

Aus der Weserland-Klinik Bad Seebruch, Vlotho  
Direktorin: Dr. med. Katharina Nebel  
Wissenschaftlicher Leiter: Prof. Dr. med. Reinhard Fricke

**Bestimmung des  $\beta$ -Endorphin-immunoreaktiven Materials ( $\beta$ -ED IRM)  
und des N-acetyl- $\beta$ -Endorphin-IRM (NAC IRM) im Plasma bei gesunden  
Probandinnen nach einer einmaligen Ganzkörperkältetherapie (GKKT)  
bei  $-110^{\circ}\text{C}$  über 3 Minuten**

INAUGURAL - DISSERTATION

zur

Erlangung des doctor medicinae

der Medizinischen Fakultät  
der Westfälischen Wilhelms-Universität Münster

vorgelegt von

RUDOLF, SIMONE  
aus Seoul

2005

gedruckt mit der Genehmigung der Medizinischen Fakultät der Westfälischen Wilhelms-  
Universität Münster

Dekan: Univ.- Prof. Dr. med. H. Jürgens

1. Berichterstatter: PD Dr. med. M. Gaubitz
2. Berichterstatter: Prof. Dr. med. R. Fricke

Tag der mündlichen Prüfung: 31.05.2005

Weserland-Klinik Bad Seebruch, Vlotho  
Wissenschaftlicher Leiter: Prof. Dr. med. Reinhard Fricke

Referent: PD. Dr. med. M. Gaubitz  
Koreferent: Prof. Dr. med. R. Fricke

## Zusammenfassung

### **Bestimmung des $\beta$ -Endorphin-immunoreaktiven Materials ( $\beta$ -ED IRM) und des N-acetyl- $\beta$ -Endorphin-IRM (NAC IRM) im Plasma bei gesunden Probandinnen nach einer einmaligen Ganzkörperkältetherapie (GKKT) bei $-110^{\circ}\text{C}$ über 3 Minuten**

**Simone Rudolf**

In einigen Studien wird eine analgetische Wirksamkeit der Ganzkörperkältetherapie bei Erkrankungen des rheumatischen Formenkreises aufgezeigt. Ebenfalls wird eine euphorisierende Wirkung der kurzzeitigen Kälteexposition diskutiert. In diesem Zusammenhang wird  $\beta$ -Endorphin für die analgetische und stimmungsmulierende Wirkung verantwortlich gemacht.

Ziel dieser Studie war es daher, zum einen den Einfluss der Ganzkörperkältetherapie auf das  $\beta$ -ED IRM und NAC IRM zu untersuchen und zum anderen den Effekt der GKKT auf die Befindlichkeit zu ermitteln.

Es wurden bei 14 gesunden Probandinnen (N=14) im Alter von 19-25 Jahren die Plasmaspiegel des  $\beta$ -ED IRM und des NAC IRM vor und nach der Ganzkörperkältetherapie bei  $-110^{\circ}\text{C}$  über 3 Minuten zu den Zeitpunkten 2h und 1h vor GKKT, sofort danach sowie 30 Minuten und 60 Minuten nach der GKKT bestimmt. Die verschiedenen Parameter der subjektiven Befindlichkeit vor und nach der GKKT wurden (mit Hilfe eines Fragebogens mit Skalen von 1= „gar nicht“ bis 5= „sehr“) ermittelt.

13 Probandinnen fühlten sich nach der GKKT besser, eine Probandin gab keine Veränderung an. Der Parameter „frischer“ wurde mit einem Median von 4,5 und „körperlich fitter“ mit einem Median von 4 angegeben. Der Parameter „allgemein leistungsfähiger“ wurde mit einem Median von 3 beantwortet, „fröhlicher-heiterer“ ebenfalls mit 3.

Während des Untersuchungszeitraumes konnte keine signifikante Veränderung sowohl des  $\beta$ -ED IRM mit einem Mittelwert von 10,2 fmol/ml und einer mittleren SD von 7,8 fmol/ml (Friedman-Test  $p=0,3$ ) als auch des NAC IRM im Plasma mit dem arithmetischen Mittel von 0,4 fmol/ml und einer mittleren SD von 0,5 fmol/ml (Friedman-Test  $p=0,09$ ) nachgewiesen werden. Allerdings konnte bei NAC IRM ein tendenzieller Anstieg direkt nach der GKKT und 30 Minuten danach beobachtet werden.

Schlussfolgernd lässt sich eine deutliche subjektive Verbesserung der Befindlichkeit in den Parametern „Erfrischung“ und „körperliche Fitness“ nachweisen. Allgemeine Leistungsfähigkeit und Stimmungsaufhellung sind nur leicht angestiegen.

Die GKKT zeigt auf das  $\beta$ -ED IRM und das NAC IRM im Plasma keinen signifikanten Einfluss, so dass keine Koinzidenzen der Wirkung der GKKT auf die Analgesierung und die Befindlichkeit mit dem Auftreten des  $\beta$ -Endorphins im Plasma vorliegen.

Tag der mündlichen Prüfung: 31.05.2005

Meinen Eltern in Dankbarkeit gewidmet

# Inhaltsverzeichnis

## **I Einführung**

### **1.1. Ganzkörperkältetherapie (GKKT)**

1.1.1. Entwicklung kryotherapeutischer Verfahren	1
1.1.2. Anwendungsgebiete kryotherapeutischer Maßnahmen	2
1.1.3. Wirkung der Kryotherapie	3
1.1.3.1. Therapeutisch erwünschte Effekte lokaler Kryotherapie	3
1.1.3.2. Negative Effekte lokaler Kryotherapie	4
1.1.3.3. Wirkungen der Ganzkörperkältetherapie (GKKT)	4
1.1.3.4. Nebenwirkungen der GKKT	6
1.1.4. Kontraindikationen der GKKT	6
1.1.5. Hypothesen zu Wirkmechanismen der lokalen Kryotherapie	7
1.1.5.1. vasoreaktiv	7
1.1.5.2. enzymatisch	8
1.1.5.3. neuromuskulär	8
1.1.5.4. neuronal	9
1.1.5.5. mediatorvermittelt	10

### **1.2. GKKT und $\beta$ -Endorphin**

1.2.1. Analgetische Wirksamkeit der GKKT	11
1.2.2. Mechanismus der analgetischen Wirksamkeit der GKKT	12

### **1.3. $\beta$ -Endorphin**

1.3.1. Überblick über die Nomenklatur der Opioide	13
1.3.2. POMC: Das Vorstufenmolekül des $\beta$ -Endorphins	13
1.3.2.1. Abkömmlinge des POMC	13
1.3.2.2. Struktur des POMC-Gens	15
1.3.2.3. Regulation des POMC	16
1.3.3. Lokalisation des $\beta$ -Endorphins	16
1.3.4. Sekretion des $\beta$ -Endorphins	17
1.3.5. Struktur des $\beta$ -Endorphins	17

1.3.6. Das N-acetyl- $\beta$ -Endorphin (NAC)	18
1.3.7. Wirkung des $\beta$ -Endorphins	19
1.3.8. Analgetische Wirksamkeit des im Plasma gefundenen $\beta$ -Endorphins	21
1.3.9. $\beta$ -Endorphin und Thermoregulation	22
1.3.10. $\beta$ -Endorphin bei rheumatischen Erkrankungen	23

#### **1.4. Fragestellung**

1.4.1. Bisher durchgeführte Versuche zur Bestimmung des $\beta$ -ED IRM nach der GKKT	24
1.4.2. Methodik zur Bestimmung des $\beta$ -ED IRM	25
1.4.3. Präzisierung der Fragestellung	26

## **II Material und Methoden**

### **2.1. Material**

2.1.1. Chemikalien und Reagenzien	27
2.1.2. Geräte und Zubehör	28
2.1.3. Kältekammer	29

### **2.2. Methoden**

2.2.1. Patientenauswahl und Ausschlusskriterien	30
2.2.2. Studienaufbau	31
2.2.3. Bestimmung physiologischer und psychologischer Parameter	32
2.2.4. Bestimmung des $\beta$ -ED IRM und des NAC IRM im Plasma	33
2.2.4.1. Plasmagewinnung	33
2.2.4.1.1. Proben	33
2.2.4.1.2. Plasmastandardkurve	33
2.2.4.1.2.1. Plasmafiltration des Standardplasmas	33
2.2.4.1.2.2. Erstellung einer Verdünnungsreihe	34
2.2.4.3. Plasmaextraktion der Proben	34
2.2.4.4. Radioimmunologischer Assay	35
2.2.4.4.1. Testprinzip	35

2.2.4.4.2. Charakterisierung der eingesetzten Antiseren, der Extraktionsmethode, des Radioimmunoassays und der Kreuzreaktivität	36
2.2.4.4.3. Inkubationsansätze	37
2.2.4.4.4. Durchführung des Radioimmunoassays	38
2.2.5. Umrechnung der Radioaktivität (cpm) in fmol/ml	39
2.2.6. Statistische Auswertungsverfahren	39
2.2.7. Grafische Darstellung	40

### **III Ergebnisse**

#### **3.1. Plasmaspiegel im Zeitverlauf**

3.1.1. $\beta$ -Endorphin-immunoreaktives Material ( $\beta$ -ED IRM)	41
3.1.2. $\beta$ -ED IRM bei Kontrollpersonen	42
3.1.3. N-acetyl- $\beta$ -Endorphin-immunoreaktives Material (NAC IRM)	43
3.1.4. NAC IRM bei Kontrollpersonen	45

#### **3.2. Plasmaspiegel in Abhängigkeit von der Variable „Stress“**

3.2.1. $\beta$ -ED IRM	46
3.2.2. NAC IRM	47

#### **3.3. Plasmaspiegel in Abhängigkeit von der Variable „Zyklusphase“**

3.3.1. $\beta$ -ED IRM	49
3.3.2. NAC IRM	51

#### **3.4. Plasmaspiegel in Abhängigkeit von der Variable „orale Kontrazeptiva“**

3.4.1. $\beta$ -ED IRM	52
3.4.2. NAC IRM	54

#### **3.5. Einteilung der Probandinnen in Respondergruppen**

3.5.1. Abfall des $\beta$ -ED IRM nach der GKKT	56
3.5.2. Anstieg des $\beta$ -ED IRM nach der GKKT	57

3.5.3. Sowohl Abfall als auch Anstieg des $\beta$ -ED IRM nach der GKKT	58
3.5.4. Anstieg des NAC IRM nach der GKKT	59
3.5.5. Sowohl Abfall als auch Anstieg des NAC IRM nach der GKKT	61
3.5.6. Synchronizität des $\beta$ -ED IRM und des NAC IRM im Verlauf	62
<b>3.6. Physiologische Parameter</b>	
3.6.1. Temperatur	
3.6.1.1. Handtemperatur	63
3.6.1.2. Unterarmtemperatur	63
3.6.1.3. Mundtemperatur	64
3.6.2. Blutdruck	
3.2.2.1. Systolischer Blutdruck	64
3.6.2.2. Diastolischer Blutdruck	65
3.6.3. Puls	65
<b>3.7. Psychologische Parameter</b>	
3.7.1. Auswertung des Fragebogens	66
 <b>IV Diskussion</b>	
<b>4.1. <math>\beta</math>-Endorphin-immunoreaktives Material (<math>\beta</math>-ED IRM)</b>	
4.1.1. Nachweisbarkeit des $\beta$ -ED IRM	71
4.1.2. $\beta$ -ED IRM Plasmaspiegel im Vergleich zu Vorläuferuntersuchungen	72
<b>4.2. N-acetyl-<math>\beta</math>-Endorphin-immunoreaktives Material (NAC IRM)</b>	
4.2.1. Nachweisbarkeit des NAC IRM	75
4.2.2. NAC IRM im Verlauf	76
<b>4.3. <math>\beta</math>-ED IRM und NAC IRM in Abhängigkeit von drei Parametern</b>	
4.3.1. $\beta$ -ED IRM und NAC IRM in Abhängigkeit vom Stress	77
4.3.2. $\beta$ -ED IRM und NAC IRM in Abhängigkeit von der Zyklusphase	78
4.3.3. $\beta$ -ED IRM und NAC IRM in Abhängigkeit von Kontrazeptiva	79

<b>4.4. <math>\beta</math>-ED IRM und NAC IRM Plasmaspiegel im Vergleich</b>	80
<b>4.5. Physiologische Parameter</b>	
4.5.1. Temperatur	81
4.5.2. Kardiovaskuläres System	82
<b>4.6. Psychologische Parameter</b>	82
<b>Literaturverzeichnis</b>	84
<b>Abbildungsverzeichnis</b>	95
<b>Tabellenverzeichnis</b>	97
<b>Anhang</b>	
a) Fragebogen	I
b) Aufklärungsbogen	III
c) Einverständniserklärung	IV
d) Fragebogen zur Befindlichkeit	V
e)Tabelle 1: $\beta$ -ED IRM in fmol/ml	VI
f) Tabelle 2: NAC IRM in fmol/ml	VII
h)Tabelle 3: physiologische Messdaten	VIII
<b>Danksagung</b>	
<b>Lebenslauf</b>	

## Abkürzungen

Abb.	Abbildung
ACTH	Adrenocorticotropes Hormon
ADH	Antidiuretisches Hormon
AK	Antikörper
Aqua bidest	destilliertes Wasser
Basal1	Messwert nach einer Stunde Ruhephase
Basal2	Messwert nach zwei Stunden Ruhephase
BL	blank, Hintergrundradioaktivität
BO	maximale Bindung vom eingesetzten Antikörper mit dem Tracer
bpm	beats per minutes, Schlag pro Minute
°C	Grad Celsius
ca.	circa
CLIP	corticotropin-like intermediate lobe-peptide
CRF	Corticotropin releasing factor
CRH	Corticotropin releasing hormone
CT	total counts, maximal zu messende Radioaktivität
$\Delta$	delta
d.h.	das heißt
ED	Endorphin
fmol	femtomol ( $10^{-15}$ )
g	Gramm oder Erdbeschleunigung
GABA	gamma-Aminobuttersäure
Gnrh	Gonadotropin releasing hormone
GKKT	Ganzkörperkältetherapie
h	hour, Stunde
H0.5	30 Minuten nach der GKKT
H1	eine Stunde nach der GKKT
HCl	Salzsäure
I.E.	internationale Einheiten
i.v.	intravenös
IRM	immunoreaktives Material, d.h. das durch RIA bestimmte Material
$^{125}\text{J}$	radioaktives Jodisotop 125
KD	kilo-Dalton
LPH	Lipotropin
M	molar, molare Konzentration
mg	Milligramm ( $10^{-3}$ )
min	Minuten
ml	Milliliter
mm	Millimeter
mmHG	Millimeter über Quecksilbersäule
mRNA	messenger Ribonukleinsäure
MSH	Melanozytenstimulierendes Hormon
$\mu\text{l}$	Mikroliter ( $10^{-6}$ )
N	Anzahl
NAC	N-acetyl-beta-Endorphin
NaCl	Natriumchlorid
$\text{Na}_2\text{HPO}_4$	Dinatriumphosphat
$\text{NaH}_2\text{PO}_4$	Natriumhydrogenphosphat

P	probability, Wahrscheinlichkeit
p	power, Macht , Güte eines Testverfahrens
pg	Picogramm ( $10^{-12}$ )
pmol	Picomol ( $10^{-12}$ )
POMC	Proopiomelanocortin
RIA	Radioimmunoassay
RR	Blutdruck
SD	Standardabweichung
SD2	doppelte Standardabweichung
s.	siehe
s.o.	siehe oben
U	Umdrehung
u.a.	unter anderem
u.U.	unter Umständen
X	Mittelwert beider Basalwerte
xo	center
z.B.	zum Beispiel
ZNS	zentrales Nervensystem
Ztpkt 0	Zeitpunkt null, d.h. ohne GKKT bei Kontrollpersonen

## I Einführung

### 1.1. Ganzkörperkältetherapie (GKKT)

#### 1.1.1. Entwicklung kryotherapeutischer Verfahren

Die heilsame Wirkung von Kälte war schon in der Antike bekannt, so dass Eis und kaltes Wasser für medizinisch therapeutische Zwecke verwendet wurden. Hippokrates (460-377 v. Chr.) empfahl kalte Getränke bei fieberhaften Erkrankungen einzunehmen, ebenso riet Galen (130-201 n. Chr.) bei Magenbeschwerden kaltes Quellwasser zu trinken (Grasset 1911). Sangez aus Refflina (1722) versuchte sämtliche Leiden mit Schnee und Eis zu heilen und machte sich als „medicus per glaciem“ einen Namen (Jordan et al. 1977).

Die große Abhängigkeit von jahreszeitlichen und klimatischen Einflüssen, mit der die Verwendung von Eis verbunden war, konnte im Jahre 1850 durch die Erfindung der ersten Eismaschine durch John Gorrie umgangen werden. Der Erfinder nutzte sie, um ein kühles Klima zur Behandlung Malariakranker zu schaffen (Grasset 1911).

Die lokale Kryotherapie wurde schon vor mehr als hundert Jahren in Deutschland zur Entzündungshemmung u.a. bei Appendizitis und später bei chronisch entzündlichen Gelenkerkrankungen empfohlen, wobei das Eis in verschiedenen Formen, z.B. als Eiskristalle im Handtuch, Eisbeutel, Eiswasser oder Kältepackungen, eingesetzt wurde (Fricke 1988). Ein weiterer Schritt in der Entwicklung der Kältetherapie wurde von Yamauchi aus dem Reiken Rheumatism Village in Oita, Südjapan, Ende der 70er Jahre vollzogen, der die durch Verdampfen von flüssigem Stickstoff ( $-196^{\circ}\text{C}$ ) erzeugte Kälte zwischen  $-160^{\circ}\text{C}$  bis  $-180^{\circ}\text{C}$  lokal an kranke Gelenke für 1-3 Minuten applizierte (Yamauchi 1979). Dabei wurde der in gasförmigen Zustand übergegangene Stickstoff durch Druckluft oder durch einen Wärmeaggregat entstandenen Expansionsdruck auf die Haut geblasen (Fricke 1984, Fricke 1988). Diese Kaltlufttherapie wurde 1982 von Fricke in Europa etabliert (Fricke 1984).

Yamauchi war es auch, der 1980 eine Kältekammer entwickelte, die eine systemische Kältetherapie bei einer Temperatur von  $-110^{\circ}\text{C}$  bis  $-180^{\circ}\text{C}$  unter Einsatz von flüssigem Stickstoff ermöglicht. Seitdem 1984 Fricke die Kältekammer in Europa eingeführt hat (Fricke 1989), ist diese Therapieform so positiv aufgenommen worden, dass bis zum jetzigen Zeitpunkt über 60 Kältekammern in Deutschland aufgestellt worden sind.

### 1.1.2. Anwendungsgebiete kryotherapeutischer Maßnahmen

Die lokale Kryotherapie wurde schon in den sechziger Jahren des letzten Jahrhunderts intensiv zur Behandlung von akuten und chronisch entzündlichen Gelenk- und Wirbelsäulenerkrankungen, degenerativen Gelenkerkrankungen, weichteilrheumatischen Erkrankungen, Kollagenosen und Autoimmunerkrankungen (Fricke 1989) genutzt.

Die positiven Effekte der Kryotherapie wurden auch in der Traumatologie vielseitig angewandt mit dem Ziel, die Ödembildung zu hemmen und Schmerzen zu lindern und somit die Bewegung und Mobilisation zu verbessern. Ferner können nach operativen Eingriffen, bei Verbrennungen, Entzündungen und muskuloskelettalen Erkrankungen die positiven Effekte der Kälteeinwirkung eingesetzt werden (Berliner et al. 1999, Kowal 1983).

Die Anwendung der Ganzkörperkältetherapie erstreckt sich ebenfalls über entzündliche und allergische Hauterkrankungen (Fialka 1994).

### 1.1.3. Wirkung der Kryotherapie

#### 1.1.3.1. Therapeutisch erwünschte Effekte lokaler Kryotherapie

Die lokale Kryotherapie zeigt unterschiedliche Effekte: Sie wirkt sowohl schmerzlindernd als auch ödemhemmend. Neben einer antiphlogistischen Wirkung ist ein muskeldetonisierender Effekt zu beobachten, so dass sie auch bei Spasmen eingesetzt wird (Berliner et al. 1999, Kowal 1983).

Schmidt (1986) differenziert die Wirkung der lokalen, länger dauernden Kälteapplikation in primäre, sekundäre und fernwirkende:

Primäre lokale Wirkung :
1. Abfall der Gewebetemperatur (auch in der Tiefe)
2. Stoffwechselverringerng und-verlangsamung
3. Arteriolenkonstriktion
4. Verminderte Zufuhr von Sauerstoff und Nährsubstraten

Sekundäre lokale Wirkung :
1. Ödemhemmung
2. Blutungshemmung
3. Entzündungshemmung
4. Verminderung der Lymphproduktion
5. Venöse Druckerhöhung
6. Analgesie, Anästhesie
7. Muskeldetonisierung durch
a. Dämpfung der Spindelaktivität
b. Dämpfung der $\gamma$ - Motoneuronenaktivität
c. Schmerzstillung
8. Verlängerung von Latenzzeit, Kontraktionszeit und Erschlaffungszeit der Muskulatur
9. Herabsetzung der Akkomodationsfähigkeit
10. Verringerung der Nervenleitgeschwindigkeit
11. Erhöhung der Viskosität von Gewebe und Synovia

Fernwirkungen:
1. Thermoregulatorische Gegenreaktionen
2. Konsensuelle Reaktion
3. Blutdruckerhöhung, evtl. Bradykardie
4. Kutiviszzerale Reaktionen?
5. Vertiefung und Intensivierung der Atmung
6. Habituation (Adaption)

**Tabelle 1.1.:** Wirkung der lokalen Kältetherapie  
(entnommen aus Schmidt 1986)

Fricke (1989) erklärt aufgrund dieser Kenntnisse über die kryotherapeutischen Wirkung, dass folgende Indikationen für kryotherapeutische Maßnahmen gegeben sind: Entzündung, Schmerzen, Ödeme, Spasmus und Muskeltonusniedrigung.

#### 1.1.3.2. Negative Effekte lokaler Kryotherapie

Zu den negativen Effekten der örtlichen Kälteapplikation zählen laut Schmidt eine Verminderung der Durchblutung, langanhaltende Kühlung der Muskulatur, Erhöhung der Synoviaviskosität und unter Umständen eine entzündungsverstärkende Wirkung (Schmidt 1986).

#### 1.1.3.3. Wirkungen der Ganzkörperkältetherapie (GKKT)

Die GKKT zeichnet sich wie die lokale Kryotherapie durch eine Schmerzlinderung aus, die sofort nach der GKKT eintritt und bis zu drei Stunden anhält ( Birwe et al. 1989, Metzger et al 2000, Samborski et al. 1992, Hollensteiner 2004). Durch die Schmerzreduktion verbessert sich die Gelenkfunktion und die Mobilisation wird erleichtert.

Die Ganzkörperabkühlung soll zudem einen positiven Einfluss auf die Stimmung haben: So sind nach der GKKT eine Stimmungsaufhellung, Erfrischung, Entspannung, Beruhigung und Euphorie beobachtet worden (Rymaszewska et al. 2000).

Wenn Cortisol zum Kreis der Stresshormone gezählt wird, scheint der Körper die kurzzeitige Kälteexposition bei extremer Temperatur nicht als eine Stress-Situation wahrzunehmen, denn in drei Studien konnte kein Anstieg des Cortisols nachgewiesen werden. Die Tabelle zeigt einen Überblick über die laborparametrischen Veränderungen nach der GKKT:

Stratz et al. 1991	Fricke L. et al. 1988	Zagobelny et al. 1993
Serotonin ↓	ACTH ↓	ACTH ↑
Cortisol ↓	Cortisol ↓	Cortisol →
Adrenalin ↑	Adrenalin →	Adrenalin ↑
Dopamin ↑	Noradrenalin ↑	Noradrenalin ↑

**Tabelle 1.2.:** Synopsis der unterschiedlichen Stressparameter nach GKKT

Bei Stress wird über die hypothalamisch-hypophysäre Achse die Freisetzung von Cortisol in der Nebennierenrinde aktiviert. Dabei stimuliert das aus dem Hypothalamus stammende Corticoliberin (CRF) die ACTH-Sezernierung aus Proopiomelanocortin (POMC)-haltigen Zellen in der Hypophyse, das wiederum in der Nebennierenrinde die Freisetzung von Cortisol und im geringen Maß auch die von Aldosteron aktiviert. Dabei wird die Freisetzung von ACTH durch ADH, Noradrenalin, Serotonin und Acetylcholin gefördert, dagegen durch Adrenalin, Dopamin und GABA gehemmt.

Das kardiovaskuläre System wird durch die GKKT nur geringfügig beeinflusst, denn es zeigen sich in den Parametern Blutdruck und Pulsfrequenz altersabhängige Anstiege nach der GKKT, die jedoch nicht signifikant sind (Taghawinejad et al. 1989).

Die sublinguale Temperatur fällt im Mittel um 0,38°C nach der GKKT ab, wobei die Temperatur weder mit der Körpergröße noch mit der Körperoberfläche korreliert. Eine Relation zwischen Anwendungsdauer und den sublingualen Temperaturveränderungen konnte ebenfalls nicht nachgewiesen werden (Taghawinejad et al. 1989).

Die GKKT führt zu Veränderungen hämatologischer Laborparameter: So lassen sich unmittelbar nach der GKKT signifikant höhere Thrombozytenzahlen nachweisen, auch die Leukozytenzahl steigt deutlich nach der Kälteeinwirkung an (Birwe et al. 1989).

#### 1.1.3.4. Nebenwirkungen der GKKT

Nebenwirkungen sind bei 7% der Patienten zu beobachten, häufig nur bei der ersten Behandlung. Einige Patienten weisen leichte Erfrierungen 1. Grades auf, die mit einem Sonnenbrand vergleichbar sind, sowie Kopfschmerzen, die meistens von Patienten mit einem zervikalen Syndrom angegeben werden. Die Schmerzintensität kann bei Patienten mit degenerativen Erkrankungen zunehmen. Ebenfalls können Atemnot begleitet von Beklemmungsgefühl, Kreislaufproblemen und Schwindel auftreten (Metzger et al. 2000).

#### 1.1.4. Kontraindikationen der GKKT

Patienten mit einer Kälteüberempfindlichkeit dürfen keiner Kältetherapie zugeführt werden. Die Überempfindlichkeit zeigt sich als Kältehämoglobinurie und Kälteallergie. Lokale allergische Reaktionen gehen mit Urtikaria, Schwellung und Rötung einher. Bei der generalisierten Form drohen Blutdruckabfall und Kollaps. Erhöhtes Risiko für allergische Reaktionen tragen Patienten mit Lues, Lupus erythematodes und Periarteriitis nodosa.

Patienten mit vaskulären Erkrankungen, wie einem Raynaudschen Phänomen, gangränösen Zuständen und peripheren arteriellen Durchblutungsstörungen, dürfen sich keiner Kältetherapie unterziehen wegen erhöhter Gefahr, Kältenekrosen an den Akren hervorzurufen.

Auch bei Nierenbeckenerkrankungen, Blasenentzündungen und Magengeschwüren sei die Kältetherapie kontraindiziert (Jordan 1977), was von Fricke (1989) bezweifelt wird. Desweiteren sprechen schwere kardiale Erkrankungen mit instabilem Bluthochdruck und Herzrhythmusstörung gegen eine Kältebehandlung (Berliner 1999). Ebenso muss bei Kältehämoglobinämie, Agammaglobulinämie, Kryofibrinogenämie, Immunsuppression und Schwangerschaft (Metzger et al. 2000) von einer Kälteanwendung Abstand genommen werden.

#### 1.1.5. Hypothesen zu Wirkmechanismen der lokalen Kryotherapie

Die unterschiedlichen Effekte der lokalen Kältetherapie können nicht durch eine einheitliche Hypothese erklärt werden, so dass eine Vielzahl von Erklärungsmodellen, dazu gehören vasoreaktive, enzymatische, neuromuskuläre, neuronale und mediatorvermittelte Ansätze, diskutiert werden, um die physiologischen Prozesse zu verdeutlichen.

##### 1.1.5.1. vasoreaktiv

Eine lokale Kälteeinwirkung verursacht eine konsensuelle Vasokonstriktion, die eine Reflexdilatation mit reaktiver Hyperämie nach sich zieht (Lewis 1930).

Durch die Vasokonstriktion bilden sich Hämatome langsamer aus und die interstitielle Infiltration wird in Grenzen gehalten, so dass Ödembildung und Stauung geringer ausfallen (Jordan 1977).

Die Vasokonstriktion und Reflexdilatation sind als körpereigene Schutzmechanismen zu verstehen: Die Vasokonstriktion und gesteigerte Muskelaktivität vermindern die Wärmeabgabe. Dagegen schützt die Reflexdilatation mit einhergehender Hyperämie die Haut und das Subkutangewebe vor Kältenekrosen (Jordan 1977).

### 1.1.5.2. enzymatisch

Die Knorpelmatrix besteht hauptsächlich aus Kollagenfasern, Proteoglykanen und Wasser. Bei rheumatischen Erkrankungen wird der Gelenkknorpel enzymatisch durch Elastasen und Kollagenasen destruiert.

Dabei ist die Aktivität der Enzyme von der Temperatur abhängig. Bei einer Temperatur im Kniegelenk von 36°C verläuft die Kollagenolyse viermal schneller ab als bei einer Temperatur um 33°C (Harris 1974). Die Knorpelerweichung durch Elastaseeinwirkung erfolgt in vitro bei 25°C, einer Temperatur, die auch im Kniegelenk zu erreichen ist, deutlich verlangsamt als bei 37°C (Menninger et al. 1980).

### 1.1.5.3. neuromuskulär

Die Kälte ruft eine reziproke Muskelwirkung hervor, d.h. während der ersten Minuten steigt die Willkürinnervation, während dagegen der Hypertonus von Muskeln sinkt. Dieser Widerspruch ist noch ungeklärt.

Durch eine kurzdauernde Kälteapplikation steigt die Muskelaktivität und in peripher gelegenen Muskelgruppen werden vermehrt Myoaktionspotentiale gebildet (Golenhofen 1970; Göpfert et al. 1952). Durch längere Kälteeinwirkung lockert sich die Muskulatur. Ellis (Ellis1961) vermutet, dass die Abkühlung der Muskelspindeln mit einhergehender verminderter  $\gamma$ -Motoneuronenaktivität und vermindertem Dehnreflex dafür verantwortlich sind. Die  $\gamma$ -Motoneurone sind für die tonische Aktivität der Muskulatur zuständig, indem sie die Empfindlichkeit der Muskelspindeln auf Längenbelastung und Widerstände erhöht. Über afferente Fasern wird bei Aktivierung der Muskelspindel und der  $\gamma$ -Motoneurone die Reizung auf die  $\alpha$ -Motoneurone weitergeleitet und aktiviert.

Über das  $\alpha$ -Motoneuronensystem werden die Willkürbewegungen vermittelt. Kälte aktiviert die  $\alpha$ -Motoneurone. Thermoregulatorisch ist dies sinnvoll, weil dadurch eine vermehrte Wärmeproduktion durch Muskelarbeit ermöglicht wird (Senn 1985).

#### 1.1.5.4. neuronal

Die örtliche Analgesie wird durch direkte Kälteeinwirkung auf Schmerzfasern erklärt, wodurch die Leitungsgeschwindigkeit im Axon und die Schmerzempfindlichkeit sinken sollen (Waylonis 1967, Samborski et al. 1992). Bei einer Studie mit Katzen waren myelinisierte Nervenfasern kälteempfindlicher als nichtmyelinisierte Nerven. Am meisten betroffen waren A- $\delta$  Fasern (Douglas et al. 1955).

Die A- $\delta$  Fasern scheinen eine wichtige Rolle bei der neuronalen Vermittlung der Analgesie zu spielen, denn alle Kälterezeptoren in der menschlichen Haut werden von A- $\delta$  Fasern innerviert (Senn 1985). Sie wirken quantitativ hemmend und quantitativ modulierend auf Transmission innerhalb des C-Faser-Schmerzsystems. Durch Kälteaktivierung der A- $\delta$  Fasern oder durch Reizung der Kryorezeptoren werden die Nozizeptoren zentral gehemmt (Willis 1985), denn bei Überaktivität der Kälterezeptoren in der Haut wird die Schmerzafferenz kompetitiv blockiert (Ellis et al. 1977). Eine verlängerte Refraktärzeit der dünnen, nicht von Myelinscheiden geschützten Nervenfasern verursacht zusätzlich eine Teilblockierung des C-Faser-Systems (Senn 1985).

Katecholamine, die sensibilisierend auf Schmerzrezeptoren wirken, werden bei erniedrigter Temperatur vermindert von Nervenendigungen vegetativer Fasern freigesetzt (Senn 1985).

Bei Schmerzunterdrückung spielen Verbindungen zwischen Nozizeptoren der Haut und der Gelenkbindegewebe (Scheible 1986), der Muskelspindeln sowie Sehnenansätze (Mense 1978) eine wichtige Rolle.

#### 1.1.5.5. mediatorvermittelt

Durch die Kälteeinwirkung werden Schmerzmediatoren, dazu gehört u.a. Substanz P, vermindert freigesetzt (Häbler et al. 1986; Ernst et al. 1994, Vaeroy 1988) und der Entzündungsstoffwechsel verringert sich (Senn 1985).

Nach Entdeckung der Endorphine ist die These einer Endorphin-vermittelten Analgesie aufgekommen (Palastanga et al. 1988). Daher ist es von besonderem Interesse die Rolle von Endorphinen bei der GKKT zu untersuchen.

## 1.2. GKKT und $\beta$ -Endorphin

### 1.2.1. Analgetische Wirksamkeit der GKKT

Diese Therapieform zeichnet sich, wie bereits oben erwähnt, durch eine sofort nach der Behandlung eintretende kurzfristige Schmerzlinderung aus. In vier Studien wurde die analgesierende Wirkung belegt.

Birwe et al. (1989) untersuchten 47 Patienten bei  $-110^{\circ}\text{C}$ , von denen 35 (73%) sofort nach der GKKT eine Schmerzlinderung angaben. Bei 26 von 46 Patienten (56%) hielt die Schmerzlinderung noch nach drei Stunden an.

Samborski et al. (1992) untersuchten die Schmerzempfindlichkeit bei  $-150^{\circ}\text{C}$  an Patienten mit generalisierter Tendomyopathie vor der GKKT, unmittelbar im Anschluss und nach 30 Minuten, 60 Minuten und 120 Minuten. Das Schmerzempfinden wurde mit Hilfe einer visuellen Analogskala und eines Schmerzscore gemessen. Zusätzlich erfolgte eine dolorimetrische Bestimmung der Druckempfindlichkeit an 24 Schmerzpunkten und 8 Kontrollpunkten. Zu allen Zeitpunkten und bei allen Zielgrößen war eine hochsignifikante Verbesserung gegenüber den Ausgangswerten zu erkennen.

Hollensteiner (2003) führte bei 41 Patienten mit unterschiedlichen Gelenkerkrankungen sowie Gelenkoperationen eine druckalgometrische Messung nach einer GKKT von 3 Minuten mit  $-110^{\circ}\text{C}$  zu drei Zeitpunkten, sofort nach GKKT, nach 10 und 20 Minuten, durch, wobei ein signifikanter Anstieg des Mittelwertes der Druckschmerzschwelle nachweisbar war. Dabei fiel eine höhere Anhebung der Druckschmerzschwelle bei Frauen auf. Der maximale Anstieg der Druckschmerzschwelle sank nach 20 Minuten ab, blieb aber noch über dem Ausgangsniveau.

Metzger et al. (2000) beobachteten die Schmerzdynamik mit Hilfe einer numerischen Ratingskala bei 120 Patienten in einem Zeitraum von vier Wochen bei täglich zweimal durchgeführter GKKT mit einer Durchschnittstemperatur von  $-105^{\circ}\text{C}$ . Nach jeder Kälteanwendung trat eine hochsignifikante Schmerzlinderung ein, wobei die Schmerzintensität um  $2/3$  des Ausgangswertes abnahm. Das Ausmaß der Schmerzabnahme blieb während der vierwöchigen Behandlung konstant. Die Schmerzlinderung hielt im Durchschnitt 1,5 Stunden an und überdauerte die Wiedererwärmungsphase.

### 1.2.2. Mechanismus der analgetischen Wirksamkeit der GKKT

Die Mechanismen, die zur Schmerzlinderung nach einer Ganzkörperkältetherapie führen, sind zur Zeit noch nicht vollends geklärt. Es werden zahlreiche Hypothesen mit vasoreaktiven, muskuloneuronalen und mediatorvermittelten Ansätzen diskutiert, wie bereits im Abschnitt 1.1.5. erläutert.

Zagobelnj et al. (1992, 1993) führen die analgesierende Wirkung der GKKT auf einen Anstieg des  $\beta$ -ED IRM Plasmaspiegels nach der Therapie zurück.

Diese Arbeitsgruppe konnte bei 63 Patienten mit rheumatoider Arthritis, die einmal täglich über einen Zeitraum von zwei Wochen mit GKKT bei  $-110^{\circ}\text{C}$  behandelt wurden, nach 7 und 14 Tagen einen Anstieg von  $\beta$ -Endorphin IRM, ACTH und Cortisol nachweisen.

Auch bei 18 gesunden Frauen und 16 gesunden Männern im Alter zwischen 20 und 22 Jahren war nach einer einmaligen GKKT bei  $-110^{\circ}\text{C}$  für zwei Minuten ein Anstieg von  $\beta$ -Endorphin IRM (bei Frauen in pg/ml: 20,4  $\pm$  2,4 auf 29,7  $\pm$  3,9 und bei Männern in pg/ml: 20,6  $\pm$  4,3 auf 28,2  $\pm$  4,9) ACTH, Adrenalin und Noradrenalin messbar. Die Hormonspiegel wurden in beiden Studien direkt vor der GKKT und 30 Minuten danach gemessen.

Dagegen berichtete Stratz et al. (1991) über einen deutlichen Abfall des  $\beta$ -ED IRM im Plasma bei vier gesunden Probanden, zwei Frauen und zwei Männern, nach einer GKKT bei  $-150^{\circ}\text{C}$ . Das Hormon wurde 15 Minuten und 5 Minuten vor der GKKT, sofort danach und bis 105 Minuten nach der GKKT in 15 minütigen Abständen gemessen. Zwischen den zwei Zeitpunkten vor der GKKT stieg das  $\beta$ -ED IRM im Mittel um 3,79 pg/ml an. Nach der GKKT nahm die  $\beta$ -ED IRM Konzentration durchschnittlich um 26,58 % während der 105 minütigen Messphase ab.

## 1.3. $\beta$ -Endorphin

### 1.3.1. Überblick über die Nomenklatur der Opiode

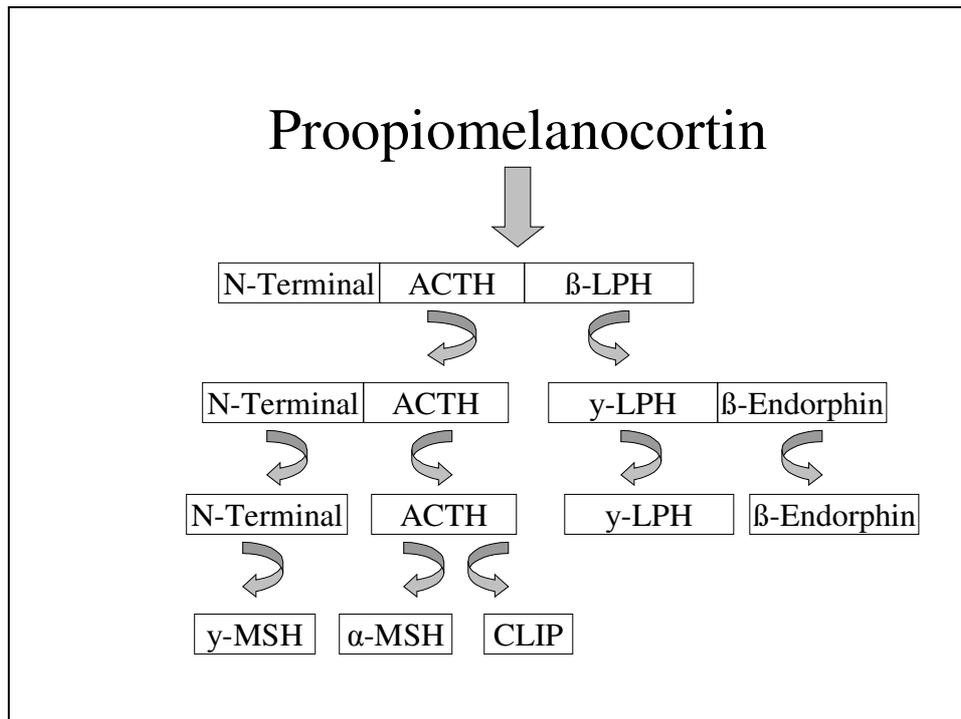
Die Opiode werden einerseits aufgeteilt in Opiate mit alkaloider Struktur und Opioidpeptide mit peptiderger Struktur. Das  $\beta$ -Endorphin gehört zur Gruppe der Opioidpeptide.

Es gibt drei Vorläufermoleküle für Opioidpeptide: Das Prä-Proenkephalin, von dem die Enkephaline abstammen, das Prä-Prodynorphin, aus dem sich die Dynorphine abspalten, und schließlich das Prä-Proopiomelanocortin (POMC). Zu den Abkömmlingen des POMC gehört u.a. das  $\beta$ -Endorphin (Simon and Hiller 1993, Young et al. 1993).

### 1.3.2. POMC: Das Vorstufenmolekül des $\beta$ -Endorphins

#### 1.3.2.1. Abkömmlinge des POMC

Nachdem 1973 Opiatrezeptoren im Nervengewebe von Wirbeltieren gefunden wurden (Pert et al. 1973), wurde 1977 das Proopiomelanocortin (POMC) entdeckt, das ein 31 KD großes Vorstufenmolekül für zahlreiche Hormone darstellt. In der Hypophyse wird das POMC exprimiert und weiter prozessiert, wofür zwei verschiedene Enzymsysteme, einerseits das kortikotrophe, andererseits das melanotrophe zur Verfügung stehen. In den corticotropen Zellen werden ACTH (Adrenocorticotropes Hormon) und  $\beta$ -LPH (Lipotropin) gebildet.  $\beta$ -LPH wird wiederum zu  $\beta$ -Endorphin und zu  $\gamma$ -LPH gespalten. Das melanotrophe System produziert die gleichen POMC-Fragmente, jedoch werden sie durch weitere Enzyme in kleinere Untereinheiten fragmentiert und schließlich C-terminal amidiert oder N-terminal acetyliert, wodurch u.a.  $\alpha$ -,  $\beta$ - und  $\gamma$ -MSH (Melanozytenstimulierendes Hormon), CLIP (corticotropin-like intermediate lobe-peptide) und N-acetyl- $\beta$ -Endorphin Fragmente entstehen (Teschmacher 2003). Obwohl beide Enzymsysteme in der Hypophyse nebeneinander bestehen, werden sie unterschiedlich reguliert (Evans et al. 1994).



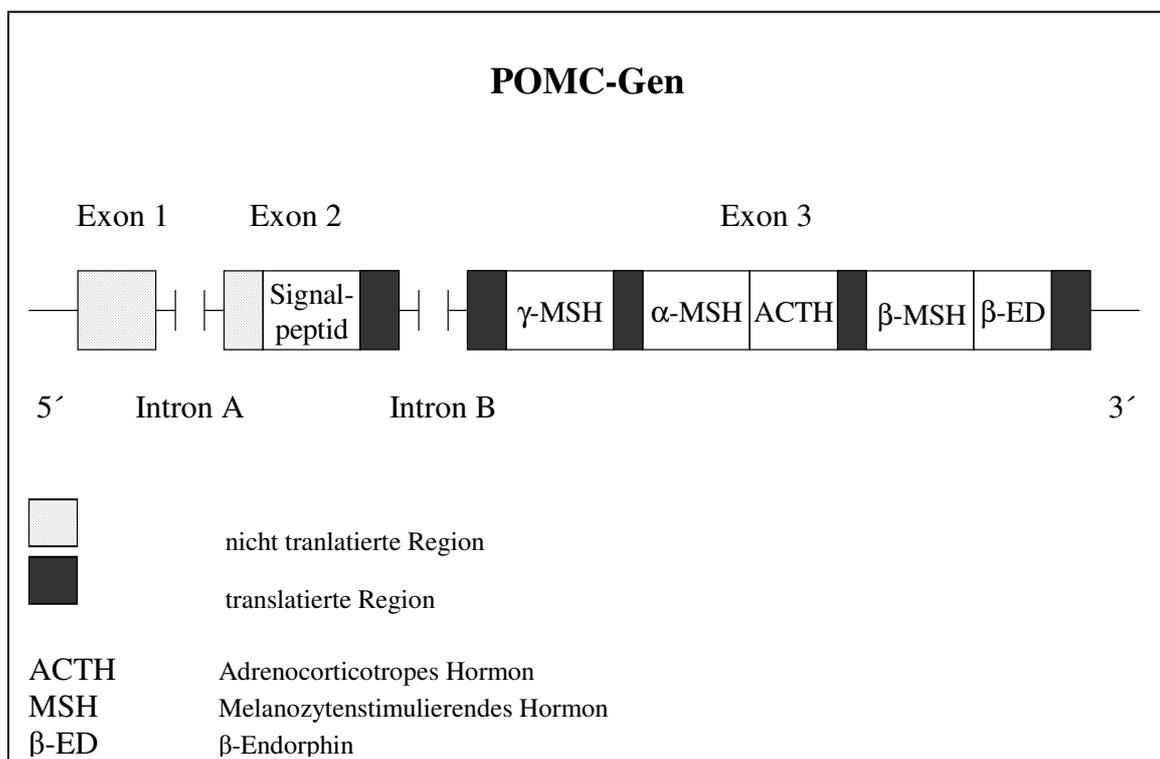
**Abb 1.1.:** Entstehung des  $\beta$ -Endorphins, Corticotropins und anderer Peptide aus dem Proopiomelanocortin (nach Frederickson et al. 1982)

Die vom POMC abstammenden biologisch aktiven Peptide nehmen unterschiedliche Funktionen wahr. Während ACTH die Nebennierenrindenfunktion reguliert, beeinflusst das  $\alpha$ -MSH die Pigmentation und das Körpergewicht,  $\gamma$ -MSH übt wahrscheinlich eine Kontrolle über das zentrale kardiovaskuläre System aus. Die Funktion des  $\beta$ -MSH ist noch nicht geklärt.  $\beta$ -Endorphin (1-31) nimmt, wie es u.a. in zahlreichen Tierversuchen belegt werden konnte, eine zentrale Rolle in der Schmerzwahrnehmung und -verarbeitung ein.

Ein Beleg für die Funktionen der POMC-Fragmente liefert u.a. die erste entdeckte Mutation im humanen POMC-Gen bei zwei Kindern, die durch eine Nebenniereninsuffizienz, phänotypisch durch eine Adipositas per magna, rote Haare und Hautblässe auffielen. Bei ihnen konnte ein isoliertes Fehlen von ACTH und  $\alpha$ -MSH festgestellt werden. Bei den Kindern mit dem POMC-Defizienz-Syndrom zeigten sich bis auf die oben erwähnten Merkmale keine weiteren schwerwiegende Veränderungen (Krude et al. 2000).

### 1.3.2.2. Struktur des POMC-Gens

Das POMC-Transkript, dessen Hauptexpressionsort die Hypophyse ist (Teschemacher 1987), umfasst 1.200 Nukleotide. Das Protein selbst besteht aus 267 Aminosäuren. Das POMC-Gen ist aus drei Exons aufgebaut, die von zwei Introns getrennt werden. Das erste Exon setzt sich aus ca. 100 Nukleotiden zusammen und enthält den 5'-untranslationierten Abschnitt der POMC mRNA. Das zweite Exon besteht aus ca. 150 Nukleotiden und kodiert Signalpeptide sowie die ersten 18 Aminosäuren des POMC. Das dritte Exon enthält die restlichen Informationen des POMC mit den Sequenzen für die biologisch aktiven Peptide:  $\beta$ -Endorphin, MSH, und ACTH (van Woudenberg et al. 1992, Debold et al. 1988)



**Abb 1.2.:** Struktur des POMC-Gens

(nach Krude et al. 2000, van Woudenberg et al. 1992, Oates et al. 1988)

Am C-Terminus des POMC wird posttranslational  $\beta$ -Endorphin (1-31) abgespalten. In vitro sind folgende Fragmente vorzufinden: (1-27), (1-26), (1-17) und (1-16). Alle Fragmente können am N-terminalen Ende acetyliert sein.

#### 1.3.2.3. Regulation des POMC

Die Transskription des POMC-Gens untersteht im Hypophysenvorderlappen einer negativen Rückkopplung durch adrenale Steroide, wodurch die Biosynthese durch Glukokortikoide inhibiert wird. Dagegen wirkt sich CRH positiv auf den POMC-mRNA Spiegel aus.

Ebenfalls positiv verstärkend wirkt Vasopressin, indem es vermehrt POMC-Peptide aus dem Hypophysenvorderlappen freisetzt und den Sekretionseffekt von CRH auf den Menschen potenziert. Es hat aber keine direkte Wirkung auf die POMC-Biosynthese (Höllt 1993).

#### 1.3.3. Lokalisation des $\beta$ -Endorphins

Das  $\beta$ -Endorphin ist zuerst im Jahre 1976 aus menschlicher Hypophyse isoliert worden (Li et al. 1976), die die wichtigste Quelle darstellt. In niederen Spezies wird das Hormon vermehrt im Intermediärlappen, weniger im Hypophysenvorderlappen, gebildet. Im Hypophysenvorderlappen sind hauptsächlich ACTH und  $\beta$ -LPH kolokalisiert, während im Intermediärlappen  $\beta$ -Endorphin und  $\alpha$ -MSH überwiegen (Frederickson et al. 1982). Menschen hingegen verfügen nicht mehr über einen Zwischenlappen. Das POMC wird bei ihnen im Vorderlappen der Hypophyse exprimiert. Gehirnzellen produzieren eigenes  $\beta$ -Endorphin in Neuronen am basalen Hypothalamus

Auch im peripheren Gewebe kann  $\beta$ -Endorphin nachgewiesen werden: so in der humanen Plazenta, im Pankreas, im Gastrointestinaltrakt, in der Schilddrüse, in

Mastzellen und im Plasma. Eine andere periphere Quelle des  $\beta$ -Endorphins ist das Immunsystem, dabei insbesondere die Lymphozyten (Harbour et al. 1987).

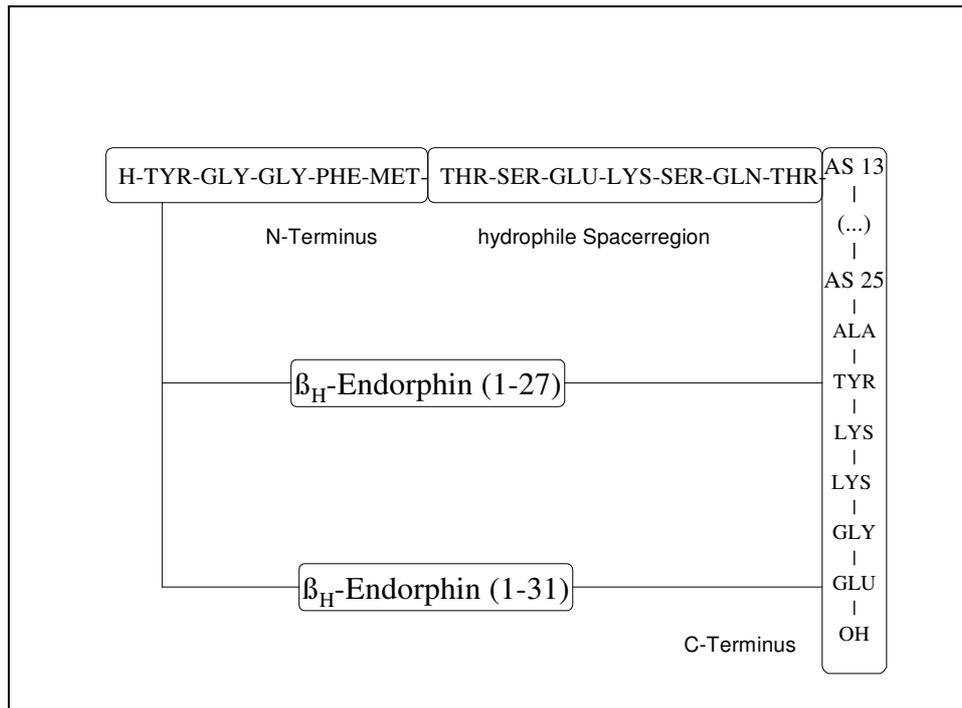
#### 1.3.4. Sekretion des $\beta$ -Endorphins

ACTH,  $\beta$ -LPH und  $\beta$ -Endorphin werden aus dem Hypophysenvorderlappen kosezerniert. Die Sekretion wird durch Dopamin- und Dopaminagonisten inhibiert. Im Gehirn wird die  $\beta$ -Endorphinkonzentration nicht von Steroidhormonen und Stress beeinflusst. Chronische  $\beta$ -Endorphin Exposition senkt die Konzentration des Hormons in der Hypophyse und im Gehirn. Die Opioidpeptide sowohl im Plasma als auch im Liquor unterliegen einem Tagesrhythmus, wobei früh morgens der Maximalwert zu messen ist und am späten Nachmittag der niedrigste Wert erreicht wird (Barreca et al. 1986)

Der Plasmaspiegel des  $\beta$ -Endorphins steigt unter verschiedenen Bedingungen: z.B. bei Stress, nach Traumen, während Wehen und Entbindung, nach Adrenalectomie, beim M. Addison, M. Cushing und Nelson- Syndrom. Nach Dexamethasongabe oder nach Hypophysektomie sinkt  $\beta$ -Endorphin im Plasma (Frederickson et al. 1982).

#### 1.3.5. Struktur des $\beta$ -Endorphins

Das  $\beta$ -Endorphin kann in drei Untereinheiten aufgeteilt werden: Der erste Bereich, bestehend aus dem N-Terminus mit der Aminosäuresequenz Tyr-Gly-Gly-Phe, bildet eine spezifische Erkennungsstelle für die Verbindung mit Opiatrezeptoren, der zweite Abschnitt wird von einer hydrophilen Spacerregion gebildet und der dritte Teil ist eine 16 Aminosäuren umfassende Sequenz (Kaiser et al.1984, Taylor et al.1986).



**Abb 1.3.** : Aminosäuresequenz und funktionelle Bereiche des humanen  $\beta$ -Endorphins (nach Teschemacher 1987, Tayler et al. 1986)

Die chemotaktischen Funktionen des  $\beta$ -Endorphins werden über seine beiden Enden, das N- und das C-terminale Ende, vermittelt. Wie bereits erwähnt ist das N-terminale Ende für die Verbindung mit Opioidrezeptoren verantwortlich, so dass nur durch ihn vermittelte Opioideffekte mit Naloxon reversibel sind. Mit dem C-terminalen Ende bindet das  $\beta$ -Endorphin an Non-Opioidrezeptoren des Immunsystems (Teschemacher 1987, Sacerdote et al. 1989).

### 1.3.6. Das N-acetyl- $\beta$ -Endorphin (NAC)

$\beta$ -Endorphin (1-31) und alle seine Fragmente können am N-terminalen Ende acetyliert sein.

Das NAC entsteht posttranslational aus  $\beta$ -Endorphin. Im Gegensatz zu  $\beta$ -Endorphin hat es selbst keine analgetischen Eigenschaften (Facchinetti et al. 1992).

Das NAC ist ebenfalls in der humanen Hypophyse lokalisiert (Evans et al. 1994). In den Zellen des Vorderlappens liegt es in einem ähnlichen Verhältnis wie CRH und  $\alpha$ -MSH vor. Es konnte auch außerhalb des Gehirns in verschiedenen Geweben nachgewiesen werden (Deakin et al. 1980).

### 1.3.7. Wirkung des $\beta$ -Endorphins

Die physiologische Funktion des  $\beta$ -Endorphins ist noch nicht vollends aufgeklärt. Der Mediator scheint in zahlreichen physiologischen Prozessen involviert zu sein, wie Schmerzwahrnehmung, Stressantwort, Gehirnalterung, Verhalten im Hinblick auf Emotionen, Essen und psychiatrischen Erkrankungen. Es liegen ferner Hinweise vor, dass es bei immunologischen Prozessen und in der Thermoregulation mitbeteiligt ist (Dalayeun et al. 1993).

Nach Hypophysektomie ist  $\beta$ -Endorphin nicht nachweisbar. Jedoch besteht keine Notwendigkeit zur  $\beta$ -Endorphin Substitution, so dass die primäre Funktion modulierbar zu sein scheint. Die physiologische Wirkung des  $\beta$ -Endorphins muss in Abhängigkeit von seiner Struktur betrachtet werden, da  $\beta$ -Endorphin (1-26) und N-acetylierte Fragmente weder agonistische noch antagonistische Opioidwirkungen haben (Akil et al. 1981, Hirsch et al. 1991).

Loh und Oyama betrachten  $\beta$ -Endorphin (1-31) als die am stärksten analgetisch wirkende natürliche Substanz (Oyama et al. 1980, Loh et al. 1976), wobei nur  $\beta$ -Endorphin (1-31) von allen  $\beta$ -Endorphin Derivaten eine analgetische Wirkung besitzt. Bei Versuchen mit transgenen Mäusen und einem Defizit an  $\beta$ -Endorphin konnte diese These durch den fehlenden Einfluss des  $\beta$ -Endorphins bei der stressabhängigen Analgesie unterstützt werden (Rubinstein et al. 1996). Bei einem Rattenversuch wurde aufgezeigt, dass das aus corticotrophen Zellen der Hypophyse sezernierte  $\beta$ -Endorphin analgetisch wirkt (Hargreaves et al. 1990).

Es ist denkbar, dass eine lokale Konzentrationsänderung für die zentrale Analgesie verantwortlich ist. Im hypophysären portalen Blut ist die  $\beta$ -Endorphin Konzentration um das 100- bis 200-fache höher als im peripheren Blut. Möglicherweise fließt nach der  $\beta$ -Endorphin Freisetzung aus der Hypophyse das Blut retrograd zum Hypothalamus, wo durch Aktivierung bestimmter hypothalamischer Gebiete eine Antinozizeption ausgelöst wird (Hargreaves et al. 1990).

$\beta$ -Endorphin wirkt auch als Mediator im Rückenmark auf zweierlei Weise. Es inhibiert serotoninerg spinale Neurone, die durch schädliche Stimuli aktiviert werden, und beeinflusst eine noradrenerge dorsolateral liegende Schmerzbahn im Rückenmark (Dalayeun et al. 1993).

Bei systemischer Gabe von Opiaten bei Tieren werden vermindert polysynaptische Vorderwurzelreflexe ausgelöst. Die Aktivität der Hinterhornwurzel wird durch die Aktivität der A- $\delta$ - und C-Fasern vermindert, ebenso die neuronale Antwort auf verschiedene somatische und viszerale Schmerzstimuli (Yaksh 1987).

Der Plasmaspiegel des  $\beta$ -Endorphins scheint dagegen keine Funktion widerzuspiegeln, da die Konzentration zu niedrig ist, um eine Rolle bei der zentralen Schmerzperzeption anzunehmen (Frederickson et al. 1982). Die analgetische Wirksamkeit des im Plasma befindlichen  $\beta$ -Endorphins wird, wie bereits erwähnt, bezweifelt.

Eine mögliche Rolle ist die Modulation der adrenalen Stressantwort durch Kontrolle der Cortisolfreisetzung nach ACTH Stimulation. Bis jetzt gibt es aber noch keine stützenden Beweise (McLoughlin et al. 1993).

Auch außerhalb des ZNS werden Opioidrezeptoren aktiviert, wodurch eine Antinozizeption verursacht wird.

Es bestand die Hypothese, dass das im Stress freigesetzte  $\beta$ -Endorphin periphere Opioidrezeptoren aktiviert und so die lokalen antinozizeptiven Effekte hervorruft. Diese These ist verworfen worden, weil systemisch verabreichtes  $\beta$ -Endorphin nicht die gleiche Wirkung zeigt. Es wird vermutet, dass das  $\beta$ -Endorphin peripher produziert wird (Stein et al. 1993). Quelle dieses Hormons sind immunkompetente Zellen, insbesondere Lymphozyten, die im entzündeten Gewebe  $\beta$ -Endorphin freisetzen

(Harbour et al. 1987). Es lagert sich an Opioidrezeptoren an, die sich an peripheren sensorischen Nerven befinden ( Cabot 2001).

So konnten  $\beta$ -Endorphin und intraartikuläre Opioidrezeptoren in der Synovia entzündeter Kniegelenke nachgewiesen werden. Durch Blockade der Rezeptoren mit Naloxon, einem  $\beta$ -Endorphin Antagonisten, stieg der Schmerzscore an (Stein et al. 1993).

Im zirkulierenden Blut wirkt  $\beta$ -Endorphin schmerzlindernd durch Hemmung elektrischer Antwort ausgehend von sensorisch motorischen Fasern (Dalayeun et al. 1993).

#### 1.3.8. Analgetische Wirksamkeit des im Plasma gefundenen $\beta$ -Endorphins

Die Vermutung, dass das im Plasma gefundene  $\beta$ -Endorphin eine analgetische Wirksamkeit besitzt, wird kontrovers diskutiert.

Es gibt zahlreiche Befunde, die für eine analgetische Wirkung sprechen: u.a. beobachteten Hargreaves et al. (1987) eine Schmerzzunahme bei 48 Patienten nach einer Zahnextraktion im Vergleich zu einer Kontrollgruppe, nachdem die Freisetzung des  $\beta$ -Endorphins aus der Hypophyse durch Dexamethason supprimiert wurde. Nach Antagonisierung der  $\beta$ -Endorphin-Wirkung mit Naloxon bei einem ähnlichen Patientenkollektiv nahmen die intraoperative  $\beta$ -Endorphinkonzentration und die Schmerzintensität zu (Hargreaves et al. 1986).

Jedoch bestehen Zweifel, dass ein kausaler Zusammenhang zwischen einem Anstieg des  $\beta$ -Endorphinplasmaspiegels und der Aktivität eines morphin-ähnlichen Schmerzunterdrückungssystems besteht.

Willer et al. (1984) untersuchten bei Frauen die Schmerzschwelle anhand eines schmerzkorrelierten Knie-Flexor-Muskel-Reflexes. Bei zwei Frauen mit einem Nelson-Syndrom und ektopischem ACTH/LPH-Syndrom lag der  $\beta$ -Endorphin Spiegel 300 bis 600 mal über dem Normalwert (20-80 pg/ml). Jedoch wiesen beide Probandinnen eine

normale Schmerzempfindung mit normaler Schmerzreflexschwelle auf, was durch eine i.v. Naloxonapplikation nicht beeinflusst wurde.

In einer anderen Studie konnte nach Induktion eines Wärmeschmerzes und intravenöser Corticotropin Releasing Hormon (CRH) Applikation keine Veränderung der Schmerzintensität festgestellt werden, obwohl CRH die Freisetzung des  $\beta$ -Endorphins aus der Hypophyse triggert (Lautenbacher et al. 1999).

Auch die intravenöse Infusion des  $\beta$ -Endorphins während einer Operation, die die Konzentration des  $\beta$ -Endorphins um das 100-fache der Basalkonzentration ansteigen ließ, zeigte keinen Einfluss auf das Schmerzempfinden nach der Operation im Vergleich zu einer Kontrollgruppe (Lacoumenta et al. 1987).

Anhand dieser Befunde ist eine schmerzhemmende Wirkung des  $\beta$ -Endorphins im Plasma in Zweifel zu ziehen.

### 1.3.9. $\beta$ -Endorphin und Thermoregulation

Einige an der Thermoregulation beteiligten Peptide sind bekannt, u.a. gehören dazu  $\beta$ -Endorphin, Bombesin,  $\alpha$ -MSH und Neurotensin (Jehuda et al. 1980). Es wurden schon zahlreiche Tierversuche bei Raumtemperatur von 20°C bis 24°C durchgeführt, in denen  $\beta$ -Endorphin in verschiedenen Dosen direkt in das Gehirn appliziert wurde. Dabei soll  $\beta$ -Endorphin eine Hypothermie oder einen biphasischen Effekt mit einer anfänglichen Hypothermie und anschließender Hyperthermie verursachen (Blasig et al. 1979, Clark 1979, Holaday et al. 1978). Dagegen zeigen Ratten nach peripherer Gabe von  $\beta$ -Endorphin bei einer Temperatur von 4 °C einen dosisabhängigen Effekt: 0,1 mg/kg KG bewirken einen biphasischen Effekt, bei 1,0 mg/kg KG ist eine Hypothermie zu beobachten und nach Verabreichung von 3 mg/kg KG ist keine Temperaturschwankung nachweisbar (Yehuda et al. 1980). Auch in Studien mit Menschen, die verschiedenen Temperaturen und Versuchsbedingungen ausgesetzt waren, ist der Plasmaspiegel des  $\beta$ -Endorphins bestimmt worden: Gerra et al. (1992) stellten nach einer 30 minütigen

Kälteexposition von 4°C eine geschlechtsabhängige Reaktion des  $\beta$ -Endorphins fest. Bei Frauen stieg der  $\beta$ -Endorphin Plasmaspiegel signifikant an, während bei Männern nur ein mäßiger Anstieg zu beobachten war. Dieses unterschiedliche Verhalten wird mit einer besseren Kälteadaptation des Mannes erklärt. In einer anderen Studie wurde der  $\beta$ -Endorphin Plasmaspiegel bei gesunden Männern, die zwei Stunden lang bis zum ersten Brustwirbel im Kaltwasserbad (bei 18°C, 22°C und 26°C) standen, gemessen. Der  $\beta$ -Endorphin Plasmaspiegel stieg während des Zeitraumes von 25 Minuten vor dem Versuch bis nach Ablauf der ersten Stunde an. Jedoch war dieser Prozess in der zweiten Stunde nicht progredient, so dass das  $\beta$ -Endorphin nicht proportional zum Temperaturverlust anstieg (Glickman Weiss et al. 1993). In einem thermoneutralen Wasserbad ist bei gesunden Männern dagegen ein Abfall des  $\beta$ -Endorphin Plasmaspiegels beobachtet worden. Dieses Ergebnis ist konsistent mit dem Abfall des ACTH. Daraus wird geschlossen, dass diese Form des Wasserbades, das auch in der Rehabilitation seine Anwendung findet, keinen Stress für den Organismus darstellt (Digiesi et al. 1986).

#### 1.3.10. $\beta$ -Endorphin bei rheumatischen Erkrankungen

Der  $\beta$ -Endorphin Plasmaspiegel liegt bei Patienten mit rheumatischen Gelenkerkrankungen, wie z.B. rheumatoider Arthritis, systemischen Lupus erythematodes und Spondylitis ankylosans, im Vergleich zu gesunden Probanden niedriger (Kangilaski 1981). Dies könnte eine mögliche Erklärung für die chronischen Schmerzen bei diesen Patienten sein. Der Plasma  $\beta$ -Endorphinspiegel korreliert negativ mit der Dauer und Aktivität der rheumatoiden Arthritis: je schwerer die Erkrankung, desto geringer die Plasmakonzentration (Elbeialy et al. 1997).

Dagegen lassen sich im synovialen Gewebe rheumatoider Arthritis-Patienten höhere  $\beta$ -Endorphinspiegel als im Plasma finden, was durch eine lokale Produktion des  $\beta$ -Endorphins erklärt werden könnte (Suzuki et al. 1992).

## 1.4. Fragestellung

### 1.4.1. Bisher durchgeführte Versuche zur Bestimmung des $\beta$ -ED IRM nach der GKKT

Autor	Quelle	Probanden	Messzeitpunkte	Ergebnis
Zagobelny et al.	Pol. Arch.Med. Wewn. 1992,87,34-40	63 Patienten mit rheumatoider Arthritis	vor GKKT, 30 min nach GKKT bei $-110$ bis $-160\text{C}^\circ$	Zunahme des $\beta$ -ED IRM um 140%
Zagobelny et al.	Polski Tygodnik Lekarski 1993.TXLVIII. Nr.14-15	32 gesunde Probanden (18 w / 16 m) im Alter von 20-22	vor GKKT, 30 min nach GKKT bei $-110\text{C}^\circ$	Frauen: Zunahme des $\beta$ -ED IRM um 145% Männer: Zunahme um 136%
Stratz et al.	In: Müller W (Hrsg) (1991) Generalisierte Tendomyopathie, Steinkopf, Darmstadt, 317-323	4 gesunde Probanden (2m / 2w)	15 und 5 min vor GKKT, danach alle 15min bis 105 min nach GKKT bei $-150\text{C}^\circ$	Abnahme des $\beta$ -ED IRM –Spiegels um 31,66%

**Tabelle 1.3.:** Literaturübersicht über Vorläuferstudien

Zagobelny et al. (1993) haben  $\beta$ -Endorphin bei gesunden Probanden, 18 Frauen und 16 Männern, zu zwei Zeitpunkten, direkt vor der GKKT und 30 Minuten danach, bestimmt und einen Anstieg nachgewiesen. Die Schmerzlinderung tritt sofort nach der GKKT ein, so dass die  $\beta$ -Endorphinkonzentration direkt nach der GKKT im Vergleich zu dem Basalwert vor der GKKT von besonderem Interesse ist. Ein verzögerter, nach 30 Minuten einsetzender  $\beta$ -Endorphinanstieg könnte die schnell eintretende Analgesierung nicht erklären.

Die Messdaten werden nur in Form von Mittelwert und Standardabweichung für die jeweiligen Zeitpunkte für Frauen und Männer angegeben. Es werden keine statistischen Tests durchgeführt, um die Signifikanz der Daten zu prüfen. Der Mittelwert der Differenz beider Messwerte fehlt. Möglicherweise ist die Differenz beider Messwerte nicht so groß wie die Mittelwerte sie erscheinen lassen.

Im Gegensatz zu Zagobelny et al. haben Stratz et al. ein Zeitprofil der Konzentration des  $\beta$ -Endorphin IRM erstellt (s.o.) und einen Abfall des Hormons während der 105-

minütigen Messphase nach der GKKT ermittelt. Die ersten Messungen wurden 15 Minuten und 5 Minuten vor der GKKT durchgeführt. Vor der GKKT wird ein leichter Anstieg des  $\beta$ -Endorphin IRM beobachtet. Aus dem Artikel geht nicht hervor, ob die Probanden eine Ruhephase vor der ersten Blutabnahme und vor der GKKT eingehalten haben. Möglicherweise ist der ermittelte Abfall des  $\beta$ -ED IRM auf einen durch Stress bei der Anfahrt oder Angst vor der GKKT induzierten zu hohen Basalwert zurückzuführen. Verschiedene Stressfaktoren können den  $\beta$ -Endorphin Spiegel im Plasma steigern (Frederickson et al. 1982). Das stetige Absinken des  $\beta$ -ED IRM nach der GKKT könnte dann nicht unmittelbar auf den Einfluss der GKKT zurückzuführen sein, sondern könnte als das Abfluten eines durch Stress bedingten zu hohen  $\beta$ -ED IRM Spiegels nach Beendigung einer Stress-Situation verstanden werden. Das untersuchte Probandenkollektiv bestehend aus zwei gesunden Frauen und zwei gesunden Männern ist zu klein, um eine statistische Aussage treffen zu können.

#### 1.4.2. Methodik zur Bestimmung des $\beta$ -ED IRM

Das  $\beta$ -Endorphin ist mit Hilfe von radiometrischen Assay-Kits (Du pont und Upjohn bei Zagrobelny, Stratz macht dazu keine näheren Angaben) bestimmt worden. Diese RIAs messen neben  $\beta$ -Endorphin (1-31) auch  $\beta$ -Endorphin-Derivate und  $\beta$ -Lipotropin aufgrund ihrer strukturellen Ähnlichkeiten. Das  $\beta$ -Endorphin immunreaktive Material spiegelt daher nicht die Konzentration des authentischen  $\beta$ -Endorphins (1-31) wider (Teschmacher et al. 1990, McLoughlin et al. 1993). Dieses „Substratgemisch“ wird als  $\beta$ -Endorphin immunreaktives Material (IRM) bezeichnet. Leider nehmen einige Autoren diese Trennung der Termini nicht vor, so dass es zu Missverständnissen kommen kann.

Es besteht die Möglichkeit, mit Hilfe eines hoch spezifischen RIAs, der nicht mit bis jetzt bekannten  $\beta$ -Endorphin-Derivaten kreuzreagiert, das authentische  $\beta$ -Endorphin (1-31) im Plasma zu ermitteln (Harbach et al. 2000). Zwei Untersuchungen, in denen  $\beta$ -Endorphin im Plasma mit Hilfe beider Methoden gemessen wurde, belegen, dass das  $\beta$ -

Endorphin immunoreaktive Material nicht mit dem authentischen  $\beta$ -Endorphin (1-31) identisch ist (Harbach et al. 2000, Schulz et al. 2000).

#### 1.4.3. Präzisierung der Fragestellung

Im Rahmen dieser Studie soll versucht werden, die in den Vorläuferstudien auftretende Diskrepanz der Ergebnisse zu klären.

- a) Die differierenden Ergebnisse könnten durch Bestimmung des  $\beta$ -ED IRM zu unterschiedlichen Zeitpunkten (direkt nach GKKT und nach 30 Minuten) zustande gekommen sein. In dieser Studie soll zu beiden Zeitpunkten  $\beta$ -ED IRM bestimmt werden. Hieraus könnte sich auch ein Hinweis hinsichtlich der Koinkidenz des analgetischen Effektes der GKKT und des Auftretens von  $\beta$ -Endorphin im Blut ergeben.
- b) Die unterschiedlichen Ergebnisse könnten durch Bestimmung verschiedener Substanzen oder Substanzgemische erklärt werden. Von beiden Arbeitsgruppen wurden RIAs eingesetzt, die nicht definierte und somit möglicherweise unterschiedliche Gemische  $\beta$ -ED IRM erfasst haben könnten: In dieser Studie sollen sowohl  $\beta$ -ED IRM und bei einem Anstieg auch das authentische  $\beta$ -Endorphin (1-31) bestimmt werden. Hiermit soll geklärt werden, ob überhaupt  $\beta$ -ED IRM (das vom Gießener Labor bestimmten Typs) und weiterhin authentisches  $\beta$ -Endorphin (1-31) nach GKKT freigesetzt werden.
- c) Eine Reihe vorliegender Befunde weist darauf hin, dass das im Plasma vorgefundene  $\beta$ -Endorphin keine analgetische Funktion besitzt (soweit das  $\beta$ -Endorphin IRM nicht mit  $\beta$ -Endorphin (1-31) identisch ist, kann es nicht analgetisch wirken). Die daraus abzuleitende und im Rahmen dieser Studie zu überprüfende Hypothese würde lauten, dass durch die GKKT kein  $\beta$ -Endorphin freigesetzt wird und dass demnach die GKKT induzierte Analgesie nicht durch  $\beta$ -Endorphin bedingt sein kann.

- d) Falls in dieser Untersuchung kein signifikanter Anstieg des  $\beta$ -ED IRM nachweisbar ist, ist auch nicht von einem Anstieg des authentischen  $\beta$ -Endorphins (1-31) auszugehen, so dass dessen quantitative Bestimmung hinfällig wird.
- e) Neben dem korticotrophen Enzymsystem soll das melanotrophe auf eine Veränderung durch die GKKT untersucht werden, da hierüber bisher keine Daten vorliegen. Hierfür wird das N-acetyl- $\beta$ -Endorphin IRM mittels eines hochsensitiven RIAs quantitativ bestimmt.
- f) Neben der Untersuchung des  $\beta$ -ED IRM und des NAC IRM in Abhängigkeit von der GKKT soll der Verlauf beider Untersuchungsgrößen zusätzlich unter den Variablen Stress im privaten Umfeld, Zyklusphase und Einnahme oraler Kontrazeptiva betrachtet werden.
- g) In Annahme der These, dass  $\beta$ -Endorphin an der Thermoregulation beteiligt ist, könnte eine Veränderung des  $\beta$ -ED IRM Plasmaspiegels einen Hinweis für einen Einfluss der GKKT auf das thermoregulatorische System geben. Daher werden zur Überprüfung der Temperaturbelastung durch die kurzzeitige GKKT sowohl die Hauttemperatur an der palmaren Handfläche und in der Ellenbeuge, als auch die Mundtemperatur bestimmt.

## II Material und Methoden

### 2.1. Material

#### 2.1.1. Chemikalien und Reagenzien

Aktivkohle	Merck, Darmstadt
Albumin aus Rinderserum (BSA)	Sigma, Steinheim
Aqua bidestillata	laboreigene Herstellung
Essigsäure	Merck, Darmstadt
Harnstoff	Merck, Darmstadt
HCl	Merck, Darmstadt
Heparin-Natrium 25.000 I.E.	Roche, Grenzach-Wyhlen
Gelatine	Merck, Darmstadt
$^{125}\text{J}$	Amersham Buchler, Braunschweig
NaCl-Lösung 0,9%	Braun, Melsungen
$\text{Na}_2\text{HPO}_4$	Merck, Darmstadt
$\text{NaH}_2\text{PO}_4$	Merck, Darmstadt
1-Propanol	Merck, Darmstadt
Thiomersal	Merck, Darmstadt
Triton X-100	Serva, Heidelberg
Kohlesuspension:	1% Aktivkohle 0,5% BSA ad Puffer C
Puffer C:	0,02 M Natriumphosphatpuffer pH 7.4 0,15 M NaCl 0,1% Gelatine 0,01% BSA 0,01% Thiomersal

Puffer D:	0,1% Triton X-100 in Puffer C
Peptide: $\beta$ <sub>H</sub> -Endorphin (1-31)	Novabiochem, Läfelfingen, Schweiz
Acetyl- $\beta$ <sub>H</sub> -Endorphin (1-27)	Bachem, Heidelberg
<u>2.1.2. Geräte und Zubehör</u>	
Combitips plus	0.5 ml, Eppendorf, Hamburg
Dispenser-Tips	2.5 ml, 5 ml, Nerbe plus, Winsen/ Luhe
EDTA-di Kaliumsalz-Kabevetten	Kabe, Nürmbrecht-Elsenroth
Einmalspritzen	2 ml, 10 ml, Braun, Melsungen
Extraktionsvorrichtung	Mechanische Werkstätten des Mehrzweckgebäudes der JLU Gießen
Gamma-Counter	1282 Compugamma CS, LKB, B Wallac, Turcu, Finnland
Kunststoff-Reaktionsgefäße	1.5 ml, Eppendorf, Hamburg
Lyophilisator	GT 02, Leybold Heraeus, Köln
Magnetrührer	IKA Combimag Ret., Janke und Kunkel KG, Staufen
Multi-Pipette, verstellbar	Nr. 4780, Eppendorf, Hamburg
Octadecasilyl-Silica-Kartuschen	SEP-PAK C18 Cartridges, Waters Associates, Milford, USA
Pipetten, verstellbar	Abimed, Düsseldorf
Polypropylenröhrchen	3.5ml, 13ml, 30ml, Sarstedt, Nürmbrecht
Schüttler	SM, Bühler, Tübingen
Speed Vac Concentrator	Model SVC-100H, Savant, New York, USA
Tischschüttler	Mischer 5432, Eppendorf, Hamburg

Verweilkanülen	1,3 x 45 mm, Braun, Melsungen
Zentrifugen:	
Kühlzentrifuge	Sorvall RC-5B, Refrigerated Superspeed Centrifuge, Du Pont, Bad Nauheim
Kühlzentrifuge	Sigma 2K15C, Sigma, Osterode
Tischzentrifuge	Nr. 5413, Eppendorf, Hamburg
Tischzentrifuge	Labofuge I, Heraeus-Christ, Osterode

### 2.1.3. Kältekammer

Das Kammerensystem besteht aus einer Vor- und Hauptkammer, die hintereinander geschaltet sind. Die Probanden halten sich für 10 Sekunden in der ersten Kammer auf, in der eine Temperatur von ca.  $-45^{\circ}\text{C}$  bis  $-55^{\circ}\text{C}$  herrscht. Hier wird die hereingetragene Luftfeuchtigkeit absorbiert. Erst danach betreten sie die Hauptkammer mit einer Temperatur von  $-110^{\circ}\text{C}$  für drei Minuten.

In beide Kammern wird über beheizte Fenster ein Einblick von außen gewährt. Die Behandlung wird von außen von einem Arzt der Klinik beobachtet, der auch die Überwachung der Schalteinheit der Kammern übernimmt. Er hat über Lautsprecher Kontakt zu den Probanden und gibt jede Minute die Zeit durch (Fricke 1989).

Die niedrige Temperatur in der Kältekammer wird durch ein Kühlschranksystem mit drei hintereinandergeschalteten Kältekaskaden erzeugt. Als Kühlmittel werden Propylen, Äthan und Äthylen eingesetzt, mit denen jeweils eine Temperatur von  $-10^{\circ}\text{C}$ ,  $-60^{\circ}\text{C}$  und schließlich  $-110^{\circ}\text{C}$  erreicht werden, indem das kondensierte Kältemittel seiner Umgebung Wärme entzieht (Köck 2000). Die Kältekammer wurde von der Firma Seus, Wilhelmshaven, entwickelt.

## 2.2. Methoden

### 2.2.1. Patientenauswahl und Ausschlusskriterien

In dieser Studie wurden 16 Physiotherapieschülerinnen und Studentinnen im Alter von 19 bis 25 Jahren untersucht, nachdem ihr Gesundheitszustand mit Hilfe eines Fragebogens erfasst worden war (s. Anhang I-II). 14 Probandinnen wurden in die Kältekammer geschickt, zwei Probandinnen waren Kontrollpersonen. Einschlusskriterien waren gesunde Personen und Personen mit Einnahme oraler Kontrazeptiva und einem täglichen Zigarettenkonsum von maximal einer Schachtel pro Tag. Als Ausschlusskriterien wurden schwangere Frauen oder Personen mit akuten und/oder chronischen Erkrankungen definiert. Weitere Ausschlusskriterien waren Medikamenteneinnahme, Kälteallergie, Kältehäoglobinämie, Kälteagglutinin-erkrankung, Kryoglobulinämie, Nikotinkonsum von mehr als 22 Zigaretten pro Tag, Alkoholeinnahme innerhalb der letzten 24 Stunden und Klaustrophobie.

Stichprobe	Anzahl (N)
Probandinnen insgesamt	N=16
Kontrollpersonen	N=2
Probandinnen mit GKKT	N=14
davon mit Stress	N=7
davon Einnahme oraler Kontrazeptiva	N=6
davon in Follikelphase	N=7

**Tabelle 2.1.:** Merkmale der Stichprobe

Den Probandinnen wurde der Ablauf der Studie drei Tage vor Studienbeginn detailliert erklärt und ein Aufklärungsbogen (s. Anhang III) mit den gleichen Informationen ausgehändigt. Die Teilnahme an dieser Studie beruhte auf Freiwilligkeit und die Einverständniserklärung (s. Anhang IV) wurde schriftlich eingeholt, die seitens der Probandinnen jederzeit, ohne Angabe von Gründen und ohne nachteilige Folgen, widerrufen werden konnte.

Diese Studie wurde zur Begutachtung eines biomedizinischen Forschungsvorhabens am Menschen der Ethikkommission der Ärztekammer Westfalen Lippe und der

Medizinischen Fakultät der Westfälischen Wilhelms-Universität vorgelegt und positiv bevotet (Reg. Nr: IIXFri).

### 2.2.2. Studienaufbau

Der Versuch begann um 8.00 Uhr. Zu Beginn wurde den Probandinnen eine Venenverweilkanüle in eine Kubitalvene gelegt. Zur Koagulationsprophylaxe wurde die Venenverweilkanüle, auch nach jeder Blutabnahme, mit 10 I.E. Na-Heparin auf 1ml physiologische NaCl-Lösung durchgespült, ohne dabei die systemische Blutgerinnung zu beeinflussen (Hanson et al. 1976). Nach einer einstündigen Adaptations- und Ruhephase bei konstanter Raumtemperatur und Luftfeuchtigkeit wurden über die Venenverweilkanüle 2 ml Blut mit Einmalspritzen abgenommen und verworfen, um das heparinisierte Blut von der Blutprobe zu trennen. Anschließend erfolgte die Abnahme der 13 ml umfassenden Blutprobe mit EDTA-Monovetten. Dieses Verfahren wurde bei jeder Blutabnahme durchgeführt.

Während einer weiteren 60 minütigen Ruhephase wurden Sublingual- und Hauttemperatur, Puls und Blutdruck ermittelt und nach Verstreichen der zweiten Ruhestunde die zweite Blutprobe abgenommen.

Sofort danach gingen die Probandinnen mit Badesachen, Ohr- und Mundschutz, Handschuhen, Strümpfen und festen Schuhen bekleidet in das Kammersystem.

Nach dem dreiminütigen Aufenthalt bei  $-110^{\circ}\text{C}$  wurden sofort nach Verlassen der Kammer wieder Körperkern- und Hauttemperatur, Puls und Blutdruck gemessen und Blut abgenommen. Die Blutabnahme wiederholte sich nach 30 Minuten und 60 Minuten. Daraufhin konnte die Venenverweilkanüle entfernt werden.

Am Ende der Studie wurde mit Hilfe eines Fragebogens die subjektive Einschätzung über die psychische und physische Verfassung der Probandinnen vor und nach der Ganzkörperkältetherapie ermittelt.

<b>Studiendesign</b>	
8.00 Uhr	Ankunft
9.00 Uhr	1. Basalwert, Bestimmung physiologischer Parameter
10.00 Uhr	2. Basalwert
10.10 Uhr	Ganzkörperkältetherapie (GKKT)
10.15 Uhr	1. Wert nach GKKT, Bestimmung physiologischer Parameter
10.45 Uhr	2. Wert nach GKKT, Fragebogen zur Erfassung physischer und psychologischer Daten
11.15 Uhr	3. Wert nach GKKT

**Tabelle 2.2.:** Ablauf der Studie

### 2.2.3. Bestimmung physiologischer und psychologischer Parameter

Puls und Blutdruck wurden nach Riva-Rocci im Sitzen vor und sofort nach der GKKT gemessen (mit Hestia OZ 80, Hestia, Mannheim), um bei den Probandinnen eine mögliche Kreislaufbelastung durch die GKKT oder durch die Rahmenbedingungen der Studie feststellen zu können.

Die Ermittlung der Hauttemperatur erfolgte mit einem Infrarot-Thermometer (Quicktemp 825-T2, Testo, Lenzkirch) an der palmaren Handfläche und in der Ellenbeuge vor und nach der GKKT.

Die Mundtemperatur wurde mit Hilfe eines digitalen Fieberthermometers (Nr. 13702, Koch, Kilsheim) bestimmt.

Nach der GKKT sollten die Probandinnen in Fragebögen (s. Anhang V) ihre Befindlichkeit vor und nach der GKKT einschätzen.

## 2.2.4. Bestimmung des $\beta$ -ED IRM und NAC IRM im Plasma

### 2.2.4.1. Plasmagewinnung

#### 2.2.4.1.1. Proben

Die Blutproben wurden mit auf Eis vorgekühlten 10 ml K-EDTA-Monovetten abgenommen und mit 1.000 g bei 4°C 15 Minuten lang zentrifugiert. Der in 13 ml Polypropylen-Röhrchen überführte Überstand wurde mit 1N HCl (0,1 ml/ml Plasma) angesäuert und 10 Sekunden gevortext. Das Plasma wurde bei -20°C gelagert.

#### 2.2.4.1.2. Plasmastandardkurve

Zur Erstellung von Standardkurven für die Bestimmung der Konzentration von  $\beta$ -ED IRM und NAC IRM in den Plasmaproben wurden drei Männern, deren Einverständnis vorher schriftlich eingeholt worden war, 120 ml Blut mit sterilen 20 ml Einwegspritzen entnommen. Das Blut wurde sofort mit Na-EDTA (1 mg/ml Blut) zur Antikoagulation in 30 ml Reaktionsgefäßen versetzt und 10 Sekunden lang gevortext. Nach Zentrifugation mit 1.000 g bei 4°C für 15 Minuten wurde der Überstand abpipettiert und nochmals mit 10.000 g bei 4°C 5 Minuten lang zentrifugiert.

##### 2.2.4.1.2.1. Plasmafiltration des Standardplasmas

Die Filtration und Extraktion der Plasmaproben erfolgten mit Hilfe von Octadecasilyl-Silica-Kartuschen in einer Extraktionsvorrichtung, in der ein Unterdruck durch eine Wasserstrahlpumpe erzeugt wurde. Dadurch entstand eine Flussrate der auf die Kartuschen aufgetragenen Reagenzien und Plasmaproben von 1 ml/Minute. Die Kartuschen wurden mit Eis auf eine Temperatur von 0°C bis 4°C gekühlt. Die für diesen Vorgang eingesetzten Reagenzien waren auf 4°C vorgekühlt.

Das Plasma wurde filtriert, um es von sämtlichen Peptiden zu befreien. In einem darauffolgenden Arbeitsschritt wurde das Plasmafiltrat mit definierten aufsteigenden Konzentrationen an Peptiden versetzt.

Nach Aktivierung der Kartuschen mit 5 ml Methanol, 5 ml 8 M Harnstoff und 10 ml Aqua bidest. wurden 5 ml Plasma jeweils auf eine Kartusche aufgetragen und das Filtrat in Polypropylen-Röhrchen aufgefangen.

#### 2.2.4.1.2.2. Erstellung einer Verdünnungsreihe

Eine Verdünnungsreihe wurde mit Puffer D und Peptid [  $\beta_{\text{H}}$ -Endorphin (1-31), Acetyl- $\beta_{\text{H}}$ -Endorphin(1-27)] in einer Konzentration von 3,3 fmol/ 20  $\mu\text{l}$  Puffer bis 10.000 fmol/20  $\mu\text{l}$  Puffer angesetzt. 10  $\mu\text{l}$  dieser Verdünnungsansätze wurden auf 5 ml der filtrierten Plasmaproben pipettiert und mit 500  $\mu\text{l}$  1M HCl angesäuert, so dass eine Verdünnungsreihe in folgenden Konzentrationen (fmol Peptid/ ml Plasma) erstellt werden konnte :

(0.33 fmol , 1 fmol, 3.3 fmol , 10 fmol, 33 fmol, 100 fmol bis 10.000 fmol). Die Verdünnungsreihe wurde bei  $-20^{\circ}\text{C}$  gelagert.

#### 2.2.4.3. Plasmaextraktion der Proben

Die Extraktion erfolgte zur Beseitigung von Plasmabestandteilen, die sich störend auf die radioimmunologische Bestimmung des  $\beta$ -ED IRM und NAC IRM auswirken könnten.

Vor der Extraktion wurden die Plasmaproben und die Verdünnungsreihe bei  $4^{\circ}\text{C}$  aufgetaut und 5 Minuten lang mit 10.000 g bei  $4^{\circ}\text{C}$  zentrifugiert. Die Extraktion setzt sich aus folgenden Schritten zusammen:

Aktivieren, Probenauftragen, Waschen, Eluieren und Reaktivieren.

Nach Aktivierung der Kartuschen mit 5 ml Methanol, 5 ml 8 M Harnstoff und 10 ml Aqua bidest. wurden 5 ml Plasma aufgetragen. Die in den Kartuschen zurückgehaltenen Peptide wurden anschließend mit 10 ml Aqua bidest. und 10 ml Essigsäure (4%) gewaschen. Danach wurden die Peptide mit 2 x 5 ml Propanol-Essigsäure (96% / 4%) von den Kartuschen eluiert und in 13 ml Polypropylenröhrchen aufgefangen.

Nach Reaktivierung der Kartuschen mit 10 ml Essigsäure (4%), 10 ml Aqua bidest. und 5 ml 8 M Harnstoff konnten die Kartuschen für eine neue Extraktion aktiviert werden.

Die organischen Bestandteile wurden aus den Eluatn durch Zentrifugieren im Vakuum über Nacht verdampft. Nachdem das zurückgebliebene gelbliche Pellet mit 500 µl Aqua bidest. versetzt und geschüttelt wurde, wurde das Plasmaextrakt unter Vakuum für 12 Stunden gefriergetrocknet, um die wasserlösliche Phase zu entfernen. Das entstandene weiß-flockige Pellet wurde in 500 µl Puffer C aufgenommen, bei 4°C unter zweistündigem Schütteln resuspendiert und danach in 1,5 ml Reaktionsgefäße in 4 x 100 µl Volumina aliquotiert. Die Extraktionsprodukte wurden bei -20°C gelagert.

#### 2.2.4.4. Radioimmunologischer Assay

##### 2.2.4.4.1. Testprinzip

Mit Hilfe des radioimmunologischen Assays wurden die Konzentrationen des  $\beta$ -ED IRM und des NAC IRM im Plasma indirekt ermittelt.

Das Plasma wurde mit einer definierten Konzentration an Antikörpern, an die sich das nachzuweisende Peptid anlagert, versetzt. Ebenfalls wurde eine bestimmte Konzentration an radioaktiv markiertem Peptid, auch Tracer genannt, dem Plasma zugeführt, der die nicht markierten Peptide aus der Bindung mit dem Antikörper verdrängt bzw. um die Bindungsstelle konkurriert, bis sich ein stabiles Gleichgewicht zwischen Bindung und Verdrängung einstellt. Der freibleibende Tracer wurde durch Aktivkohle absorbiert, so dass er von dem Überstand, der nach einem Zentrifugationsschritt gewonnen wurde, separiert wurde. Die Radioaktivität im Überstand wurde mit einem  $\gamma$ -Zähler gemessen. Das Verhältnis der „counts per

minutes“ (gemessene Zerfälle eines Radioisotops pro Minute) zu der nachzuweisenden Peptidkonzentration ist dabei antiproportional. Denn je höher die Peptidkonzentration in der Plasmaprobe ist, desto häufiger ist die Antikörper-Peptid-Bindung und desto seltener kann sich der Tracer an einen Antikörper anlagern. Die Radioaktivität wird daher niedriger sein als bei einer geringen Peptidkonzentration.

#### 2.2.4.4.2. Charakterisierung der eingesetzten Antiseren, der Extraktionsmethode, des Radioimmunoassays und der Kreuzreaktivität

Name des AK	Zielpeptid	Zielfragment
84E	$\beta_{\text{H}}$ -Endorphin (1-31)	17-24
27P	N-acetyl- $\beta_{\text{H}}$ -Endorphin (1-27)	N-actylierter Terminus des $\beta_{\text{H}}$ -Endorphin (1-27)

**Tabelle 2.3.:** eingesetzte Antiseren

Name des AK	AK : Puffer C
84E	1:10.000
27P	1:12.000

**Tabelle 2.4.:** Verdünnung der Antiseren

Eingesetzte Tracer
[ <sup>125</sup> J]- $\beta_{\text{H}}$ -Endorphin (1-31)
[ <sup>125</sup> J]- N-acetyl- $\beta_{\text{H}}$ -Endorphin (1-27)

**Tabelle 2.5.:** eingesetzte Tracer

	$\beta_{\text{H}}$ -Endorphin (17-24) <sup>1</sup>	N-acetyl- $\beta_{\text{H}}$ -Endorphin (1-27) <sup>2</sup>
Intraassay-Variationskoeffizient (%)	3,1	3,6
Interassay-Variationskoeffizient (%)	5,3	4,3
Nachweisgrenze (fmol/ml Ansatz)	2 bis 10	3.5

**Tabelle 2.6.:** Charakterisierung des Radioimmunoassays  
(aus: <sup>1</sup> Harbach et al. 2000, <sup>2</sup> Graf, Dissertation in Vorbereitung)

Intra- und Inter-Assay-Variationskoeffizient:

Sie dienen zur Feststellung der Streubereiche der Methoden. Der Variationskoeffizient (in %) errechnet sich aus dem Quotienten aus der Standardabweichung ( $\times 100$ ) und dem Mittelwert. Während der Intra-Assay-Variationskoeffizient die Streuung von Aliquots innerhalb eines Extraktionsvorganges angibt, wird durch den Inter-Assay-Variationskoeffizienten die Streuung von verschiedenen Extraktionsvorgängen an unterschiedlichen Tagen bestimmt.

$\beta_{\text{H}}$ -Endorphin (17-24) <sup>1</sup>		N-acetyl- $\beta_{\text{H}}$ -Endorphin (1-27) <sup>2</sup>
$\beta$ -ED (1-26):	100	Wird noch an anderer Stelle publiziert werden
$\beta$ -ED (1-27):	100	
$\beta$ -ED (1-31):	100	
$\beta$ -ED (1-16):	<0,1	
$\beta$ -ED (27-31):	<0,1	
NAC (1-31):	100	
$\beta$ -LPH:	50	

**Tabelle 2.7.:** Antiseren-Spezifität (Kreuzreaktivität in %) ( aus: <sup>1</sup> Harbach et al. 2000, <sup>2</sup> Graf: Dissertation in Vorbereitung)

#### 2.2.4.4.3. Inkubationsansätze

**CT:** „total counts“, ist die Bezugsgröße für die eingesetzte Radioaktivität und gibt die maximal zu messende Radioaktivität an

**BL:** „blank“, gibt die Hintergrundradioaktivität an und wird von allen Werten abgezogen

**BO:** gibt die maximale Bindung vom eingesetzten Antikörper mit dem Tracer an

**Standard-Ansatz mit Puffer C:** stellt eine interne Kontrolle für den RIA dar (bezüglich der Extraktion, Plasmaproben, unspezifischen Tracerbindung). Das nicht

radioaktiv markierte Peptid wurde in gleichen Konzentrationen den sieben Verdünnungsansätzen zugegeben.

#### 2.2.4.4.4. Durchführung des Radioimmunoassays

Die radioaktive Markierung des  $\beta_H$ -Endorphins (1-31), also die Herstellung des Tracers, erfolgte mit  $^{125}\text{J}$  nach einer modifizierten Chloramin-T-Methode (Hunter et al. 1962).

Der Tracer wurde mit Puffer D auf 3.000 counts/ 20 $\mu\text{l}$  Puffer D eingestellt.

Die Inkubationsansätze wurden in auf Eis gekühlten 1,5 ml großen Reaktionsgefäßen nach folgendem Schema pipettiert:

Pipettierschema (Angaben in $\mu\text{l}$ )					
	CT-Wert	Blank	Bo-Wert	Puffer C-Standard	Plasma-extrakte
Puffer C	500	200	150	150	50
Puffer D	20	20	20	-	20
Verdünnungsreihe mit Peptid in Puffer D	-	-	-	20	-
AK in Puffer C	-	-	50	50	50
Tracer	20	20	20	20	20
Inkubation für 24h bei 4°C					
Kohlesuspension	-	300	300	300	300

**Tabelle 2.8.:** Pipettierschema

Nach einer 24 stündigen Inkubation bei 4°C wurde die Radioaktivität außer beim CT-Wert durch Zugabe einer Kohlesuspension absorbiert.

Dafür wurden 300  $\mu\text{l}$  Kohlesuspension auf die Proben aufgetragen, 10 Sekunden geschüttelt und für 15 Minuten bei 4°C inkubiert. Die Proben wurden anschließend 5 Minuten lang mit 8.000 U/min zentrifugiert und danach für 5 Minuten auf Eis gekühlt. 450 $\mu\text{l}$  Überstand wurden in 3,5 ml Reaktionsgefäße überführt und die Radioaktivität des Überstandes im  $\gamma$ -Zähler für zwei Minuten gemessen.

### 2.2.5. Umrechnung der Radioaktivität (cpm) in fmol/ml

Nach der Versuchsdurchführung wurden die gemessenen Radioaktivitäten (cpm) um den Blank-Wert bereinigt. Die Werte wurden mit Hilfe von Origin, einem wissenschaftlich-technischen Zeichenprogramm, grafisch dargestellt, wobei auf der Abszisse die Einheit fmol/ml logarithmisch gegen die Ordinate linear mit cpm aufgetragen war. Die Kurve der Probanden wurde dabei an die Plasmastandardkurve angelehnt und eine Fitkurve, d.h. Ausgleichskurve, durch die Probandenkurve gezogen, wodurch im Origin Kenngrößen ( $p$ =power,  $x_0$ =center,  $A_1=y$  initial,  $A_2=y$  final) angegeben werden, mit deren Hilfe  $\text{cpm} = Y$  in  $\text{fmol/ml} = X$  umgerechnet werden kann nach folgender Formel:

$$Y = ((A_1 - A_2) / (1 + (X / x_0)^p)) + A_2 \Leftrightarrow X = (((A_1 - A_2) / (Y - A_2)) - 1)^{1/p} \cdot x_0$$

### 2.2.6. Statistische Auswertungsverfahren

Die statistische Auswertung und graphische Darstellung erfolgte mit Hilfe des Statistikprogrammes SPSS für Windows mit Unterstützung durch Herrn Dr. Heinecke, Institut für Medizinische Informatik und Biomathematik der Westfälischen Wilhelms-Universität Münster.

Die unterschiedlichen Messwerte zu den fünf Zeitpunkten wurden durch eine nichtparametrische Varianzanalyse, dem Friedman-Test, miteinander verglichen. Mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit von höchstens 5% ( $p \leq 0,05$ ) wurden die Unterschiede als signifikant bewertet. Wenn  $p > 0,05$  ist, sind die Ergebnisse als zufallsbedingt zu betrachten.

Bei signifikantem Ergebnis im Friedman-Test wurden Paarvergleiche nach Friedman (Miller 1981) durchgeführt, um zu ermitteln, zwischen welchen Zeitpunkten die Unterschiede bestehen.

Bei den physiologischen Parametern wurde der Wilcoxon-Test für verbundene Stichproben eingesetzt, der nicht nur das Vorzeichen, sondern auch die Größe der Differenz zwischen den gemessenen Werten berücksichtigt.

### 2.2.7. Grafische Darstellung

Zur grafischen Darstellung des immunoreaktiven Materials (IRM) wurden Boxplots herangezogen. Die Werte der einzelnen Personen zu den verschiedenen Zeitpunkten, die den Grafiken zugrunde liegen, sind Mittelwerte einer Doppelbestimmung.

Die Boxenlänge umfasst die Einzelwerte aller Probanden zu den angegebenen Zeitpunkten, die im Bereich des empirischen Interquartilabstandes zwischen dem ersten und dritten Quartil, also 25%-75% der Einzelwerte, liegen. In der Box ist der Median eingezeichnet. Werte, die außerhalb des Interquartilabstandes liegen, werden als Strecke von maximal  $\pm 1,5$ -facher Boxenlänge unterhalb bzw. oberhalb der Box eingetragen. Werte außerhalb der Strecke werden als einzelne Punkte mit der Probandennummer eingetragen.

Die fünf Messzeitpunkte werden auf der x-Koordinate folgendermaßen angegeben:

x-Achse	Legende
Basal 1	1. Wert nach einer Stunde Ruhephase
Basal 2	2. Wert nach zwei Stunden Ruhephase
GKKT	3. Wert direkt nach GKKT
Ztpkt 0	3. Wert ohne GKKT bei Kontrollpersonen
H0.5	4. Wert 30 Minuten nach GKKT
H1	5. Wert 60 Minuten nach GKKT

**Tabelle 2.9.:** Legende

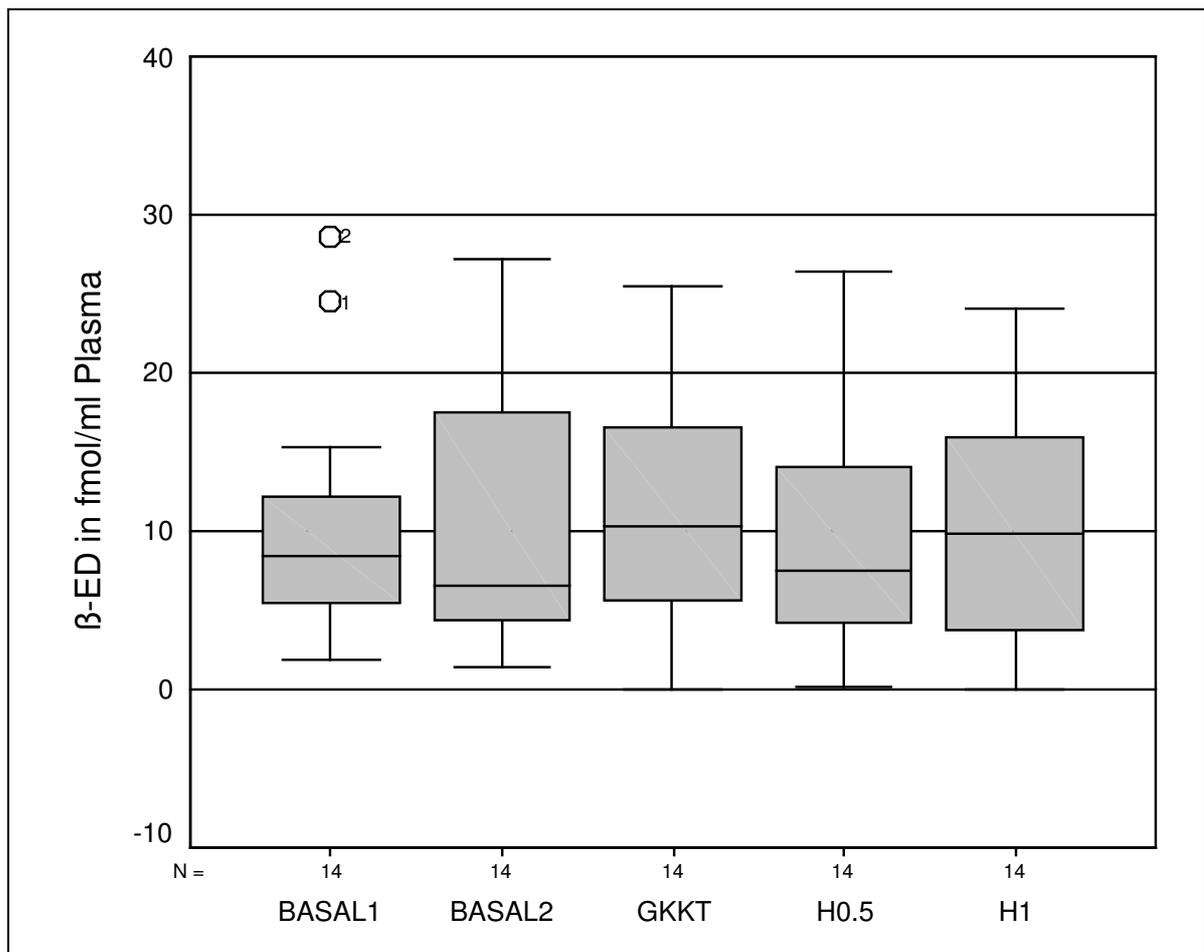
In den Grafiken werden an der y-Achse  $\beta$ -ED IRM als  $\beta$ -ED angegeben, ebenso NAC IRM als NAC.

Zusätzlich werden tabellarisch der Median, der Mittelwert, die Standardabweichung sowie der minimale und maximale Wert aufgeführt.

## III Ergebnisse

### 3.1. Plasmaspiegel im Zeitverlauf

#### 3.1.1. $\beta$ -Endorphin-immunoreaktives Material ( $\beta$ -ED IRM)



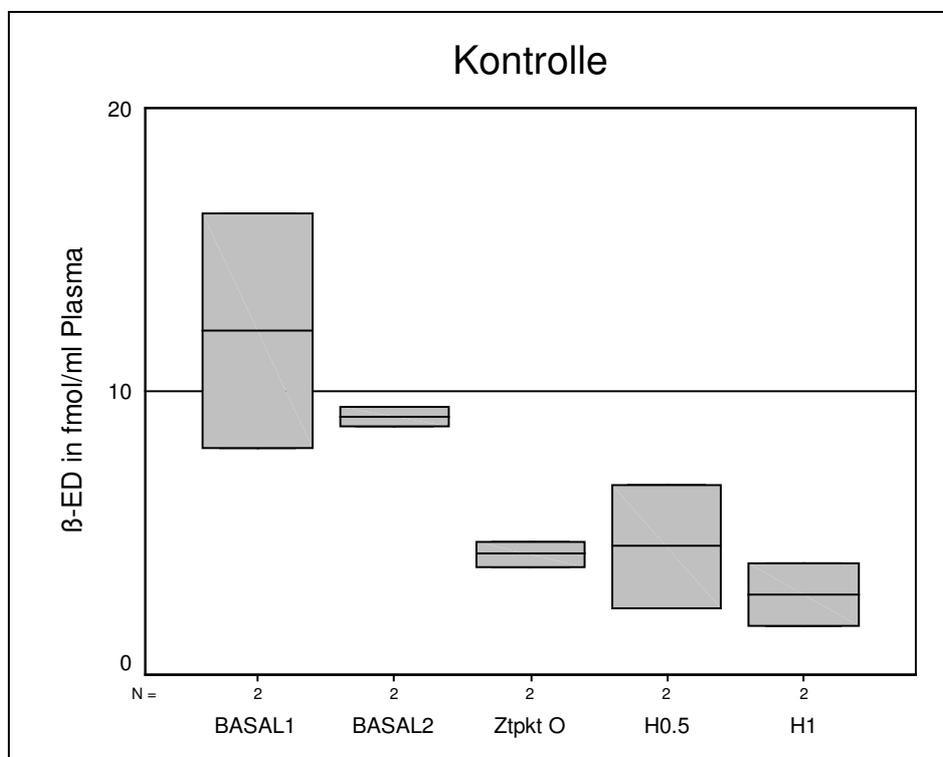
**Abb. 3.1.:**  $\beta$ -ED IRM Plasmaspiegel bei Probanden im zeitlichen Verlauf  
Friedman-Test:  $p=0,321$

	BASAL1	BASAL2	GKKT	H0.5	H1
Median	8,36	6,55	10,33	7,47	9,85
Mittelwert	10,33	10,41	10,97	9,14	9,94
Standardabweichung	7,73	8,99	7,37	7,80	7,350
Minimum	1,83	1,36	0,00	0,08	0,00
Maximum	28,60	27,11	25,47	26,33	24,00

**Tabelle 3.1.:**  $\beta$ -ED IRM im zeitlichen Verlauf

Die Mittelwerte bleiben konstant. Lediglich der Median steigt zu den Zeitpunkten GKKT und H1 an. Die Standardabweichungen sind homogen und liegen im Mittel bei 7,8 fmol/ml. Nach dem Friedman-Test sind die Differenzen des  $\beta$ -ED IRM Plasmaspiegels über den gesamten Untersuchungszeitraum nicht signifikant.

### 3.1.2. $\beta$ -ED IRM bei Kontrollpersonen



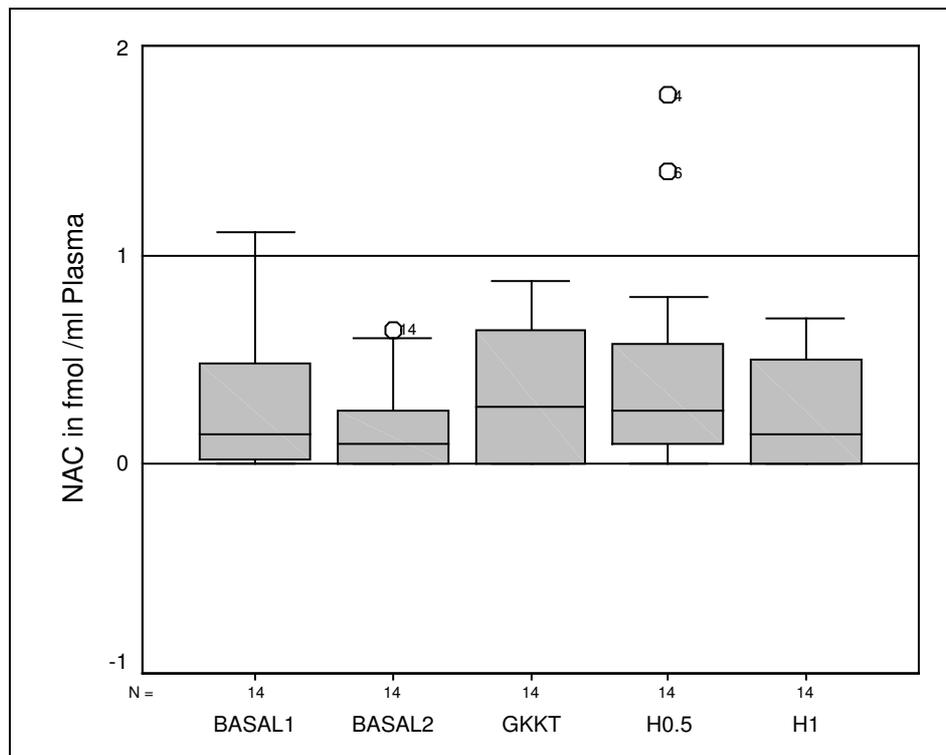
**Abb. 3.2.:**  $\beta$ -ED IRM Plasmaspiegel bei Kontrollpersonen im zeitlichen Verlauf  
Friedman-Test:  $p=0,162$

	BASAL1	BASAL2	Ztpkt 0	H0.5	H1
Median	12,11	9,08	4,24	4,53	2,82
Mittelwert	12,11	9,08	4,24	4,53	2,82
Standardabweichung	5,84	0,49	0,65	3,07	1,54
Minimum	7,98	8,73	3,77	2,35	1,73
Maximum	16,25	9,43	4,70	6,70	3,92

**Tabelle 3.2.:**  $\beta$ -ED IRM bei Kontrollpersonen

Bei den zwei Kontrollpersonen fällt der Median über den gesamten Untersuchungszeitraum kontinuierlich ab. Die Ausgangswerte liegen dabei im vergleichbaren Wertebereich des Probandenkollektivs. Die Standardabweichungen fallen zu den Zeitpunkten Basal2 und Ztpkt0 mit Werten  $<1$  im Vergleich zu den Standardabweichungen anderer Zeitpunkte besonders gering aus. Die Veränderungen sind nicht signifikant.

### 3.1.3. N-acetyl- $\beta$ -Endorphin-immunoreaktives Material (NAC IRM)

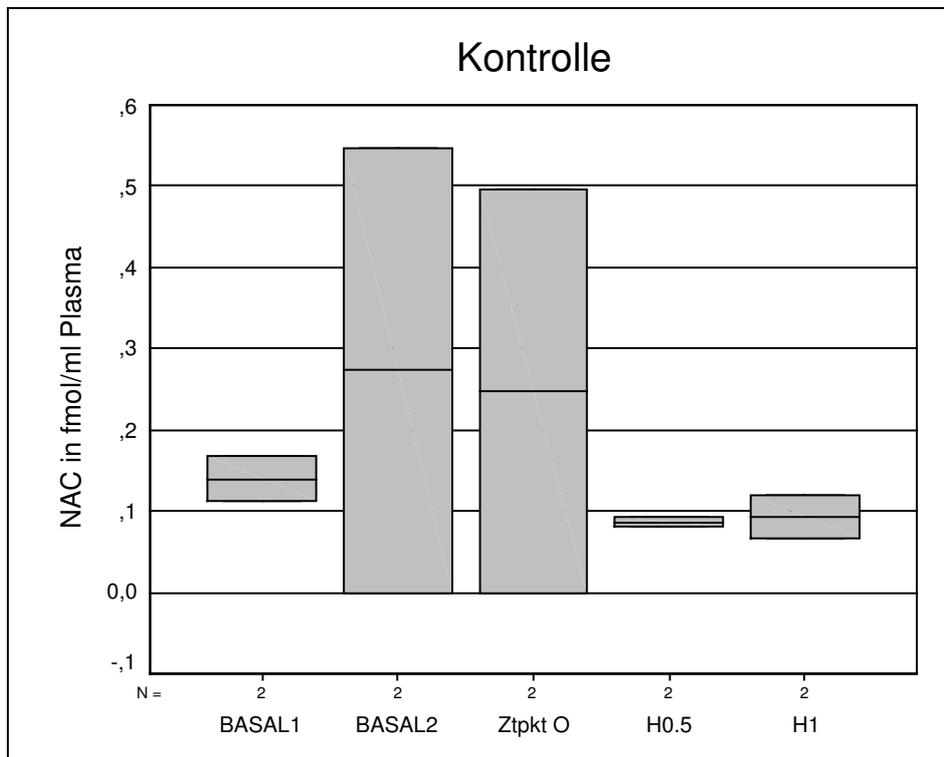


**Abb. 3.3.:** NAC IRM Plasmaspiegel bei Probanden im zeitlichen Verlauf  
Friedman-Test:  $p=0,089$

	BASAL1	BASAL2	GKKT	H0.5	H1
Median	0,14	0,09	0,27	0,25	0,14
Mittelwert	0,34	0,17	0,54	0,45	0,22
Standardabweichung	0,41	0,22	1,02	0,53	0,25
Minimum	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Maximum	1,11	0,64	3,96	1,76	0,69

**Tabelle 3.3.:** NAC IRM im zeitlichen Verlauf

Sowohl Median als auch Mittelwert steigen nach GKKT an und fallen kontinuierlich über den restlichen Untersuchungszeitraum auf den Ausgangswert ab. Zu berücksichtigen ist dabei eine größere Spannweite und Standardabweichung zu den Zeitpunkten GKKT und H0.5. Nur zwei Werte liegen zu dem Zeitpunkt H0.5 deutlich oberhalb von 1 fmol/ml. Die Veränderungen im NAC IRM Plasmaspiegel sind nach dem Friedman-Test nicht signifikant.

3.1.4. NAC IRM bei Kontrollpersonen

**Abb. 3.4.:** NAC IRM Plasmaspiegel bei Kontrollpersonen im zeitlichen Verlauf  
Friedman-Test:  $p=0,982$

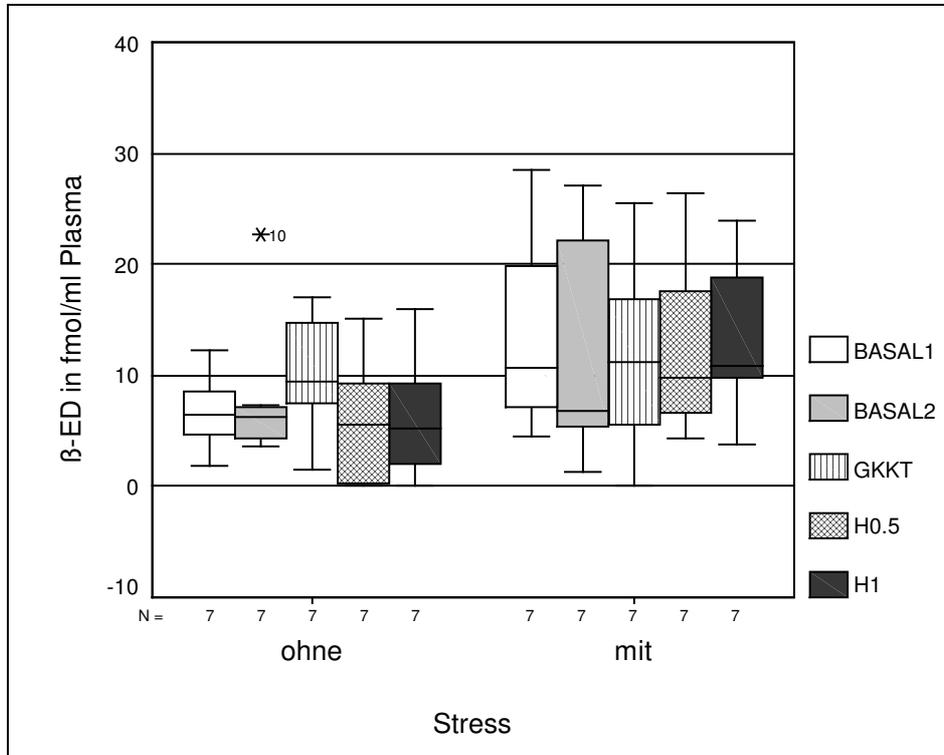
	BASAL1	BASAL2	Ztpkt 0	H0.5	H1
Median	0,14	0,27	0,25	0,09	0,09
Mittelwert	0,14	0,27	0,25	0,09	0,09
Standardabweichung	0,04	0,39	0,35	0,01	0,04
Minimum	0,11	0,00	0,00	0,08	0,07
Maximum	0,17	0,55	0,49	0,09	0,12

**Tabelle 3.4.:** NAC IRM bei Kontrollpersonen

Bei den zwei Kontrollprobanden sind der zweite Basalwert und der Ztpkt0-Wert am größten, der H0.5 am geringsten. Konkordant dazu sind die Standardabweichungen zu den Zeitpunkten Basal2 und Ztpkt0 am größten. Die Mediane liegen im gleichen Wertebereich wie beim Probandenkollektiv. Auch bei dieser Kontrollgruppe sind die Veränderungen des NAC IRM Plasmaspiegels nicht signifikant.

### 3.2. Plasmaspiegel in Abhängigkeit von der Variable „Stress“

#### 3.2.1. $\beta$ -ED IRM



**Abb. 3.5.:**  $\beta$ -ED IRM Plasmaspiegel in Abhängigkeit vom Stress  
 Friedman-Test:  $p_{\text{ohne}}= 0,058$   $p_{\text{mit}}=0,978$

STRESS		BASAL1	BASAL2	GKKT	H0.5	H1
ohne	Median	6,48	6,31	9,39	5,61	5,25
	Mittelwert	6,70	7,95	10,28	5,63	6,20
	Standardabweichung	3,44	6,64	5,68	5,87	5,76
	Minimum	1,83	3,61	1,43	0,08	0,00
	Maximum	12,19	22,65	17,03	15,04	15,91
mit	Median	10,62	6,79	11,27	9,81	10,78
	Mittelwert	13,95	12,87	11,66	12,66	13,67
	Standardabweichung	9,33	10,80	9,18	8,28	7,15
	Minimum	4,51	1,36	0,00	4,28	3,74
	Maximum	28,60	27,11	25,47	26,33	24,00

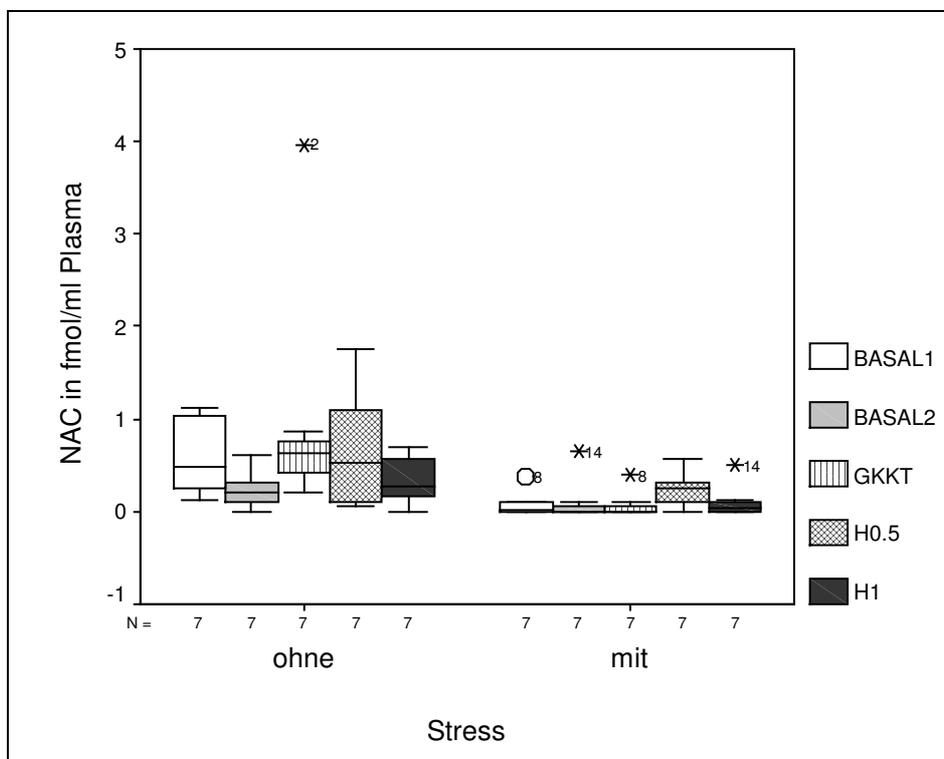
**Tabelle 3.5.:**  $\beta$ -ED IRM in Abhängigkeit vom Stress

Bei den Probanden, die nach ihren Angaben im privaten Umfeld keinem Stress ausgesetzt waren, zeigte sich im Durchschnitt ein kleinerer Median mit 6,6 fmol/ml als bei der Vergleichsgruppe mit einem durchschnittlichen Median von 9,8 fmol/ml.

In der ersten Stichprobe ohne Stress steigt das  $\beta$ -ED IRM zu dem Zeitpunkt GKKT deutlich an. Die Wertdifferenzen liegen knapp unterhalb des Signifikanzniveaus.

In der Vergleichsgruppe mit Stress liegt der größte Median ebenfalls zu dem Zeitpunkt GKKT vor. Jedoch liegt der erste Basalwert in einer vergleichbaren Größenordnung. Die Mittelwerte dagegen bleiben während der Beobachtungszeit fast unverändert. Die Wertdifferenzen sind nicht signifikant.

### 3.2.2. NAC IRM



**Abb. 3.6.:** NAC IRM Plasmaspiegel in Abhängigkeit vom Stress  
Friedman-Test:  $p_{\text{ohne}}=0,010$   $p_{\text{mit}}=0,18$

Stress		BASAL1	BASAL2	GKKT	H0.5	H1
ohne	Median	0,48	0,20	0,64	0,53	0,27
	Mittelwert	0,61	0,23	1,03	0,68	0,35
	Standardabweichung	0,44	0,21	1,31	0,68	0,26
	Minimum	0,11	0,00	0,21	,051	0,00
	Maximum	1,11	0,61	3,96	1,76	0,69
mit	Median	0,01	0,00	0,00	0,27	0,04
	Mittelwert	0,08	0,11	0,07	0,24	0,11
	Standardabweichung	0,13	0,24	0,15	0,19	0,18
	Minimum	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	Maximum	0,37	0,64	0,39	0,57	0,50

**Tabelle 3.6a.:** NAC IRM in Abhängigkeit vom Stress

Stress		Mittlerer Rang
ohne	BASAL 1	3,71
	BASAL2	1,50
	GKKT	4,14
	H0.5	3,14
	H1	2,50
mit	BASAL 1	2,64
	BASAL2	2,86
	GKKT	2,43
	H0.5	4,21
	H1	2,86

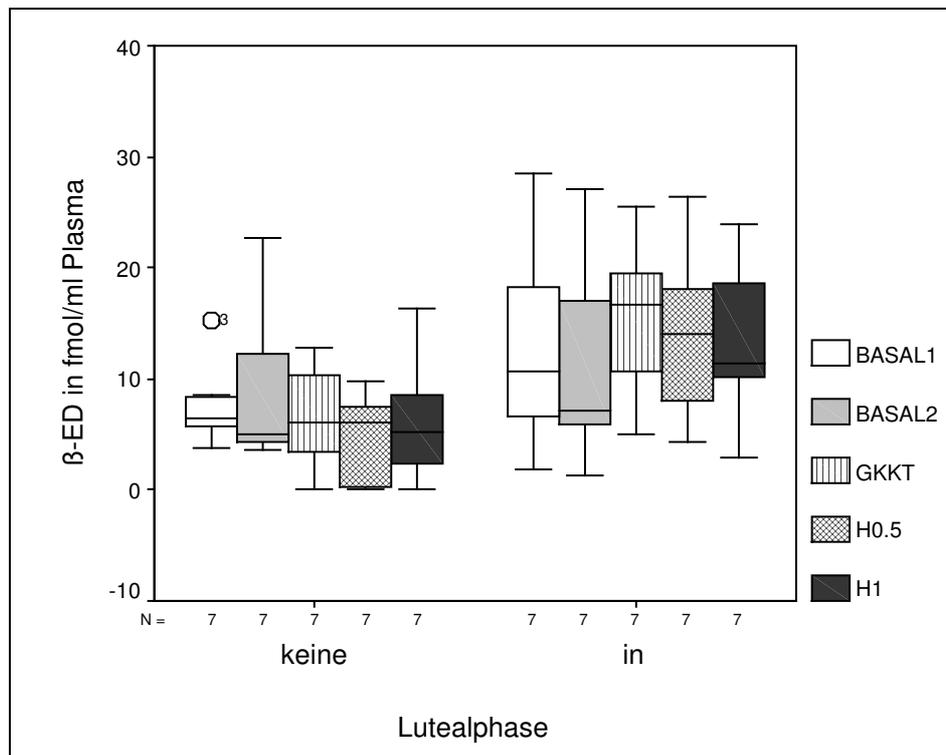
**Tabelle 3.6b.:** Rangverteilung nach dem Friedman-Test,  
Signifikanter Paarvergleich nach Friedman in der Gruppe ohne Stress  
zwischen Basal2 und GKKT mit  $\Delta = 2,6$

Bei der Gruppe ohne Stress liegen alle Werte auf einem deutlich höheren Niveau als bei der Vergleichsgruppe. Bei der Subgruppe ohne Stress ist ein Anstieg des GKKT Wertes nachzuweisen, der über den weiteren Untersuchungszeitraum stetig abfällt und nach 60 Minuten im Bereich der Basalwerte liegt. Der Anstieg des GKKT-Wertes relativiert sich durch die hohe Standardabweichung. Die Wertdifferenz ist nach dem Friedman-Test mit  $p=0,010$  signifikant. Nach dem Friedman Paarvergleich ergibt sich eine Signifikanz mit  $\Delta = 2,6$  zwischen den mittleren Rängen des Basal2- und GKKT-Wert. Jedoch liegt der mittlere Rang des Basal1-Wertes nur gering unterhalb des GKKT-Wertes, so dass die Signifikanz kritisch zu betrachten ist.

Dagegen liegen bei der Gruppe mit Stress fast alle Mediane bei Null. Allein zum Zeitpunkt H0.5 ist ein Anstieg zu beobachten, der im Bereich der Basalwerte der Vergleichsgruppe liegt. Hier liegt keine Signifikanz vor.

### 3.3. Plasmaspiegel in Abhängigkeit von der Variable „Zyklusphase“

#### 3.3.1. $\beta$ -ED IRM



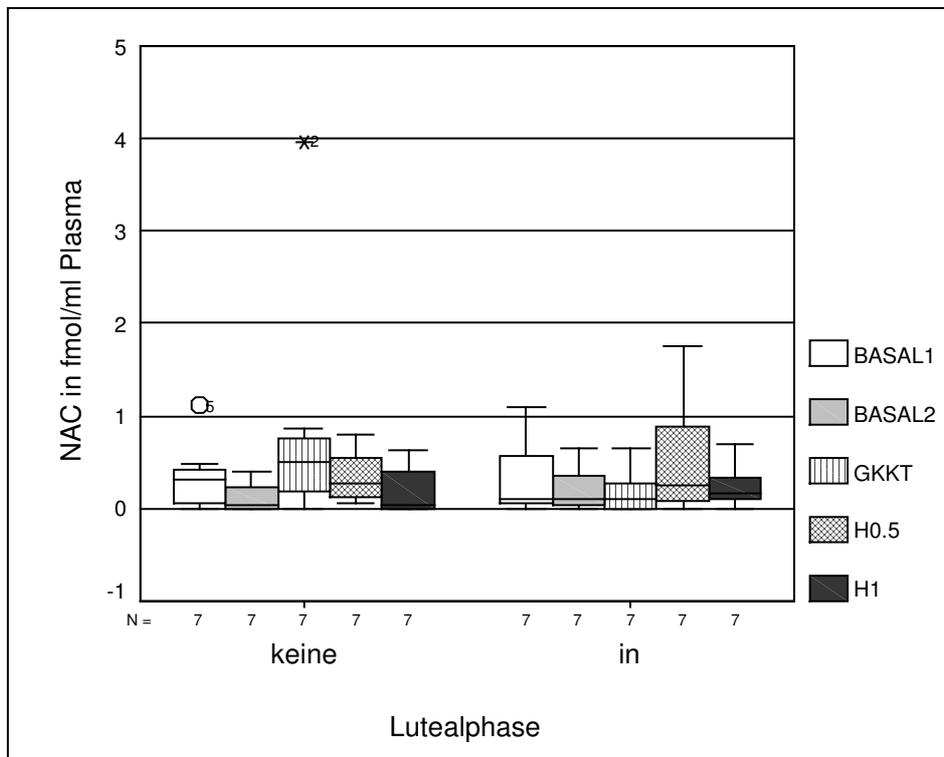
**Abb. 3.7.:**  $\beta$ -ED IRM Plasmaspiegel in Abhängigkeit von der Zyklusphase  
Friedman-Test:  $p_{\text{keine}}=0,498$   $p_{\text{in}}=0,447$

Zyklus		BASAL1	BASAL2	GKKT	H0.5	H1
Follikelphase	Median	6,48	5,10	6,01	6,11	5,25
	Mittelwert	7,67	9,19	6,62	4,47	6,20
	Standardabweichung	3,73	7,66	4,80	4,20	5,63
	Minimum	3,77	3,61	0,00	0,08	0,00
	Maximum	15,31	22,65	12,71	9,81	16,25
Lutealphase	Median	10,62	7,07	16,61	14,12	11,46
	Mittelwert	12,98	11,63	15,32	13,82	13,67
	Standardabweichung	9,97	10,63	7,10	7,95	7,26
	Minimum	1,83	1,36	5,08	4,28	2,90
	Maximum	28,60	27,11	25,47	26,33	24,00

**Tabelle 3.7.** :  $\beta$ -ED IRM in Abhängigkeit von der Zyklusphase

Bei den Probandinnen in Follikelphase bleibt der Median über den gesamten Untersuchungszeitraum annähernd konstant, der Mittelwert fällt nach GKKT leicht ab. Dagegen zeigt sich bei der Subgruppe mit Lutealphase ein Anstieg der Werte ab dem Zeitpunkt GKKT und bleibt bis zum Zeitpunkt H1 oberhalb der Basalwerte. Auffällig bei der Gruppe in Lutealphase sind die höheren Ausgangswerte im Vergleich zu der Gruppe in Follikelphase.

Die Veränderungen sind nicht signifikant.

3.3.2. NAC IRM

**Abb. 3.8.:** NAC IRM Plasmaspiegel in Abhängigkeit von der Zyklusphase  
 Friedman-Test:  $p_{\text{keine}} = 0,171$   $p_{\text{in}} = 0,371$

Zyklus		BASAL1	BASAL2	GKKT	H0.5	H1
Follikelphase	Median	0,31	0,04	0,50	0,27	0,04
	Mittelwert	0,34	0,13	0,91	0,36	0,21
	Standardabweichung	0,39	0,16	1,38	0,28	0,27
	Minimum	0,00	0,00	0,00	0,05	0,00
	Maximum	1,11	0,39	3,96	0,80	0,62
Lutealphase	Median	0,09	0,09	0,09	0,25	0,16
	Mittelwert	0,35	0,22	0,19	0,56	0,25
	Standardabweichung	0,47	0,28	0,25	0,72	0,25
	Minimum	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	Maximum	1,11	0,64	0,66	1,76	0,69

**Tabelle 3.8.:** NAC IRM in Abhängigkeit von der Zyklusphase

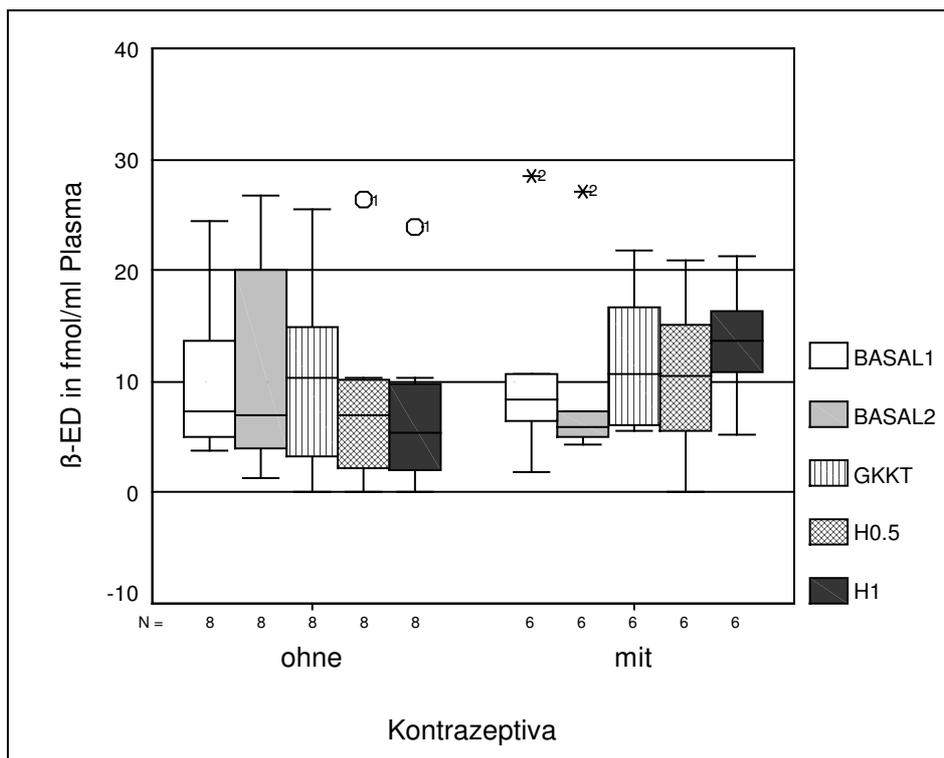
In der Gruppe mit Follikelphase steigen Median und Mittelwert nach der GKKT deutlich an, wobei die dazugehörigen Standardabweichungen ebenfalls groß sind.

Bei der Vergleichsgruppe in Lutealphase ist erst zum Zeitpunkt H0.5 ein Anstieg zu beobachten, der nach weiteren 30 Minuten rückläufig ist.

Die Wertdifferenzen sind nicht signifikant.

### 3.4. Plasmaspiegel in Abhängigkeit von der Variable „orale Kontrazeptiva“

#### 3.4.1. $\beta$ -ED IRM



**Abb. 3.9.:**  $\beta$ -ED IRM Plasmaspiegel in Abhängigkeit von Kontrazeptiva  
Friedman-Test:  $p_{\text{ohne}}=0,308$   $p_{\text{mit}}=0,209$

Kontrazeptiva		BASAL1	BASAL2	GKKT	H0.5	H1
ohne	Median	7,28	6,93	10,33	7,04	5,31
	Mittelwert	10,03	11,26	10,30	8,15	7,28
	Standardabweichung	7,06	9,64	8,40	8,31	7,72
	Minimum	3,77	1,36	0,00	0,14	0,00
	Maximum	24,45	26,73	25,47	26,33	24,00
mit	Median	8,42	5,90	10,60	10,54	13,68
	Mittelwert	10,73	9,27	11,87	10,46	13,48
	Standardabweichung	9,24	8,79	6,37	7,59	5,53
	Minimum	1,83	4,28	5,55	0,08	5,25
	Maximum	28,60	27,11	21,85	20,99	21,25

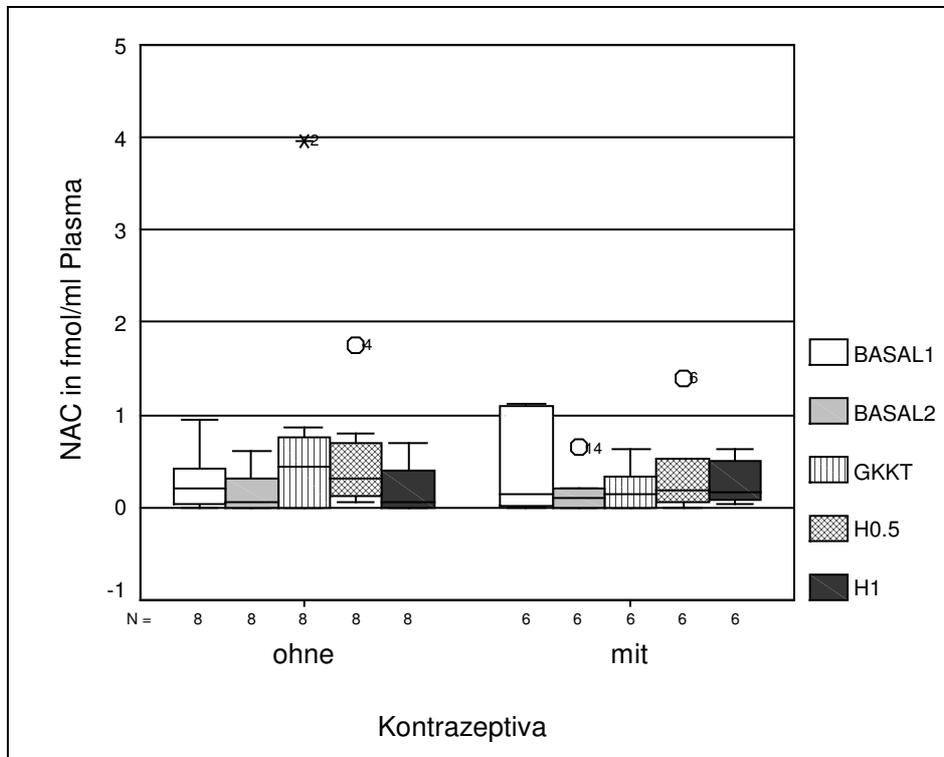
**Tabelle 3.9.:**  $\beta$ -ED IRM in Abhängigkeit von Kontrazeptiva

Bei der Subgruppe ohne Kontrazeptiva verhalten sich Median und Mittelwert unterschiedlich. Der Median steigt zum Zeitpunkt GKKT. Schon nach 30 Minuten liegt der  $\beta$ -ED IRM Plasmaspiegel wieder im Bereich der Basalwerte und fällt nach 60 Minuten noch weiter ab. Der Mittelwert dagegen bleibt bis GKKT unverändert und fällt nach 30 Minuten und 60 Minuten unterhalb der Basalwerte.

Im Vergleich dazu liegen bei der Gruppe mit Kontrazeptiva alle Werte ab dem Zeitpunkt GKKT über den zwei Ausgangswerten, wobei der H1-Wert am größten ist.

Die Bewegungen des  $\beta$ -ED IRM sind nicht signifikant

3.4.2. NAC IRM



**Abb. 3.10.:** NAC IRM Plasmaspiegel in Abhängigkeit von Kontrazeptiva  
 Friedman-Test:  $p_{\text{ohne}}=0,103$      $p_{\text{mit}}=0,397$

Kontrazeptiva		BASAL1	BASAL2	GKKT	H0.5	H1
ohne	Median	0,22	0,07	0,45	0,31	0,06
	Mittelwert	0,29	0,17	0,79	0,51	0,19
	Standardabweichung	0,32	0,23	1,32	0,57	0,27
	Minimum	0,00	0,00	0,00	0,05	0,00
	Maximum	0,95	0,61	3,96	1,76	0,69
mit	Median	0,14	0,09	0,15	0,18	0,17
	Mittelwert	0,42	0,17	0,21	0,39	0,26
	Standardabweichung	0,54	0,24	0,25	0,53	0,24
	Minimum	0,00	0,00	0,00	0,00	0,04
	Maximum	1,11	0,64	0,64	1,39	0,63

**Tabelle 3.10.:** NAC IRM in Abhängigkeit von Kontrazeptiva

In der Gruppe ohne Kontrazeptiva übersteigen Median und Mittelwert zu den Zeitpunkten GKKT und H0.5 die der zwei Basalwerte. Die Standardabweichung von GKKT und H0.5 sind am größten. Zum Zeitpunkt H1 fallen die Werte in den Bereich von BASAL2 ab. Somit verläuft der isolierte Wertanstieg des NAC zum Zeitpunkt GKKT in der Gruppe ohne Kontrazeptiva parallel zum Anstieg des  $\beta$ -ED IRM in der gleichen Subgruppe.

In der Gruppe mit Kontrazeptiva liegen alle Mediane nach GKKT knapp oberhalb der zwei Ausgangswerte. Dagegen liegen die Mittelwerte alle unterhalb des Basal1-Wertes. Es liegt keine Signifikanz vor.

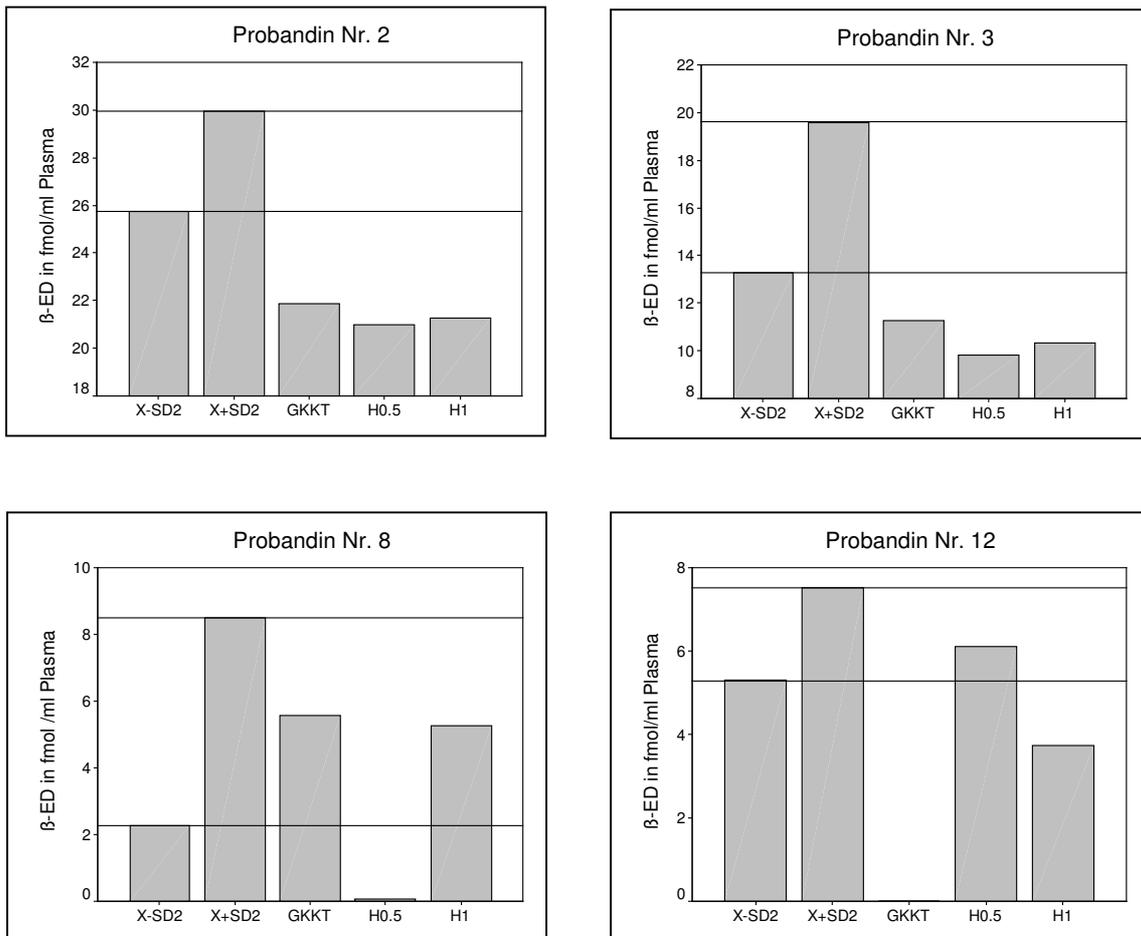
### 3.5. Einteilung der Probandinnen in Respondergruppen

X= Mittelwert beider Basalwerte

SD2= gemittelte doppelte Standardabweichung beider Basalwerte

Probandinnen mit Messwerten ab dem Zeitpunkt GKKT, die ober- bzw. unterhalb der doppelten Standardabweichung (SD2) beider Basalwerte lagen, wurden als Responder definiert.

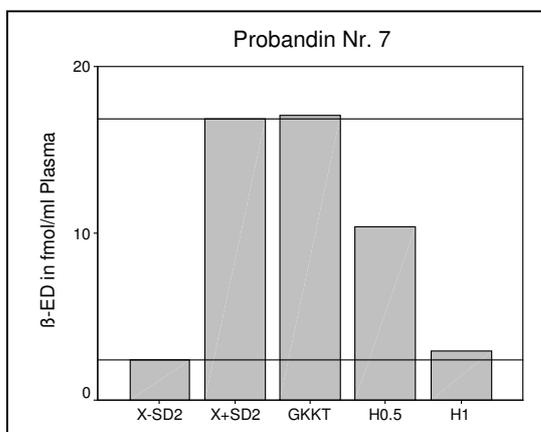
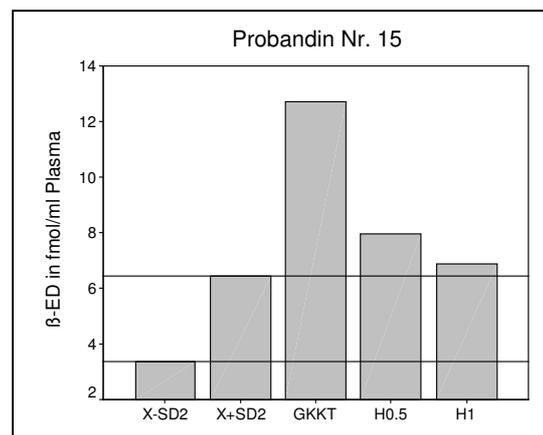
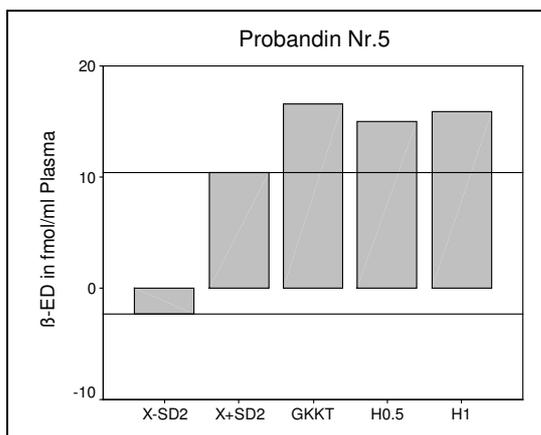
#### 3.5.1. Abfall des $\beta$ -ED IRM nach der GKKT

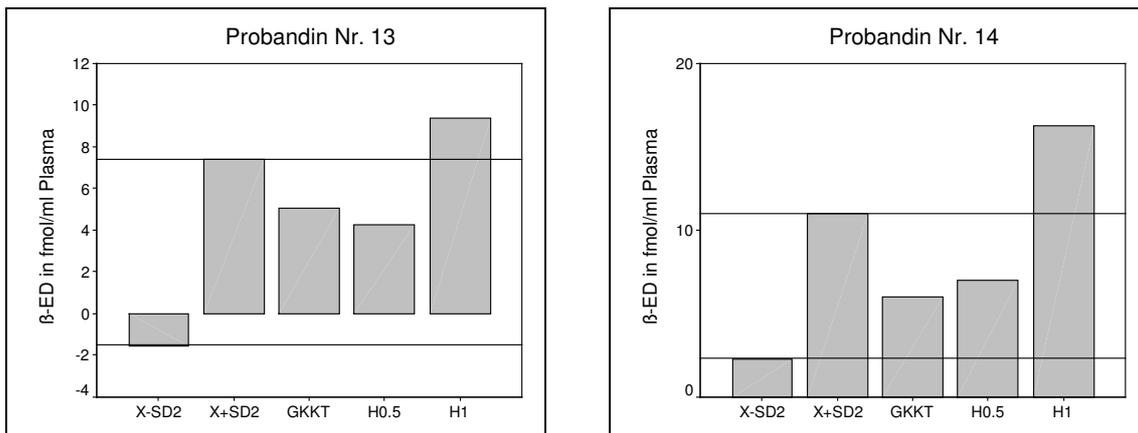


**Abb. 3.11.:** Abfall des  $\beta$ -ED IRM nach der GKKT

Nur bei vier Probandinnen lässt sich ein Abfall des  $\beta$ -ED IRM während des Untersuchungszeitraumes nachweisen, dabei ist bei zwei Probandinnen zu allen drei Zeitpunkten nach der GKKT ein Abfall des  $\beta$ -ED IRM zu beobachten. Bei den zwei anderen Untersuchungspersonen fällt der  $\beta$ -ED IRM Spiegel zu unterschiedlichen Zeitpunkten ab: bei Probandin Nr.8 nach 30 Minuten, bei Probandin Nr.12 direkt nach der GKKT und nach 60 Minuten.

### 3.5.2. Anstieg des $\beta$ -ED IRM nach der GKKT

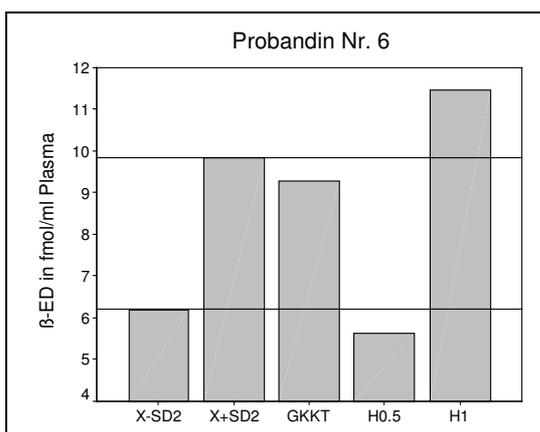




**Abb. 3.12.:** Anstieg des  $\beta$ -ED IRM nach der GKKT

Bei fünf Probandinnen ist ein Anstieg des  $\beta$ -ED IRM nach der GKKT nachweisbar. Bei zwei Probandinnen zeigt sich zu allen drei Zeitpunkten ein Anstieg, bei zwei weiteren Probandinnen ist ein Anstieg erst nach einer Stunde messbar. Bei Probandin Nr.7 ist direkt nach der GKKT ein geringgradiger Anstieg zu beobachten.

### 3.5.3. Sowohl Abfall als auch Anstieg des $\beta$ -ED IRM nach der GKKT

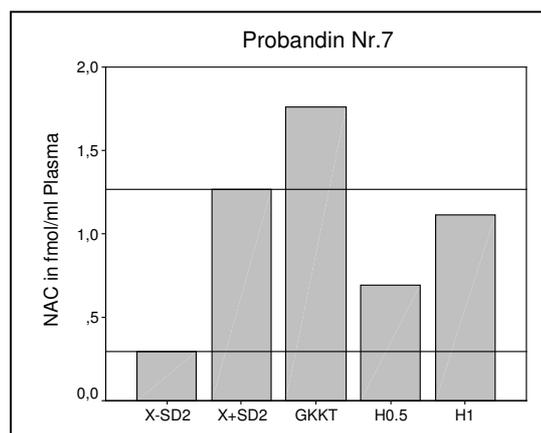
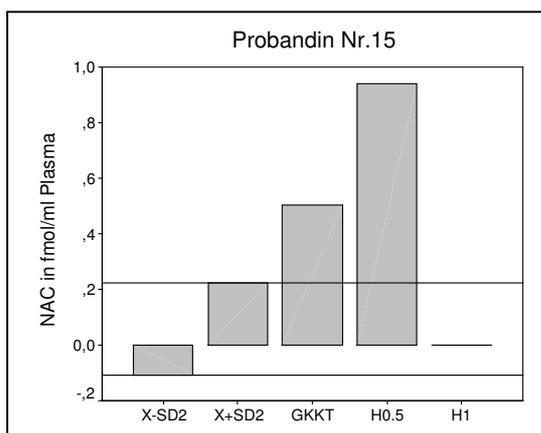
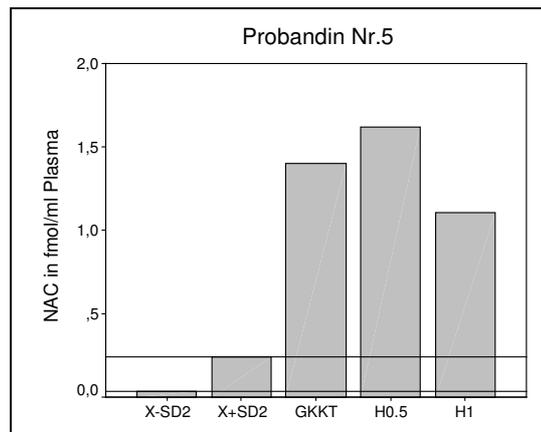
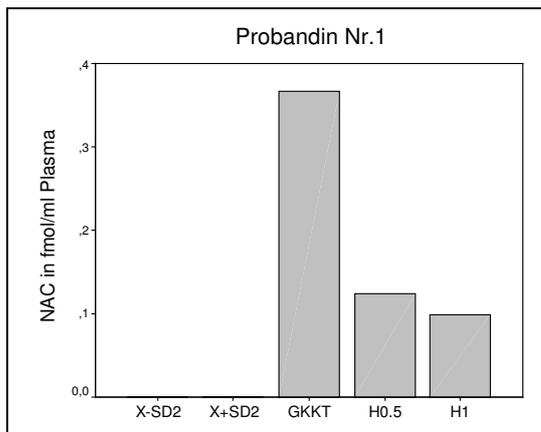


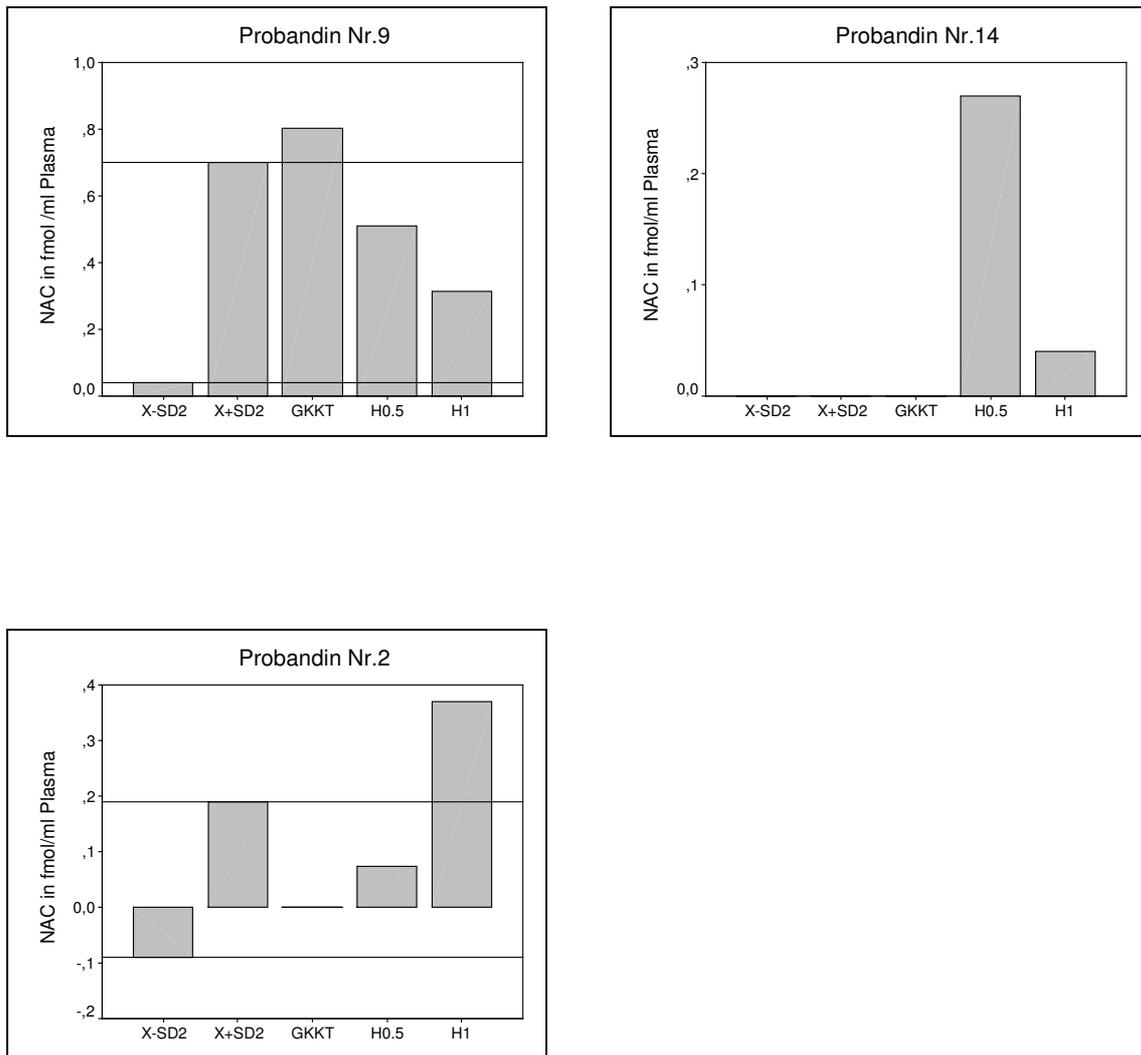
**Abb. 3.13.:** Sowohl Abfall als auch Anstieg des  $\beta$ -ED IRM nach der GKKT

Bei dieser Probandin fällt zuerst nach 30 Minuten der  $\beta$ -ED IRM Spiegel ab, nach 60 Minuten steigt er über die obere Standardabweichungsgrenze an.

### 3.5.4. Anstieg des NAC IRM nach der GKKT

Bei sieben Probandinnen ist ein Anstieg des NAC IRM Spiegels während des Untersuchungszeitraumes zu beobachten, wobei bei fünf Probandinnen der GKKT-Wert betroffen ist. Jedoch sehen die Verläufe insgesamt unterschiedlich aus.

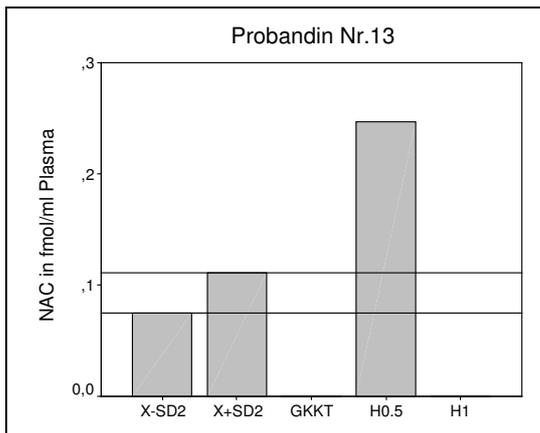




**Abb. 3.14.:** Anstieg des NAC IRM nach der GKKT

### 3.5.5. Sowohl Abfall als auch Anstieg des NAC IRM nach der GKKT

Bei dieser Probandin steigt der NAC IRM Spiegel nach 30 Minuten an, wobei der vorausgehende und nachfolgende Messwert unterhalb der Nachweisgrenze liegt.



**Abb. 3.15.:** Sowohl Abfall als auch Anstieg des NAC IRM nach der GKKT

3.5.6. Synchronizität des  $\beta$ -ED IRM und des NAC IRM im Verlauf

Nur bei Probandin Nr. 5 steigen beide Spiegel parallel an. Bei zwei weiteren Probandinnen erfolgt der Anstieg des  $\beta$ -ED IRM Spiegels nach dem des NAC IRM.

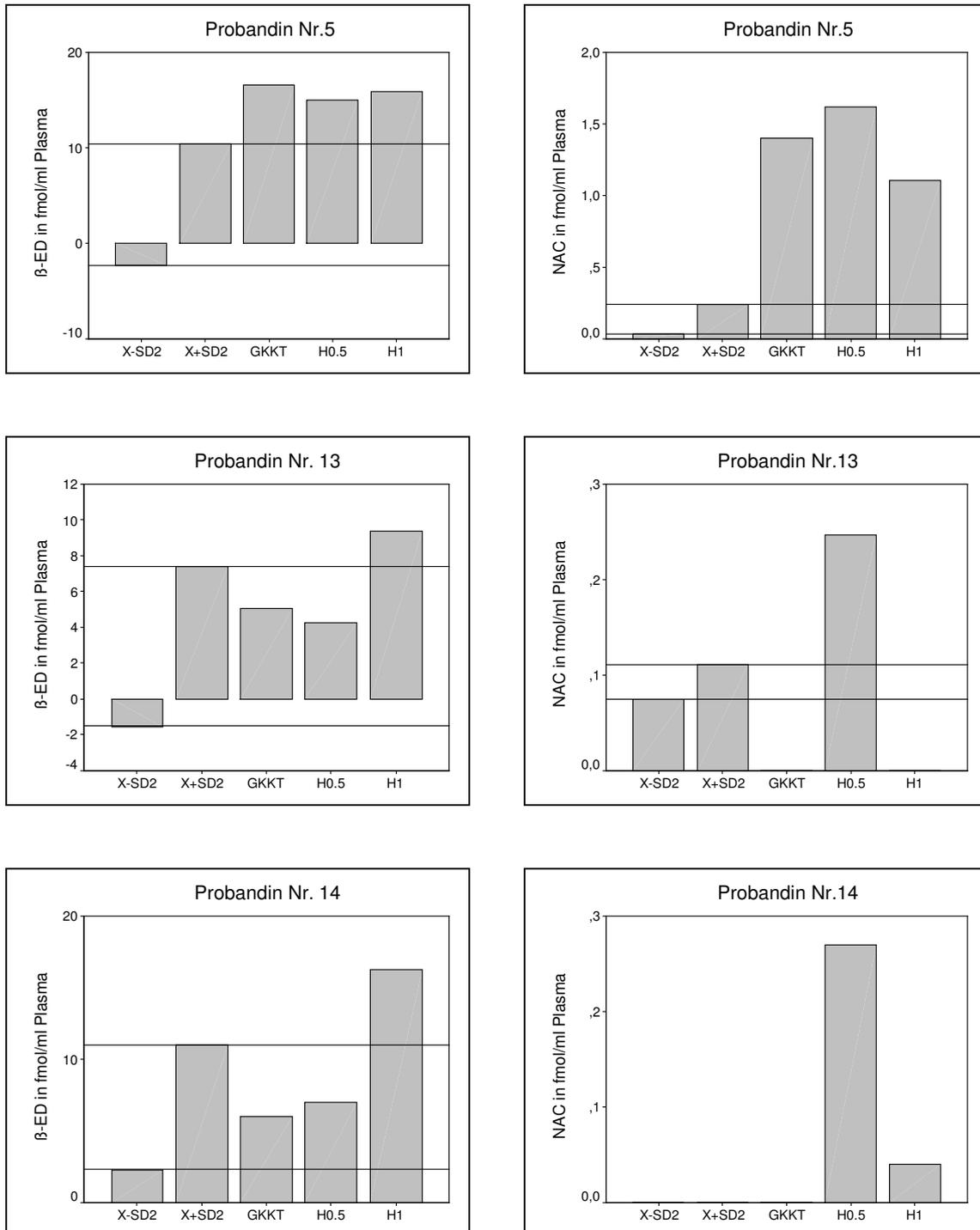
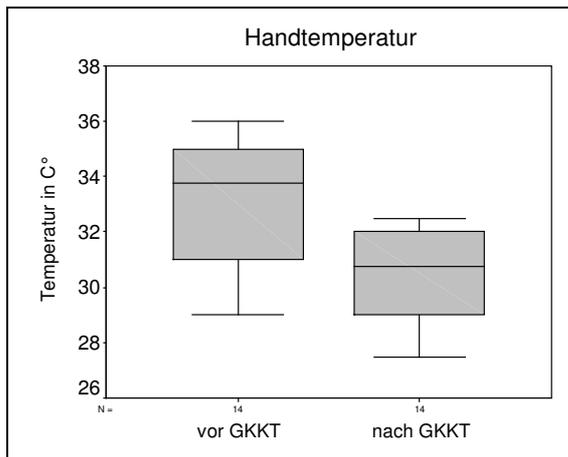


Abb. 3.16.: Synchronizität des  $\beta$ -ED IRM und des NAC IRM im Verlauf

### 3.6. Physiologische Parameter

#### 3.6.1. Temperatur

##### 3.6.1.1. Handtemperatur

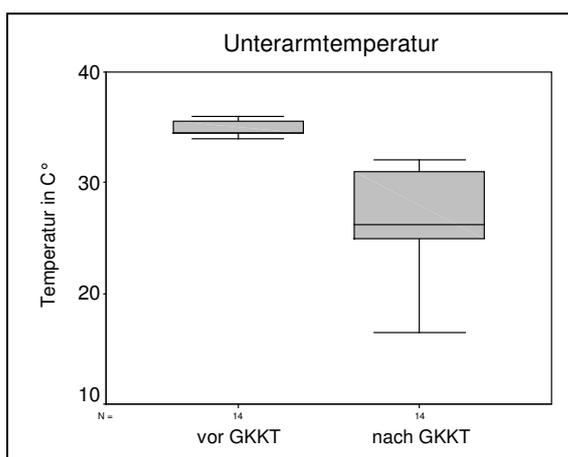


Der Mittelwert der Handtemperatur vor der GKKT beträgt 33,25°C (SD2,24), nach der GKKT 30,54°C (SD 1,59). Die Temperatur fällt um 8,9% ab.

**Abb. 3.17.:** Handtemperatur

Wilcoxon  $p=0,001$

##### 3.6.1.2. Unterarmtemperatur

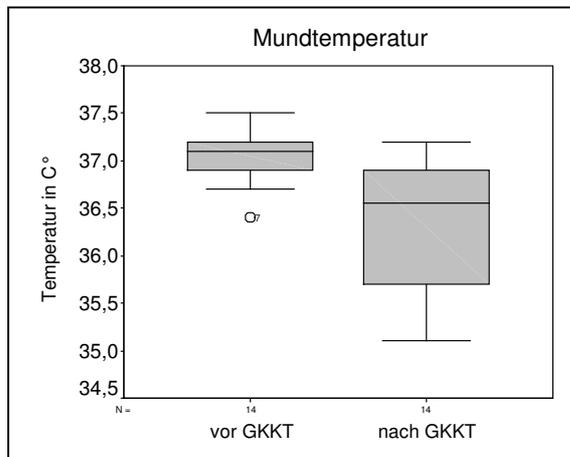


Der Mittelwert beträgt in der Ellenbeuge vor der GKKT 34,75°C (SD 0,64). Nach der Kältetherapie fällt die Temperatur um 25,2% auf 26°C (SD 4,84) signifikant ab.

**Abb. 3.18.:** Unterarmtemperatur

Wilcoxon  $p=0,001$

### 3.6.1.3. Mundtemperatur



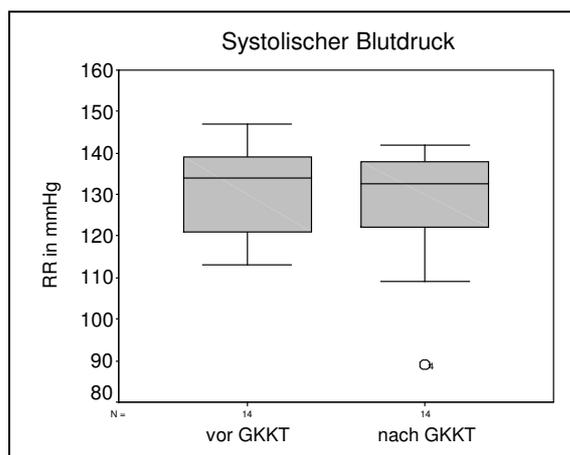
Vor der GKKT beträgt die Temperatur in der Mundhöhle im Mittel  $37,04^{\circ}\text{C}$  (SD 0,29), nach der GKKT ist eine Temperatur von  $36,32^{\circ}\text{C}$  (SD 0,69) nachzuweisen. Der Temperaturabfall beträgt nur 2% und ist mit  $p=0,003$  signifikant.

**Abb. 3.19.:** Mundtemperatur

Wilcoxon  $p=0,003$

### 3.6.2. Blutdruck

#### 3.6.2.1. Systolischer Blutdruck

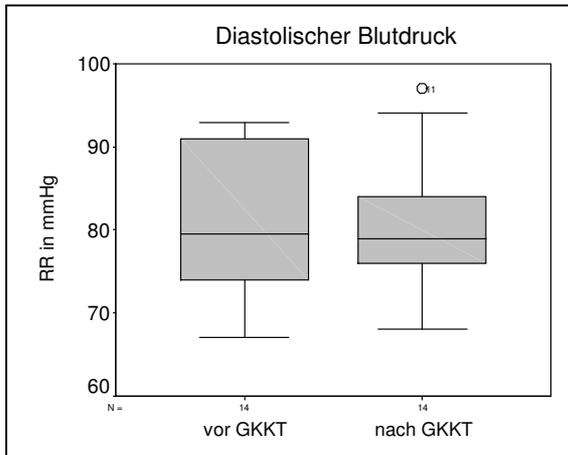


Der systolische RR verändert sich mit einem Mittelwert von  $130,93$  mmHg (SD 11,57) vor der GKKT und  $127,5$  mmHg (SD 14,84) nach der GKKT nicht signifikant.

**Abb. 3.20.:** Systolischer Blutdruck

Wilcoxon  $p=0,528$

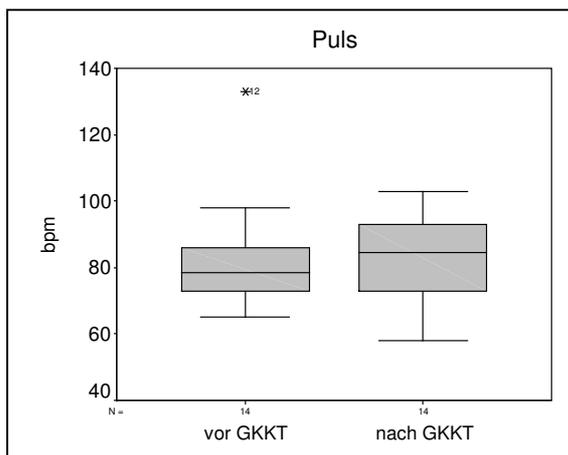
## 3.6.2.2. Diastolischer Blutdruck



Der diastolische RR bleibt mit einem Mittelwert von 81,43 mmHg (SD 9,26) vor der GKKT und 80,21 mmHg (SD 8,76) nach der GKKT nahezu konstant.

**Abb. 3.21.:** Diastolischer Blutdruck

Wilcoxon  $p=0,624$

3.6.3. Puls

Der Puls bleibt ebenfalls von der Ganzkörperkältetherapie unbeeinflusst mit einem Mittelwert von 83 bpm (SD 16,82) vor der GKKT und 83,5 bpm (SD 14,14) nach der GKKT.

**Abb. 3.22.:** Puls

Wilcoxon  $p=0,660$

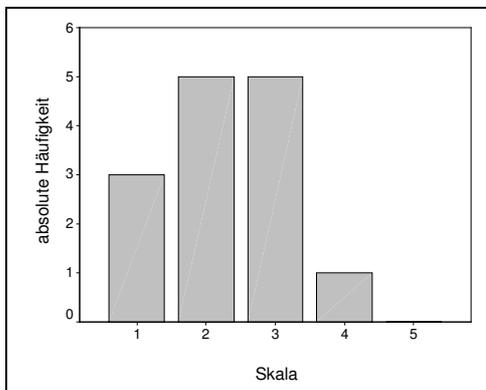
### 3.7. Psychologische Parameter

#### 3.7.1. Auswertung des Fragebogens

Die Fragen wurden mit Hilfe einer Werteskala von 1 (gar nicht) bis 5 (sehr) beantwortet.

In den Balkendiagrammen wird die absolute Häufigkeit eines Skalenwertes auf der y-Achse gegen die Skala von 1-5 auf der x-Achse eingetragen. Daneben werden der Median und tabellarisch die relative Häufigkeit eines Skalenwertes aufgeführt.

1.) Waren Sie aufgeregt, bevor Sie in die Kältekammer gingen?

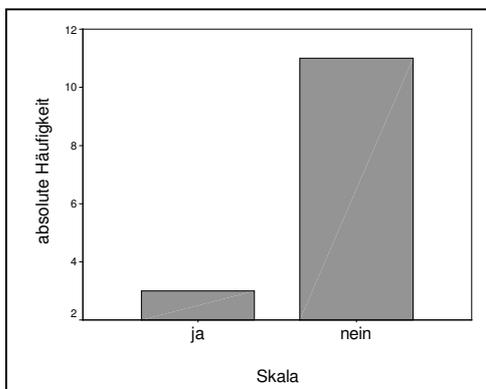


Skala	relative Häufigkeit
1=gar nicht	21%
2	36%
3	36%
4	7%
5=sehr	0%
Gesamt: N=14	100%

**Abb. 3.23.**

Median=2

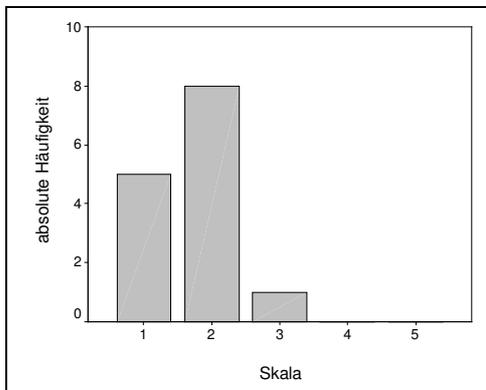
2.) Hatten Sie irgendwelche Bedenken vor der Kältetherapie?



Skala	relative Häufigkeit
ja	21%
nein	79%
Gesamt: N=14	100%

**Abb. 3.24.**

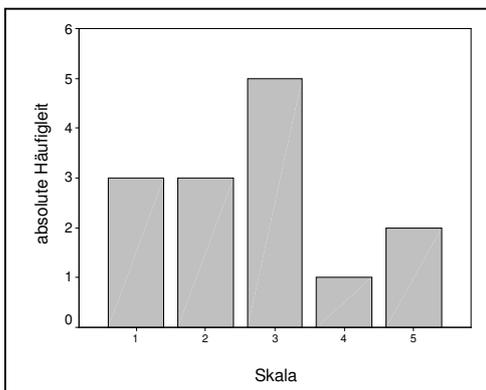
3.) Empfanden Sie die Enge in der Kältekammer als unangenehm oder bedrückend?



Skala	relative Häufigkeit
1=gar nicht	36%
2	57%
3	7%
4	0%
5=sehr	0%
Gesamt: N=14	100%

**Abb. 3.25.**  
Median=2

4.) War die Kälte unangenehm?



Skala	relative Häufigkeit
1=gar nicht	21%
2	21%
3	37%
4	7%
5=sehr	14%
Gesamt: N=14	100%

**Abb. 3.26.**  
Median=3

5.) Wie fühlen Sie sich jetzt nach der Kältekammertherapie im Vergleich zu vorher?

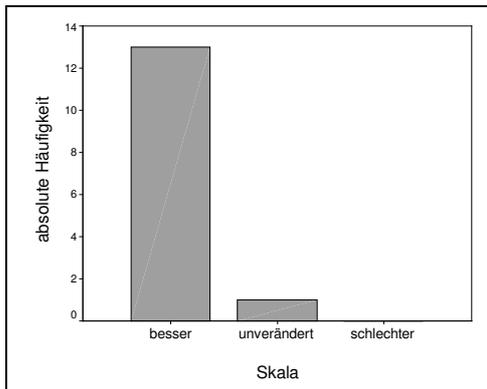


Abb. 3.27.

Skala	relative Häufigkeit
besser	93%
unverändert	7%
schlechter	0%
Gesamt:	100%

5a.) frischer

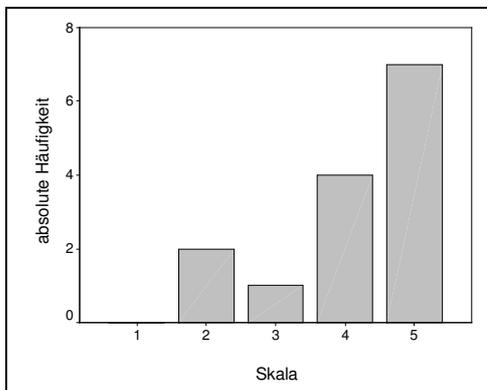


Abb. 3.28.  
Median=4,5

Skala	relative Häufigkeit
1=gar nicht	0%
2	14%
3	7%
4	29%
5=sehr	50%
Gesamt: N=14	100%

5b.) körperlich fitter

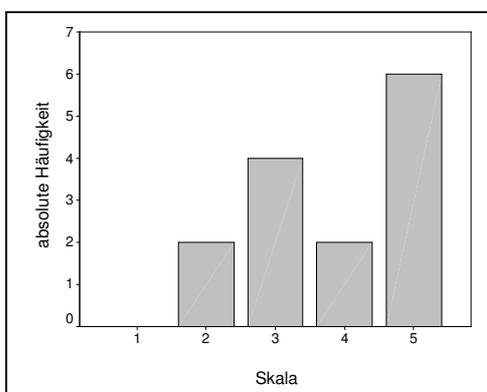
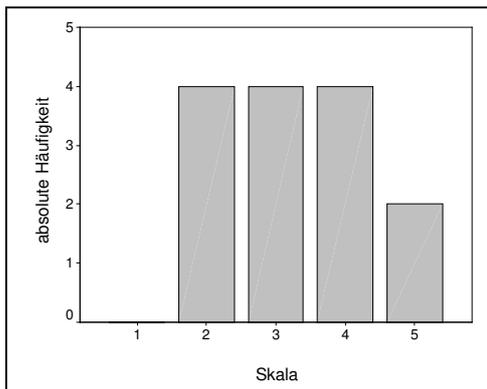


Abb. 3.29.  
Median=4

Skala	relative Häufigkeit
1=gar nicht	0%
2	14%
3	29%
4	14%
5=sehr	43%
Gesamt: N=14	100%

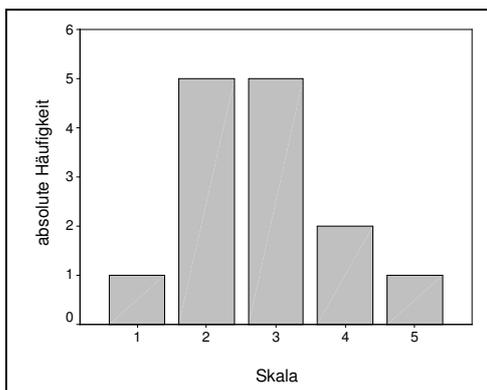
## 5c.) allgemein leistungsfähiger



**Abb. 3.30.**  
Median=3

Skala	relative Häufigkeit
1=gar nicht	0%
2	28,3%
3	28,3%
4	28,3%
5=sehr	14%
Gesamt: N=14	100%

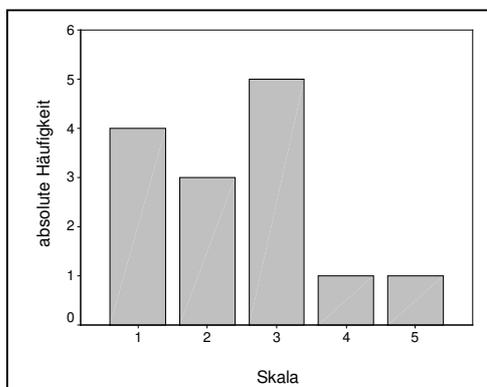
## 5d.) fröhlicher, heiterer



**Abb. 3.31.**  
Median=3

Skala	relative Häufigkeit
1=gar nicht	7%
2	36%
3	36%
4	14%
5=sehr	7%
Gesamt: N=14	100%

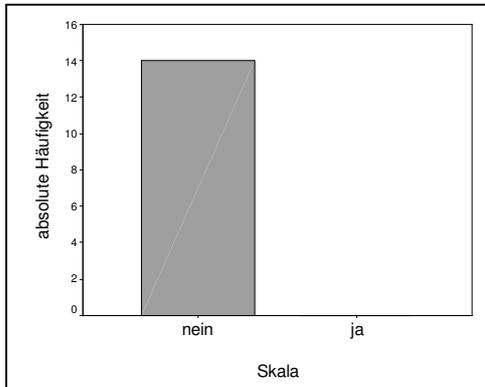
## 6.) Sind Sie froh oder erleichtert, die Kältetherapie hinter sich zu haben?



**Abb. 3.32.**  
Median=2,5

Skala	relative Häufigkeit
1=gar nicht	29%
2	21%
3	36%
4	7%
5=sehr	7%
Gesamt: N=14	100%

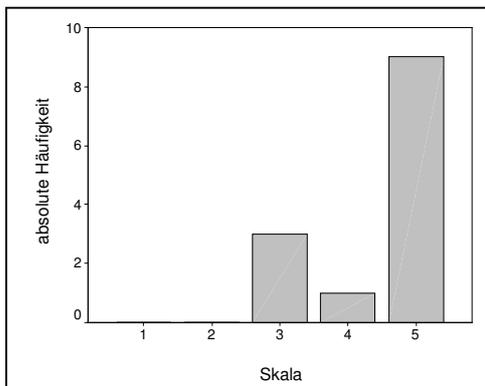
7.) Haben Sie irgendwelche Beschwerden während oder nach der Kältekammertherapie bekommen?



Skala	relative Häufigkeit
nein	100%
ja	0%
Gesamt: N=14	100%

**Abb. 3.33.**

8.) Würden Sie freiwillig noch einmal in die Kältekammer gehen?



Skala	relative Häufigkeit
1=gar nicht	0%
2	0%
3	23%
4	8%
5=sehr	69%
Gesamt: N=14	100%

**Abb. 3.34.**  
Median=5

## IV Diskussion

### 4.1. $\beta$ -Endorphin-immunoreaktives Material ( $\beta$ -ED IRM)

#### 4.1.1. Nachweisbarkeit des $\beta$ -ED IRM

In dieser Studie sollte mit Hilfe eines Radioimmunoassays der Frage nachgegangen werden, ob die GKKT zu einer Veränderung des  $\beta$ -ED IRM Plasmaspiegels führt, um möglicherweise einen Anhaltspunkt zur Erklärung des Analgesiemechanismus der GKKT zu erhalten.

Der Radioimmunoassay ist ein etabliertes Verfahren zur quantitativen Bestimmung des  $\beta$ -ED IRM und anderer POMC-Derivate. Mit Hilfe eines eingesetzten Antikörpers können strukturelle Eigenschaften von Proteinen erkannt und sie dadurch einer quantitativen Erfassung zugänglich gemacht werden. Dabei muss ein Sachverhalt näher betrachtet werden: Aufgrund identischer Aminosäuresequenzen in unterschiedlichen Proteinen können Kreuzreaktivitäten der Antiseren auftreten, so dass außer der zu bestimmenden Substanz noch weitere Proteine in die Messung eingehen. So können neben dem authentischen  $\beta$ -Endorphin (1-31) seine Fragmente,  $\beta$ -Endorphin (1-27), (1-26), (1-17) und (1-16) sowie seine N-acetylierten Formen miterfasst werden.  $\beta$ -Endorphin weist strukturelle Ähnlichkeiten zum  $\beta$ -LPH auf, wobei das  $\beta$ -LPH um ein Vielfaches mehr im Plasma vorzufinden ist. Laut Literatur soll das Verhältnis von  $\beta$ -LPH zu  $\beta$ -Endorphin 5-fach bis 18-fach, je nach Arbeitsgruppe, erhöht sein (Frederickson et al. 1982). Daher messen die meisten Assays ein Gemisch aus  $\beta$ -LPH und  $\beta$ -Endorphin-Fragmenten, so dass das  $\beta$ -ED IRM nicht mit dem authentischen  $\beta$ -Endorphin (1-31) identisch ist (McLoughlin 1993). Es kann sogar sein, dass es sich beim sogenannten  $\beta$ -ED IRM nicht einmal um POMC-Abkömmlinge handelt (Teschemacher et al. 1990, van Woudenberg et al 1993). Je nach eingesetztem Antiserum können unterschiedliche Plasmaspiegel des  $\beta$ -ED IRM ermittelt werden, was nicht nur zu quantitativen Differenzen, sondern auch zu Diskrepanzen, wie sie bei den Vorläuferstudien vorliegen, führen kann. Zur Bestimmung des authentischen  $\beta$ -Endorphins (1-31) wurde von der Arbeitsgruppe um Herrn Prof. Teschemacher, Rudolf-

Buchheim-Institut für Pharmakologie der Universität Gießen, ein hochspezifischer RIA entwickelt, der nicht kreuzreagiert mit anderen  $\beta$ -Endorphin Derivaten oder bis jetzt getesteten Opioidpeptiden (Harbach et al. 2000, Schulz et al. 2000).

In dieser Studie war über den gesamten Untersuchungszeitraum keine signifikante Veränderung des  $\beta$ -ED IRM im Plasma zu beobachten, so dass davon ausgegangen werden kann, dass die GKKT keinen einschneidenden Einfluss auf den von mir bestimmten  $\beta$ -ED IRM Plasmaspiegel ausübt. Ebenso lässt dieses Ergebnis den weiteren Schluss zu, dass sich ebenfalls die Konzentration des authentischen  $\beta$ -Endorphins (1-31) während des gesamten Untersuchungszeitraumes nicht verändert hat, so dass auf die Bestimmung des authentischen  $\beta$ -Endorphins (1-31) verzichtet wurde. Der Anteil des authentischen  $\beta$ -Endorphins (1-31) am  $\beta$ -ED IRM ist sehr gering. In zwei Untersuchungen konnte er nur zu einem geringen Prozentsatz bei Sportlern nach einer körperlichen maximalen Leistung und signifikant erhöhtem  $\beta$ -ED IRM Plasmaspiegel nachgewiesen werden. So betrug der Anteil der positiven Plasmaproben in einer Untersuchung nur 50%, wobei der Anteil des  $\beta$ -Endorphins (1-31) am  $\beta$ -ED IRM nur 10-30% betrug (Harbach et al. 2000). In einer anderen Versuchsreihe konnten nur in 2 von 23 Plasmaproben das authentische  $\beta$ -Endorphin (1-31) knapp oberhalb der Nachweisgrenze von 5.5 fmol/ml Plasma gemessen werden (Schulz et al. 2000). Diese geringe Wahrscheinlichkeit, das authentische  $\beta$ -Endorphin (1-31) im  $\beta$ -ED IRM nachzuweisen, unterstützte die Entscheidung, diesen Nachweis nicht durchzuführen.

#### 4.1.2. $\beta$ -ED IRM Plasmaspiegel im Vergleich zu Vorläuferuntersuchungen

In den drei Vorläuferstudien im Zusammenhang von  $\beta$ -ED IRM mit der GKKT ist sowohl ein Anstieg bei Rheumapatienten und gesunden Probanden (Zagobelnny et al. 1992, Zagobelnny et al. 1993) als auch ein Abfall des  $\beta$ -ED IRM Plasmaspiegels bei gesunden Versuchspersonen (Stratz et al. 1991) nach der GKKT beobachtet worden. Zagobelnny et al. haben kommerziell erwerbliche Kits von Upjohn (Zagobelnny et al. 1992) und Du pont (Zagobelnny et al. 1993) eingesetzt. Bei Stratz et al. wurde der

Nachweis ebenfalls radioimmunologisch erbracht, jedoch werden dazu keine näheren Angaben gemacht.

Die Messwerte sind in pg/ml angegeben und können durch Multiplikation mit dem Faktor 1/3,564 fmol/ml in fmol/ml umgerechnet werden.

Aufgrund der Verwendung unterschiedlicher Antiseren sind die Messwerte jedoch nicht direkt miteinander vergleichbar.

Bei Zagrobelny et al. (1993) beträgt der Mittelwert des  $\beta$ -ED IRM Plasmaspiegels bei 18 gesunden Frauen direkt vor der GKKT 5,7 fmol/ml ( $\pm$ 0,6 fmol/ml) und steigt nach 30 Minuten auf 8,3 fmol/ml ( $\pm$  1,09 fmol/ml). Der Anstieg beträgt im Mittel 145 %.

In meiner Studie bleibt der Mittelwert des  $\beta$ -ED IRM über den gesamten Untersuchungszeitraum recht konstant um 10,16 fmol/ml. Die Standardabweichung ist ebenfalls stabil bei 7,85 fmol/ml. Lediglich der Median schwankt: Der maximale Wert findet sich nach GKKT mit 10,33 fmol/ml. Dies bedeutet einen Anstieg ausgehend von dem Basalwert 1 mit 8,36 fmol/ml von 124 % und ausgehend von dem Basalwert 2 mit 6,55 fmol/ml einen Anstieg von 158 %. Dieser Anstieg ist nach dem Friedman Test mit  $p=0,321$  jedoch nicht signifikant. Der Median nach 30 Minuten, der Vergleichswert zur Zagrobelnys Studie, liegt mit 7,47 fmol/ml zwischen beiden Basalwerten. Bei Betrachtung der  $\beta$ -ED IRM Plasmaspiegel der einzelnen Probanden und nach Einteilung in Responder und Non-Respondergruppen fallen keine synchron verlaufenden, gehäuft auftretenden Veränderungen hinsichtlich des Zeitpunktes oder der Richtung (Zu- oder Abnahme) auf. Diese interindividuell unterschiedlichen Verläufe des  $\beta$ -ED IRM Plasmaspiegels können nicht einheitlich durch die GKKT erklärt werden. Diese nicht systematischen Schwankungen des  $\beta$ -ED IRM Plasmaspiegels können auf viele darauf Einfluss nehmende Variablen zurückzuführen sein, deren Klärung es noch bedarf, aber in diesem Rahmen nicht erbracht werden kann.

Eine Erklärungsmöglichkeit besteht im circadianen Rhythmus und der pulsatilen Sekretion der POMC-Abkömmlinge in der Hypophyse, wodurch es abhängig von der pulsatilen Freisetzung und vom Zeitpunkt der Blutabnahme zu interindividuellen

Schwankungen kommen kann, die nicht auf äußere Umstände zurückzuführen sind. Dies könnte das Oszillieren der  $\beta$ -ED IRM Werte bei einzelnen Probanden erklären. Ebenso kann ein stetiger Abfall des  $\beta$ -ED IRM Wertes über den gesamten Untersuchungszeitraum, wie er bei Stratz und bei meinen zwei Kontrollpersonen zu beobachten ist, als physiologisch betrachtet werden, denn der maximale Wert findet sich am frühen Morgen und fällt zum späten Nachmittag auf seinen Tiefpunkt.

Ein fehlender Anstieg des  $\beta$ -ED IRM nach der GKKT ist konkordant zu dem fehlenden Anstieg des ACTH nach GKKT (Fricke L et al.1988), da ACTH und  $\beta$ -Endorphin kosezerniert werden.

Schwankungen des  $\beta$ -ED IRM Wertes können nicht nur durch eine zentrale Sekretion des  $\beta$ -Endorphins und seiner Derivate verursacht sein, sondern auch durch Freisetzung von  $\beta$ -ED IRM aus multiplen peripheren Quellen hervorgerufen werden.

Zusätzlich zu dem zentralen Expressionort des POMC-Gens, der Hypophyse, gibt es zahlreiche peripher gelegene Zellen und Organe, die zur Sekretion von POMC-Fragmenten befähigt sind.

Beim Nachweis von  $\beta$ -ED IRM im Plasma können daher keine sicheren Aussagen über die Herkunft des  $\beta$ -ED IRM getroffen werden.

Zu den peripheren Quellen gehören die Erythrozyten, die einen großen Pool an immunoreaktivem Material aufweisen (Teschmacher et al.1990). Auch immunkompetente Zellen, wie die Lymphozyten, Makrophagen und Mastzellen, enthalten immunreaktives Material. Ebenso gehören Geschlechtsorgane, wie die Hoden, Nebenhoden und Samenblasen, das Ovar und die Plazenta, zu den immunoreaktivem Material produzierenden Organen (Teschmacher 2003).

Aufgrund der multiplen Quellen für die Freisetzung von POMC-Abkömmlingen ist das  $\beta$ -ED IRM kein zuverlässiger Indikator für Aussagen über ein bestimmtes Trigger-Effektor-System (Teschmacher et al.1990). Dieser Sachverhalt lässt daher nicht unweigerlich den Schluss zu, dass eine Veränderung des  $\beta$ -ED IRM Plasmaspiegels in zeitlicher Nähe zu einem äußeren Reiz hin eine Reaktion auf diesen Reiz darstellt,

zumal, wie in der vorliegenden Studie, keine systematischen Veränderungen zu erkennen sind.

Das  $\beta$ -ED IRM im Plasma zeigt im gesamten Verlauf keine signifikante Veränderung. Dies lässt vermuten, dass die GKKT keinen Reiz zur vermehrten Ausschüttung von  $\beta$ -Endorphin-Derivaten und/oder  $\beta$ -ED IRM darstellt. Weiterhin lässt sich schlussfolgern, dass das authentische  $\beta$ -Endorphin (1-31), das als einziges analgetisch wirkt, nicht vermehrt sezerniert wird. Daher kann das  $\beta$ -Endorphin (1-31) nicht an dem Prozess der Analgesierung mitbeteiligt sein.

## **4.2. N-acetyl- $\beta$ -Endorphin-immunoreaktives Material (NAC IRM)**

### **4.2.1. Nachweisbarkeit des NAC IRM**

Neben der Bestimmung des  $\beta$ -ED IRM im Plasma, wodurch indirekt das hypophysäre corticotrophe System auf Freisetzung von  $\beta$ -Endorphin Derivaten nach GKKT untersucht werden sollte, wurde zusätzlich in dieser Studie der Frage nachgegangen, ob das hypophysäre melanotrophe System durch die GKKT beeinflusst wird.

Mit Hilfe des Antikörpers P27 kann ein hoch spezifischer RIA zur Bestimmung des N-acetyl- $\beta$ -Endorphins durchgeführt werden, weil er nur die N-acetylierten-Termini von  $\beta$ -Endorphin und seinen Derivaten erkennt. Da die Freisetzung des N-acetyl- $\beta$ -Endorphins und seiner acetylierten Derivate aus dem hypophysären melanotrophen System erfolgt, kann die Aktivität dieses Systems mit Hilfe des speziellen RIAs überprüft werden.

#### 4.2.2. NAC IRM im Verlauf

Es gibt keine Vorläuferstudien, die dieses Teilsystem im Zusammenhang mit der GKKT untersucht haben. Daher stehen keine Vergleichswerte zur Verfügung.

Die maximalen Mittelwerte und Mediane finden sich in dieser Studie zu den Zeitpunkten nach GKKT und nach 30 Minuten und fallen nach 60 Minuten in den Wertebereich der beiden Basalwerte wieder ab. Der Anstieg zu den zwei Zeitpunkten nach der GKKT ist jedoch nach dem Friedman Test mit  $p=0,089$  nicht signifikant. Der Anstieg nach der GKKT könnte als ein tendenzieller Effekt interpretiert werden, der aufgrund einer zu kleinen Stichprobe und damit einer zu geringen „power“ des Tests, also Macht oder Trennschärfe des Testverfahrens, statistisch nicht signifikant wird. Das bedeutet wiederum, dass möglicherweise die Zahl der Probanden um ein Vielfaches größer sein müsste, um dem Verfahren genug „power“ zu geben und um den Unterschied deutlicher erkennbar zu machen. Es gibt eine schnelle Methode abzuschätzen, ob ein größerer Stichprobenumfang das „power“-Problem lösen würde. Die Daten werden kopiert und die Analyse wird mit dem doppelten Datensatz durchgeführt (Glantz 1998).

Laut Friedman-Test läge dann eine Signifikanz mit  $p=0,001$  vor. Jedoch basiert die Signifikanz nur auf dem kleinen mittleren Rang von Basal1 im Vergleich zu den mittleren Rängen von GKKT und H0.5. Der mittlere Rang von Basal2 liegt aber im Bereich von denen der GKKT und H0.5 Werte, so dass die Signifikanz im ganzen kritisch zu bewerten ist.

	Mittlerer Rang
BASAL1	1,96
BASAL2	3,29
GKKT	3,36
H0.5	3,61
H1	2,79

**Tabelle 4.1.:** Rangverteilung nach dem Friedman-Test

Dieses mathematische Exempel setzt voraus, dass die zusätzlichen Daten den bereits bestehenden ähnlich sind und ist kein Ersatz für eine formelle „power“-Analyse. Jedoch

zeigt diese Rechnung, dass bei einer größeren Stichprobe nicht unbedingt mit einem deutlicheren Effekt zu rechnen ist.

### **4.3. $\beta$ -ED IRM und NAC IRM in Abhängigkeit von drei Parametern**

#### 4.3.1. $\beta$ -ED IRM und NAC IRM in Abhängigkeit vom Stress

Die Stressfaktoren, denen sich die Probandinnen in ihrem privaten Umfeld ausgesetzt sahen, wurden in dem Eingangsfragebogen nicht näher hinterfragt. Da Stress eine subjektive Wahrnehmung ist und daher einer individuellen Bewertung unterliegt, wurden die einzelnen Stressoren nicht näher klassifiziert. Nur die Tatsache, dass sich die Probandinnen in ihrer Lebenssituation gestresst fühlten, war von Interesse.

Der  $\beta$ -ED IRM Plasmaspiegel liegt bei der Teilgruppe ohne Stress im privaten Umfeld mit einem mittleren Median von 6,6 fmol/ml deutlich unterhalb dem der Vergleichsgruppe mit Stress mit einem mittleren Median von 9,9 fmol/ml. Bei den nicht gestressten Probandinnen ist ein deutlicher Anstieg sowohl des Mittelwertes (10,28 fmol/ml) als auch des Medians (9,39 fmol/ml) nach der GKKT zu beobachten. Dagegen bleiben die Werte in der Vergleichsgruppe über den gesamten Untersuchungszeitraum mit Ausnahme des 2. Basalwertes (6,79 fmol/ml) annähernd konstant.

Die erhöhten Ausgangswerte in der Gruppe mit Stress können dadurch erklärt werden, dass psychische und physische Stressoren vermehrt zur Freisetzung von  $\beta$ -Endorphin bzw. POMC Abkömmlingen führen (Teschemacher 2003). Da allein der GKKT-Wert in der Teilgruppe ohne Stress ansteigt, liegt die Vermutung nahe, dass Probanden ohne Stress sensibler auf Stressoren, wie z.B. Außenreize durch die GKKT, reagieren bzw. eine niedrigere Stressschwelle aufweisen als die gestressten Versuchsteilnehmerinnen.

Der NAC Plasmaspiegel steigt in der Gruppe ohne Stress nach der GKKT an und fällt im weiteren Verlauf auf die Größenordnung der Basalwerte wieder ab. In der

Stichprobe mit Stress ist ein Anstieg nach 30 Minuten auf 0,27 fmol/ml zu verzeichnen. Die Werte zu den anderen Zeitpunkten bleiben dagegen nahezu konstant bei Null.

Sowohl das corticotrophe als auch das melanotrophe System werden bei der Gruppe ohne Stress durch die GKKT direkt danach angesprochen. Bei der Teilgruppe mit Stress ist dagegen nur im melanotropen System ein Anstieg zum Zeitpunkt H0.5 zu beobachten.

Das aus dem melanotropen System stammende NAC scheint im Gegensatz zu den aus dem corticotropen System stammenden POMC-Abkömmlingen, wie ACTH,  $\beta$ -LPH und  $\beta$ -Endorphin, nicht zu den primären „Stressrespondern“ zu gehören (Teschmacher 2003), da der Plasmaspiegel in der Stichprobe mit Stress besonders niedrig liegt. Andererseits kann sich das melanotrophe System an den chronischen Stress adaptiert haben, so dass der Plasmaspiegel niedrig bleibt und nur verzögert nach 30 Minuten auf die GKKT reagiert.

#### 4.3.2. $\beta$ -ED IRM und NAC IRM in Abhängigkeit von der Zyklusphase

Bei den Probandinnen in Follikelphase liegen die Mediane des  $\beta$ -ED IRM Plasmaspiegels mit durchschnittlich 5,79 fmol/ml auf einem deutlich niedrigeren Niveau als die der Probandinnen in Lutealphase mit 11,98 fmol/ml. Nur bei den Frauen, die sich in der zweiten Zyklushälfte befinden, ist ein Anstieg nach der GKKT auf 16,61 fmol/ml und nach 30 Minuten auf 14,12 fmol/ml zu beobachten.

Beim NAC Plasmaspiegel liegt der Wertebereich in der Teilgruppe mit Follikelphase mit einem durchschnittlichen Median von 0,23 fmol/ml Plasma fast doppelt so hoch wie bei der Gruppe in Lutealphase mit 0,14 fmol/ml. In der Stichprobe mit Follikelphase steigt der Median nach der GKKT auf 0,50 fmol/ml an, in der zweiten Gruppe ist erst nach 30 Minuten ein Anstieg auf 0,25 fmol/ml zu beobachten.

Die Rolle der POMC-Derivate in der Regulation des normalen Zyklus wirft noch viele Fragen auf. Es verdichten sich die Hinweise, dass Veränderungen des  $\beta$ -ED IRM Spiegel die pulsatile Freisetzung von GnRH über das noradrenerge und /oder dopaminerge System beeinflussen (Seifer et al. 1990). Der Verlauf des  $\beta$ -ED IRM während der Zyklusphasen ist dem der Studie von Chuong et al. (1989) sehr ähnlich: Auch dort liegt der  $\beta$ -ED IRM Plasmaspiegel in der Follikelphase niedriger als in der Lutealphase. Erhöhte oder hohe  $\beta$ -ED IRM Spiegel sind mit Stress bedingter Amenorrhoe, mit körperlichem Training assoziierter Amenorrhoe und mit polyzystischen Ovarien in Verbindung gebracht worden. Erniedrigte oder niedrige Spiegel lassen sich bei dem Prämenstruellen Syndrom und der Menopause finden (Seifer et al. 1990). Die Messdaten meiner Studie weisen auf einen Zusammenhang des  $\beta$ -ED IRM Plasmaspiegels mit der Zyklusphase hin. Jedoch ist eine Aussage über die Funktion noch nicht möglich. Eine Einflussnahme des  $\beta$ -Endorphins auf die Regulation der Ovulation scheint denkbar (Choung et al. 1989).

Welche Funktion dem NAC bei der Regulation des Menstruationszyklus zukommt, ist zur Zeit noch ungeklärt.

Die unterschiedlichen zyklusabhängigen Reaktionen des  $\beta$ -ED IRM und NAC IRM auf die GKKT können momentan nicht plausibel erklärt werden.

#### 4.3.3. $\beta$ -ED IRM und NAC IRM in Abhängigkeit von Kontrazeptiva

Beim  $\beta$ -ED IRM liegen die Basalwerte beider Stichproben im selben Wertebereich. Der Median steigt in der Gruppe ohne Kontrazeptiva nur zum Zeitpunkt nach der GKKT an, während in der Gruppe mit Einnahme oraler Kontrazeptiva die Mediane zu den drei Zeitpunkten nach der GKKT in die Höhe gehen. Dagegen ist bei Betrachtung der Mittelwerte ein Werteanstieg in beiden Gruppen nicht zu erkennen.

Die Werte des NAC Plasmaspiegels liegen in beiden Teilgruppen auf vergleichbarem Wertenniveau. Lediglich in der Teilgruppe ohne Kontrazeptiva ist ein Anstieg des Medians und des Mittelwertes direkt nach der GKKT und 30 Minuten danach zu beobachten.

Die Einnahme oraler Kontrazeptiva zeigt keinen Einfluss auf das Wertenniveau sowohl beim  $\beta$ -ED IRM als auch beim NAC IRM Plasmaspiegel. Hinsichtlich der Reagibilität auf die GKKT zeigt sich beim NAC ein unterschiedliches Verhalten. Ob dies auf die Kontrazeptiva zurückzuführen ist, ist jedoch fraglich. Im Ganzen betrachtet scheint die Einnahme der Kontrazeptiva keinen wesentlichen Einfluss auf den Plasmaspiegel der gemessenen POMC-Derivate zu haben.

#### **4.4. $\beta$ -ED IRM und NAC IRM Plasmaspiegel im Vergleich**

Beide Spiegel zeigen keine signifikante Veränderung durch die GKKT. Lediglich beim NAC IRM ist tendenziell ein Anstieg nach der GKKT nachweisbar. Bei Betrachtung beider Untersuchungsgrößen in Abhängigkeit der drei verschiedenen Parameter zeigen sich keine systematisch synchronen, parallelen Verläufe. Dies wird besonders bei Betrachtung der einzelnen Probandinnen nach Einteilung in Responder- und Non-Responder-Gruppen deutlich, wo bei nur einer Probandin von insgesamt vierzehn ein paralleler Verlauf nachzuweisen ist. Bei zwei weiteren Probandinnen ist der Anstieg des NAC IRM vorzeitig bzw. nachzeitig zu dem des  $\beta$ -ED IRM.

Dies kann dadurch erklärt werden, dass beide hypophysären Systeme, also das corticotrophe, aus dem das  $\beta$ -Endorphin und seine Derivate stammen, sowie das melanotrophe System mit NAC unterschiedlich arbeiten und möglicherweise unterschiedliche physiologische Funktionen einnehmen (Evans et al. 1994).

## 4.5. Physiologische Parameter

### 4.5.1. Temperatur

Vor und nach der GKKT wurde in der palmaren Handfläche, die während der GKKT durch Handschuhe geschützt waren, und in der Ellenbeuge die Hauttemperatur mit Hilfe eines Infrarotthermometers bestimmt. Zur Messung der Körperkerntemperatur wurde die Temperatur in der Mundhöhle herangezogen.

Alle drei Temperaturen fallen nach der GKKT signifikant ab. An der Innenseite der Handfläche beträgt der Abfall 8,9 % und in der Ellenbeuge 25,2 %. Die Körperkerntemperatur dagegen sinkt nur um 2 % und die Differenz beträgt im Mittel 0,72°C und ist damit größer als schon in der Literatur beschrieben wurde (Taghawinejad et al. 1989).

Die Probandinnen gaben nach der GKKT keine Hautbeschwerden, wie z.B. Rötung, Kälteschäden oder andere Veränderungen, an. Eisbildungen unter der Haut, wie Yamauchi bei einer Patientin beobachtet haben will (Brück 1988), sind bei den ermittelten Temperaturen, die alle im positiven Celsius-Bereich liegen, nach so einer kurzen Kälteeinwirkung nicht erklärbar. Allerdings kühlt sich die äußere Körperschale nach kurzer Zeit ab. Der geringgradige Abfall der Mundhöhlentemperatur, stellvertretend für die Körperkerntemperatur, könnte eine Folge der Abkühlung in der äußeren Körperschale sein, indem im Verlauf der Wiedererwärmungsphase das in der Peripherie abgekühlte Blut zurück in den Bereich des Körperkerns fließt und dadurch die Körperkerntemperatur abfällt (Brück 1988). Aber auch das Einatmen der kalten Luft per os könnte die Abkühlung in der Mundhöhle erklären.

Der Abfall der Haut- und Mundtemperatur durch die kurzzeitige GKKT scheint keinen Einfluss bezüglich des  $\beta$ -Endorphins im Plasma zu haben. Das Fehlen einer opioidpeptidergen Reaktion kann möglicherweise darauf zurückzuführen sein, dass die Innentemperatur nicht ausreichend in dem Abkühlungsprozess involviert war und so zu keiner metabolischen Reaktion gekommen ist. Denn die Kälterezeptoren weisen eine dynamische Reaktion auf, d.h. dass sie sehr schnell auf eine Temperaturänderung pro Zeit reagieren. Die starke Erregung der Kälterezeptoren löst eine überschießende Kälteabwehrreaktion aus, die jedoch nach wenigen Sekunden wieder zurückgeht, da

auch die Aktivität der Kälterezeptoren abnimmt. Bei Abfall der Innentemperatur steigt die metabolische Kälteabwehrreaktion bis zur Erwärmung wieder an (Brück 1988). Es scheint, dass der zweite Teil der Reaktionskaskade bei der GKKT nicht stattfindet.

#### 4.5.2. Kardiovaskuläres System

Zur Beurteilung der Kreislaufbelastung sowie dessen mögliche Reaktion auf Stress sind der Puls und Blutdruck nach Riva-Rocci im Sitzen unmittelbar vor und nach der GKKT gemessen worden. In dieser Studie waren keine signifikanten Unterschiede bezüglich des Pulses und der Blutdruckwerte nachzuweisen. Dies stimmt mit Vorläuferuntersuchungen überein (Taghawinejad et al. 1989, Zagobelny et al. 1993). Dieses Ergebnis kann dahingehend verstanden werden, dass die GKKT selbst und die Zeit direkt davor und danach keine kreislaufrelevanten Stressoren geboten hat.

#### **4.6. Psychologische Parameter**

Die Probandinnen wurden nach der GKKT mit Hilfe eines Fragebogens nach ihrer Befindlichkeit vor und nach der Therapie befragt. Die Fragen konnten mit einer Skala von 1 (gar nicht) bis 5 (sehr) beantwortet werden.

Insgesamt ist die GKKT positiv aufgenommen worden. Bedenken vor der GKKT hatten nur drei der vierzehn Probandinnen geäußert. Dies steht sicherlich damit im Zusammenhang, dass bis auf eine Untersuchungsperson die Versuchsteilnehmerinnen entweder Physiotherapieschülerinnen oder Medizinstudentinnen waren, die schon einmal vorher an einer GKKT teilgenommen hatten.

93 % fühlten sich nach der GKKT besser, besonders in den Punkten Erfrischung (Median= 4,5) und körperliche Fitness (Median= 4). Die allgemeine Leistungsfähigkeit wurde als nur mittelmäßig gesteigert (mit einem Median von 3) empfunden. Auch die Stimmung war nur leicht angestiegen (Median von 3).

Rymaszewska et al. (2000) haben bei Patienten nach der GKKT ebenfalls eine Stimmungsaufhellung beobachtet. Es wird sogar von einer Euphorie gesprochen. Diese konnte in meiner Studie nicht beobachtet werden. Da kein Anstieg des  $\beta$ -ED IRM nachweisbar ist, kann die Verbesserung der Stimmung nicht auf den Einfluss von  $\beta$ -Endorphin und seinen Derivaten zurückgeführt werden. Dagegen besteht bei Bungee-Springern eine signifikante Korrelation zwischen dem Auftreten einer Euphorie nach dem Sprung und dem Anstieg des  $\beta$ -ED IRM Plasmaspiegels auf das 200-fache (Hennig et al. 1994).

Die Stimmungsverbesserung nach der GKKT dürfte eher psychologischer Natur sein. Obwohl nur drei Probandinnen Bedenken vor der GKKT angaben, waren sieben nach der GKKT mittelmäßig bis sehr froh bzw. erleichtert, die GKKT hinter sich gebracht zu haben. So empfanden insgesamt acht Probandinnen die Kälte mittelmäßig bis sehr unangenehm. Die Stimmungsaufhellung kann vielleicht unter diesen Gesichtspunkten als eine Erleichterung verstanden werden, etwas im ersten Augenblick Unangenehmes überwunden zu haben.

Keine der Probandinnen hatte nach der GKKT Beschwerden bekommen und 69 % der Probandinnen würden sehr gerne ein weiteres Mal in die Kältekammer gehen. Diese positive Rückmeldung zeigt, dass die GKKT für Patienten eine wenig belastende Therapie darstellt, die dadurch eine hohe Compliance erfährt. Eine ähnliche positive Rückmeldung konnten auch Metzger et al. (2000) beobachten.

Literaturverzeichnis
----------------------

1. **Akil H, Young E, Watson SJ, Coy DH**  
Opiate binding properties of naturally occurring N- and C-terminus modified beta-endorphins  
Peptides (1981) 2:289-292
2. **Barreca T, Siani C, Franceschini R, Francaviglia N, Messina V, Perria C, Rolandi E**  
Diurnal beta-endorphin changes in human cerebrospinal fluid  
Life Sci (1986) 38: 2263-2267
3. **Berliner M, Keitel W**  
Physikalische Therapie in der Rheumatologie Folge 2: Kälte-, Reizstrom-, Balneo- und Ergotherapie  
MMW-Fortschr Med (1999) 141: 698-700
4. **Birwe G, Fricke R, Hartmann R**  
Ganzkörperkältetherapie (GKKT) Beeinflussung der subjektiven Beschwerdelinderung und der Gelenkfunktion  
Z Phys Med Baln Med Klim (1989) 18: 11-15
5. **Birwe G, Taghawinejad M, Fricke R, Hartmann R**  
Ganzkörperkältetherapie (GKKT) Beeinflussung hämatologischer und entzündlicher Laborparameter  
Z Phys Med Baln Med Klim (1989) 18: 16-22
6. **Blasig J, Bauerle U, Herz A**  
Endorphin-induced hyperthermia: Characterization of the exogenously and endogenously induced effects  
Archs Pharmac (1979) 309: 137-143
7. **Brück K**  
Physiologische Grundlagen der Kälteabwehrreaktion des Menschen  
Z Phys Med Baln Med Klim (1988) 17: 183-195
8. **Cabot PJ**  
Immun-derived opioids and peripheral antinociception  
Clin Exp Pharmacol Physiol (2001) 28: 230-232
9. **Chuong CJ, Smith ER, Tsong Y**  
Beta-endorphin levels in the human menstrual cycle  
Acta Obstet Gynecol Scand (1989) 68(6): 497-501

- 10. Clark WG**  
Influence of opioids on central thermoregulatory mechanisms  
Pharmac Biochem Behav (1979) 10: 609-613
- 11. Dalayeu JF, Norès JM, Bergal S**  
Physiology of  $\beta$ -Endorphins. A close-up view and a review of the literature  
Biomed Pharmacother (1993) 47: 311-320
- 12. Deakin JWF, Doströvsky JO, Smyth DG**  
Influence of N-terminal acetylation and C-terminal proteolysis on analgesic activity of  $\beta$ -endorphin  
Biochem J (1980) 189: 501-506
- 13. Debold CR, Nicholson WE, Orth DN**  
Immunoreactive proopiomelanocortin (POMC) peptides and POMC-like messenger ribonucleic acid are present in many rat nonpituitary tissues  
Endocrinology (1988) 66:2648-2657
- 14. Digiesi V, Baldi E, Scartabelli P, Masi F, Spillantini MG, Cerchiai G**  
Plasma beta endorphin in man during partial immersion in water using the therapeutic method  
Minerva Med (1986) 77(7-8): 209-13
- 15. Douglas WW, Malcom JL**  
The effect of localized cooling on cat nerves  
J Physiol (1955) 130: 53-54
- 16. Elbeialy A, Elbarbary M, Kamel M**  
Peripheral beta-endorphin in rheumatoid arthritis -A correlation with the disease activity  
Scand J Rheumatol (1997) 26: 88-91
- 17. Eldred E, Lindsley D, Buchwald JS**  
Exp Neurol (1960) 2:144  
In: Jordan H, Kleinschmidt J, Drexel H  
Zum heutigen Stand der Kryotherapie  
Münch med Wschr (1977) 119 (11): 355-358
- 18. Ellis M**  
Brit med J (1961) 1: 250  
In: Jordan H, Kleinschmidt J, Drexel H  
Zum heutigen Stand der Kryotherapie  
Münch med Wschr (1977) 119 (11): 355-358
- 19. Ernst E, Fialka V**  
Ice freezes pain? A review of the clinical effectiveness of analgesic cold therapy  
J Pain Symptom Manage (1994) 9: 56-59

- 20. Evans VR, Manning AB, Bernard LH, Chronwall BM, Millington WR**  
Alpha-melanocyte-stimulating hormone and N-acetyl-beta-endorphin immunoreactivities are localized in the human pituitary but are not restricted to the zona intermedia  
Endocrinology (1994) Jan; 134(1):97-106
- 21. Facchinetti F, Sances G, Martignoni E, Pagani I, Nappi G, Genazzani AR**  
Evidence of alpha-N-acetyl beta-endorphin in human cerebrospinal fluid  
Brain Res (1992) Jul 17; 586(1): 1-5
- 22. Fialka V, Ernst E**  
Kryotherapie  
Wien Med Wochenschr (1994) 144(3):42-44
- 23. Frederickson RCA, Geary LE**  
Endogenous opioid peptides : review of physiological, pharmacological and clinical aspects  
Prog Neurobiol Oxf (1982) 19: 12-69
- 24. Fricke L, Fricke R, Wiegelmann L**  
Beeinflussung hormoneller Reaktionen durch Ganzkörperkältetherapie  
Z Phys Med Baln Med Klim (1988) 17: 363-364
- 25. Fricke R.**  
Lokale Kaltlufttherapie-Eine weitere kryotherapeutische Behandlungsmethode  
Z Phys Med Baln Med Klim (1984) 13: 260-266
- 26. Fricke R.**  
Lokale Kryotherapie bei chronisch entzündlichen Gelenkerkrankungen 3-4 mal täglich  
Z Phys Med Baln Med Klim (1988) 17: 196-202
- 27. Fricke R**  
Ganzkörperkältetherapie in einer Kältekammer mit Temperaturen um  $-110^{\circ}\text{C}$   
Z Phys Med Baln Med Klim (1989) 18,1-10
- 28. Gerra G, Volpi R, Delsignore R, Maninetti L, Caccavari R, Vourna S, Maestri D, Chiodera P, Ugolotti G, Coiro V**  
Sex-related responses of beta-endorphin, ACTH, GH and PRL to cold exposure in humans  
Acta Endocrinol (1992) 126: 24-28
- 29. Glantz SA**  
Was bedeutet „nicht signifikant“ wirklich?  
Heinecke A, Köpcke W (dt Hrsg)  
In: Biostatistik einfach für die Praxis  
McGraw-Hill International (UK) Ltd. (1998) 168-170

- 30. Glickman Weiss EL, Nelson AG, Hearon CM, Goss FL, Robertson RJ**  
Are beta-endorphins and thermoregulation during cold-water immersion related?  
Undersea Hyperb Med (1993) 20(3): 205-13
- 31. Golenhofen K**  
Z physik Med (1970) 6-21  
In: Jordan H, Kleinschmidt J, Drexel H  
Zum heutigen Stand der Kryotherapie  
Münch med Wschr (1977) 119 (11): 355-358
- 32. Göpfert H, Stufler R**  
Pflügers Arch ges Physiol (1952) 256: 161-180  
In: Jordan H, Kleinschmidt J, Drexel H  
Zum heutigen Stand der Kryotherapie  
Münch med Wschr (1977) 119 (11): 355-358
- 33. Graf E**  
Dissertation am Fachbereich Humanmedizin der JLU Gießen  
in Vorbereitung
- 34. Grasset H**  
La médecine Naturiste á Travers les Siécles  
Paris (1911)  
In : Vogelberg KM  
Einfluss der GKKT auf Lungenfunktion und Blutgase bei Patienten mit  
Rheumatoider Arthritis  
Dissertationsschrift, Medizinische Fakultät Münster (1995)) 6
- 35. Häbler HJ, Jänig W**  
Physiologische Grundlagen der Kryotherapie  
Z Phys Med Baln Med Klim (1986) 15: 305-306
- 36. Harbach H, Hell K, Gramsch C, Katz N, Hempelmann G, Teschemacher H**  
 $\beta$ -endorphin (1-31) in the plasma of male volunteers undergoing physical  
exercise  
Psychoneuroendocrinology (2000) 25: 551-562
- 37. Harbour DV, Smith EM, Blalock JE**  
Splenic lymphocyte production of an endorphin during endotoxic shock  
Brain Behav Immun (1987) 1:123-133
- 38. Hargreaves KM, Flores CM, Dionne RA, Mueller GP**  
The role of pituitary  $\beta$ -endorphin in mediating corticotropin-releasing factor-  
induced antinociception  
Am J Physiol 21:235-242

**39. Harris ED, McCroskery PA**

The influence of temperature and fibril stability on degradation of cartilage collagen by rheumatoid synovial collagenase  
N Engl J Med (1974) 290: 1-6

**40. Hennig J, Laschefski U, Opper C**

Biopsychological changes after bungee jumping: beta-endorphin immunoreactivity as a mediator of euphoria?  
Neuropsychobiology (1994) 29(1): 28-32

**41. Hirsch MD, Millington WR**

Endoproteolytic conversion of  $\beta$ -endorphin 1-31 to  $\beta$ -endorphin 1-27 potentiates its central cardioregulatory activity  
Brain Res (1991)550:61-68

**42. Holaday JW, Wei E, Loh HH, Li CH**

Endorphins may function in heat adaptation  
Proc natn Acad Sci USA (1978) 75: 2923-2927

**43. Hollensteiner B**

Analgetische Wirkung einer Ganzkörperkältetherapie  $-110^{\circ}\text{C}$ , 3min.  
Dissertationsschrift, Medizinische Fakultät Münster (2003) 71

**44. Höllt V**

Regulation of opioid peptide gene expression  
In :Herz A, Akil H, Simon EJ (Hrsg)  
Handb Exp Pharm 104/I (Opioids I)  
Springer. Berlin Heidelberg (1993) 307-333

**45. Hunter WM, Greenwood FC**

Preparation of iodine-131 labelled human growth hormone of high specific activity  
Nature (1962) 194: 495-496

**46. Jordan H, Kleinschmidt J, Drexel H**

Zum heutigen Stand der Kryotherapie  
Münch med Wschr (1977) 119 (11): 355-358

**47. Kaiser ET, Kézdy FJ**

Amphiphilic secondary structure : Design of peptide hormones  
Science (1984) 223: 249-255

**48. Kangilaski J**

$\beta$ -Endorphin levels lower in arthritis patients  
JAMA (1981) 246: 203

- 49. Kowal MA**  
Review of Physiological Effects of Cryotherapy  
J Orthop Sports Phys Ther (1983) 5: 66-73
- 50. Köck R**  
Therapieeffekte bei rheumatischen Erkrankungen, Blutdruckverhalten, Herzfrequenz u. Hauttemperatur unter der Ganzkörperkältetherapie von  $-110^{\circ}\text{C}$  bzw.  $-80^{\circ}\text{C}$   
Dissertationsschrift, Medizinische Fakultät Münster (2000) 14-16
- 51. Lee M, Warren MP, Mason SM**  
Effects of ice on nerve conduction velocity  
Physiotherapy (1978) 64: 2-6
- 52. Lewis T**  
Observation upon the reactions of the vessels of the human skin to cold  
Heart (1930) 15: 177-208
- 53. Li CH, Chung D, Doneen BA**  
Isolation, characterization and opiate activity of  $\beta$ -endorphin from human pituitary glands  
Biochem Biophys Res Com (1976) 72: 1542-1547
- 54. Loh HH, Tseng LF, Wei E, Li CH**  
 $\beta$ -endorphin is a potent analgesic agent  
Proc Natl Acad Sci USA (1976) 73(8): 2895-2898
- 55. McLoughlin L, Medbak S, Grossman AB**  
Circulating opioids in man  
In :Herz A, Akil H, Simon EJ (Hrsg)  
Handb Exp Pharm 104/II (Opioids II)  
Springer. Berlin Heidelberg (1993) 673-696
- 56. Mennunger H, Burkhardt H, Hering B, Hesse W, Mierau HD, Röske W**  
Biochemische Grundlagen der Kältetherapie bei rheumatischen Erkrankungen  
Z f Phys Med (1980) 9: 65-66
- 57. Mense S**  
Effect of temperature on the discharges of muscle spindles and tendon organs  
Pflügers Archiv (1978) 374: 159-166
- 58. Metzger D, Zwingmann C, Protz W, Jäckel WH**  
Die Bedeutung der Ganzkörperkältetherapie im Rahmen der Rehabilitation bei Patienten mit rheumatischen Erkrankungen  
Rehabilitation (2000) 39: 93-100

- 59. Miller RG**  
Simultaneous statistical inference  
Springer. Berlin Heidelberg (1981) 130
- 60. Oates EL, Allaway GP, Armstrong GR, Boyajian RA, Kehrl JH, Prabhakar BS**  
Human lymphocytes produce pro-opiomelanocortin gene-related transcripts  
J Biol Chem (1988) 263: 10041-10044
- 61. Oyama T, Jin T, Yamaya R, Ling N, Guillemin R**  
Profound analgesic effects of  $\beta$ -endorphin in man  
Lancet (1980) 1:122-124
- 62. Palastanga NP**  
Heat and cold  
In: Wells P, Frampton V, Bowsher D (Hrsg)  
Pain, management and control on physiotherapy  
London: Heinemann (1988) 169-180
- 63. Pert CB, Snyder SH**  
Opiate receptor: Demonstration in nervous tissue  
Science (1973) 1011-1014
- 64. Pohlen B, Fricke R**  
Verhalten der Lymphozytenpopulation nach Kältekammertherapie  
Z Phys Med Baln Med Klim (1988) 17: 363
- 65. Rubinstein M, Mogil JS, Jagon M, Chan EC, Allen RG, Low MJ**  
Absence of opioid stress-induced analgesia in mice lacking beta-endorphin by site-directed mutagenesis  
Proc Natl Acad Sci USA (1996) 93(9): 3995-4000
- 66. Rymaszewska J, Bialy D, Zagrobelny Z, Kiejna A**  
The influence of whole body cryotherapy on mental health  
Psychiatr Pol (2000) Jul-Aug; 34(4): 649-53
- 67. Sacerdote P, Panerai AE**  
Analysis of the  $\beta$ -endorphin structure-related activity on human monocyte chemotaxis: importance of the N- and C-terminal Peptides (1989) May-Jun; 10 (3):565-9
- 68. Samborski W, Stratz T, Sobieska M**  
Individual comparison of effectiveness of whole body cold therapy and hot-packs therapy in patients with generalized tendomyopathy (fibromyalgia)  
Z Rheumatol (1992) 51: 25-31

**69. Scheible HG**

Neurophysiologie des Gelenkschmerzes , periphere und spinale Mechanismen  
Habilitationsschrift (1986) Med Fakultät Würzburg

In: Fricke R

Ganzkörperkältetherapie in einer Kältekammer mit Temperaturen um  $-110\text{ }^{\circ}\text{C}$   
Z Phys Med Baln Med Klim (1989) 18:1-10

**70. Schulz A, Harbach H, Katz N, Geiger L, Teschemacher H**

$\beta$ -endorphin immunoreactive material and authentic  $\beta$ -endorphin in the plasma  
of males undergoing anaerobic exercise on a rowing ergometer

Int J Sports Med (2000) 21: 513-517

**71. Seifer DB, Collins RL**

Current concepts of beta-endorphin physiology in female reproductive  
dysfunction

Fertil Steril (1990) 54 (5): 757-71

**72. Senn E**

Kältetherapie - Eine Analyse der therapeutischen Wirkungen, die Formulierung  
von Hypothesen zur Wirkungsweise

Therapiewoche (1985) 35: 3609-3616

**73. Simon EJ, Hiller JM**

Opioid peptides and opioid receptors

In: Siegel JG (Hrsg)

Basic neurochemistry: molecular, cellular, and medical aspects.

Raven Press, New York (1993)

**74. Stein C**

Peripheral mechanisms of opioid analgesia

In :Herz A, Akil H, Simon EJ (Hrsg)

Handb Exp Pharm 104/II (Opioids II)

Springer. Berlin Heidelberg (1993) 91-104

**75. Stein C, Hassan AHS, Lehrberger KL, Giefing J, Yassouridis A**

Local analgesic effect of endogenous opioid peptides

Lancet (1993) 342: 321-324

**76. Stratz T, Schlegel P, Mennet P, Müller W**

Biochemische und hormonelle Reaktionen unter der Ganzkörperkältetherapie

In: Müller W (Hrsg)

Generalisierte Tendomyopathie

Steinkopff. Darmstadt (1991) S 299-306

**77. Strigo IA, Carli F, Bushnell C**

Effect of ambient temperature on human pain and temperature perception

Anesthesiology (2000) 92: 699-707

- 78. Suzuki N, Yoshino S, Nakamura H**  
A study of opioid peptides in synovial fluid and synovial tissue in patients with rheumatoid arthritis  
Arerugi (1992) 41: 615-620
- 79. Taghawinejad M, Birwe G, Fricke R, Hartmann R**  
Ganzkörperkältetherapie-Beeinflussung von Kreislauf- und Stoffwechselfparametern  
Z Phys Med Baln Med Klim (1989) 18: 23-30
- 80. Tayler JW, Kaiser ET**  
The structural characterization of  $\beta$ -endorphin and related peptide hormones and neurotransmitters  
Pharmacolog Rev (1986) 38: 291-315
- 81. Teschemacher H**  
Opioidrezeptoren und Opioidpeptide  
Pharmazeutische Zeitung (1987) 132: 556-567
- 82. Teschemacher H, Koch G, Kramer D, Wiedemann K**  
 $\beta$ -endorphin immunoreactive material in the plasma: what does it mean?  
In: Dister W, Becker L (Hrsg)  
Endorphins in reproduction and stress  
Springer. Berlin Heidelberg (1990) 92-98
- 83. Teschemacher H**  
Proopiomelanocortin. Welche Rolle spielt dieser ACTH- und Endorphin-Präkursor für die Stressadaption?  
Internist Prax (2003) 43:605-615
- 84. Vaeroy H, Helle R, Forre O, Kass E, Terenius L**  
Elevated CSF levels of substance P and high incidence of Raynaud phenomenon in patients with fibromyalgia : new features for diagnosis  
Pain (1988) 32: 21-26  
in: Samborski W, Stratz T, Sobieska M, Mennet P, Müller W, Schulte-Mönting J  
Intraindividueller Vergleich einer Ganzkörperkältetherapie und einer Wärmebehandlung mit Fangopackungen bei der generalisierten Tendomyopathie (GTM)  
Z Rheumatol (1992) 51: 25-31
- 85. Waylonis GW**  
Arch phys Med (1967) 48: 37  
In: Jordan H, Kleinschmidt J, Drexel H  
Zum heutigen Stand der Kryotherapie  
Münch med Wschr (1977) 119 (11): 355-358

**86. Wiedemann K, Teschemacher H**

Determination of  $\beta$ -endorphin and Fragments thereof in human plasma using high-performance liquid chromatography and a multiple radioimmunoassay system

Pharm Res (1986) 3: 142-149

**87. Willis WS**

The pain system. The neural basis of nociceptive transmission in the mammalian nervous system

Karger. Basel (1985)

in: Samborski W, Stratz T, Sobieska M, Mennet P, Müller W, Schulte-Mönting J  
Intraindividuellem Vergleich einer Ganzkörperkältetherapie und einer Wärmebehandlung mit Fangopackungen bei der generalisierten Tendomyopathie (GTM)

Z Rheumatol (1992) 51: 25-31

**88. Van Woudenberg AD, Hol EM, Wiegant VM**

Endorphin-like immunoreactivities in uncultured and cultured human peripheral blood mononuclear cells

Life Sci (1992) 50: 705-714

**89. Van Woudenberg AD, Metzelaar MJ, van der Kleij AAM, de Wied D, Burbach JPH, Wiegand VM**

Analysis of Proopiomelanocortin (POMC) messenger, ribonucleic acid and POMC-derived peptides in human peripheral blood mononuclear cells: no evidence for a lymphocyte-derived POMC system

Endocrinology (1993) 133: 1922-1932

**90. Yaksh TL**

Spinal opiates: a review of their effect on spinal function with emphasis on pain processing

Acta Anaesthesiol Scand (1987) 31 Suppl 85: 25-37

**91. Yamauchi T**

Whole body cryotherapy is method of extreme cold  $-175^{\circ}\text{C}$  treatment initially used for rheumatoid arthritis

Z Phys Med Baln Med Klim (1986) 15: 311

**92. Yehuda S, Kastin AJ**

Peptides and thermoregulation

Neurosci Biobehav Rev (1980) 4(4):459-71

**93. Young E, Bronstein D, Akil H**

Proopiomelanocortin biosynthesis, processing, and secretion: Functional implications.

In :Herz A, Akil H, Simon EJ (Hrsg)

Handb Exp Pharm 104/I (Opioids I)

Springer. Berlin Heidelberg (1993) 393-421

**94. Zagrobelny Z, Halawa B, Negrusz-Kawecka M, Spring A, Gregorowicz H, Wawrowska A, Rozwadowski G**

Hormonal and hemodynamic changes caused by whole body cooling in patients with rheumatoid arthritis

Pol Arch Wewn (1992) 87: 34-40

**95. Zagrobelny Z, Halawa B, Jezierski C, Wawrowska A**

Effect of a single cooling of the entire body in the cryogenic chamber on selected hemodynamic parameters and blood serum hormone levels in healthy subjects

Pol Tyg Lek (1993) 48: 303-305

Abbildungsverzeichnis
-----------------------

- 1.1. Entstehung des  $\beta$ -Endorphins, Corticotropins und anderer Peptide aus dem Proopiomelanocortin
- 1.2. Struktur des POMC-Gens
- 1.3. Aminosäuresequenz und funktionelle Bereiche des humanen  $\beta$ -Endorphins
- 3.1.  $\beta$ -ED IRM Plasmaspiegel bei Probanden im zeitlichen Verlauf
- 3.2.  $\beta$ -ED IRM Plasmaspiegel bei Kontrollpersonen im zeitlichen Verlauf
- 3.3. NAC IRM Plasmaspiegel bei Probanden im zeitlichen Verlauf
- 3.4. NAC IRM Plasmaspiegel bei Kontrollpersonen im zeitlichen Verlauf
- 3.5.  $\beta$ -ED IRM Plasmaspiegel in Abhängigkeit vom Stress
- 3.6. NAC IRM Plasmaspiegel in Abhängigkeit vom Stress
- 3.7.  $\beta$ -ED IRM Plasmaspiegel in Abhängigkeit von der Zyklusphase
- 3.8. NAC IRM Plasmaspiegel in Abhängigkeit von der Zyklusphase
- 3.9.  $\beta$ -ED IRM Plasmaspiegel in Abhängigkeit von Kontrazeptiva
- 3.10. NAC IRM Plasmaspiegel in Abhängigkeit von Kontrazeptiva
- 3.11. Abfall des  $\beta$ -ED IRM nach der GKKT
- 3.12. Anstieg des  $\beta$ -ED IRM nach der GKKT
- 3.13. Sowohl Abfall als auch Anstieg des  $\beta$ -ED IRM nach der GKKT
- 3.14. Anstieg des NAC IRM nach der GKKT
- 3.15. Sowohl Abfall als auch Anstieg des NAC nach der GKKT
- 3.16. Synchronizität des  $\beta$ -ED IRM und des NAC IRM im Verlauf
- 3.17. Handtemperatur
- 3.18. Unterarmtemperatur
- 3.19. Mundtemperatur
- 3.20. Systolischer Blutdruck

- 3.21. Diastolischer Blutdruck
- 3.22. Puls
- 3.23. Waren Sie aufgeregt, bevor Sie in die Kältekammer gingen?
- 3.24. Hatten Sie irgendwelche Bedenken vor der Kältetherapie?
- 3.25. Empfanden Sie die Enge in der Kältekammer als unangenehm oder bedrückend?
- 3.26. War die Kälte unangenehm?
- 3.27. Wie fühlen Sie sich jetzt nach der Kältekammertherapie im Vergleich zu vorher?
- 3.28. frischer
- 3.29. körperlich fitter
- 3.30. allgemein leistungsfähiger
- 3.31. fröhlicher, heiterer
- 3.32. Sind Sie froh oder erleichtert, die Kältetherapie hinter sich zu haben?
- 3.33. Haben Sie irgendwelche Beschwerden während oder nach der Kältekammertherapie bekommen?
- 3.34. Würden Sie freiwillig noch einmal in die Kältekammer gehen?

Tabellenverzeichnis
---------------------

- 1.1. Wirkung der lokalen Kältetherapie
- 1.2. Synopsis der unterschiedlichen Stressparameter nach GKKT
- 1.3. Literaturübersicht über Vorläuferstudien
- 2.1. Merkmale der Stichprobe
- 2.2. Ablauf der Studie
- 2.3. eingesetzte Antiseren
- 2.4. Verdünnung der Antiseren
- 2.5. eingesetzte Tracer
- 2.6. Charakterisierung des Radioimmunoassays
- 2.7. Antiseren-Spezifität (Kreuzreaktivität in %)
- 2.8. Pipettierschema
- 2.9. Legende
- 3.1.  $\beta$ -ED IRM im zeitlichen Verlauf
- 3.2.  $\beta$ -ED IRM bei Kontrollpersonen
- 3.3. NAC IRM im zeitlichen Verlauf
- 3.4. NAC IRM bei Kontrollpersonen
- 3.5.  $\beta$ -ED IRM in Abhängigkeit vom Stress
- 3.6.a NAC IRM in Abhängigkeit vom Stress
- 3.6.b Rangverteilung nach dem Friedman-Test
- 3.7.  $\beta$ -ED IRM in Abhängigkeit von der Zyklusphase
- 3.8. NAC IRM in Abhängigkeit von der Zyklusphase
- 3.9.  $\beta$ -ED IRM in Abhängigkeit von Kontrazeptiva
- 3.10. NAC IRM in Abhängigkeit von Kontrazeptiva
- 4.1. Rangverteilung nach dem Friedman-Test

**Anhang****Fragebogen**

Vor- und Nachname: \_\_\_\_\_

Telefonnummer: \_\_\_\_\_

Geburtsdatum: \_\_\_\_\_ Geschlecht:  W  M

Gewicht: \_\_\_\_\_

Größe: \_\_\_\_\_

Haben Sie zur Zeit Stress, Sorgen oder Probleme? (z.B. familiär, beruflich oder gesundheitlich)  ja  nein

Werden Sie in den nächsten Tagen Stress ausgesetzt sein?

 ja  neinTreiben Sie Sport?:  ja, regelmäßig  unregelmäßig  selten

welche Sportart(en): \_\_\_\_\_

wie häufig: \_\_\_\_\_

Leiden Sie an Erkrankungen?:

 ja nein Diabetes mellitus Schilddrüsenfunktionsstörung Lunge Herz, Gefäße, Blut Magen, Darm Leber Erkältung Allergie

nähere Bezeichnung der Erkrankung: \_\_\_\_\_ seit wann: \_\_\_\_\_

Leiden Sie an Kälteallergie, Kältehämoglobinämie, Kryoglobulinämie oder haben Sie eine Kälteagglutinerkrankung?:  ja  nein

Treten bei Kontakt mit kaltem Wasser, Eis oder kalter Luft Blasen oder Rötungen auf Ihrer Haut, Juckreiz, Schwindel, Kopfschmerzen oder andere besondere Symptome auf?

 ja  neinNehmen Sie Medikamente ein?:  ja, regelmäßig  unregelmäßig  nein

(z.B. Schmerztabletten (z.B. Aspirin, Paracetamol), Schlaftabletten, Antibiotikum, Cortison)

Präparatname: \_\_\_\_\_

letzte Einnahme war: \_\_\_\_\_

Dosierung: \_\_\_\_\_

Waren Sie schon einmal in der Kältekammer?:  ja  nein

wie häufig: \_\_\_\_\_

wann zuletzt: \_\_\_\_\_

Besuchen Sie die Sauna?:

 ja nein

wie häufig: \_\_\_\_\_

wann zuletzt: \_\_\_\_\_

Erhalten Sie physikalische Therapien (z.B. Moorbäder, Fangopackungen)?:

ja  nein

wie häufig: \_\_\_\_\_

wann zuletzt: \_\_\_\_\_

Unterziehen Sie sich zur Zeit einer Akupunkturbehandlung?:

ja  nein

Rauchen Sie?:  ja, regelmäßig  unregelmäßig  nein

Mengen- und Zeitangabe: \_\_\_\_\_

Trinken Sie Alkohol?:  ja, regelmäßig  unregelmäßig  nein

Mengen- und Zeitangabe: \_\_\_\_\_

Konsumieren sie andere Drogen?:  ja  nein

was und wieviel: \_\_\_\_\_

Nehmen Sie orale Kontrazeptiva ein?:  ja  nein

Sind Sie schwanger?:  ja  nein

Wann hatten Sie Ihre letzte Regelblutung?: \_\_\_\_\_

Ist Ihr Zyklus regelmäßig?:  ja  nein

Wie viele Tage dauert Ihr Zyklus (mit Blutungszeit eingerechnet?): \_\_\_\_\_

## Aufklärungsbogen

Sehr geehrte Probandin,

zur Erforschung der Wirkmechanismen der Ganzkörperkältetherapie bei  $-110^{\circ}\text{C}$  soll  $\beta$ -Endorphin im Blut nachgewiesen werden.

Ablauf der Studie:

Die Studie beginnt um 8.00 Uhr. Ihnen wird nach einer einstündigen Ruhephase ein Venenkatheter (Braunüle) in den Unterarm gelegt, über den 15 ml Blut entnommen werden. Nach einer weiteren 30 minütigen Pause ziehen Sie sich Badesachen an. Mund- und Hauttemperatur, Puls und Blutdruck werden ermittelt. Danach werden Ihnen wieder 15 ml Blut über den Venenkatheter abgenommen.

Anschließend werden Sie mit Ohrenschutz, Handschuhen, Strümpfen, festen Schuhen und Mundschutz bekleidet von einem Mitarbeiter in das Kammersystem geführt. Das Kammersystem besteht aus einer Vor- und Hauptkammer, in die jeweils über beheizte Fensterscheiben ein Einblick von außen gewährt wird. Der Mitarbeiter öffnet und schließt die Verbindungstür der zwei Kammern und kann auf Ihren Wunsch Sie vorzeitig aus dem Kammersystem schleusen. Die Behandlung wird von außen von einem Arzt beobachtet. Er hat über Lautsprecher Kontakt zu Ihnen und gibt alle 30 Sekunden die Zeit durch. Sie werden nach Ablauf von 3 Minuten die Kältekammer verlassen.

Danach werden wieder Mund- und Hauttemperatur, Puls und Blutdruck gemessen und Blut abgenommen. Nach der Blutabnahme dürfen Sie Ihre Straßenbekleidung anziehen. Die Blutabnahme wird nach 30 Minuten und 60 Minuten wiederholt. Der Venenverweilkatheter wird danach entfernt.

Risiken und Nebenwirkungen:

Durch das Anlegen eines Venenverweilkatheters können Blutergüsse auftreten. Das Risiko, dass die Vene durch den Katheter irritiert wird und sich entzündet, ist sehr gering durch die kurze Liegezeit (ca. 120 Minuten).

Als Nebenwirkungen der Ganzkörperkältetherapie sind bei Patienten mit rheumatischen Erkrankungen Schwindel, Kopfschmerzen, Beklemmung mit Atemnot in der Kammer und leichte Erfrierungen vergleichbar mit einem Sonnenbrand beschrieben worden. Bei gesunden Leuten sind solche Nebenwirkungen nicht zu erwarten.

Vertraulichkeit:

Die Bestimmungen des Datenschutzes werden eingehalten. Die ärztliche Schweigepflicht bleibt gewahrt.

Freiwilligkeit:

Die Teilnahme an der Studie ist freiwillig. Sie können Ihre Zusage jederzeit ohne Angabe von Gründen und ohne, dass Sie Nachteile befürchten müssen, zurückziehen.

## Einverständniserklärung

Vor- und Nachname der Probandin: \_\_\_\_\_

Geburtsdatum: \_\_\_\_\_

Ich bin heute von \_\_\_\_\_ über die Studie, ihren Ablauf, die Risiken und Nebenwirkungen informiert worden. Ich weiß, dass mir eine bestimmte Menge Blut für wissenschaftliche Zwecke entnommen werden soll.

Hierfür wird mir aber nicht mehr Blut entnommen, als für die Untersuchung notwendig ist.

Mir wird zugesichert, dass die entnommenen Proben nicht kommerziellen Zwecken dienen.

Ferner bleibt die ärztliche Schweigepflicht selbstverständlich gewahrt. Die Bestimmung des Datenschutzes werden eingehalten.

Ich bin einverstanden, dass mein Blut für die mir erklärten rein wissenschaftlichen Zwecke verwendet wird.

Ich bin darüber aufgeklärt, dass ich mein Einverständnis jederzeit, ohne Angabe von Gründen und ohne nachteilige Folgen widerrufen kann.

Ich habe ein Exemplar des Aufklärungsbogens zum Mitnehmen erhalten.

Ort: \_\_\_\_\_, den \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_  
Unterschrift des Probanden

\_\_\_\_\_  
Unterschrift des Arztes

### Fragebogen zur Befindlichkeit

Name: \_\_\_\_\_

Probandennummer: \_\_\_\_\_

Bitte tragen Sie die zutreffende Zahl in die Rechtecke ein!

Skala:

gar nicht		mittel		sehr
1	2	3	4	5

- 1.) Waren Sie aufgeregt, bevor Sie in die Kältekammer gingen?
- 2.) Hatten Sie irgendwelche Bedenken vor der Kältetherapie? ja  nein   
Wenn ja, welche? \_\_\_\_\_
- 3.) Empfinden Sie die Enge in der Kältekammer als unangenehm oder bedrückend?
- 4.) War die Kälte unangenehm?
- 5.) Wie fühlen Sie sich jetzt nach der Kältetherapie im Vergleich zu vorher?
- |  |  |  |
|--|--|--|
| besser <input type="checkbox"/>                      | schlechter <input type="checkbox"/>                  | unverändert <input type="checkbox"/>   |
| -frischer<br>-körperlich fitter                      | <input type="checkbox"/><br><input type="checkbox"/> | -körperlich unwohl<br>-erschöpft, müde |
| -allgemein leistungsfähiger<br>-fröhlicher, heiterer | <input type="checkbox"/><br><input type="checkbox"/> |  |
- 6.) Sind Sie froh oder erleichtert, die Kältetherapie hinter sich zu haben?
- 7.) Haben Sie irgendwelche Beschwerden während oder nach der Kältetherapie bekommen? ja  nein   
Wenn ja, welche? \_\_\_\_\_
- 8.) Würden Sie freiwillig noch einmal in die Kältekammer gehen?

**Tabelle 1:  $\beta$ -ED IRM in fmol/ml**

Proband-Nr.	Kontrolle	Basal1	Basal2	Gkkt	H0.5	H1
1		24,45604	26,73608	25,47195	26,33203	24,00038
2		28,60019	27,11075	21,85396	20,99204	21,25408
3		15,31258	17,55012	11,27672	9,81728	10,31003
4		10,62052	5,48776	11,93031	14,10847	10,78339
5		1,83378	6,31737	16,60906	15,04691	15,9177
6		8,66859	7,37713	9,27204	5,61801	11,45619
7		12,19554	7,07058	17,03834	10,37962	2,90403
8		6,48627	4,28026	5,55768	0,08045	5,253
9		8,55146	3,61421	9,39152	0,23292	1,01413
10		3,77209	22,65731	1,43345	0,14039	0
11	1	7,98889	9,43479	3,77713	2,35493	1,73203
12		6,01327	6,79977	0	6,11662	3,74202
13		4,51192	1,36012	5,08839	4,28026	9,40466
14		8,17539	5,10398	6,01782	6,97382	16,25052
15		5,44554	4,34973	12,71452	7,97954	6,88381
16	1	16,25052	8,73885	4,70812	6,70851	3,92332

Tabelle 2: NAC IRM in fmol/ml

Proband-Nr.	Kontrolle	Basal1	Basal2	Gkkt	H0.5	H1
1		0	0	0,36721	0,12405	0,09899
2		0	0,09265	0	0,07339	0,36986
3		0,	0,39451	0,57048	0	0,01858
4		0,64397	0	0,58930	0,50398	0,17326
5		0,09899	0,21047	1,39895	1,62130	1,10593
6		0,08627	0,33889	0,09265	0,17186	0,95068
7		0,60681	0,66295	1,76251	0,69267	1,11267
8		0,20365	0,64307	0,53423	0,62563	0,48589
9		0,25342	0,87133	0,80204	0,50881	0,31466
10		0,39515	3,96209	0,51010	0,27014	0
11	1	0,11157	0	0,49632	0,09265	0,12050
12		0	0,40390	0	0,16715	0
13		0,08627	0,09899	0	0,24731	0
14		0	0,	0	0,27014	0,04006
15		0,11783	0	0,50365	,94050	0
16	1	0,16715	0,54634	0	0,07985	0,06686

**Tabelle 3: physiologische Messdaten**

Proband-Nr.	Control	Hand in C°	Ellenbeuge in C°	Mund in C°	RR-systol in mmHg	RR-diastol in mmHg	Puls in bpm
1		30,5	35,5	37	132	79	74
2		35	35,5	37	126	79	93
3		34,5	34,5	37,1	147	93	65
4		35	34,5	36,9	136	80	72
5		29	36	37,1	139	91	78
6		34	35,5	37,2	129	67	79
7		32,5	34	36,4	136	93	73
8		31	34,5	37,3	138	93	71
9		33	34,5	37,5	142	77	78
10		30,5	35	37,2	116	74	98
11	1	35	34,5	37,5	125	86	100
12		36	34,5	37,1	121	86	86
13		36	34	37,3	145	88	133
14		33,5	34,5	36,7	113	70	81
15		35	34	36,7	113	70	81
16	1	35,5	36	37,2	136	70	129

## Danksagung

Ich bedanke mich bei meinem Doktorvater, Herrn Prof. Dr. med. Fricke, für die Vergabe des interessanten Themas sowie seine Unterstützung bei der Probandengewinnung, Datenerhebung und Betreuung dieser Arbeit.

Ebenfalls möchte ich mich bei Herrn Prof. Dr. med. Teschemacher, Rudolf-Buchheim Institut für Pharmakologie der Justus-Liebig-Universität Gießen, bedanken, der mir die Durchführung der RIAs in seinem Labor ermöglicht und mit vielen Tipps und Hilfestellungen zum Gelingen meiner Arbeit verholfen hat.

Mein Dank gilt ebenso Frau Dickkopf, die mir bei der Durchführung der Laborarbeit und Umrechnung der Daten mit Rat und Tat stets zur Seite stand.

Herrn Dr. Heineke, Biomathematisches Institut der Westfälischen Wilhelms Universität Münster, gebührt mein Dank für seine Beratung bei der statistischen Auswertung der Ergebnisse.

Besonderen Dank möchte ich allen Probandinnen aussprechen, die für diese Studie ihre Zeit und ihr Blut geopfert haben.

Mein Dank gilt auch Frau Dr. Katharina Nebel, Direktorin der Weserland-Klinik Bad Seebuch, die die Klinik und Kältekammer für diese Studie zur Verfügung stellte.

Bedanken möchte ich mich auch bei Thomas Pösse und Andreas Siegner für die Korrektur der Niederschrift.

Ich bedanke mich herzlich bei meinem Vertrauensdozenten, Herrn Prof. Dr. phil. Real, der mich während meiner Studienzeit mit seinem Zuspruch stets begleitet hat.

Ich danke allen herzlich, die ich hier nicht ausdrücklich erwähne, aber mich in jeglicher Form unterstützt und bei der Durchführung dieser Arbeit geholfen haben.

Meinen Eltern möchte ich besonders danken für ihr Vertrauen und ihre uneingeschränkte Unterstützung.



Die Ergebnisse dieser Arbeit wurden auf dem III. Internationalen Kryotherapie Symposium am 28. Oktober 2002 in Vlotho in Form eines Vortrages vorgestellt.