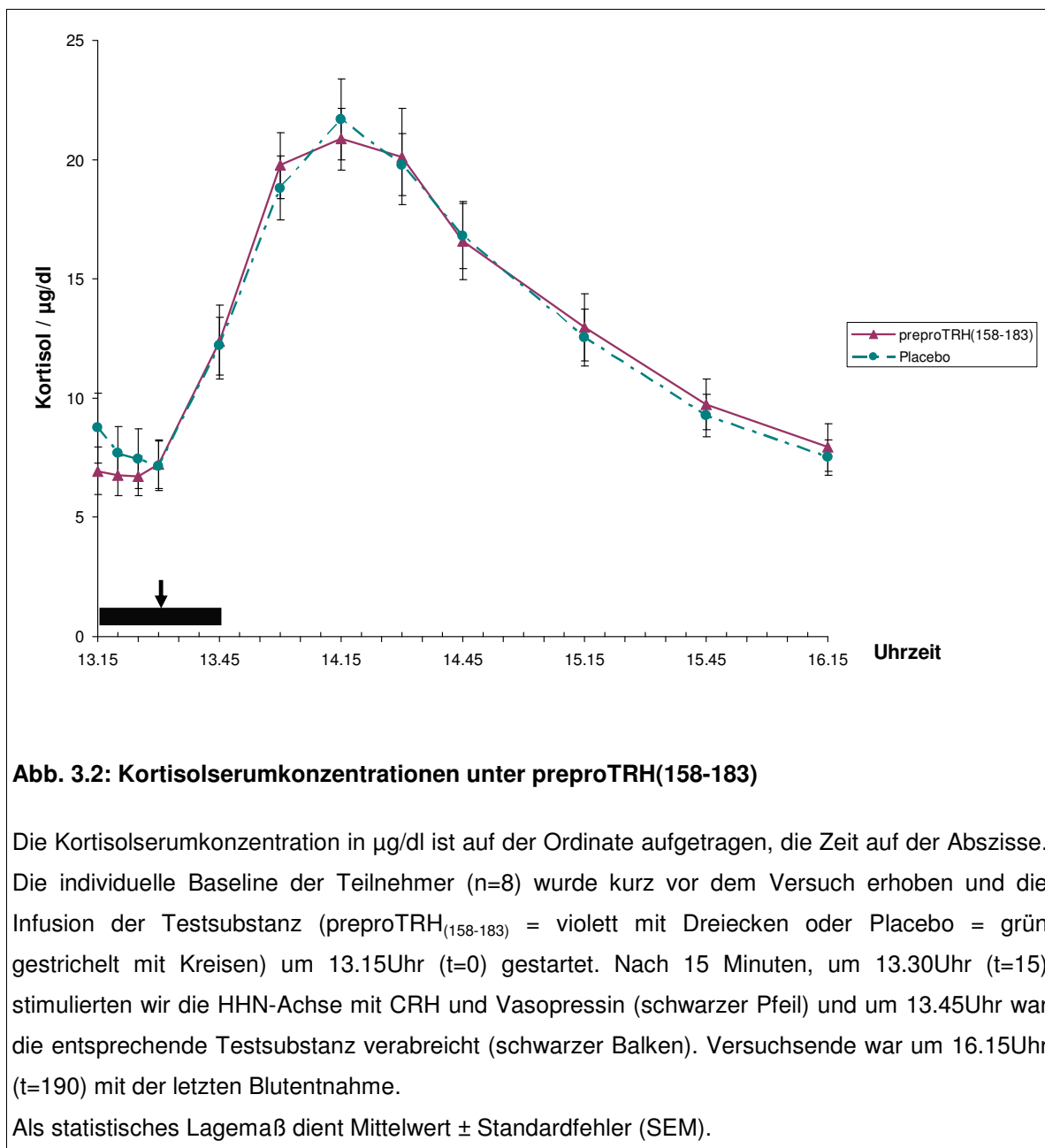
Die Nebenwirkungen, die innerhalb der Versuche von den Probanden geäußert oder von der Versuchsleiterin beobachtet wurden, sind zum einen in absoluten Zahlen dargestellt (*Abbildung 7.1 und 7.2*) und zum anderen prozentual auf die Gesamtzahl der jeweils durchgeführten Versuche (=100%) bezogen.

3. Ergebnisse

3.1 PreproTRH₍₁₅₈₋₁₈₃₎- Effekte ACTH und Kortisol

Bei der Analyse der Ergebnisse wird deutlich, dass keinerlei Abweichungen bezüglich der Konzentrationen zwischen den Bedingungen nachgewiesen werden können. Bereits bei der Betrachtung der individuellen Profile (entstanden durch die unterschiedlichen Dosen der Testsubstanz preproTRH₍₁₅₈₋₁₈₃₎, siehe *Kap. 2.3.*) waren keine eindeutigen Effekte heraus zu arbeiten. Aus diesem Grund haben wir die Daten der verschiedenen Dosen zusammengelegt und sie einer erneuten statistischen Auswertung unterzogen (siehe *Kap. 2.8.*). Danach wird gleichermaßen keine Signifikanz erkennbar ($p > 0.50$, für alle relevanten Vergleiche) (*Tabelle 7.1, Abbildung 3.1, Abbildung 3.2*). Die vor Applikation der Testsubstanzen erhobenen Daten (Baseline, siehe *Tabelle 7.1*) zeigen keinen statistisch signifikanten Unterschied. Im Verlauf ergeben sich nahezu gleiche Basalkonzentrationen während der Infusion von preproTRH₍₁₅₈₋₁₈₃₎ oder Placebo während der ersten 15 Minuten (preproTRH₍₁₅₈₋₁₈₃₎ vs. Placebo, Mittelwert \pm Standardfehler: ACTH $14,6 \pm 1,8$ vs. $14,4 \pm 1,2$ pg/ml; Kortisol $7,2 \pm 1,0$ vs. $7,2 \pm 1,1$ μ g/dl). Im Anschluss an den Stimulationstest findet sich ein typischer und jeweils vergleichbarer Peak bezüglich der Konzentrationen von ACTH und Kortisol. Dieser auf die Stimulation folgende Peak und die AUC (t=15 bis 165) sind in beiden getesteten Bedingungen nahezu identisch (preproTRH₍₁₅₈₋₁₈₃₎ vs. Placebo, Mittelwert \pm Standardfehler: Peak_{ACTH} $63,7 \pm 23,2$ vs. $50,5 \pm 17,4$ pg/ml; Peak_{Kortisol} $20,9 \pm 1,3$ vs. $21,7 \pm 1,7$ μ g/dl; AUC_{ACTH} 4609 ± 1166 vs. 4357 ± 780 pg/ml min; AUC_{Kortisol} 2359 ± 197 vs. 2322 ± 170 μ g/dl min). Siehe dazu auch *Tabelle 7.1*.





3.2 PreproTRH₍₁₅₈₋₁₈₃₎- Effekte auf GH, Prolaktin, LH und FSH

Unter der Stimulation mit CRH und Vasopressin zeigte der GH-Spiegel in den Behandlungsgruppen zunächst bis 14.15Uhr ($t = 60$) einen vergleichbaren Verlauf. Im Weiteren kam es zu einem Anstieg der GH-Spiegel, welcher unter preproTRH₍₁₅₈₋₁₈₃₎ deutlich ausgeprägter war als unter Placebo. Während der Zeit von 15.15Uhr bis 15.45Uhr ($t = 120$ bis $t = 150$) wurden im paarweisen Vergleich der Messzeitpunkte signifikante Unterschiede ermittelt. Auch die berechnete AUC ($t = 15$ bis $t = 165$) wies einen Unterschied zwischen den Bedingungen auf (preproTRH₍₁₅₈₋₁₈₃₎ vs. Placebo, Mittelwert \pm Standardfehler: AUC_{GH} 412 ± 138 vs. 121 ± 81 ng/ml min, $p < 0,08$). Siehe dazu *Tabelle 7.1, Abbildung 3.3*.

Die Prolaktinserumkonzentration stieg ebenfalls nach der Durchführung des Stimulationstests an, dies jedoch unabhängig von der Testsubstanz preproTRH₍₁₅₈₋₁₈₃₎. So lag p bei $>0,2$ für alle relevanten Vergleiche (preproTRH₍₁₅₈₋₁₈₃₎ vs. Placebo, Mittelwert \pm Standardfehler: $AUC_{Prolaktin}$ ($t=15$ bis $t=165$) 1048 ± 84 vs. 978 ± 97 ng/ml min).

LH und FSH wiesen keine Diskrepanz in den unterschiedlichen Bedingungen auf (preproTRH₍₁₅₈₋₁₈₃₎ vs. Placebo, Mittelwert \pm Standardfehler: AUC_{LH} ($t=15$ bis $t=165$) 441 ± 39 vs. 631 ± 90 mIU/ml min; AUC_{FSH} ($t=15$ bis $t=165$) 460 ± 137 vs. 475 ± 146 mIU/ml min). Siehe *Tabelle 7.1*.

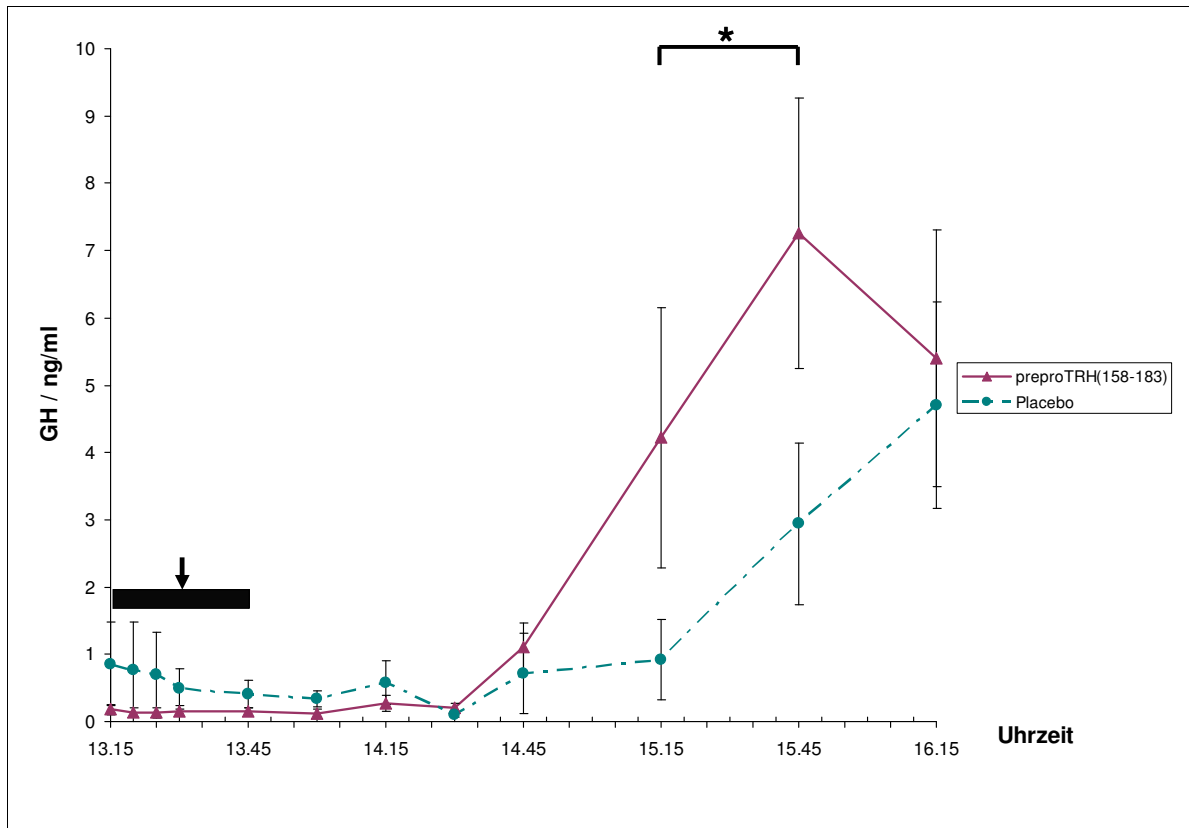


Abb. 3.3: GH-Serumkonzentrationen unter preproTRH(158-183)

Die Ordinate gibt die Serumkonzentration von GH in ng/ml wieder. Die Zeit ist auf der Abszisse aufgetragen. Nach Ermittlung der individuellen Baseline aller Probanden ($n=8$) kurz vor Beginn des Versuchs, startete dieser um 13.15Uhr ($t=0$) und erstreckte sich bis 16.15Uhr ($t=190$). Über die ersten 30 Minuten (bis 13.45Uhr, $t=30$) wurde die Testsubstanz (preproTRH₍₁₅₈₋₁₈₃₎) = violett mit Dreiecken oder Placebo = grün gestrichelt mit Kreisen) über einen Perfusor infundiert (schwarzer Balken). In der 15. Minute, um 13.30Uhr ($t=15$), erhielten die Probanden den CRH/Vasopressin Stimulationstest (schwarzer Pfeil). * $p>0,05$ für den Unterschied im Vergleich mit den Placebo Effekten.

Als statistisches Lagemaß dient Mittelwert \pm Standardfehler (SEM).

3.3 PreproTRH₍₁₅₈₋₁₈₃₎- Effekte auf TSH und fT4

Zunächst schienen die hier bestimmten Hormonspiegel der Hypothalamus-Hypophysen-Schilddrüsen-Achse, TSH und fT4, sowohl in der Basalsekretion als auch in der Sekretion nach Stimulation unter preproTRH₍₁₅₈₋₁₈₃₎ gesteigert. Bei näherer Betrachtung fiel allerdings auf, dass es Unterschiede in den Ausgangswerten vor den jeweiligen Versuchsbedingungen gab. Diese waren somit wohl initial für die Beobachtung verantwortlich. Nach Baseline-Korrektur zeigte sich jedoch 105 Minuten nach der Stimulusgabe ein signifikanter Unterschied (preproTRH₍₁₅₈₋₁₈₃₎ vs. Placebo, Mittelwert \pm Standardfehler: TSH $1,09 \pm 0,05$ vs. $0,97 \pm 0,05 \mu\text{IU/ml}$, $p < 0,02$; fT4 $1,38 \pm 0,02$ vs. $1,26 \pm 0,02 \text{ ng/dl}$, $p < 0,04$). Möglicherweise liegt hier ein dezent stimulatorischer Effekt des Peptids auf das thyreotrophe System vor. *Abbildung 3.4* zeigt den TSH Kurvenverlauf.

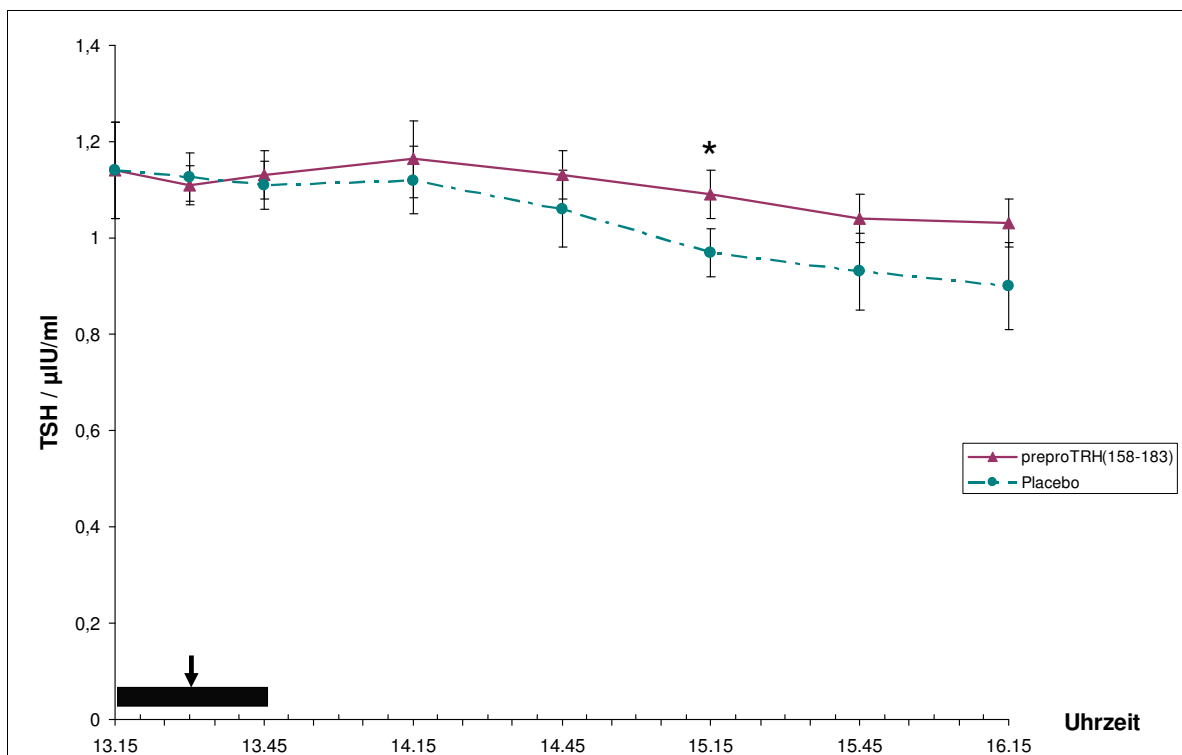


Abb. 3.4: TSH-Serumkonzentrationen unter preproTRH(158-183)

Die TSH-Serumkonzentration wurde in $\mu\text{IU/ml}$ auf der Ordinate aufgetragen, die Abszisse gibt die Zeit wieder. Die individuelle Baseline der Teilnehmer ($n=8$) wurde kurz vor dem Beginn der Versuche erhoben, die Infusion der jeweiligen Testsubstanzen (preproTRH₍₁₅₈₋₁₈₃₎ = violett mit Dreiecken oder Placebo = grün getrichelt mit Kreisen) wurde um 13.15Uhr ($t=0$) gestartet. Die Versuche endeten um 16.15Uhr ($t=190$) mit der letzten Blutentnahme. Nach Ablauf von 15 Minuten (13.30Uhr, $t=15$) verabreichten wir den CRH/Vasopressin Stimulationstests (schwarzer Pfeil) während sich der Einlauf der Infusion bis 13.45Uhr ($t=30$) erstreckte (schwarzer Balken). * $p>0,05$ für den Unterschied im Vergleich mit den Placebo Effekten.

Als statistisches Lagemaß dient Mittelwert \pm Standardfehler (SEM).

3.4 PreproTRH₍₁₅₈₋₁₈₃₎- Effekte auf die Routine Bluttests und die kardiovaskulären Parameter

Die Routine-Bluttests beinhalteten die Bestimmung des Blutzuckers, der Elektrolyte Natrium, Kalium und Kalzium sowie ein Differentialblutbild. Zu keinem Zeitpunkt zeigte sich ein signifikanter Unterschied während der Infusion der Testsubstanzen. Die Verläufe unter preproTRH₍₁₅₈₋₁₈₃₎ sind nahezu identisch mit den Placebobedingungen.

Unter den kardiovaskulären Parametern wurden der Blutdruck und die Herzfrequenz gemessen. Zu Beginn des Versuchs, also in den ersten 15 Minuten, differieren diese in den verschiedenen Bedingungen nicht (preproTRH₍₁₅₈₋₁₈₃₎ vs. Placebo, Mittelwert \pm Standardfehler: systolischer Blutdruck $117,1 \pm 2,2$ vs. $120,6 \pm 3,9$ mmHg; diastolischer Blutdruck $69,9 \pm 2,1$ vs. $68,9 \pm 2,5$ mmHg; Herzfrequenz $63,3 \pm 4,3$ vs. $67,5 \pm 4,0$ Schläge/Minute; in allen Fällen $p > 0,4$). Die folgende Stimulation durch den CRH/Vasopressin Test führte zu einer allmählichen, aber deutlichen Anhebung der Blutdrücke. Im Gegensatz zu den diastolischen sahen wir bei den systolischen Werten am Ende des Versuchs einen geringfügig stärkeren Anstieg (preproTRH₍₁₅₈₋₁₈₃₎ vs. Placebo, Mittelwert \pm Standardfehler: systolischer Blutdruck $128,1 \pm 3,6$ vs. $123,1 \pm 3,3$ mmHg; $p < 0,02$ für Bedingung x Zeit). Auch die Herzfrequenz nahm nach der CRH/Vasopressin Stimulation zu, blieb jedoch wie der diastolische Blutdruck unbeeinflusst von der preproTRH₍₁₅₈₋₁₈₃₎ Gabe. *Abbildung 3.5* stellt diesen Sachverhalt graphisch dar.

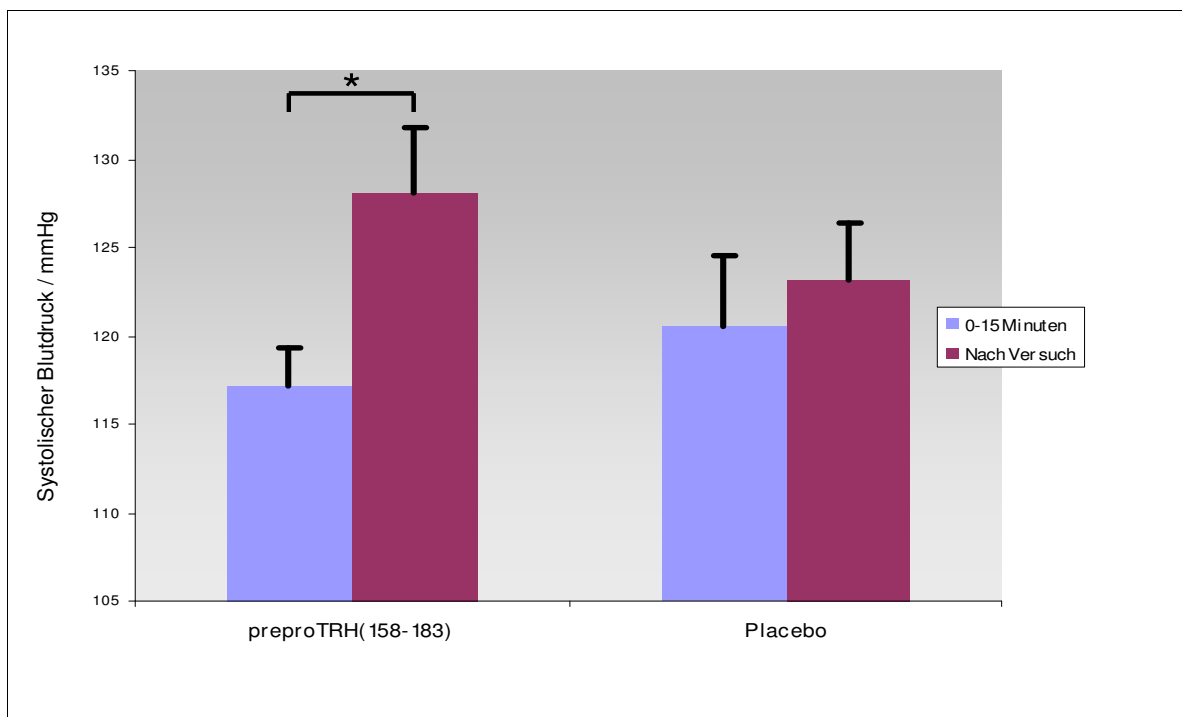


Abb. 3.5: Systolischer Blutdruck unter preproTRH(158-183)

Die Abbildung zeigt die mittleren systolischen Blutdruckwerte in mmHg (Ordinate) der unterschiedlichen Bedingungen (links: preproTRH₍₁₅₈₋₁₈₃₎, rechts: Placebo) und ihre Standardfehler (schwarze senkrechte Markierungen). Zum einen sieht man anhand der blauen Balken, die durchschnittlich während der ersten 15 Minuten (vor Infusion der Testsubstanz) erhobenen Werte. Zum anderen zeigen die violetten Balken die Messergebnisse am Ende des Versuchs. Deutlich erkennbar ist der Unterschied innerhalb des preproTRH₍₁₅₈₋₁₈₃₎ Versuchs vor und nach Infusion von selbigem. * $p < 0,02$.

3.5 PreproTRH₍₁₅₈₋₁₈₃₎- Effekte auf die Selbstbeurteilung

Alle Probanden füllten direkt vor dem Versuch ($t=-5$), direkt nach Beenden der Infusion der Testsubstanz ($t=45$) und im fortgeschrittenen Verlauf ($t=130$) eine Eigenschaftswörterliste aus. Zu Beginn zeigten sich keine Differenzen zwischen den unterschiedlichen Bedingungen. Die subjektiven Angaben über Gefühle bezüglich der Stimmung und über den Grad der Aktivität waren vergleichbar. Die sich daran anschließende Infusion von preproTRH₍₁₅₈₋₁₈₃₎ bewirkte jedoch in verschiedenen Bereichen Veränderungen. Betroffen sind die Dimensionen „Aktiviertheit“ und zwei Subskalen von „Allgemeines Wohlbefinden“:

„Selbstsicherheit“ und „Gehobene Stimmung“ (preproTRH₍₁₅₈₋₁₈₃₎ vs. Placebo, Mittelwert \pm Standardfehler: „Aktiviertheit“ $4,0 \pm 1,3$ vs. $2,9 \pm 1,4$; $p < 0,07$; „Selbstsicherheit“ $5,0 \pm 0,7$ vs. $3,6 \pm 0,9$; $p < 0,05$; „Gehobene Stimmung“ $7,4 \pm 1,3$ vs. $5,1 \pm 1,5$; $p < 0,07$). Diese sind somit gesteigert. In den nach Abschluss des Versuchs erhobenen Daten sind diese Unterschiede nicht länger nachweisbar. Eine Darstellung dieser Aussage findet sich in *Abbildung 3.6*.

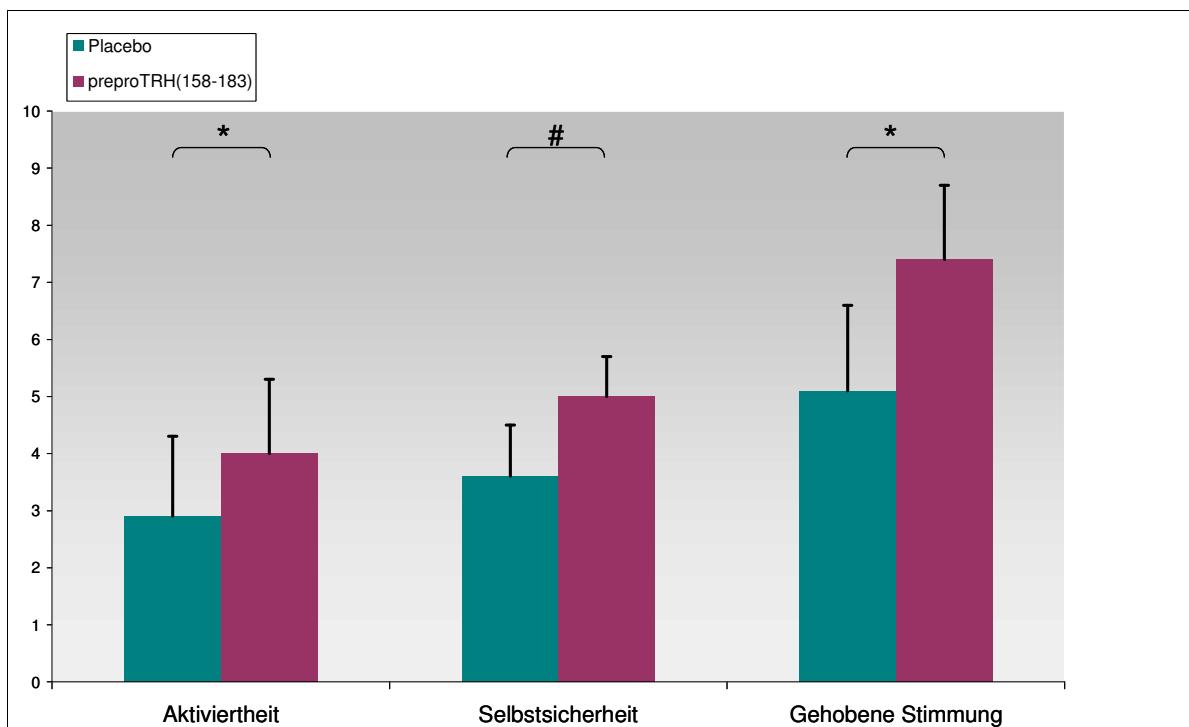


Abb. 3.6: Objektivierung der Selbstbeurteilung während des preproTRH(158-183) Versuchs

Die Balken zeigen die von den Veränderungen betroffenen Dimensionen „Aktiviertheit“, „Selbstsicherheit“ und „Gehobene Stimmung“. Zu sehen ist jeweils ein deutlicher Unterschied in den Mittelwerten zwischen der Placebo Bedingung (grün) und der preproTRH₍₁₅₈₋₁₈₃₎ Bedingung (violett). Die jeweilige Standardfehler wird mit den schwarzen senkrechten Markierungen angegeben. * $p < 0,07$; # $p < 0,05$.

3.6 Nebenwirkungen unter preproTRH₍₁₅₈₋₁₈₃₎

Neben den Eigenschaftswörterlisten wurden auch spontane Äußerungen der Probanden zu ihrem körperlichen Befinden sowie Beobachtungen durch die Versuchsleiterin registriert. Insgesamt fällt auf, dass diese Angaben unter den

verschiedenen Versuchsbedingungen keine relevanten Unterschiede zeigten. Die im Folgenden aufgeführten Nebenwirkungen lassen sich also nicht auf die Gabe von preproTRH₍₁₅₈₋₁₈₃₎ zurückführen. Vielmehr sind sie mit den in Kap. 2.4.5 erläuterten Nebenwirkungen des CRH/Vasopressin Tests vereinbar. Eine Vermutung, die auch durch den Zeitpunkt der Beobachtungen untermauert wird. Veränderungen zeigten sich lediglich unmittelbar nach Applikation der Stimulantien. Am häufigsten haben wir dabei neben einem Wärmegefühl im Halsbereich und in den oberen Extremitäten (5=31,25%) eine deutliche Gesichtsrötung (5=31,25%) erfasst. Dreimal (18,75%) verspürten Probanden einen metallischen Geschmack auf der Zunge, gefolgt von Kribbeln, ebenfalls in der oberen Extremität (2=12,5%). Auch Schwindel wurde mitgeteilt (1=6,25%). Diese Angaben beziehen sich auf die Gesamtzahl der preproTRH₍₁₅₈₋₁₈₃₎ Versuche (16=100%). Zur besseren Übersicht siehe *Abbildung 7.1*.

3.7 Konzentration von Magnesium und dessen Effekte auf ACTH und Kortisol

Nach der loading dose von 2,5g (100mg Mg/ml über 30 Minuten mit 50ml/h) konnte das rasch erreichte Plateau mit einer Erhaltungsdosis von 1,5g/h bis zum Absetzen der Substanz konstant gehalten werden. Die Magnesiumkonzentration unter der Placebobedingung lag im Bereich der jeweils vorher bestimmten Baseline. (Magnesium vs. Placebo, Mittelwert \pm Standardfehler: Max_{Mg} 1,59 \pm 0,03 vs. 0,94 \pm 0,02mmol/l; $p < 0,0001$; AUC_{Mg} 203,12 \pm 4,42 vs. 122,72 \pm 1,84mmol/l min ; $p < 0,0001$). Siehe dazu *Abbildung 3.7*.

Die Plasmaspiegel von ACTH und Kortisol wurden wie die Magnesiumspiegel intermittierend über den Versuch bestimmt. Nach statistischer Auswertung sind zu keinem Zeitpunkt in der Verum- und in der Placebobedingung signifikante Abweichungen voneinander zu verzeichnen. Nach Applikation der Stimulantien CRH und Vasopressin folgt der typische Peak gleichermaßen. (Magnesium vs. Placebo, Mittelwert \pm Standardfehler: ACTH 77,12 \pm 11,60 vs. 83,30 \pm 15,45pg/ml; Kortisol 22,16 \pm 0,71 vs. 22,48 \pm 0,90 μ g/dl; AUC_{ACTH} 4098,45 \pm 534, 20 vs. 4213 \pm 601,51pg/ml min; AUC_{Kortisol} 1965,15 \pm 67,58 vs. 2088,98 \pm 86,47 μ g/dl min). Die *Abbildungen 3.8 und 3.9* geben diese Ergebnisse graphisch wieder.

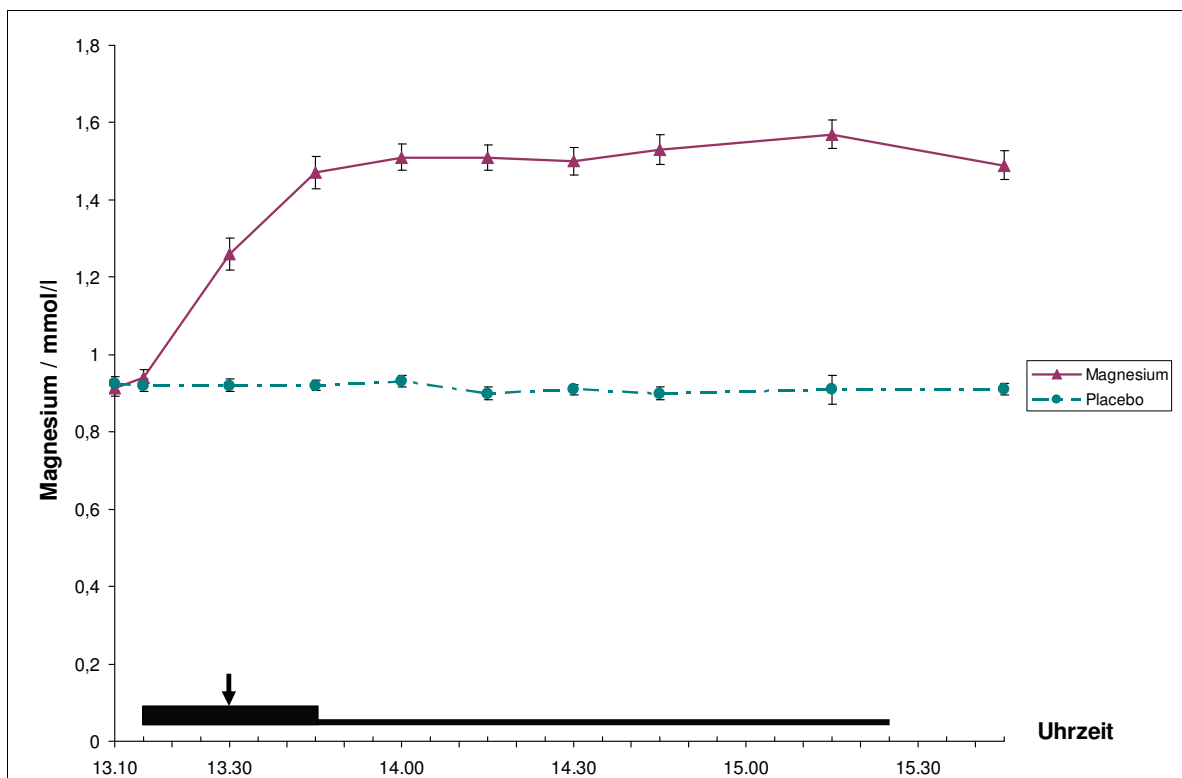


Abb. 3.7: Magnesiumkonzentration

Die Ordinate zeigt die Magnesiumkonzentration in mmol/l an, die Abszisse gibt den zeitlichen Verlauf wieder. Vor Beginn jedes Versuchs ermittelten wir die Baseline für den betroffenen Probanden. Um 13.15Uhr wurde mit der Infusion der Testsubstanz (Magnesium = violett mit Dreiecken oder Placebo = grün gestrichelt mit Kreisen) begonnen und zunächst über 30 Minuten (bis 13.45Uhr, $t=30$) eine loading dose von 2,5g verabreicht (fetter schwarzer Balken). Danach schloss sich die Gabe der Erhaltungsdosis von ebenfalls 1,5g/h bis 15.25Uhr ($t=125$) an (schlanker schwarzer Balken) und der Versuch endete mit der letzten Blutentnahme um 15.45Uhr ($t=150$). Der HHN-Achsen Stimulationstest mit CRH und Vasopressin fand um 13.30Uhr statt, also 15 Minuten nach dem Perfusorstart ($t=15$, schwarzer Pfeil).

Als statistisches Lagemaß dient Mittelwert \pm Standardfehler (SEM).

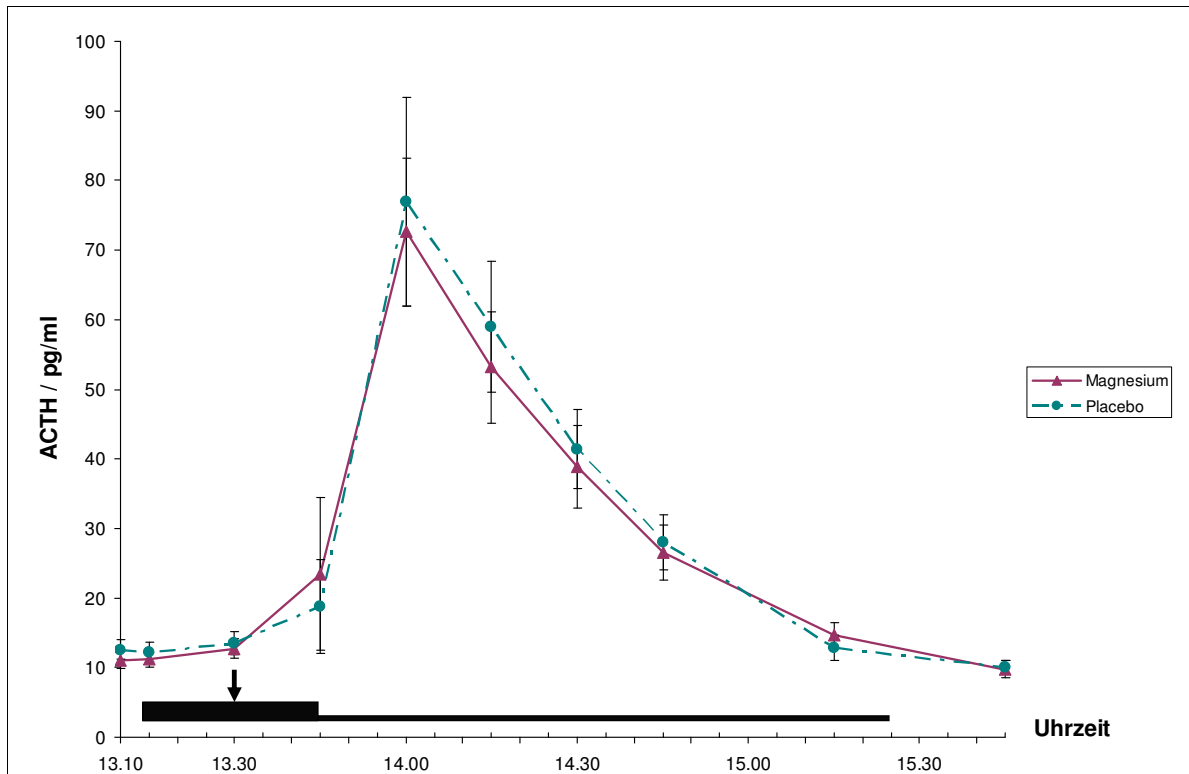


Abb. 3.8: ACTH-Plasmakonzentrationen unter Magnesium

Auf der Ordinate ist die ACTH-Plasmakonzentration in pg/ml angegeben, die Abszisse gibt den zeitlichen Verlauf wieder. Vor dem Beginn der Versuche wurde für alle Probanden (n=10) je eine individuelle Baseline ermittelt. Um 13.15Uhr (t=0) startete der Perfusor mit der jeweiligen Testsubstanz (Magnesium = violett mit Dreiecken oder Placebo = grün gestrichelt mit Kreisen). Dieser lief zunächst über 30 Minuten (bis 13.45Uhr, t=30) mit einer loading dose von 2,5g (fetter schwarzer Balken), und weiter bis 15.25Uhr (t=125) mit einer Erhaltungsdosis von ebenfalls 2,5g (schlanker schwarzer Balken). Die Stimulation der HHN-Achse mit CRH und Vasopressin appliziert wurde um 13.30Uhr (t=15, schwarzer Pfeil). Das Ende der Versuche lag bei 15.45Uhr (t=150), hier erfolgte die letzte Blutentnahme.

Als statistisches Lagemaß dient Mittelwert \pm Standardfehler (SEM).

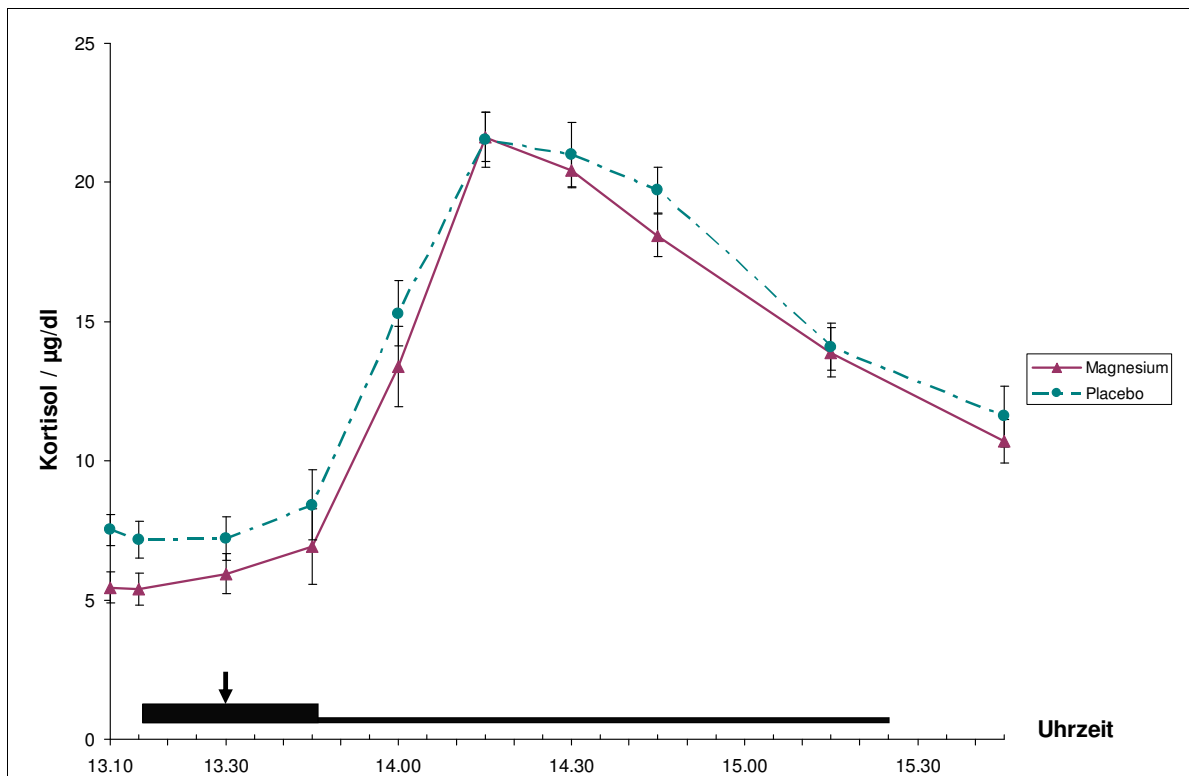


Abb. 3.9: Kortisolserumkonzentrationen unter Magnesium

Die Kortisolserumkonzentration in $\mu\text{g/dl}$ ist auf der Ordinate aufgetragen, die Abszisse gibt die Zeit wieder. Vor den Versuchen aller Teilnehmer ($n=10$) erhoben wir jeweils die individuelle Baseline, um um 13.15Uhr ($t=0$) den Versuch mit der Infusion der zu testenden Substanz (Magnesium = violett mit Dreiecken oder Placebo = grün gestrichelt mit Kreisen) zu beginnen. Über die ersten 30 Minuten (bis 13.45Uhr, $t=30$) applizierten wir eine loading dose von 2,5g (fetter schwarzer Balken), danach als Erhaltungsdosis ebenfalls 2,5g bis 15.25Uhr ($t=125$, schlanker schwarzer Balken). In der Minute 15 (um 13.30, $t=15$) stimulierten wir die HHN-Achse mittels des CRH/Vasopressin Tests (schwarzer Pfeil). Abgeschlossen wurde ein jeder Versuchstag um 15.45Uhr ($t=150$) mit der letzten Blutentnahme.

Als statistisches Lagemaß dient Mittelwert \pm Standardfehler (SEM).

3.8 Magnesium- Effekte auf die Elektrolyte und die kardiovaskulären Parameter

Die Elektrolyte umfassten bei diesem Versuch die Bestimmung von Natrium, Kalium und Kalzium. Zu keinem Zeitpunkt weisen die Elektrolytkonzentrationen signifikante Unterschiede auf.

Unter den kardiovaskulären Parametern wurden der Blutdruck und die Herzfrequenz zusammengefasst. In der vor den Versuchen erhobenen Baseline finden sich vergleichbare Ausgangswerte für beide Bedingungen. Während die diastolischen Werte zu keinem Zeitpunkt signifikante Unterschiede zeigen, entwickeln sich Differenzen für die systolischen Werte etwa 15 Minuten nach Stimulation (14.00Uhr bis 14.15Uhr, $t = 45$ bis $t = 60$). Hier steigt der Blutdruck unter der Placebobedingung signifikant stärker als unter der Verumbedingung. Die Herzfrequenz betreffend sehen wir während der Magnesiuminfusion um 14.00Uhr ($t=45$) bereits einen Trend zur Signifikanz. Dieser akzentuiert sich zum Zeitpunkt $t=60$ (14.15Uhr) und ist bei $t=75$ (14.30Uhr) wieder rückläufig. Siehe dazu auch *Tabelle 3.1* sowie *Abbildung 3.10*.

	Zeitpunkt	Magnesium Mittelwert \pm Standardfehler	Placebo Mittelwert \pm Standardfehler
RR _{systolisch} / mmHg	Baseline	123,0 \pm 2,3	125,3 \pm 2,6
	t = 45	123,0 \pm 2,6	128,6 \pm 2,4 *
	t = 60	124,0 \pm 2,7	129,3 \pm 2,2 *
RR _{diastolisch} / mmHg	Baseline	67,41 \pm 2,6	71,91 \pm 2,9
HF/ Bpm	Baseline	62,6 \pm 3,3	63,3 \pm 3,1
	t = 45	67,4 \pm 3,6	63,3 \pm 2,5 #
	t = 60	76,2 \pm 2,8	61,6 \pm 3,5 §
	t = 75	64,8 \pm 3,5	59,7 \pm 2,7 #

Tab. 3.1: Vitalparameter unter Magnesium

Diese Tabelle beinhaltet die Vitalparameter unter den verschiedenen Bedingungen, Magnesium vs. Placebo. Dargestellt sind die Ausgangswerte (Baseline), sowie die im Text erwähnten Zeitpunkte.

* $p < 0,03$; # $p < 0,07$; § $p < 0,05$.

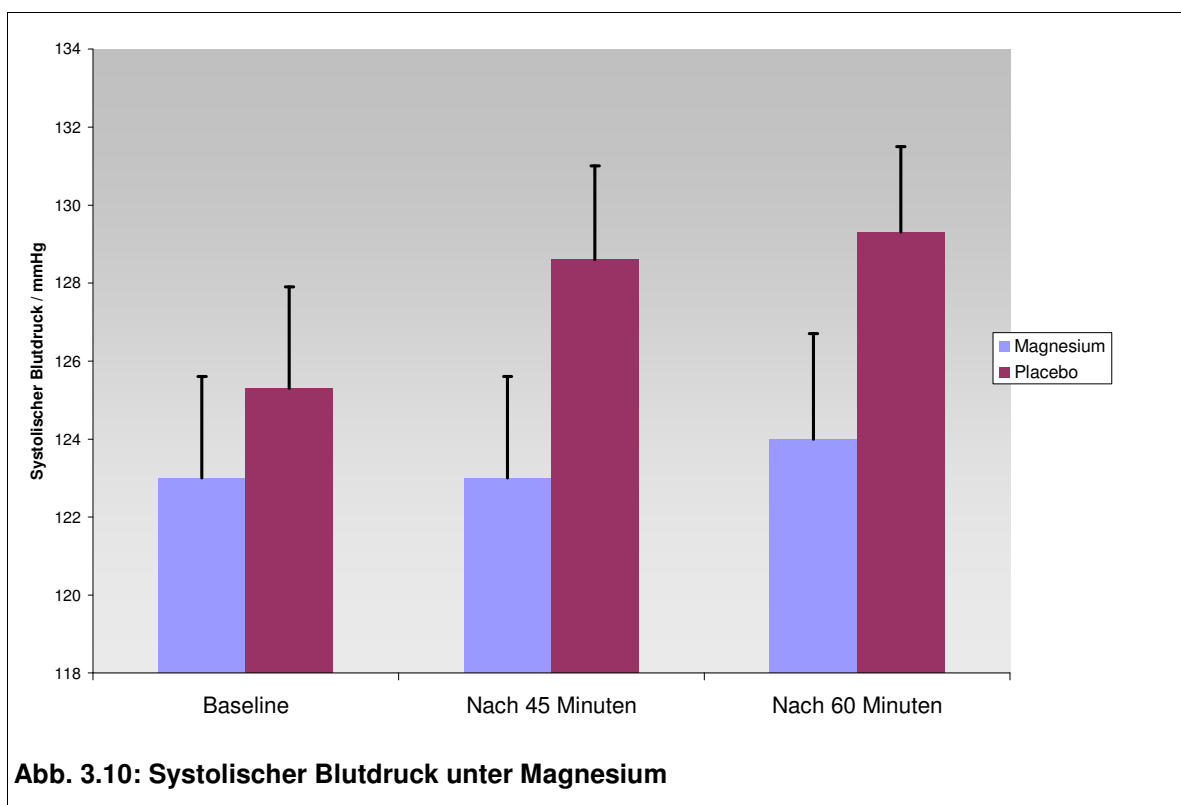


Abb. 3.10: Systolischer Blutdruck unter Magnesium

Die Abbildung zeigt die Mittelwerte des systolischen Blutdrucks in mmHg (Ordinate) der verschiedenen Bedingungen zu unterschiedlichen Zeitpunkten und ihre Standardfehler (schwarze senkrechte Markierungen). Auffällig ist, dass sowohl nach 45 Minuten als auch nach 60 Minuten der systolische Blutdruck in den beiden Bedingungen signifikant unterschiedlich ist. $p < 0,03$.

3.9 Magnesium- Effekte auf die Selbstbeurteilung

Alle Probanden waren dazu angehalten, im Verlauf des Versuchs dreimal eine Eigenschaftswörterliste auszufüllen. Die Erste unmittelbar vor dem Versuch (13.10Uhr, $t=-5$), die Zweite direkt nach Infusion der Testsubstanz (14.00Uhr, $t=45$) und die Dritte gegen Ende des Versuchstages (15.15Uhr, $t=120$). Hiermit können Eindrücke über die subjektive Stimmung objektiviert werden. Insgesamt lässt sich sagen, dass die paarweisen Unterschiede auch unter Berücksichtigung des zeitlichen Verlaufs nicht signifikant sind. Die Dimension „Angst“ ist mit ihren Subskalen „Ängstlichkeit“, „Deprimiertheit“ und „Verträumtheit“ unter beiden Versuchsbedingungen insgesamt weniger ausgebildet (Magnesium vs. Placebo, Mittelwert \pm Standardfehler: „Ängstlichkeit“ bei $t=45$ $0,0 \pm 0,0$ vs. $0,0 \pm 0,0$; „Deprimiertheit“ bei $t=45$ $0,0 \pm 0,0$ vs. $0,2 \pm 0,1$; „Verträumtheit“ bei $t=45$ $2,0 \pm 0,8$

vs. $1,0 \pm 0,5$), die einzelnen Subskalen „Aktiviertheit“ und „Extravertiertheit“ sowie die Dimension „Allgemeines Wohlbefinden“ („Gehobene Stimmung“ und „Selbstsicherheit“) hingegen stärker (Magnesium vs. Placebo, Mittelwert \pm Standardfehler: „Aktiviertheit“ bei $t=45$, $4,1 \pm 1,0$ vs. $3,3 \pm 1,2$; „Extravertiertheit“ bei $t=45$, $4,5 \pm 0,6$ vs. $4,1 \pm 0,7$; „gehobene Stimmung“ bei $t=45$, $7,3 \pm 0,8$ vs. $6,9 \pm 1,2$). Da sich hier keine signifikanten Unterschiede zwischen der Applikation von Magnesium und der Gabe vom Placebo zeigen, sind diese Trends eher als Schwankungen in der Grundverfassung der Probanden zu werten.

3.10 Nebenwirkungen unter Magnesium

Die Nebenwirkungen unter dem Magnesium Versuch beinhalteten analog zum preproTRH₍₁₅₈₋₁₈₃₎ Versuch neben spontanen Aussagen der Probanden objektive Beobachtungen durch die Versuchsleiterin. Auch hier zeigten sich keine wesentlichen Abweichungen innerhalb der Konditionen. Im Vergleich zum preproTRH₍₁₅₈₋₁₈₃₎ Versuch fand sich eine ähnliche Verteilung der Nebenwirkungen. Diese waren bis auf eine Ausnahme (siehe unten) auch in der Magnesium Studie auf die Stimulantien CRH und Vasopressin zurückzuführen. Gesichtsbässe zeigten sich an 10 Versuchstagen (50%). Die Probanden beklagten in 8 Fällen (40%) ein Wärmegefühl im Halsbereich sowie in der oberen Extremität, über Geschmackssensationen metallischer Art wurde fünfmal (25%) berichtet. Kribbeln in den oberen Extremitäten und ein Unwohlsein erlebten die Versuchspersonen je dreimal (15%), ein Proband erlitt milde gastrointestinale Krämpfe von sehr kurzer Dauer (5%). 3 Teilnehmer (15%) berichteten über Faszikulationen und leichte Krämpfe in dem Arm, über den die Testinfusion einlief. Diese erwies sich retrospektiv in allen Fällen als die Veruminfusion, so dass hier eine Nebenwirkung von Magnesium zu vermuten blieb.

Alle Probanden waren angehalten, eine Vermutung darüber abzugeben, an welchem Versuchstag sie Magnesium oder das Placebo erhalten hatten. 7 (70%) von 10 Probanden (3 davon trauten sich keine Aussage zu) lagen bei dieser Befragung richtig. Unter den 7 Probanden befanden sich alle 3 Teilnehmer, die Faszikulationen oder leichte Krämpfe im Infusionsarm verspürt hatten. Alle Angaben beziehen sich prozentual auf die Gesamtzahl der Magnesium-Versuche ($n=20=100\%$). *Abbildung 7.2* stellt dieses Ergebnis anschaulich dar.

4. Diskussion

4.1 PreproTRH₍₁₅₈₋₁₈₃₎

Früher gewonnene Ergebnisse zeigten eine deutliche Inhibition der HHN-Achsen-Aktivität durch Gabe von preproTRH₍₁₇₈₋₁₉₉₎ im Tierversuch (siehe *Kap.1.4*). Basierend darauf beschäftigt sich die vorliegende Arbeit mit einer möglichen Inhibition der HHN-Achse durch preproTRH₍₁₅₈₋₁₈₃₎ am Menschen.

Die von uns somit gewonnenen Daten stimmen jedoch nicht überein mit jenen, welche McGivern et al. in ihren Tierversuchen von 1997 beschreiben (McGivern et al., 1997). Sie liefern keinen Anhalt dafür, dass es sich bei preproTRH₍₁₅₈₋₁₈₃₎ um den bisher nicht identifizierten CRIF beim Menschen handelt. Auch ergeben sich keine Hinweise bezüglich eines inhibitorischen Einflusses auf eine stressinduzierte Synthesesteigerung von Prolaktin. Dies sind Ergebnisse, die sich ebenfalls nicht mit den an Ratten gewonnenen Erkenntnissen decken (McGivern et al., 1997).

Das Resultat dieser Studie, der fehlende inhibitorische Effekt von preproTRH₍₁₅₈₋₁₈₃₎ auf die HHN-Achse, ist schwierig zu erklären. Zunächst muss man sagen, dass uns aufgrund ethischer Gesichtspunkte nur eine sehr geringe Menge der Substanz zur Verfügung stand. Daher konnte lediglich eine kleine Zahl an Probanden getestet werden, und die experimentellen Möglichkeiten der Studie waren folglich eingeschränkt.

Außerdem ist das Wissen um die pharmakologischen Charakteristika dieser Substanz in der Anwendung beim Menschen begrenzt. Die einzige, ebenfalls stark limitierte, Informationsquelle diesbezüglich fanden wir in den durch die Tierversuche gesammelten Erfahrungen. So orientierten wir uns in der Dosierung von preproTRH₍₁₅₈₋₁₈₃₎ an den von McGivern et al. applizierten Dosen. Maximal erhielten unsere Probanden 50µg/kg Körpergewicht. Möglicherweise ist diese Menge zu klein, um messbare Resultate beim Menschen auszulösen. In diesem Zusammenhang ist jedoch zu sehen, dass McGivern et al. den Ratten nur eine maximale Dosis von 10µg/kg Körpergewicht verabreichten und damit eine Inhibition der HHN-Achsen-Aktivität um etwa 50% erzeugen konnten (Mc Givern et al., 1997). Unklar bleiben jedoch auch in diesen Studien in höchstem Maße die Pharmakokinetik und in gewissen Punkten die Pharmakodynamik. So finden sich zum Beispiel keine Angaben über beobachtete Nebenwirkungen an den Tieren.

Des Weiteren drängt sich die Frage um die Art der Administration der Substanzen auf. Bei den Versuchstieren wählte man zwei verschiedene Formen aus. Zum einen bediente man sich der intravenösen Applikation und zum anderen einer Applikation direkt in die Ventrikel des Gehirns (intracerebroventriculär). Die intravenöse Gabe erfolgte über eine Venenverweilkanüle, die unter Lokalanästhesie über die Jugularvene in den rechten Vorhof eingebracht wurde. Diese Prozedur hatte einen zeitlichen Abstand von 72-96 Stunden zum Versuchsbeginn. In Anlehnung daran erfolgte die weitaus weniger traumatische Anlage der notwendigen Venenverweilkanülen in die Cubitalvenen bei unseren Probanden eine Stunde vor Beginn des Versuchs. Dabei handelt es sich um einen Zeitraum der ausreichend ist, die durch diesen Stress induzierte Steigerung der Kortisolkonzentration auf normale Ausgangswerte zu senken.

Die intravenöse Gabe wurde bei den Ratten für die Beobachtung der neuroendokrinen Hormonveränderungen gewählt. Auf diesem Weg konnte eine signifikant verminderte ACTH-Sekretion kurz nach der Stimulation erzeugt werden. Nach etwa einer Stunde bewegte sich die Plasmakonzentration wieder im Level der Baseline; genau der Zeitpunkt, an dem die Serumkonzentration von Kortisol signifikant vermindert war. Es konnte hiermit eine Bestätigung der in vitro Versuche erbracht werden (McGivern et al., 1997).

Bei dem zweiten wesentlichen Aspekt, den Verhaltensantworten auf preproTRH₍₁₇₈₋₁₉₉₎, entschieden sich McGivern et al. für die andere genannte Applikationsform, die intracerebroventriculäre Gabe. Diese erfolgte über stahlgeführte Kanülen, welche man den Tieren ebenfalls unter Lokalanästhesie 4 Tage vor Beginn der Studien von drei Zugriffsorten in den Seitenventrikel implantierte: 1mm hinter das Bregma, 2mm neben die Mittellinie und 4.1mm unter den höchsten Punkt des Schädels (McGivern et al., 1997). Da auch diese Methode Erfolg zeigte (siehe unten), ist es denkbar, dass mit einer anderen Applikationsmethode auch beim Menschen signifikante Effekte möglich sein könnten. Beispielsweise ist hier die intranasale Zufuhr als ethisch vertretbare Alternative der intracerebroventriculären Verabreichung zu nennen.

Ein weiterer Aspekt, der näher beleuchtet werden sollte, ist der Zeitraum, über den die Testsubstanz verabreicht wurde. In der hier vorliegenden Studie sah der vorher geplante Versuchsablauf die Infusion von preproTRH₍₁₅₈₋₁₈₃₎ über eine Dauer von 30 Minuten vor. Durch diese verzögerte Gabe konnten möglicherweise

keine für eine Beeinflussung der HHN-Achse ausreichend hohen Plasmakonzentrationen erzielt werden, anders in den Versuchen von McGivern et al.. Hier spritzte man den Ratten die Testsubstanzen innerhalb von 45 Sekunden als Bolus (McGivern et al., 1997). An dieser Stelle kommt erneut zum Tragen, dass man keine Kenntnisse über die Anflutung, die Verteilung in unterschiedliche Kompartimente, die Elimination und die Halbwertszeit dieses Peptids hat. Auch die Bindungsfähigkeit an Plasmaproteine oder Störungen durch Enzyminduktionen können die Resultate maßgeblich beeinflussen.

Dennoch kann das nicht die alleinige Begründung für das Ausbleiben eines inhibitorischen Effektes darstellen. Zu beachten bleibt, dass die Applikation von preproTRH₍₁₅₈₋₁₈₃₎ durchaus Wirkungen gezeigt hat.

Zunächst sieht man einen langsamen Anstieg von TSH und fT4. In den Anfängen der Forschung über preproTRH findet man unter anderem in den Studien von Yamamoto et al. folgende Beobachtung: 45 von 76 Patienten mit einem isolierten ACTH-Mangel wiesen erhöhte TSH Werte auf. Da bei diesen Patienten normwertige periphere Schilddrüsenhormone gemessen wurden, konnten diese im Sinne des Regelkreises nicht für die TSH-Erhöhung verantwortlich sein. Offensichtlich lag eine entsprechende Steigerung der Syntheseleistung von TRH vor (Yamamoto et al., 1992). Diese These konnte auch durch die Studien von Shigemasa et al. bestätigt werden (Shigemasa et al., 1992). Man folgerte weiterhin, dass während der Synthese von TRH ein weiteres Spaltprodukt des preproTRH-Vorläufers entsteht. Im Gegensatz zu TRH musste dieses aber inhibitorische Fähigkeiten in Bezug auf ACTH besitzen, also Eigenschaften eines CRIF erfüllen (siehe *Kap. 1.4*). Man ging davon aus, dass der CRIF und TRH gegenteiligen Funktionen folgen, denn die TSH und die ACTH-Konzentrationen verhielten sich invers zu einander (Redei et al., 1995b). Passend zu diesem Modell ist in verschiedenen klinischen Studien an einigen Patienten mit Hyper- oder Hypothyreodismus genau eine solche Umkehrung von ACTH- und TSH-Konzentrationen festgestellt worden (Gallagher et al., 1972; Brien, 1976). Allerdings sahen McGivern et al. in der 1997 durchgeführten in vivo Studie mit Ratten keine signifikante Beeinflussung der Plasmaspiegel von TSH durch die Gabe von preproTRH₍₁₇₈₋₁₉₉₎ (McGivern et al., 1997). Denkbar ist dennoch, dass die Anflutung von preproTRH₍₁₅₈₋₁₈₃₎ in unserer Untersuchung zwar zu gering war,

um den ACTH-Spiegel zu inhibieren, jedoch ausreichend um dezente TSH-Erhöhungen auszulösen.

Darüber hinaus fällt eine gesteigerte Freisetzung von GH auf, die nicht erwartet worden war. Vorbefunde von Raza et al. 1998 beschreiben direkte Effekte von CRH auf die stimulierte GH-Sekretion beim Menschen und stellten fest, dass erhöhte endogene Werte von CRH mit einer letztendlich supprimierten GH-Aktivität einhergehen (Raza et al., 1998). Man machte also eine kontradiktorische Beobachtung zu den von uns gesehenen Veränderungen. Dieser Befund würde die Vermutung stützen, dass die beobachtete Steigerung der GH-Sekretion ein direkter Effekt des preproTRH₍₁₅₈₋₁₈₃₎ ist und nicht eine Folge der Stimulation der HHN-Achse.

Ein weiteres hier interessantes Hormon stellt das Prolaktin dar. Zu den überraschenden Erkenntnissen der Studien von McGivern et al. 1997 gehörte, wie bereits kurz erwähnt, eine Hemmung der stressinduzierten Prolaktinfreisetzung als Reaktion auf die intravenöse preproTRH₍₁₇₈₋₁₉₉₎ Gabe. Über die dazu führenden Umstände konnte damals jedoch keine Klarheit geschaffen werden (McGivern et al., 1997). Allerdings stellten Nillni et al. 2001 einen dazu abweichenden Zusammenhang zwischen Prolaktin und preproTRH₍₁₇₈₋₁₉₉₎ her. Sie entzogen dazu Ratten einige Tage nach der Geburt ihre Jungen, um sie 45 Minuten später zum Säugen wieder zusammenzuführen. Danach wurden die Mütter getötet und man konnte neben einem deutlichen Plasmaanstieg von Prolaktin auch eine gesteigerte Synthese von preproTRH₍₁₇₈₋₁₉₉₎ in den periventriculären nucleoli messen (Nillni et al., 2001). Man beobachtete also keine umgekehrte, sondern eine gleichläufige Reaktion der beiden Peptide. Eine Abweichung der Prolaktinkonzentration im positiven oder im negativen Sinne zeigte sich in der vorliegenden Studie jedoch zu keinem Zeitpunkt. Möglicherweise beruht auch das auf einer zu geringen verfügbaren Menge im Kreislauf und ist somit ebenfalls eine Folge der mangelnden pharmakologischen Kenntnisse um preproTRH₍₁₅₈₋₁₈₃₎. Denkbar ist jedoch auch ein Unterschied bei der Reaktion von Tieren auf diesen Parameter im Vergleich zum Menschen.

Die nächste in unseren Untersuchungen beeinflusste Größe ist der Blutdruck. Nach Stimulation mit CRH und Vasopressin nahm der anfangs nicht differierende systolische Blutdruck unter beiden Konditionen allmählich zu, dabei wurde ein stärkerer Anstieg bei der Testsubstanz preproTRH₍₁₅₈₋₁₈₃₎ deutlich. In der Literatur

gibt es keine Angaben über die Kontrolle des Blutdrucks oder der Herzfrequenz während der Tierversuche mit preproTRH₍₁₇₈₋₁₉₉₎. Allerdings lässt sich ein solches Phänomen eher mit einer Aktivierung des Sympathikus und somit auch einer Steigerung von Stress vereinbaren (z.B. im Laufe eines Experiments).

Aus den soeben beschriebenen hormonellen Abweichungen nach preproTRH₍₁₅₈₋₁₈₃₎ Applikation wird deutlich, dass diese zwar nur schwach ausgeprägt sind, aber innerhalb der Testphase gleichwohl ein klares Muster aufweisen.

Weiteres Interesse gilt den Auswirkungen des Peptids auf die Selbstbeurteilung. Alle Probanden waren angehalten, regelmäßig zu definierten Zeitpunkten eine Eigenschaftswörterliste auszufüllen. Diese Art der Datenerfassung zur gebundenen Selbstbeurteilung ist ein anerkanntes Verfahren und wurde ebenfalls einer statistischen Auswertung unterzogen. Hier stellte sich heraus, dass die Probanden unter preproTRH₍₁₅₈₋₁₈₃₎ stärkere Gefühle von „Allgemeines Wohlbehagen“ und von „Aktiviertheit“ erlebten, wobei letzterem gesteigerte Aufmerksamkeit gilt. Da die Arbeitsgruppe um McGivern et al. 1997 die ersten in vivo Studien zu diesem Thema durchführten, war es erstmals möglich, Auswirkungen auf die Handlungsweisen von Tieren zu beobachten. Sie stellten die Hypothese auf, dass preproTRH₍₁₇₈₋₁₉₉₎ die Manifestation von Stress sowohl auf neuroendokriner Ebene, als auch auf verhaltenstechnischer Ebene beeinflussen kann (McGivern et al., 1997). Die Ratten waren während dieser Untersuchung unterschiedlichen Umgebungsbedingungen ausgesetzt. Zum einen gab es einen Versuch im „open field behavior“ um Verhaltensänderungen in einer unbekanntem Umgebung festzuhalten, und zum anderen nutzten sie zur Verifizierung von Angstverhalten ein „elevated plus maze“ sowie eine „light/dark box“.

Mit diesen Tests konnten beeindruckende Änderungen nachgewiesen werden. Im Wesentlichen handelt es sich dabei um eine Reduktion von Angst und um eine signifikante Steigerung der Aktivität. Dies sind beides Parameter, die bei Tieren mit einer Stressinhibition konform sind. Legt man den immunhistochemischen Nachweis der anatomischen Korrelate von preproTRH₍₁₇₈₋₁₉₉₎ Aktivität zu Grunde, passen die Ergebnisse gut dazu. Man weiß aus vorherigen neurophysiologischen und neuroradiologischen Untersuchungen, dass sich in bestimmten Hirnregionen die Modulation solcher Eigenschaften abspielt. Betroffen sind vor allem Gebiete des Hypothalamus, dem periaqueduktalem Grau (PAG), des Thalamus und des

Septums. Sie alle zeigen anatomische Nähe zu den Seitenventrikeln auf und somit zum Ort der preproTRH₍₁₇₈₋₁₉₉₎ Infusion. Interessanterweise zeichnete sich in einigen Subskalen eine umgekehrte Beziehung von unterschiedlichen Dosen und deren Wirkung ab (inverted U-shaped effect). Das heißt, geringere Mengen der Testsubstanz induzierten in den Bereichen „Bewegungsaktivität“, „Schnüffeln“ und „Erkundungslust“ eine umgekehrte Wirkung im Vergleich zu den höher applizierten Mengen. McGivern et al. sehen diese dosisabhängigen Beziehungen als eine Folge der unterschiedlichen Diffusion des Peptids vom Ventrikel in die unterschiedlichen Verhaltenszentren.

Es deutet also tatsächlich alles auf zentral nervöse Effekte von preproTRH₍₁₇₈₋₁₉₉₎ bei Tieren hin. Redei et al. gehen 1999 unter Hinzuziehung weiterer Studien sogar soweit, preproTRH₍₁₇₈₋₁₉₉₎ eine antidepressive Eigenschaft zuzuschreiben (Redei et al., 1999). Diese Aussage lässt sich mit der These von Steckler et al. vereinbaren. Diese Arbeitsgruppe diskutierte 1999 funktionelle Veränderungen der Formatio reticularis, im limbischen System und im frontalen Kortex als Ursache für die Entstehung entsprechender Symptome unter gesteigertem Kortisoleinfluss (Steckler et al., 1999). Möglicherweise spielt also ein Ungleichgewicht von Stimulation und Inhibition die entscheidende Rolle.

Zwar beobachteten auch wir bei unseren Probanden eine Steigerung der „Aktiviertheit“, jedoch lassen sich die Verhaltensweisen von Tieren in keiner Weise auf das Verhalten von Menschen übertragen. Für die Verifizierung einer Stressreduktion reicht ein orientierender Test (wie etwa die EWL-K) nicht aus. Die Probanden müssten sich aufwendigen Tests (z.B. dem Trier Social Stress Test TSST, basierend auf rein psychogenen Stressoren) unterziehen.

Erstaunlich ist, dass sich die von uns registrierten Veränderungen im Bereich der Selbsteinschätzung etwa zwei Stunden nach der Infusion der Substanz eingestellt haben. Eine Beobachtung, welche die Vermutung nahe legt, dass dies keine direkten Effekte von preproTRH₍₁₅₈₋₁₈₃₎ sind, sondern möglicherweise durch ein koexistentes intermediäres System vermittelt werden. Dieses wiederum wäre dann durch das Peptid aktiviert worden. Fest steht jedoch an dieser Stelle, dass auch das Peptid preproTRH₍₁₅₈₋₁₈₃₎ zentral nervöse Effekte zeigt.

Eine weitere Erklärung für die aus neuroendokriner Sicht betrachteten kontroversen Resultate im Vergleich zu McGivern et al. kann jedoch auch die Art der Stressinduktion sein. Wir bedienten uns des etablierten CRH/Vasopressin

Stimulationstests, während McGivern et al. eine nicht pharmakologische Stimulationsart wählten. Sie setzten die Tiere Elektroschocks und einer Zwangslage aus. Diese Methode aktiviert das HHN-System nicht auf hypophysärer Ebene wie das pharmakologische, sondern auf hypothalamischer Ebene, obgleich die Arbeitsgruppe um McGivern sicher war, dass sich die Effekte von preproTRH₍₁₇₈₋₁₉₉₎ auf hypophysärer Ebene abspielen (McGivern et al., 1997).

Es ist also aufgrund des oben Erläuterten nicht auszuschließen, dass unter speziellen, bisher nicht bekannten Bedingungen eine Hemmung der HHN-Achse durch preproTRH₍₁₅₈₋₁₈₃₎ möglich ist. Der hier beschriebene Versuchsaufbau vermag jedoch keine signifikante Inhibition aufzudecken. Somit stehen diese Ergebnisse im Gegensatz zu den Befunden, die durch entsprechende preproTRH₍₁₇₈₋₁₉₉₎-Versuche bei Tieren erhoben wurden. Wir haben daher keinen sicheren Anhalt dafür, dass das Peptid preproTRH₍₁₅₈₋₁₈₃₎ ein Teil jenes komplexen Repertoires des Organismus darstellt, das eine mediatorische Funktion im Hinblick auf die HHN-Achsen-Regulation übernimmt (Engler et al., 1999).

In gewissen Abschnitten kann man mit den vorliegenden Ergebnissen sogar soweit gehen, eine entgegengesetzte Wirkung zu vermuten. Der stärkere Anstieg des systolischen Blutdrucks deutet eher auf eine endokrinologische Stimulation, als auf eine Inhibition des stressmodulierenden Systems im Menschen durch preproTRH₍₁₅₈₋₁₈₃₎ hin.

Aufgrund der deutlich verzögerten Veränderungen im emotionalen Bereich sind die Einflüsse von preproTRH₍₁₅₈₋₁₈₃₎ beim Menschen jedoch möglicherweise als weitaus komplexer zu betrachten, denn diese Ergebnisse suggerieren potentielle Effekte auf einer höheren zentralen Ebene.

4.2 Magnesium

Wie bei preproTRH₍₁₅₈₋₁₈₃₎ gab es auch bei Magnesium experimentelle Hinweise auf eine mögliche Funktion als CRIF. Diese vorausgegangenen Studien beschäftigten sich unter einer anderen Fragestellung und unter anderen Bedingungen zum Teil auch mit Versuchen am Menschen (siehe *Kap 1.6*).

In der vorliegenden Studie wurde das HHN-System der jungen Männer mittels des CRH/Vasopressin Tests stimuliert. Die Administration des potentiellen Inhibitors Magnesium begann 15 Minuten davor. Die Hormonkonzentrationen von ACTH und Kortisol waren während des gesamten Beobachtungszeitraums zwischen Magnesium- und Placebobedingung vergleichbar. Mehrere Ursachen können für dieses negative Ergebnis verantwortlich sein. Möglicherweise ist eine länger andauernde Anflutung der Substanz von Nöten. Die Magnesiumkonzentrationen im Blut zeigten sich zwar im Zielbereich, über die intracerebralen Konzentrationen jedoch kann keine Aussage getroffen werden. Man vermutet aber, dass sich diese bei chronischen Mangelzuständen langsam erniedrigen, wohingegen eine rasche Substitution oder ein rascher Entzug möglicherweise keine Veränderungen nach sich ziehen (Murck, 2002). So sind eventuell höhere intracerebrale Konzentrationen unentbehrlich, um die NMDA antagonistischen und die GABA agonistischen Wirkungen voll entfalten zu können. Aus diesem Grund hat die Arbeitsgruppe von Held – bei allerdings abweichender Anforderung an das Studiendesign - eine 20tägige orale Magnesium Substitution im Vorfeld eingeleitet (Held et al., 2002). Hierauf soll jedoch später eingegangen werden (siehe unten). Damit nicht ganz in Einklang zu bringen sind die Ergebnisse von Zofkova und Kollegen, sowie von Murck und Steiger. Zofkova et al., testeten die Hormonveränderungen der Adenohypophysen-Gonaden-Achse an 10 weiblichen Freiwilligen am Tage. Dazu infundierten sie 6g Magnesiumsulfat intravenös und bestimmten - ohne sich einer Stimulationsmethode zu bedienen - die Hormonkonzentrationen im weiteren Versuchsverlauf. Unter diesen Bedingungen konnten jedoch keine signifikanten Änderungen von Kortisol oder Katecholaminen und auch keine Veränderungen der übrigen kontrollierten Parameter gezeigt werden (Zofkova et al., 1993). Die Ergebnisse dieses Versuchs widersprechen den in unserer Studie ermittelten Ergebnissen nicht. Allerdings befasste sich Zofkovas Studiendesign mit der basalen HHN-Regulation, während unser Fokus auf der stimulierten HHN-Achse männlicher Probanden lag. Deswegen wurde nur in unserer Studie die Konzentration von ACTH mitbestimmt. Dennoch fanden beide Versuche am Tage statt, und die verwendeten intravenös applizierten Dosen von 5g bei uns und 6g bei Zofkova und Kollegen liegen nah beieinander. Auch der Zeitverlauf zwischen Infusion der Testsubstanz und Messungen der Daten sind vergleichbar.

Murck und Steiger testeten ebenso 10 gesunde, junge weibliche Personen. Auch sie verabreichten Magnesiumsulfat intravenös, 3g als loading dose und weitere 5g verteilt über 10 Stunden als Erhaltungsdosis. Außerdem hatte die Lösung einen Glukosegehalt von 4,2%, um den Blutzucker über die lange Dauer des Versuchs im Normbereich zu halten. Hypoglykämien können einen ACTH-Anstieg vermitteln, dies wurde durch die Gabe von Glukose vermieden (Murck und Steiger, 1998). Die Glukose an sich hat jedoch nach dem derzeitigen Wissensstand keinen Einfluss auf die untersuchten Effekte. Die Versuche sollten Aufschlüsse über den Effekt von Magnesium auf den Schlaf und auf die nächtliche Hormonsekretion bringen, weshalb sich der Zeitraum von 19.30 Uhr bis 7.00 Uhr erstreckte und von keiner Stimulation unterbrochen wurde. Neben regelmäßigen Kontrollen der Blutparameter (ACTH, Kortisol, GH, Prolaktin, Melatonin) zeichneten sie zur Verifizierung der Schlafqualität ein EEG auf. Hier zeigte sich eine Zunahme von slow wave Schlaf (SWS) und Delta Aktivität. Vorraussetzungen, die für eine bessere Schlafqualität und im Zuge dessen für eine adäquate Senke der nächtlichen Kortisolsekretion sorgen. Etwa 90 Minuten nach Beginn der Testinfusion zeigten sich signifikant erniedrigte ACTH-Konzentrationen, die sich erst am Ende des Versuchs wieder normalisierten. Interessanterweise sah auch diese Arbeitsgruppe keine Veränderungen der Kortisolkonzentration und auch keine Änderungen in den übrigen bestimmten Parametern (Murck und Steiger, 1998). Im Vergleich mit der von uns vorgelegten Studie gibt es zahlreiche Unterschiede. Zum einen handelt es sich hier um eine Betrachtung, die nicht am Tage, sondern nachts vorgenommen wurde, zum anderen wurde die HHN-Achse nicht stimuliert. Auch die Dosierung liegt in der Summe (8g i.v.) deutlich über den von uns gewählten Mengen (5g i.v.), wobei über Magnesiumblutkonzentrationen keine Aussage getroffen wird.

Anders verhält es sich in den Versuchen von Held et al., 2002. Die Gruppe der 12 Probanden erschloss sich aus einem Kreis älterer, gesunder Personen. Hier sollte, wie in den Vorversuchen dieser Arbeitsgruppe, in die auch Murck und Steiger involviert sind, der Einfluss von Magnesium auf den Schlaf und die schlafassoziierte Hormonsekretion älterer Menschen untersucht werden. Zu diesem Zweck wurde neben den regelmäßigen Blutentnahmen auch hier ein Schlaf-EEG abgeleitet und auf einen Stimulationstest verzichtet. Allerdings handelte es sich in diesem Fall um eine andere Applikationsform. Die Probanden

erhielten über eine Dauer von 20 Tagen eine orale Substitution von insgesamt 1410 mmol \approx 34,3 g in aufsteigender Dosierung. Die Ergebnisse waren umgekehrt zu den bisher diskutierten: es zeigte sich ein signifikanter Abfall der Kortisolkonzentrationen in der ersten Nachthälfte bei jedoch ausbleibenden Veränderungen auf ACTH (Held et al., 2002).

Beim Vergleich dieser Studien liegt es nahe, zum einen zwischen oraler vs. intravenöser Applikation zu unterscheiden, und zum anderen zwischen der Tageszeit. Die akute Gabe von Magnesium (i.v.) mit praktisch sofortiger Messung der Parameter führte nicht zu einer Änderung der Kortisolkonzentration, wohl aber zu einer verminderten ACTH-Konzentration (Murck und Steiger, 1998). Ursächlich dafür nimmt man eine gesteigerte Sensitivität der Nebennierenrinde auf ACTH an (Murck 2002). Im Gegensatz dazu führte die chronische Gabe (oral) zu einer verminderten Kortisolkonzentration bei gleich bleibendem ACTH-Spiegel (Held et al., 2002). Entsprechend scheint eine verminderte Sensitivität der Nebennierenrinde auf ACTH zu Grunde zu liegen (Murck, 2002). Ein anderer Ansatzpunkt ist die Annahme einer verminderten hypothalamischen CRH-Aktivität. Ein möglicher Erklärungsansatz dafür kann in diesem Zusammenhang eine gehemmte Freisetzung von CRH durch Magnesium sein. Ebenfalls wird diskutiert, ob es in Anwesenheit von Magnesium zu einer verminderten CRH-Rezeptor Sensitivität kommt. (Für eine systematische Übersicht siehe Murck, 2002). Die Tatsache, dass es nach Magnesium Gabe zu einem Abfall von ACTH, nicht aber zu einem Abfall von Kortisol gekommen ist, führte zu einer weiteren Annahme. So diskutierten Murck und Steiger, dass Magnesium einen direkten stimulatorischen Effekt auf die Kortisolsekretion an der Nebennierenrinde hat (Murck und Steiger, 1998). Gestützt wurden sie darin durch eine frühere Studie, in der ACTH und Magnesium synergistische Effekte an der Nebennierenrinde im Tierversuch zeigten (Glynn et al., 1977).

Auffallend sind auch die Verknüpfungen von Magnesium und psychiatrischen Erkrankungen mit besonderem Augenmerk auf die Depression. Schon 1979 hat Pavlinac die stimmungs- stabilisierenden Effekte von Magnesium beschrieben und es wurde wiederholt berichtet, dass Patienten mit niedrigem Magnesiumspiegel zu depressiven Symptomen neigen (Pavlinac et al., 1979; Murck, 2002). Da, wie bereits erörtert, auch eine Überaktivität des HHN-Achsensystems einen

eindeutigen Bezug zu einigen Formen der Depression zeigt, liegt es nahe, diese beiden Systeme zu verknüpfen (Murck, 2002). Damit Kortisol und ACTH via negativem Feedback auf zentraler Ebene inhibitorisch wirken können, muss Kortisol die Blut-Hirn-Schranke passieren (McEwen et al., 1988). Dazu nutzt es das Transport Protein „p-Glykoprotein“ (p-gp), welches in seiner Funktion direkt von physiologischen Magnesiumkonzentrationen abhängt (Murck, 2002). Ein Mangel ist somit möglicherweise ein pathogenetischer Faktor auf der Ebene der Blut-Hirn-Schranke für ein Defizit der physiologischen HHN-Achsen Regulation.

Die in dieser Studie genutzte Objektivierung des aktuellen Befindens (EWL) zeigt keine signifikanten Änderungen. Die Probanden erschienen in einem insgesamt ausgeglichenen Zustand, was die Dimension „Allgemeines Wohlbefinden“ zeigte. Unterschiede in den Bedingungen gab es diesbezüglich nicht. Und auch die übrigen Dimensionen brachten keine Veränderungen unter Magnesium hervor. Möglicherweise liegt die Begründung in den primär physiologischen Plasmakonzentrationen der Probanden (das gesamte Kollektiv hatte einen ausgeglichenen Magnesiumhaushalt). Andere zuvor durchgeführte Studien gingen von niedrigen primären Magnesiumspiegeln aus. Zudem erhielten die Probanden den Mineralstoff nur über den sehr geringen Zeitraum des Versuchs intravenös und nicht, wie in vorherigen Experimenten oral über lange Zeiträume von oft mehreren Monaten. Eventuell sind für Änderungen bezüglich des Verhaltens auch höhere intracerebrale Magnesiumkonzentrationen von Nöten. Diese sind vermutlich jedoch nur mit einer chronischen Applikation zu erreichen (Murck, 2002). Eine andere Vorstellung wäre, dass insgesamt höhere Dosen eingesetzt werden müssten, um tiefgreifendere neuropsychiatrische Wirkungen zu erzielen. Gynäkologische Studien, die Magnesium im Rahmen der Tokolyse nutzen und rasch Plasmakonzentrationen von 2-3mmol/l erreichten, untermauern dies jedoch nicht (Besinger und Niebyl, 1990). Lediglich Nebenwirkungen, die an eine kurzfristige Vasodilatation gekoppelt waren (Wärmegefühl, Gesichtsrötung, leichter Blutdruckabfall, Kopfschmerzen), sowie gastrointestinale Beschwerden und leichte Kurzatmigkeit wurden beschrieben (Dudley et al., 1989).

Auch die mediatorische Funktion von Katecholaminen war in den oben besprochenen Tierversuchen vermindert. Das suggeriert, dass Magnesium ein wichtiger Faktor für die Aktivität dieses Systems ist. So gibt es Versuche, in denen ein Mangel mit einem Anstieg des diastolischen und des systolischen Blutdrucks

einhergeht (Murck, 2002). Das passt zu den bekannten Nebenwirkungen einer höher dosierten Magnesium Applikation, die unter anderem einen vorübergehenden Blutdruckabfall in Folge einer Relaxation glatter Gefäßmuskulatur induzieren kann. In der vorliegenden Studie beginnt der systolische Druck unter der Placebo Bedingung etwa 30 Minuten nach Stimulation für insgesamt 15 Minuten signifikant zu steigen, und auch die Herzfrequenz bleibt nicht unbeeinflusst. Diese wächst parallel dazu unter Magnesium signifikant an. Letzteres kann im Rahmen einer Gegenregulation auf die Änderung der Druckverhältnisse gewertet werden, insbesondere unter der Vorstellung, dass eine weitere bekannte Nebenwirkung eigentlich die Bradykardie ist.

Das zuvor Diskutierte zeigt, dass es zwar einige wenige Studien zu diesem Thema gibt, deren Ergebnisse jedoch uneinheitlich sind. Die Experimente fanden unter von einander abweichenden Versuchsbedingungen statt, so dass sich ein Vergleich schwierig gestaltet. Bisher gibt es keine Publikation, die über ein Studiendesign mit der stimulierten HHN-Achse des Menschen berichtet. In diesem Zusammenhang bleiben somit einige Fragen offen, die mit weiterführenden Experimenten und abgewandelten Versuchsbedingungen möglicherweise geklärt werden können. Ein bereits konkret angedachter Ansatz unserer Arbeitsgruppe ist die Stimulation mit einem Insulin-Hypoglykämie Test. In diesem Fall findet eine Stimulation der HHN-Achse nicht auf hypophysärer Ebene statt, wie der hier verwendete CRH/Vasopressin Test, sondern auf hypothalamischer Ebene.

5. Zusammenfassung

Die Kortisolsekretion beim Menschen unterliegt vielfältigen Regulationsmechanismen, die nicht nur für die zeit- und bedarfsgerechte Stimulation im Rahmen von Stress, sondern danach auch für die rechtzeitige Abschaltung der endokrinen Stressreaktion sorgen. Neben dem negativen Feedback spielen bei der Inhibition der HHN-Achse auch nicht-glukokortikoid-Mechanismen eine Rolle, die möglicherweise durch einen Faktor präsentiert werden, der vor allem im frühen Nachtschlaf aus dem Hypothalamus ausgeschüttet wird. Dieser corticotropin-release-inhibiting factor (CRIF) wurde bislang noch nicht identifiziert. Zwei mögliche CRIF-Kandidaten wurden in der vorliegenden Arbeit getestet. Zum einen handelt es sich um ein Fragment des thyreotropin-releasing hormone, das $\text{preproTRH}_{(158-183)}$ und zum anderen um Magnesium. Wir führten zwei randomisierte placebo-kontrollierte doppelblinde Studien mit insgesamt 20 gesunden jungen Männern durch.

Die Probanden erhielten eine intravenöse Kurzinfusion des potentiellen Inhibitors ($\text{preproTRH}_{(158-183)}$, Dosen: 5, 10, 25 und $50\mu\text{g/kg}$ Körpergewicht; Magnesium, Dosis: 5g). Während der Infusion führten wir einen hypophysären Stimulationstest (CRH/Vasopressin) durch. In engmaschig entnommenen Proben wurden ACTH, Kortisol sowie weitere endokrine Parameter untersucht. Ebenso wurden Blutdruck und Puls sowie die aktuelle Befindlichkeit mittels Fragebogen erfasst.

Die Hormonkonzentrationen von ACTH und Kortisol waren zu jedem Messzeitpunkt in beiden Experimenten vergleichbar. $\text{PreproTRH}_{(158-183)}$ führte zu einer leichten Anhebung des systolischen Blutdruckes. Eine diskrete Erhöhung von TSH und fT_4 , eine erhöhte Freisetzung von GH sowie eine Steigerung des Wohlbefindens machen deutlich, dass das Peptid nicht völlig wirkungslos war. Magnesium sorgte kurzfristig für eine signifikant erniedrigte Herzfrequenz und auch eine systolische Blutdruckminderung. Insgesamt zeigen die vorliegenden Experimente, dass bei gesunden Männern die stimulierte Aktivität der HHN-Achse nicht durch $\text{preproTRH}_{(158-183)}$ oder Magnesium gehemmt wird. Da nach der CRIF-Hypothese der Inhibitor vor allem im frühen Nachtschlaf wirkt, schließen die vorliegenden Ergebnisse aber nicht aus, dass sowohl $\text{preproTRH}_{(158-183)}$, als auch Magnesium in diesem Zeitraum unter den Bedingungen des Schlafs die Kortisolsekretion zu hemmen vermögen.

6. Literaturverzeichnis

Antoni FA: Hypothalamic control of adrenocorticotropin secretion: advances since the discovery of 41-residue corticotropin-releasing factor. *Endocr Rev* 7: (4), 351-378 (1986)

Bergendahl M, Iranmanesh A, Mulligan T, Veldhuis JD: Impact of age on cortisol secretory dynamics basally and as driven by nutrient-withdrawal stress. *J Clin Endocrinol Metab* 85: (6), 2203-2214 (2000)

Berson DM, Dunn FA, Takao M: Phototransduction by retinal ganglion cells that set the circadian clock. *Science* 295: (5557), 1070-1073 (2002)

Bertherat J, Bluet-Pajot MT, Epelbaum J: Neuroendocrine regulation of growth hormone. *Eur J Endocrinol* 132: (1), 12-24 (1995)

Besedovsky HO, del Rey A: Immune-neuro-endocrine interactions: facts and hypotheses. *Endocr Rev.* 17: (1), 64-102 (1996)

Besinger RE, Niebyl JR: The safety and efficacy of tocolytic agents for the treatment of preterm labor. *Obstet Gynecol Surv.* 45: (7), 415-40 (1990)

Bierwolf C, Struve K, Marshall L, Born J, Fehm HL: Slow wave sleep drives inhibition of pituitary-adrenal secretion in humans. *J Neuroendocrinol* 9: (6), 479-484 (1997)

Born J, Fehm HL: Hypothalamus-pituitary-adrenal activity during human sleep: a coordinating role for the limbic hippocampal system. *Exp Clin Endocrinol Diabetes* 106: (3), 153-163 (1998)

Brien TG: The adrenocortical status of patients with thyroid disease. *Clin Endocrinol (Oxf)* 5: (1), 97-99 (1976)

Brown TM, Fee E: "Walter Bradford Cannon – Pioneer Physiologist of Human Emotions". *Am J Public Health* 92: (10), 1594-1595 (2002)

Buckley TM, Schatzberg AF: On the interactions of the hypothalamic-pituitary-adrenal (HPA) axis and sleep: normal HPA axis activity and circadian rhythm, exemplary sleep disorders. *J Clin Endocrinol Metab* 90: (5), 3106-3114 (2005)

Burren CP, Wilson EM, Hwa V, Oh Y, Rosenfeld RG: 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), 1096-1103 (1999)

Cannon WB: *Bodily Changes in Pain, Hunger, Fear and Rage*. New York, NY: D. Appelton & Company (1915)

Chang FC, Opp MR: Corticotropin-releasing hormone (CRH) as a regulator of waking. *Neurosci Biobehav Rev* 25: (5), 445-453 (2001)

Chaouloff F, Hemar A, Manzoni O: Acute stress facilitates hippocampal CA1 metabotropic glutamate receptor-dependent long-term depression. *J Neurosci* 27: (27), 7130-7135 (2007)

Chrousos GP: The role of stress and the hypothalamic-pituitary-adrenal axis in the pathogenesis of the metabolic syndrome: neuro-endocrine and target tissue-related causes. *Int J Obes Relat Metab Disord* 24: Suppl 2, 50-55 (2000)

Cunningham ET Jr, Sawchenko PE: Reflex control of magnocellular vasopressin and oxytocin secretion. *Trends Neurosci* 14: (9), 406-411 (1991)

Dallman MF, Akana SF, Cascio CS, Darlington DN, Jacobson L, Levin N: Regulation of ACTH secretion: variations on a theme of B. *Recent Prog Horm Res* 43: 113-173 (1987)

Darmon P, Dadoun F, Boullu-Ciocca S, Grino M, Alessi MC, Dutour A: Insulin resistance induced by hydrocortisone is increased in patients with abdominal obesity. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 291: (5), E995-E1002 (2006)

De Kloet ER, Vreugdenhil E, Oitzl MS, Joels M: Brain corticosteroid receptor balance in health and disease. *Endocr Rev* 19: (3), 269-301 (1998)

De Wied D, De Kloet ER: Pro-opiomelanocortin (POMC) as homeostatic control system. *Ann N Y Acad Sci* 512: 328-337 (1987)

DeBold CR, Sheldon WR, DeCherney GS, Jackson RV, Alexander AN, Vale W, Rivier J, Orth DN: Arginine vasopressin potentiates adrenocorticotropin release induced by ovine corticotropin-releasing factor. *J Clin Invest* 73: (2), 533-538 (1984)

Dickerman Z, Grant DR, Faiman C, Winter JS: Intraadrenal steroid concentrations in man: zonal differences and developmental changes. *J Clin Endocrinol Metab* 59: (6), 1031-1036 (1984)

Dudley D, Gagnon D, Varner M: Long-term tocolysis with intravenous magnesium sulfate. *Obstet Gynecol* 73: (3), 373-378 (1989)

Egdahl RH: Adrenal cortical and medullary responses to trauma in dogs with isolated pituitaries. *Endocrinology* 66: 200-216 (1960)

Engler D, Burger AG: The deiodination of the iodothyronines and of their derivatives in man. *Endocr Rev* 5: (2), 151-184 (1984)

Engler D, Pham T, Fullerton MJ, Funder JW, Clarke IJ: Studies of the regulation of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis in sheep with hypothalamic-pituitary disconnection. I. Effect of an audiovisual stimulus and insulin-induced hypoglycaemia. *Neuroendocrinology* 48: (5), 551-560 (1988)

Engler D, Redei E, Kola I: 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 (1999)

Feldman S, Conforti N, Weidenfeld J: Limbic pathways and hypothalamic neurotransmitters mediating adrenocortical responses to neural stimuli. *Neurosci Biobehav Rev* 19: (2), 235-240 (1995)

Gallagher TF, Hellman L, Finkelstein J, Yoshida K, Weitzman ED, Roffwarg HD, Fukushima DK: Hyperthyroidism and cortisol secretion in man. *J Clin Endocrinol Metab* 34: (6), 919-927 (1972)

Gerendai I, Halasz B: Central nervous system structures connected with the endocrine glands. findings obtained with the viral transneuronal tracing technique. *Exp Clin Endocrinol Diabetes* 108: (6), 389-395 (2000)

Gillies GE, Linton EA, Lowry PJ: Corticotropin releasing activity of the new CRF is potentiated several times by vasopressin. *Nature* 299: (5881), 355-357 (1982)

Glynn P, Cooper DM, Schulster D: Modulation of the response of bovine adrenocortical adenylate cyclase to corticotropin. *Biochem J* 15: (168), 277-282 (1977)

Gronfier C, Chapotot F, Weibel L, Jouny C, Piquard F, Brandenberger G: Pulsatile cortisol secretion and EEG delta waves are controlled by two independent but synchronized generators. *Am J Physiol* 275: (1), 94-100 (1998)

Halasz B, Florsheim WH, Corcorran NL, Gorski RA: Thyrotrophic hormone secretion in rats after partial or total interruption of neural afferents to the medial basal hypothalamus. *Endocrinology* 80: (6), 1075-1082 (1967)

Hartman ML, Veldhuis JD, Thorner MO: Normal control of growth hormone secretion. *Horm Res* 40: (1-3), 37-47 (1993)

Harvey BH, Oosthuizen F, Brand L, Wegener G, Stein DJ: Stress-restress evokes sustained iNOS activity and altered GABA levels and NMDA receptors in rat hippocampus. *Psychopharmacology (Berl)* 175: (4), 494-502 (2004)

Held K, Antonijevic IA, Kunzel H, Uhr M, Wetter TC, Golly IC, Steiger A, Murck H: Oral Mg(2+) supplementation reverses age-related neuroendocrine and sleep EEG changes in humans. *Pharmacopsychiatry* 35: (4), 135-143 (2002)

Ichikawa Y, Nishikai M, Kawagoe M, Yoshida K, Homma M: Plasma corticotropin, cortisol and growth hormone responses to hypoglycemia in the morning and in the evening. *J Clin Endocrinol Metab* 34: (5), 895-898 (1972)

Jacobson L: Hypothalamic-pituitary-adrenocortical axis regulation. *Endocrinol Metab Clin North Am* 34: (2), 271-292 (2005)

Janke W, Debus G: Die Eigenschaftswörterliste EWL. Eine mehrdimensionale Methode zur Beschreibung von Aspekten des Befindens. Göttingen: Hograefe (1978)

Jezova D: Control of ACTH secretion by excitatory amino acids: functional significance and clinical implications. *Endocrine* 28: (3), 287-294 (2005)

Jones MT, Gillham B: Factors involved in the regulation of adrenocorticotrophic hormone/beta-lipotrophic hormone. *Physiol Rev* 68: (3), 743-818 (1988)

Karszen AM, Meijer OC, van der Sandt IC, Lucassen PJ, de Lange EC, de Boer AG, de Kloet ER: Multidrug resistance P-glycoprotein hampers the access of cortisol but not of corticosterone to mouse and human brain. *Endocrinology* 142: (6), 2686-94 (2001)

Kato Y, Murakami Y, Sohmiya M, Nishiki M: Regulation of human growth hormone secretion and its disorders. *Intern Med* 41: (1), 7-13 (2002)

Keller-Wood ME, Dallman MF: Corticosteroid inhibition of ACTH secretion. *Endocr Rev* 5: (1), 1-24 (1984)

Kirschbaum C, Wolf OT, May M, Wippich W, Hellhammer DH: Stress- and treatment-induced elevations of cortisol levels associated with impaired declarative memory in healthy adults. *Life Sci* 58: (17), 1475-1483 (1996)

Kisters K: Störungen des Magnesiumhaushalts. *Internist* 39, 815-819 (1998)

Klinke R, Silbernagl S: Lehrbuch der Physiologie. In Kap. 17 Voigt K: Endokrines System, 3. Aufl., S.476, Thieme Verlag, Stuttgart (2001)

Kovacs KJ, Makara GB: Factors from the paraventricular nucleus mediate inhibitory effect of alpha-2-adrenergic drugs on ACTH secretion. *Neuroendocrinology* 57: (2), 346-350 (1993)

Lin D, Sugawara T, Strauss JF 3rd, Clark BJ, Stocco DM, Saenger P, Rogol A, Miller WL: Role of steroidogenic acute regulatory protein in adrenal and gonadal steroidogenesis. *Science* 267: (5205), 1828-1831 (1995)

Linthorst AC, Flachskamm C, Barden N, Holsboer F, Reul JM: Glucocorticoid receptor impairment alters CNS responses to a psychological stressor: an in vivo microdialysis study in transgenic mice. *Eur J Neurosci* 12: (1), 283-291 (2000)

Linton EA, Wolfe CD, Behan DP, Lowry PJ: A specific carrier substance for human corticotrophin releasing factor in late gestational maternal plasma which could mask the ACTH-releasing activity. *Clin Endocrinol (Oxf)* 28: (3), 315-324 (1988)

Liu JH, Muse K, Contreras P, Gibbs D, Vale W, Rivier J, Yen SS: Augmentation of ACTH-releasing activity of synthetic corticotropin releasing factor (CRF) by vasopressin in women. *J Clin Endocrinol Metab* 57: (5), 1087-1089 (1983)

Löffler G, Petrides PE: Biochemie & Pathobiochemie. In Kap. 30 Petrides PE: Endokrine Funktionen IV: Hypothalamisch-hypophysäres System und Zielgewebe. 7.Auflage, S.880-881, Springer Verlag, Berlin (2003a)

Löffler G, Petrides PE: Biochemie & Pathobiochemie. In Kap.31 Kurtz A: Funktion der Nieren und Regulation des Wasser- und Elektrolythaushaltes. 7. Auflage, S.959-961, Springer Verlag, Berlin (2003b)

Lundblad JR, Roberts JL: Regulation of proopiomelanocortin gene expression in pituitary. *Endocr Rev* 9: (1), 135-158 (1988)

McEwen BS, Brinton RE, Sapolsky RM: Glucocorticoid receptors and behavior: implications for the stress response. *Adv Exp Med Biol* 245: 35-45 (1988)

McEwen BS, Sapolsky RM: Stress and cognitive function. *Curr Opin Neurobiol* 5: (2), 205-216 (1995)

McEwen BS: Glucocorticoids, depression, and mood disorders: structural remodeling in the brain. *Metabolism* 54: (5 Suppl 1), 20-23 (2005)

McEwen BS: Physiology and neurobiology of stress and adaptation: central role of the brain. *Physiol Rev* 87: (3), 873-904 (2007)

McEwen BS: Protective and damaging effects of stress mediators. *N Engl J Med* 338: (3), 171-179 (1998)

McEwen BS: Protective and damaging effects of stress mediators: central role of the brain. *Dialogues Clin Neurosci* 8: (4), 367-381 (2006)

McEwen BS: The neurobiology and neuroendocrinology of stress. Implications for post-traumatic stress disorder from a basic science perspective. *Psychiatr Clin North Am* 25: (2), 469-494 (2002)

McEwen BS: The neurobiology of stress: from serendipity to clinical relevance: *Brain Res* 886: (1-2), 172-189 (2000)

McGivern RF, Rittenhouse P, Aird F, Van de Kar LD, Redei E: Inhibition of stress-induced neuroendocrine and behavioral responses in the rat by prepro-thyrotropin-releasing hormone 178-199. *J Neurosci* 17: (12), 4886-4894 (1997)

Mercer JE, Clements JA, Clarke IJ, Funder JW: Glucocorticoid regulation of proopiomelanocortin gene expression in the pituitary gland of hypothalamopituitary intact and hypothalamopituitary disconnected sheep. *Neuroendocrinology* 50: (3), 280-285 (1989)

Mori M, Yamada M, Satoh T, Murakami M, Iriuchijima T, Kobayashi I: Different posttranslational processing of human preprothyrotropin-releasing hormone in the human placenta and hypothalamus. *J Clin Endocrinol Metab* 75: (6), 1535-1539 (1992)

Murck H, Steiger A: Mg²⁺ reduces ACTH secretion and enhances spindle power without changing delta power during sleep in men -- possible therapeutic implications. *Psychopharmacology (Berl)* 137: (3), 247-252 (1998)

Murck H: Magnesium and affective disorders. *Nutr Neurosci* 5: (6), 375-389 (2002)

Neville MC, McFadden TB, Forsyth I: Hormonal regulation of mammary differentiation and milk secretion. *J Mammary Gland Biol Neoplasia* 7: (1), 49-66 (2002)

Nilni EA, Aird F, Seidah NG, Todd RB, Koenig JI: PreproTRH(178-199) and two novel peptides (pFQ7 and pSE14) derived from its processing, which are produced in the paraventricular nucleus of the rat hypothalamus, are regulated during suckling. *Endocrinology* 142: (2), 896-906 (2001)

Opstad K: Circadian rhythm of hormones is extinguished during prolonged physical stress, sleep and energy deficiency in young men. *Eur J Endocrinol.* 131: (1), 56-66 (1994)

Orth DN, Mount CD: Specific high-affinity binding protein for human corticotropin-releasing hormone in normal human plasma. *Biochem Biophys Res Commun* 143: (2), 411-417 (1987)

Pacak K, Palkovits M, Kvetnansky R, Yadid G, Kopin IJ, Goldstein DS: Effects of various stressors on in vivo norepinephrine release in the hypothalamic paraventricular nucleus and on the pituitary-adrenocortical axis. *Ann N Y Acad Sci* 771: 115-130 (1995)

Pavlinac D, Langer R, Lenhard L, Deftos L: Magnesium in affective disorders. *Biol Psychiatry* 14: (4), 657-661 (1979)

Potter E, Behan DP, Fischer WH, Linton EA, Lowry PJ, Vale WW: Cloning and characterization of the cDNAs for human and rat corticotropin releasing factor-binding proteins. *Nature* 349: (6308), 423-426 (1991)

Pritchard LE, White A: Neuropeptide processing and its impact on melanocortin pathways. *Endocrinology*: 148: (9), 4201-4207 (2007)

Raikkonen K, Keltikangas-Jarvinen L, Adlercreutz H, Hautanen A: Psychosocial stress and the insulin resistance syndrome. *Metabolism* 45: (12), 1533-1538 (1996)

Raza J, Massoud AF, Hindmarsh PC, Robinson IC, Brook CG: Direct effects of corticotrophin-releasing hormone on stimulated growth hormone secretion. *Clin Endocrinol (Oxf)* 48: (2), 217-222 (1998)

Redei E, Hilderbrand H, Aird F: Corticotropin release inhibiting factor is encoded within prepro-TRH. *Endocrinology* 136: (4), 1813-1816 (1995a)

Redei E, Hilderbrand H, Aird F: Corticotropin release-inhibiting factor is preprothyrotropin-releasing hormone-(178-199). *Endocrinology* 136: (8), 3557-3563 (1995b)

Redei E, Organ M, Hart S: Antidepressant-like properties of prepro-TRH 178-199: acute effects in the forced swim test. *Neuroreport* 10: (16), 3273-3276 (1999)

Redei E, Rittenhouse PA, Revskoy S, McGivern RF, Aird F: A novel endogenous corticotropin release inhibiting factor. *Ann N Y Acad Sci* 1: (840), 456-469 (1998)

Redei EE: Molecular genetics of the stress-responsive adrenocortical axis. *Ann Med* 40. (2), 139-148 (2008)

Reul JM, Bilang-Bleuel A, Droste S, Linthorst AC, Holsboer F, Gesing A: New mode of hypothalamic-pituitary-adrenocortical axis regulation: significance for stress-related disorders. *Z Rheumatol* 59: (Suppl 2:II), 22-25 (2000)

Rivier C, Brownstein M, Spiess J, Rivier J, Vale W: In vivo corticotropin-releasing factor-induced secretion of adrenocorticotropin, beta-endorphin, and corticosterone. *Endocrinology* 110: (1), 272-278 (1982)

Romeo RD, Bellani R, Karatsoreos IN, Chhua N, Vernov M, Conrad CD, McEwen BS. Stress history and pubertal development interact to shape hypothalamic-pituitary-adrenal axis plasticity. *Endocrinology* 147: (4), 1664-1674 (2006)

Romeo RD, Karatsoreos IN, Jasnow AM, McEwen BS: Age- and stress-induced changes in corticotropin-releasing hormone mRNA expression in the paraventricular nucleus of the hypothalamus. *Neuroendocrinology* 85: (4), 199-206 (2007)

Salata RA, Jarrett DB, Verbalis JG, Robinson AG: Vasopressin stimulation of adrenocorticotropin hormone (ACTH) in humans. In vivo bioassay of corticotropin-releasing factor (CRF) which provides evidence for CRF mediation of the diurnal rhythm of ACTH. *J Clin Invest* 81: (3), 766-774 (1988)

Sale MV, Ridding MC, Nordstrom MA: Cortisol inhibits neuroplasticity induction in human motor cortex. *J Neurosci* 28: (33), 8285-8293 (2008)

Sapolsky RM: Glucocorticoids, stress, and their adverse neurological effects: relevance to aging. *Exp Gerontol* 34: (6), 721-732 (1999)

Sapolsky RM: Why stress is bad for your brain. *Science* 273: (5276), 749-750 (1996)

Saris NE, Mervaala E, Karppanen H, Khawaja JA, Lewenstam A: Magnesium. An update on physiological, clinical and analytical aspects. *Clin Chim Acta* 294: (1-2), 1-26 (2000)

Seeman TE, Robbins RJ: Aging and hypothalamic-pituitary-adrenal response to challenge in humans. *Endocr Rev* 15: (2), 233-260 (1994)

Selye H: A syndrome produced by diverse nocuous agents. 1936. *J Neuropsychiatry Clin Neurosci* 10: (2), 230-231 (1998)

Selye H: Effect of ACTH and cortisone upon an anaphylactoid reaction. *Can Med Assoc J* 61: (6), 553-556 (1949)

Selye H: The general adaption syndrome and the diseases of adaption. *J Clin Endocrinology* 6: 117-231 (1946)

Shigemasa C, Kouchi T, Ueta Y, Mitani Y, Yoshida A, Mashiba H: Evaluation of thyroid function in patients with isolated adrenocorticotropin deficiency. *Am J Med Sci* 304: (5), 279-284 (1992)

Siegenthaler W: Differenzialdiagnose Innere Krankheiten – vom Symptom zur Diagnose. In Kap.30 Fehr T, Wüthrich RP: Störungen des Wasser-, Elektrolyt- und Säure-Base- Haushaltes. 19. Auflage, S.952, Thieme Verlag, Stuttgart (2005)

Spath-Schwalbe E, Fehm HL, Born J, Pfeiffer EF: Combined corticotropin-releasing hormone-vasopressin test: a new test for the evaluation of the pituitary adrenal system. *Horm Metab Res* 19: (12), 665-666 (1987)

Spath-Schwalbe E, Uthgenannt D, Korting N, Fehm HL, Born J: Sleep and wakefulness affect the responsiveness of the pituitary-adrenocortical axis to arginine vasopressin in humans. *Neuroendocrinology* 60: (5), 544-548 (1994)

Spath-Schwalbe E, Uthgenannt D, Voget G, Kern W, Born J, Fehm HL: Corticotropin-releasing hormone-induced adrenocorticotropin and cortisol secretion depends on sleep and wakefulness. *J Clin Endocrinol Metab* 77: (5), 1170-1173 (1993)

Steckler T, Holsboer F, Reul JM: Glucocorticoids and depression. *Baillieres Best Pract Res Clin Endocrinol Metab* 13: (4), 597-614 (1999)

Steinberg A, Shechter FR, Segal HI: True pituitary Addison's disease, a pituitary unitropic deficiency; fifteen-year follow-up. *J Clin Endocrinol Metab* 14: (12), 1519-1529 (1954)

Sugimoto T, Saito M, Mochizuki S, Watanabe Y, Hashimoto S, Kawashima H: Molecular cloning and functional expression of a cDNA encoding the human V1b vasopressin receptor. *J Biol Chem* 269: (43), 27088-27092 (1994)

Swaab DF, Bao AM, Lucassen PJ: The stress system in the human brain in depression and neurodegeneration. *Ageing Res Rev* 4: (2), 141-194 (2005)

Swanson LW, Sawchenko PE, Rivier J, Vale WW: Organization of ovine corticotropin-releasing factor immunoreactive cells and fibers in the rat brain: an immunohistochemical study. *Neuroendocrinology* 36: (3), 165-186 (1983)

Takahashi H, Teranishi Y, Nakanishi S, Numa S: Isolation and structural organization of the human corticotropin--beta-lipotropin precursor gene. *FEBS Lett* 135: (1), 97-102 (1981)

Tramer MR, Schneider J, Marti RA, Rifat K: Role of magnesium sulfate in postoperative analgesia. *Anesthesiology* 84: (2), 340-347 (1996)

Ueda K, Okamura N, Hirai M, Tanigawara Y, Saeki T, Kioka N, Komano T, Hori R: Human P-glycoprotein transports cortisol, aldosterone, and dexamethasone, but not progesterone. *J Biol Chem* 267: (34), 24248-24252 (1992)

Vale W, Rivier C, Brown MR, Spiess J, Koob G, Swanson L, Bilezikjian L, Bloom F, Rivier J: Chemical and biological characterization of corticotropin releasing factor. *Recent Prog Horm Res* 39: 245-270 (1983)

Vale W, Spiess J, Rivier C, Rivier J: Characterization of a 41-residue ovine hypothalamic peptide that stimulates secretion of corticotropin and beta-endorphin. *Science* 213: (4514), 1394-1397 (1981)

van Coevorden A, Mockel J, Laurent E, Kerkhofs M, L'Hermite-Baleriaux M, Decoster C, Neve P, Van Cauter E: Neuroendocrine rhythms and sleep in aging men. *Am J Physiol* 260: (4 Pt 1), 651-661 (1991)

van Eekelen AP, Kerkhof GA, van Amsterdam JG: Circadian variation in cortisol reactivity to an acute stressor. *Chronobiol Int* 20: (5), 863-878 (2003)

Verkuyl JM, Karst H, Joels M: GABAergic transmission in the rat paraventricular nucleus of the hypothalamus is suppressed by corticosterone and stress. *Eur J Neurosci* 21: (1), 113-121 (2005)

Watanabe T, Orth DN: Detailed kinetic analysis of adrenocorticotropin secretion by dispersed rat anterior pituitary cells in a microperfusion system: effects of ovine corticotropin-releasing factor and arginine vasopressin. *Endocrinology* 121: (3), 1133-1145 (1987)

Waterman MR: A rising StAR: an essential role in cholesterol transport. *Science* 267: (5205), 1780-1781 (1995)

Weitzman ED, Fukushima D, Nogeire C, Roffwarg H, Gallagher TF, Hellman L: Twenty-four hour pattern of the episodic secretion of cortisol in normal subjects. *J Clin Endocrinol Metab* 33: (1), 14-22 (1971)

Wiegers GJ, Stec IE, Klinkert WE, Reul JM: Glucocorticoids regulate TCR-induced elevation of CD4: functional implications. *J Immunol* 164: (12), 6213-6220 (2000)

Yamada M, Radovick S, Wondisford FE, Nakayama Y, Weintraub BD, Wilber JF: Cloning and structure of human genomic DNA and hypothalamic cDNA encoding human prepro thyrotropin-releasing hormone. *Mol Endocrinol* 4: (4), 551-556 (1990)

Yamamoto T, Fukuyama J, Hasegawa K, Sugiura M: Isolated corticotropin deficiency in adults. Report of 10 cases and review of literature. *Arch Intern Med* 152: (8), 1705-1712 (1992)

Zofkova I, Lamberg-Allardt C, Kancheva RL, Starka L: Effect of hypermagnesemia on the adenohipophyseal-gonadal function, parathyroid hormone secretion and some other hormonal indicators. *Horm Metab Res* 25: (1), 29-33 (1993)

7.1.2 Versuchsprotokoll Magnesium

Name:
Code:
Placebo/Magnesium

Alter:
Größe:
Gewicht:

Datum:

Uhrzeit	Anmerkungen	RR/Puls	Mg	Cortisol	ACTH	E'lyte(Na, K, Ca)
11:45	Proband kommt					
12:00	Braunülen					
12:45						
13:00						
13:10 t -5	EWL					
13:15 t 0	Perfusor Mg50ml/h (Testsubstanz)					
13:30 t 15						
13:45 t 30	Stimulus Perf. auf Mg15ml/h					
14:00 t 45	EWL					
14:15 t 60						
14:30 t 75						
14:45 t 90						
15:15 t 120	EWL					
15:45 t 150						

7.2 Ergebnistabellen

7.2.1 Tabelle preproTRH₍₁₅₈₋₁₈₃₎

	Baseline		T=0 bis t=15		t=15 bis t=165 AUC		Peak	
	preproTRH (158-183)	Placebo	preproTRH (158-183)	Placebo	preproTRH (158-183)	Placebo	preproTRH (158-183)	Placebo
	Mittelwert ± Standardfehler		Mittelwert ± Standardfehler		Mittelwert ± Standardfehler (/min)		Mittelwert ± Standardfehler	
ACTH (pg/ml)	12,6 ± 1,9	12,2 ± 1,7	14,6 ± 1,8	14,4 ± 1,2	4609 ± 1166	4357 ± 780	63,7 ± 23,2	50,5 ± 17,4
Kortisol (µg/dl)	7,0 ± 1,0	8,6 ± 1,5	7,2 ± 1,0	7,2 ± 1,1	2359 ± 197	2322 ± 170	20,9 ± 1,3	21,7 ± 1,7
GH (ng/ml)	0,2 ± 0,1	0,8 ± 0,6	0,2 ± 0,7	0,5 ± 0,3	412 ± 138	121 ± 81 §	7,6 ± 1,9	5,2 ± 1,5
Prolaktin (ng/ml)	5,4 ± 0,5	5,8 ± 0,8	5,4 ± 0,5	5,5 ± 0,82	1048 ± 84	978 ± 97	7,7 ± 0,7	7,0 ± 0,9
LH (mIU/ml)	3,4 ± 0,3	3,8 ± 0,5	2,8 ± 0,4	3,7 ± 0,4	441 ± 39	631 ± 90		
FSH (mIU/ml)	2,5 ± 0,3	2,6 ± 0,3	2,4 ± 0,2	2,5 ± 0,3	460 ± 137	475 ± 146		
TSH (µIU/ml)	1,03 ± 0,19	1,26 ± 0,21 §	1,12 ± 0,04	1,14 ± 0,05	166 ± 31	180 ± 31		
ft4 (ng/dl)	1,38 ± 0,08	1,48 ± 0,06 #	1,41 ± 0,03	1,42 ± 0,03	225 ± 15	237 ± 12		

Tab. 7.1: Ergebnistabelle preproTRH(158-183)

In dieser Tabelle sind die Hormonkonzentrationen von ACTH, Kortisol, GH, Prolaktin, LH, FSH, TSH und ft4 mit unterschiedlichen Schwerpunkten aufgelistet. Links finden sich die Ergebnisse der Baseline Konzentrationen vor dem Beginn der Versuche. Die Werte daneben (Mitte links) zeigen die durchschnittlichen Ergebnisse der ersten 15 Minuten (t=0-15) nach Beginn der Infusion der Testsubstanzen (preproTRH₍₁₅₈₋₁₈₃₎ oder Placebo), jedoch vor Applikation der Stimulantien CRH und Vasopressin. Die Angaben der AUC (Mitte rechts) spiegeln den Zeitraum zwischen dem Beginn der HHN Achsen Stimulation (t=15) und der 165. Minute (t=165) wieder und rechts sind die

Konzentrationen der Peaks beider Bedingungen dargestellt. Dies jedoch nur für Kortisol, ACTH, GH und Prolaktin, da die verbleibenden Peptide typischerweise keinen Peak nach entsprechender Injektion aufweisen. Die Werte der ersten 15 Minuten, die AUC und die Peaks wurden an die Baseline angepasst. # $p < 0,07$, § $p < 0,08$ für die Unterschiede zwischen den Bedingungen im T-Test für gepaarte Stichproben. Die jeweiligen Angaben beinhalten die Mittelwerte \pm Standardfehler (SEM).

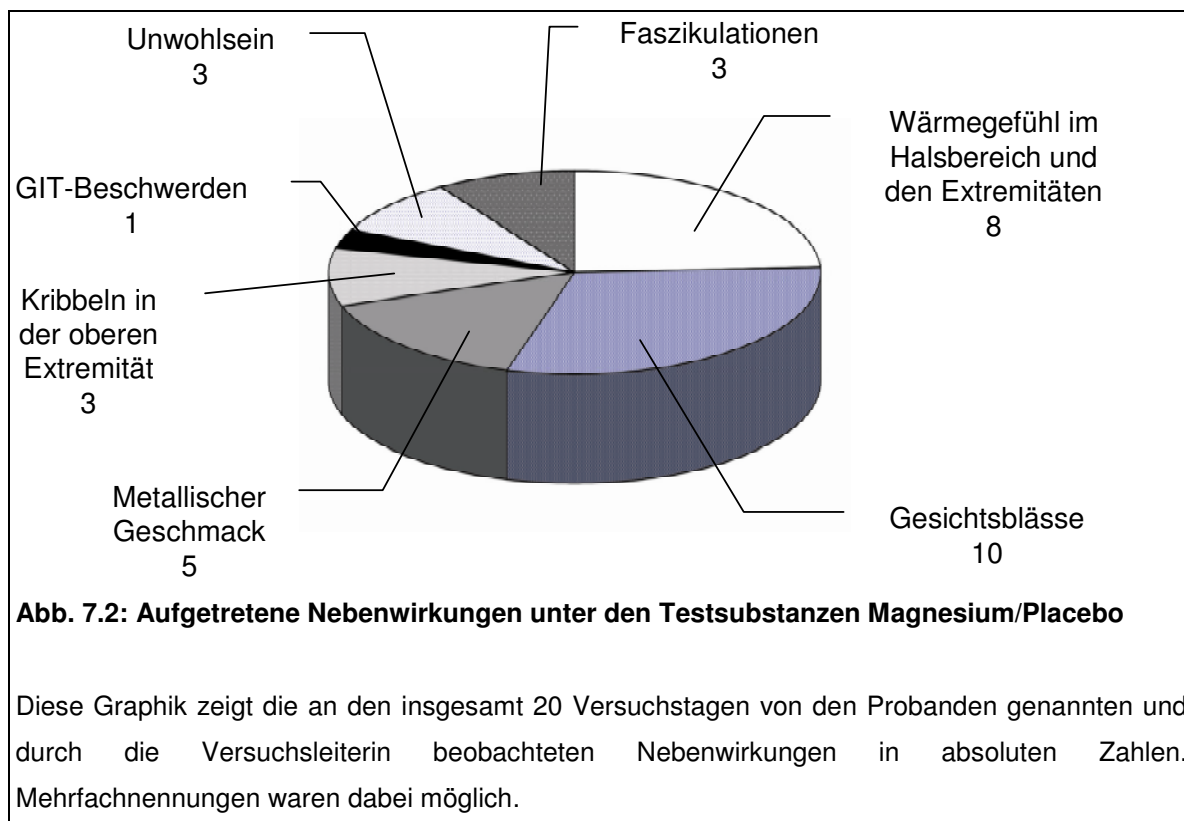
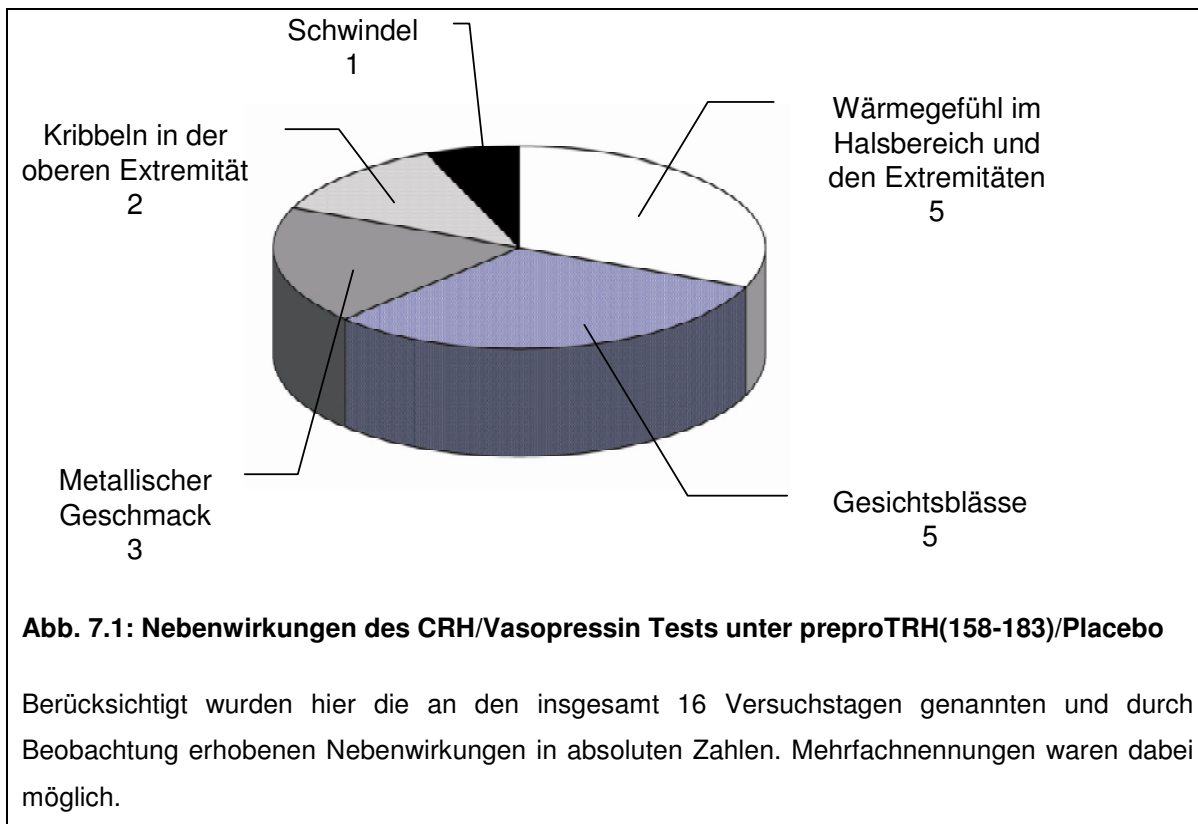
7.2.2 Tabelle Magnesium

	Baseline		T=15 bis t=165 AUC		Peak	
	Magnesium	Placebo	Magnesium	Placebo	Magnesium	Placebo
	Mittelwert \pm Standardfehler		Mittelwert \pm Standardfehler (/min)		Mittelwert \pm Standardfehler	
ACTH (pg/ml)	11,1 \pm 1,2	12,6 \pm 1,4	4098 \pm 534	4213 \pm 602	77,12 \pm 11,60	83,30 \pm 15,45
Kortisol (μ g/dl)	5,5 \pm 0,6	7,5 \pm 0,6	1965 \pm 68	2089 \pm 86	22,16 \pm 0,71	22,48 \pm 0,90
Mg (mmol/l)	0,9 \pm 0,02	0,9 \pm 0,02	203 \pm 4 *	123 \pm 2 *	1,59 \pm 0,03 *	0,94 \pm 0,02 *

Tab. 7.2: Ergebnistabelle Magnesium

Diese Tabelle beinhaltet die mittleren Konzentrationen der gemessenen Hormone einschließlich der Elektrolytbestimmung von Magnesium und die entsprechenden Standardfehler. Dargestellt sind unterschiedliche Zeitpunkte: links die Baseline vor Beginn des Versuchs, in der Mitte sind die AUC, die sich auf den Zeitraum zwischen der Stimulation und der 165. Minute (t=165) beziehen, und rechts sind die Konzentrationen der jeweiligen Peaks. * $p < 0,0001$ für die Unterschiede zwischen den Bedingungen im T-Test für gepaarte Stichproben. Die jeweiligen Angaben beinhalten die Mittelwerte \pm Standardfehler (SEM).

7.3 Nebenwirkungen



7.4 Ethikantrag

Die für diese Arbeit durchgeführten Untersuchungen wurden von der Ethikkommission der Universität zu Lübeck unter dem Aktenzeichen 02-084 am 09.10.2002 genehmigt.

8. Danksagung

Zuerst gilt mein besonderer Dank meinem Doktorvater, Herrn PD Dr. med. Boris Perras aus der Medizinischen Klinik I. Er überließ mir das Thema meiner Dissertation, lieferte mir hervorragende Unterstützung sowohl während des praktischen Teils der Arbeit als auch bei der Literatursauswahl und der Korrektur dieses Manuskriptes. Er war immer ein sehr kompetenter und äußerst zuverlässiger Berater.

Dem emeritierten Direktor der Medizinischen Klinik I des Universitätsklinikums Schleswig-Holstein, Campus Lübeck, Herrn Prof. Dr. med. Horst Lorenz Fehm, danke ich für die Überlassung von Arbeitsräumen und Geräten.

Herr Prof. Dr. Jan Born, Direktor des Instituts für Neuroendokrinologie des Universitätsklinikums Schleswig-Holstein, Campus Lübeck, und Herr Rasch gaben hilfreiche Kommentare und unterstützten mich in der statistischen Auswertung. Vielen Dank dafür!

Danke auch an Frau Dr. med. Eva Redei, Mitarbeiterin des Departments of Pharmacology and Psychiatry der Universität von Pennsylvania für weiterführende Kommentare.

Christiane Otten, Heidi Ruf und Ingrid von Lützu aus dem Labor der Medizinischen Klinik I spreche ich meinen Dank für die Bestimmung zahlreicher Hormonkonzentrationen sowie für die geduldige Beratung in den vielen labortechnischen Fragen aus.

Ich bedanke mich bei allen Mitarbeitern des Instituts für Klinische Chemie und bei denen des Instituts für Hämatologie, die immer schnell und zuverlässig meine Proben weiterbearbeitet haben.

Große Dankbarkeit bringe ich meinen wundervollen Eltern, Christiane und Ulrich Berkemeier entgegen. Sie haben immer an mich geglaubt und mich stets gestärkt. Durch sie sind mir mein Studium und diese Dissertation möglich geworden. Vielen Dank Mama und Papa!

Des Weiteren möchte ich meinem Lebenspartner, Sebastian Leyendecker, danken. Er hat mich unermüdlich durch alle Höhen und Tiefen begleitet, mich immerfort mit Rat und Tat unterstützt und hat während der gesamten Entstehung dieser Arbeit und während meines Studiums liebevoll an meiner Seite gestanden.

Abschließend danke ich noch all jenen, die mich ununterbrochen motivierten, sich stundenlangen Gesprächen über diese Arbeit ausgesetzt und so manchen Rechtschreibfehler beseitigt haben.

9. Lebenslauf

Eva Berkemeier
geb. 26.05.1981
in Bünde

Curriculum Vitae

26.05.2008	Erteilung der Approbation
15.05.2008	2. Abschnitt der ärztlichen Prüfung
August 2006 – Juli 2007	Studentin im praktischen Jahr
September 2003	1. Abschnitt der ärztlichen Prüfung
Oktober 2000	Immatrikulation an der Universität zu Lübeck
Juni 2000	Erlangen der allgemeinen Hochschulreife am Freiherr vom Stein Gymnasium in Bünde

Dissertation

November 2008	Abgabe der Dissertation
Oktober 2005	Beginn der Versuchsreihe zu Magnesium in der Medizinischen Klinik I, UK-SH, Campus Lübeck
September 2004	Beginn der Versuchsreihe zu preproTRH ₍₁₅₈₋₁₈₃₎ in der Medizinischen Klinik I, UK-SH, Campus Lübeck

10. Veröffentlichungen

B. Perras, E. Berkemeier, B. Rasch, H.L. Fehm, J. Born: PreproTRH₍₁₅₈₋₁₈₃₎ fails to affect pituitary-adrenal response to CRH/vasopressin in man: A pilot study. *Neuropeptides* 41: (4), 233-8 (2007)