

3. Material und Methoden

3.1. Probanden

An der Studie nahmen insgesamt 22 Probanden (15 Männer und 7 Frauen) im Alter zwischen 24 und 55 Jahren teil. Einschlusskriterien der Studie waren, dass weder aktuell noch in der Anamnese psychiatrische oder internistische Erkrankungen bekannt waren. Unter den Probanden waren 15 Raucher mit einem durchschnittlichen Konsum von 20 Zigaretten pro Tag. Bei 19 der Probanden wurde der Tryptophanbelastungstest durchgeführt, bei 3 Probanden erfolgte keine Tryptophanbelastung bei ansonsten gleichen Untersuchungsbedingungen (Blutentnahmen und Psychometrische Tests). Zur Ergänzung wurden die Daten von 4 weiteren Probanden hinzugezogen, bei denen jeweils im Sommer und im Winter die biochemischen Parameter im gleichen Zeitraum erfasst wurden, jedoch ohne vorangehende Tryptophanbelastung und ohne Durchführung der psychometrischen Testreihe.

Während der Studie kam es zu einem Studienabbruch vor dem zweiten Durchgang aufgrund einer eingetretenen Schwangerschaft.

Bis auf 2 Probanden setzte sich das Kollektiv aus Studenten oder Personen mit abgeschlossenem Hochschulstudium zusammen.

3.2. Testablauf

Zur Prüfung der möglichen saisonalen Abhängigkeiten der Testergebnisse wurde die Studie mit jedem Probanden in 2 im Ablauf identischen Durchgängen, einmal im Sommer (Juni-August) und einmal im Winter (Dezember-Februar) durchgeführt.

Um alimentäre Einflussfaktoren auf die untersuchten biochemischen Parameter einzuschränken, mussten die Probanden morgens nüchtern erscheinen und wurden während der Studiendauer mit Tee bzw. Wasser versorgt.

3.2.1 Standardisierter Testablauf

Der standardisierte Testablauf der Durchgänge ist folgender Tabelle zu entnehmen.

Uhrzeit	
8:00	Blutentnahme (nüchtern)
8:10	Psychometrische Testbatterie mit Selbstbeurteilungs - fragebogen
9:00	Tryptophaneinnahme anschließend Pause
10:00 nach 1 h	Blutentnahme 2
11:00 nach 2 h	Psychometrische Testbatterie mit Selbstbeurteilungs - fragebogen
12:00 nach 3 h	Blutentnahme 3

Die Probanden wurden mit 50mg TRP/kg Körpergewicht belastet. Die TRP-Einnahme erfolgte in Form von Tabletten (Kalma, Fresenius AG). Zum Nachtrinken wurde Wasser oder ungesüßter Früchtetee verwendet. Die Probanden blieben für die gesamte Zeit des Testes nüchtern.

Die Psychometrische Testbatterie bestand aus folgenden psychologischen Tests in genannter Reihenfolge:

1. Eigenschaftswörterliste – Selbstbeurteilungs-Skala 60 S
2. Syndrom-Kurz-Test – Bildertest (sofortige Reproduktion)
3. Leistungsprüfsystem – Untertest 3
2. Aditiv-Verbaler Lerntest
3. d2-Test Farbe-Wort-Interferenztest
7. Syndrom-Kurz-Test – Bildertest (verzögerte Reproduktion)
8. Flimmerfrequenzverschmelzungstest

3.3. Die psychometrischen Tests

3.3.1 Auswahl der psychometrischen Tests

Um einen verifizierbaren Überblick über Einflüsse der Tryptophanbelastung auf die kognitive Leistungsfähigkeit der Probanden zu gewinnen, wurden psychologische Testverfahren eingesetzt, die die Bereiche Konzentrationsfähigkeit (d2-Test, FWI), Merkfähigkeit (SKT-Bildertest, AVLT-Wortliste), fluide Intelligenz (LPS UT3) und das zentrale Aktivierungsniveau (FVF) abdecken. Es wurden solche Tests ausgewählt, von denen es Parallelformen gibt, um mögliche Übungseffekte auszuschließen. Zudem wurde mit Hilfe der Selbstbeurteilungs-Skala (EWL 60 S) das allgemeine Befinden der Probanden vor und nach Tryptophanbelastung erfragt.

3.3.2. Beschreibung der einzelnen Testverfahren

3.3.2.1 Eigenschaftswörterliste – Selbstbeurteilungs-Skala S

[Janke und Debus 1978]

Die EWL 60-S ist eine Kurzform der Eigenschaftswörterliste von Janke und Debus (1978). Sie dient der mehrdimensionalen Erfassung des aktuellen Befindens und erlaubt die Erstellung von Befindlichkeitsprofilen. Die Liste besteht aus 60 Adjektiven, die sich zu 15 Subtests zusammenfassen lassen, welche wiederum in 6 interpretative Bereiche (leistungsbezogene Aktivität, allgemeine Desaktivität, Extraversion/Introversion, allgemeines Wohlbefinden, emotionale Gereiztheit und Angst/Depressivität) eingeteilt werden. Die Probanden haben bei jedem der 60 Adjektive in den vier vorgegebenen Antwortrubriken 1 = "gar nicht", 2 = "etwas", 3 = "ziemlich", 4 = "stark" zu entscheiden, in welchem Ausmaß es ihrem aktuellen Befinden entspricht. Durch Summation der Punktwerte der einzelnen Subtests erhält man bei der Auswertung den Ausprägungsgrad der einzelnen Befindlichkeitsmerkmale.

3.3.2.2 Syndrom-Kurz-Test

[Erzigkeit, 1992]

Der SKT ist ein Kurztest zur Erfassung von Gedächtnis- und Aufmerksamkeitsstörungen und besteht aus 9 Unterpunkten. Für die Studie wurden lediglich die SKT-Bildertafeln in den Parallelformen A und B verwendet. Zur Testdurchführung wurde den Probanden pro Durchlauf für jeweils 20 Sekunden eine der Bildertafeln mit 12 Motiven vorgelegt, anschließend wurden sie aufgefordert, die

gesehenen Gegenstände aus dem Gedächtnis zu reproduzieren (sofortige Reproduktion). Nach der Durchführung weiterer Tests und somit mit einem Zeitabstand von 30 Minuten wurden die Probanden erneut aufgefordert, die Gegenstände zu nennen (verzögerte Reproduktion). In die Auswertung wurden jeweils die Rohwerte der richtig genannten Motive und die Anzahl der gemachten Fehler einbezogen.

3.3.2.3 Leistungsprüfsystem – Untertest 3

[Horn, 1983]

Der Untertest 3 des Leistungsprüfsystems dient als Kurztest zur Erfassung der logischen Denkfähigkeit. Er existiert in 2 Parallelformen, die während der Studie jeweils vor und 2 h nach der TRP-Belastung zum Einsatz kamen. Der Test besteht aus 40 Reihen mit jeweils 8 Elementen, die nach logisch-formalen Gesichtspunkten geordnet sind. Die Aufgabe des Probanden besteht darin, in jeder Einzelaufgabe das nicht in die Reihenfolge passende Element zu markieren. Das Zeitlimit des Tests beträgt 5 Minuten. Zur Auswertung wurde die Summe der richtig bearbeiteten Einzelaufgaben bestimmt.

3.3.2.4 Auditiv-Verbaler Lerntest

[Heubrock, 1992]

Die AVL-T-Wortliste dient der Erfassung der verbalen Merkfähigkeit. Dem Probanden werden 15 Substantive vorgelesen und unmittelbar im Anschluss wird der Proband aufgefordert, aus dem Gedächtnis das Gehörte zu reproduzieren. Die AVL-T-Wortlisten liegen in 5 Parallelformen vor, so dass die Probanden pro Testdurchlauf mit unterschiedlichen Listen getestet werden konnten.

3.3.2.5 d2-Test

[Brickenkamp, 1981]

Bei dem d2-Test handelt es sich um einen Konzentrations- und Aufmerksamkeitsbelastungstest, der die Prüfung intelligenzunabhängiger Konzentrationsleistung, der Belastbarkeit, der selektiven Aufmerksamkeit und der Ausdauerleistung miteinander verknüpft. Er umfasst 14 Zeilen mit je 47 Zeichen (d oder p mit jeweils 1 - 4 Strichen markiert). Die Aufgabe des Probanden, nach einer kurzen Übungsphase, ist nun das selektive Anstreichen der mit 2 Strichen markierten d's. Pro Zeile ist eine Bearbeitungsdauer von 20 Sekunden vorgegeben. Nach Ablauf des Zeitlimits wird der Proband ungeachtet der noch nicht bearbeiteten Zeichen

aufgefordert, die Bearbeitung der nächsten Zeile zu beginnen. Zur Auswertung wurde die Gesamtzahl der bearbeiteten Zeichen (GZ), die Anzahl der Fehler (Fehler 1. und 2. Ordnung) und der verfälschungsresistente Konzentrationsleistungswert (KL) bestimmt. Der Konzentrationsleistungswert wird aus der Anzahl der richtig durchgestrichenen relevanten Zeichen abzüglich der Verwechslungsfehler gebildet.

3.3.2.6 Farbe-Wort-Interferenztest nach J.R. Stroop

(Bäumler, 1985)

Der FWI ist ein Subtest des Stroop-Tests und besteht aus 100 in Zehnerreihen angeordneten Farbwörtern mit jeweils inkongruenter Schriftfarbe. Die Aufgabe der Probanden besteht darin, jeweils die Farbe der Schrift zu benennen, ohne sich durch das inkongruente Farbwort irritieren zu lassen. In die Auswertung fließen sowohl die Anzahl der gemachten Fehler als auch die benötigte Zeit in Form von Rohwerten ein.

3.3.2.7 Flimmerfrequenzverschmelzungstest

(Brickenkamp 1986)

Die Flimmerverschmelzungsfrequenz (FVF) ist ein Indikator für das zentrale Aktivierungsniveau des Organismus.

Die FVF ist im Sinne der Psychophysik jene Schwelle, bei der eine Wahrnehmungsänderung vom Eindruck des Flimmerns zum Standlicht eintritt.

Zur Bestimmung der Flimmerverschmelzungsfrequenz werden nacheinander Lichtreize unterschiedlicher Frequenz vorgegeben. Jeder Reiz wird vom Probanden durch Tastendruck entweder als "Flimmern" oder als "Standlicht" beurteilt. Je nach Beurteilung der vorher ausgegebenen Frequenzen wird nach einem Algorithmus jene Frequenz ausgewählt, bei der der Proband gerade noch oder gerade nicht mehr Flimmerlicht sieht. Letztlich pendeln die ausgegebenen Frequenzwerte knapp zwischen den Frequenzwerten, die noch als Flimmerlicht, und jenen, die schon als Standlicht wahrgenommen werden. Mit dem Unterschreiten eines Grenzwertes während dieses "Pendelvorgangs" wird der Messvorgang beendet.

3.3.2.8 Saisonalitätsfaktoren nach SPAQ-D

Ein Fragebogen, welcher saisonale Schwankungen in den Bereichen

- a. Schlaflänge
- b. Soziale Aktivität
- c. Stimmung
- d. Gewicht
- e. Appetit
- f. Energie

erfasst, wurde den Probanden jeweils einmal zu Beginn der Studie vorgelegt.

Die Probanden wurden aufgefordert anzugeben, ob sich bei ihnen in Bezug auf die Kategorien keine (1 Punkt), geringe (2 Punkte), mäßige (3 Punkte), deutliche (4 Punkte) oder extreme (5 Punkte) Veränderungen im saisonalen Vergleich ergeben. Aus der Gesamtpunktzahl wurde der individuelle Saisonalitätsfaktor errechnet.

3.4 Die Laborparameter

3.4.1 Blutentnahmemodus

Den Probanden wurden jeweils morgens nüchtern um 8:00 Uhr (vor der Belastung) und 1 h (10:00 Uhr) bzw. 2 h (12:00 Uhr) nach der Belastung 20 ml venöses Blut aus einer Kubitalvene entnommen (EDTA-Monovette). Die Blutproben wurden spätestens 30 min nach der Abnahme verarbeitet. Die Blutabnahmemodalitäten waren bei allen untersuchten Probanden identisch.

3.4.2 Verarbeitung der Blutproben

Die Blutproben werden zunächst bei 250 xg bei 20°C für 15 min zentrifugiert. Der Überstand mit thrombozytenreichem Plasma (TRP) wird dem Zentrifugat entnommen und die Anzahl der Thrombozyten im TRP im Cell Counter bestimmt.

In einem zweiten Zentrifugationsschritt bei 1500 xg für 10 min wurde das Plasma gewonnen und bei -20°C bis zur Bestimmung der aromatischen Aminosäuren eingefroren.

3.4.3 Laborparameter

Im Rahmen der Studie wurden aus dem Blut der Probanden folgende Parameter bestimmt:

1. Aromatische Aminosäuren Gesamtkonzentration und freie Konzentration im Plasma (Tyrosin, Phenylalanin, Tryptophan)
2. Indolessigsäure im Plasma
3. Serotonin in Thrombozyten
4. Aktivität der Serotonin-Aufnahme in Thrombozyten

3.4.3.1 Aromatische Aminosäuren im Plasma

40 µl Plasma, werden mit H₂O verdünnt und mit Perchlorsäure enteweißt (Endvolumen 500 µl). Nach Zentrifugation wird im klaren Überstand mittels HPLC die Konzentration von Tyrosin, Phenylalanin und Tryptophan bestimmt. Die Detektion erfolgt mit einem UV-Detektor bei 210 nm.

Zur Bestimmung der freien Konzentrationen der Aminosäuren wurden 500 µl Plasma in Mikrokonzentratoren (Microcon-3, Firma Amicon) zentrifugiert. Das Filtrat wurde wie oben angegeben verdünnt und die Konzentration mittels HPLC bestimmt.

3.4.3.2 Indolessigsäure

200 µl Plasma wurden mit Perchlorsäure enteweißt (Endvolumen 500 µl). Nach Zentrifugation erfolgte die Bestimmung der IES im klaren Überstand mit Hilfe der HPLC bei 220 nm.

3.4.3.3 Serotonin-Konzentration in Thrombozyten

Thrombozyten aus einem Aliquot von 500 µl TRP werden abzentrifugiert, mit physiologischer NaCl-Lösung gewaschen und resuspendiert anschließend bis zur Messung der 5-HT-Konzentration bei -20°C eingefroren.

Zur 5-HT- Analyse werden die Proben aufgetaut und mit Perchlorsäure enteweißt. Nach Zentrifugation wird im klaren Überstand der 5-HT-Gehalt mittels HPLC gemessen. Die Detektion erfolgt mit einem UV-Detektor bei 220 nm.

3.4.3.4 Serotonin- Aufnahme

Die 5-HT-Aufnahme wird durch Inkubation des thrombozytenreichen Plasmas verdünnt mit physiologischer NaCl-Lsg. bei 37°C und einer Konzentration von 10 nM [14-C]-5-HT bestimmt. Als Leerwert dient die unspezifische Bindung von [14-C]-5-HT an Thrombozytenmembranen bei 0°C