

# **UNIVERSITÄTSKLINIKUM HAMBURG-EPPENDORF**

Klinik und Poliklinik für Psychiatrie und Psychotherapie

Direktor: Prof. Dr. med. Jürgen Gallinat

## **Supprimiert Cortisol akut Corticotropin-Releasing Hormon (CRH) und Adrenocorticotropes Hormon (ACTH) im Liquor cerebrospinalis gesunder männlicher Probanden?**

### **Dissertation**

zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin  
an der Medizinischen Fakultät der Universität Hamburg.

vorgelegt von:

Tatiana T. Urbanowicz

aus Wodzislaw Slaskie / Polen

Hamburg 2014

**Angenommen von der  
Medizinischen Fakultät der Universität Hamburg am: 09.07.2015**

**Veröffentlicht mit Genehmigung der  
Medizinischen Fakultät der Universität Hamburg.**

**Prüfungsausschuss, der/die Vorsitzende: Prof. Dr. M. Kellner**

**Prüfungsausschuss, zweite/r Gutachter/in: Prof. Dr. M. Amling**

Für alle Patienten, denen ich im Studium begegnet bin und allen zukünftigen  
Patienten, die meinen Weg als Ärztin kreuzen werden.

**In Liebe**

**D.H. und C.B. gewidmet**

**Inhaltsverzeichnis**

	<b><u>Seite</u></b>
<b>Widmung</b> .....	I
<b>Inhaltsverzeichnis</b> .....	II
<b>Tabellenverzeichnis</b> .....	VII
<b>Abbildungsverzeichnis</b> .....	VIII
<b>Graphikverzeichnis</b> .....	IX
<b>0. Arbeitshypothese und Fragestellung</b> .....	<b>1</b>
<b>1. Einleitung</b> .....	<b>3</b>
<b>1.1 Corticotropin-Releasing-Hormon (CRH) im Gehirn – Rolle bei der endokrinen und Verhaltensregulation</b> .....	<b>3</b>
1.1.1 Ursprung und Verteilung von CRH im Gehirn .....	3
1.1.1.1 Hypothalamisches CRH .....	4
1.1.1.2 Extrahypothalamisches CRH .....	4
1.1.2 Das CRH im Gehirn und die Adaptation an Stress .....	5
1.1.3 Das CRH im Gehirn und die autonomen und Verhaltensfunktionen .....	8
<b>1.2 Messmöglichkeiten von zentralnervösem CRH aus beim Menschen</b> .	<b>11</b>
1.2.1 Indirekte Verfahren zur Messung von zentralnervösem CRH aus dem beim Menschen .....	11
1.2.1.1 Die diagnostische Bedeutung der indirekten endokrinen Messung von zentralnervösem CRH beim Menschen in der Diagnostik von psychiatrischen Krankheiten .....	11
1.2.1.2 Die diagnostische Bedeutung der indirekten endokrinen Messung von zentralnervösem CRH beim Menschen in der Diagnostik des Cushing-Syndroms .....	17

**1.3 CRH im Liquor cerebrospinalis – Rolle bei der Pathophysiologie endokriner und psychiatrischer Erkrankungen beim Menschen ..... 19**

1.3.1 Liquormessungen von CRH beim Menschen

1.3.2 Das CSF-CRH und die Depression .....20

1.3.3 Das CSF-CRH und die Angstspektrumsstörungen .....22

1.3.4 Das CSF-CRH im Cushing-Syndrom .....23

1.3.5 Veränderungen der HHN-Achse in der Posttraumatischen Belastungsstörung (PTSD) in der Panikstörung und in der Depression.....24

**1.4 Regulation von CRH im Liquor cerebrospinalis beim Menschen ..... 26**

1.4.1 Regulation von CRH im Liquor cerebrospinalis im Vergleich zum Cortisol im Blutplasma beim Menschen .....26

1.4.2 Historisches zur Regulation von CRH im Liquor cerebrospinalis .....28

1.4.3 Circadianer Rhythmus von CRH im Liquor cerebrospinalis beim Menschen ..... 29

1.4.4 Regulation von CRH im Liquor cerebrospinalis unter Stimulationsbedingungen ..... 31

1.4.4.1 Präklinische Befunde .....31

1.4.4.2 Klinische Befunde .....32

**1.5 ACTH im Liquor cerebrospinalis beim Menschen .....35**

1.5.1 Rolle von ACTH im Liquor cerebrospinalis bei der endokrinen und Verhaltensregulation beim Menschen .....35

1.5.1.1 Ursprung und Verteilung von ACTH im Gehirn .....35

1.5.1.2 Das ACTH und seine Rolle im Gehirn .....36

1.5.2 Regulation von ACTH im Liquor cerebrospinalis .....37

1.5.2.1 Circadianik von CSF-ACTH .....37

1.5.2.2 Beziehung von Plasma-ACTH und CSF-ACTH unter Stimulationsbedingungen .....39

1.5.3 Rolle des CSF-ACTHs bei der Pathophysiologie endokriner und psychiatrischer Erkrankungen beim Menschen .....	40
<b>2. Probanden, Material und Methoden .....</b>	<b>42</b>
<b>2.1 Studiendesign .....</b>	<b>42</b>
<b>2.2 Probanden .....</b>	<b>42</b>
2.2.1 Probandensuche und Probandenauswahl .....	42
2.2.1.1 Ein-, und Ausschlusskriterien .....	44
2.2.2 Ethikkommission und Einwilligung .....	45
<b>2.3 Materialien zur Untersuchung .....</b>	<b>46</b>
2.3.1 Materialien für die Lumbalpunktion .....	46
2.3.2 Materialien für die Probeentnahmen .....	47
2.3.3 Materialien für die Probenanalyse .....	47
2.3.4 Weitere Materialien .....	48
<b>2.4 Methoden .....</b>	<b>49</b>
2.4.1 Messparameter .....	49
2.4.2 Studienprotokoll .....	49
2.4.3 Probenbestimmung .....	53
2.4.3.1 Labor der Klinik für Psychiatrie und Psychotherapie des UKEs.....	53
2.4.3.2 Labor des Max-Planck-Instituts für Psychiatrie in München .....	56
2.4.3.3 Datenerhebung .....	57
<b>2.5 Nachbehandlung der Probanden .....</b>	<b>58</b>
<b>2.6 Statistische Auswertungen.....</b>	<b>59</b>
2.6.1 Deskriptive Statistik .....	59

2.6.2 Interferentielle Statistik .....	60
<b>3. Ergebnisse .....</b>	<b>63</b>
<b>3.1 Charakterisierung der Probandenstichprobe .....</b>	<b>63</b>
3.1.1 Randomisierung der Probandenstichprobe .....	64
<b>3.2 Nebenwirkungen und Komplikationen .....</b>	<b>65</b>
<b>3.3 Endokrine Parameter .....</b>	<b>66</b>
3.3.1 Ermittlung der Indikatoren AUC und ML.....	66
3.3.2 Cortisol .....	67
3.3.2.1 Cortisol im Plasma .....	67
3.3.2.2 CSF-Cortisol .....	68
3.3.3 CSF-CRH .....	70
3.3.4 CSF-ACTH .....	72
<b>4. Diskussion .....</b>	<b>73</b>
<b>4.1 Zusammenfassung und Interpretation der eigenen Ergebnisse .....</b>	<b>73</b>
<b>4.2 Vergleich der eigenen Ergebnisse mit der Literatur .....</b>	<b>74</b>
4.2.1 Circadianer Rhythmus von CSF-CRH .....	74
4.2.2 Ursprung des CRHs im Liquor cerebrospinalis .....	74
4.2.3 Halbwertszeit von CRH im Liquor cerebrospinalis und Untersuchungszeitspanne .....	75
4.2.4 Interpretation der CSF-ACTH-Befunde .....	76
<b>4.3 Ausblick auf mögliche zukünftige Entwicklungen in der Medizin .....</b>	<b>78</b>

<b>5. Zusammenfassung .....</b>	<b>80</b>
<b>6. Abkürzungsverzeichnis .....</b>	<b>81</b>
<b>7. Literaturverzeichnis .....</b>	<b>84</b>
<b>8. Danksagung .....</b>	<b>108</b>
<b>9. Lebenslauf .....</b>	<b>109</b>
<b>10. Eidesstaatliche Erklärung .....</b>	<b>110</b>



**Tabellenverzeichnis**

**Seite**

**Tabelle 1:** Veränderungen der HHN-Achse in der Posttraumatischen Belastungsstörung (PTSD), in der Panikstörung und in der Depression nach Kellner und Yehuda (1999) .....**24**

**Tabelle 2:** Entblindung der Untersuchungsbedingungen.....**62**

**Tabelle 3:** Gruppenmittelwerte mit dem dazugehörigen Standardfehler der verschiedenen Hormonparameter .....**66**

**Abbildungsverzeichnis**

	<b><u>Seite</u></b>
<b>Abbildung 1:</b> CRH im Gehirn und seine Funktionen nach Holsboer (1999) ....	<b>6</b>
<b>Abbildung 2:</b> Schaubild zum Ursprung und Rückkopplungsmechanismus von CRH im Liquor cerebrospinalis und dessen Beziehung zur peripheren Regulation im Vergleich zur Regulation der Stresshormone der HHN-Achse im Blut beim Menschen .....	<b>27</b>
<b>Abbildung 3:</b> Circadianer Rhythmus von CRH im Liquor cerebrospinalis und Plasma von gesunden Probanden nach Kling et al. (1994) .....	<b>30</b>
<b>Abbildung 4:</b> Circadianik von ACTH im CSF und Plasma von Rhesusaffen im Vergleich : Mittelwerte der Konzentrationen von ACTH im Plasma (A) und im CSF (B) über eine 24-Stunden Zeitspanne nach Kalin et al. (1985) .....	<b>38</b>

**Graphikverzeichnis**

**Seite**

**Graphik Nr.1:** Cortisol-Konzentration im Blutplasma (Mittelwerte  $\pm$ Standardabweichungen) aufgetragen gegen die Beobachtungszeit (Uhr) in gesunden männlichen Probanden nach einer intravenösen Injektion von 100mg Cortisol vs. Placebo um 11.02 Uhr (Pfeil) .....**67**

**Graphik Nr.2:** Cortisol-Konzentrationen im Liquor cerebrospinalis (Mittelwerte  $\pm$  Standardabweichungen) aufgetragen gegen die Beobachtungszeit (Uhr) in gesunden männlichen Probanden nach einer intravenösen Injektion von 100mg Cortisol vs. Placebo um 11.02 Uhr (Pfeil)..... **69**

**Graphik Nr.3:** CRH-Konzentrationen im Liquor cerebrospinalis (Mittelwerte  $\pm$ Standardabweichungen) aufgetragen gegen die Beobachtungszeit (Uhr) in gesunden männlichen Probanden nach einer intravenösen Injektion von 100mg Cortisol vs. Placebo um 11.02 Uhr (Pfeil) .....**71**

**Graphik Nr.4:** ACTH-Konzentration im Liquor cerebrospinalis (Mittelwerte  $\pm$ Standardabweichungen) aufgetragen gegen die Beobachtungszeit (Uhr) in gesunden männlichen Probanden nach einer intravenösen Injektion von 100mg Cortisol vs. Placebo um 11.02 Uhr (Pfeil) .....**72**

## **0. Arbeitshypothese und Fragestellung**

Die Regulation der Hormone der Hypothalamus-Hypophysen-Nebennierenrinden-Achse (HHN-Achse) wie das Corticotropin-Releasing Hormon (CRH), Adrenocorticotrope Hormon (ACTH) und Cortisol spielt für verschiedenste endokrine und auch zentralnervöse Funktionen sowie für die Pathophysiologie zahlreicher endokriner und auch psychiatrischer Erkrankungen, vor allem von Depressionen und Angststörungen (Kling et al. 1991, Geraciotti et al. 1992, Barden et al. 1995, Geraciotti et al. 1997, Holsboer 1999, de Kloet et al. 2005, Nikisch und Mathé 2008), weiterhin von Panikstörungen und Posttraumatischem Belastungsstörungen (Baker et al. 1999, Kellner und Yehuda 1999, Baker et al. 2005, Geraciotti et al. 2008) eine sehr wichtige Rolle.

Während die Regulation der Stresshormone der HHN-Achse durch Messungen von Cortisol und ACTH im Blut sowohl bei gesunden als auch bei psychisch erkrankten Menschen vielfältig untersucht wurde (Rivier et al. 1982, Lytras et al. 1984, Nemeroff et al. 1984, Fisher 1989, Dunn und Berridge 1990, Wilkinson et al. 1997, Holsboer 1999, Habib et al. 2000), ist der Rückkopplungsmechanismus und die Beziehung zur peripheren Regulation von CRH und ACTH im menschlichen Liquor cerebrospinalis noch unklar.

In der vorliegenden Arbeit wird untersucht, welchem Rückkopplungsmechanismus CRH und ACTH im menschlichen Liquor cerebrospinalis unterliegen und welche Beziehung zur peripheren Regulation besteht. Dazu werden bei zehn gesunden männlichen Probanden mit Hilfe serieller Entnahmen von Liquor cerebrospinalis aus einem Subarachnoidkatheter sowie von Blut aus einem Venenkatheter nach einer Placebo-kontrollierten, einfachblinden, randomisierten intravenösen Gabe des Glucocorticoids Cortisol erstmalig das Regulationsverhalten der Hormone der HHN-Achse parallel im Blut und im Liquor cerebrospinalis beim Menschen erfasst und verglichen.

Es wird hypothetisiert, dass es nach peripherer Gabe des Glucocorticoids Cortisol nicht nur, wie seit Jahrzehnten bekannt, zur Verminderung von ACTH im Blut kommt, sondern dass es auch im Liquor cerebrospinalis zur Herabsetzung von CRH und ACTH im Rahmen eines negativen Rückkopplungsmechanismus kommt.

## **1. Einleitung**

### **1.1 Corticotropin-Releasing Hormon (CRH) im Gehirn – Rolle bei der endokrinen und Verhaltensregulation**

#### **1.1.1 Ursprung und Verteilung von CRH im Gehirn**

Das Corticotropin-Releasing Hormon (CRH) wurde erstmals im Jahre 1981 aus Schafshypothalami isoliert und charakterisiert (Vale et al. 1981). Es wurden dazu 490.000 Fragmente von Schafshypothalami gereinigt und synthetisches CRH hergestellt. Es handelt sich um ein Polypeptid aus 41 Aminosäuren. Diese Entdeckung der Sequenzierung des CRHs durch die Forschungsgruppe um Vale et al. 1981 und dessen Zugänglichkeit für weitere Studienarbeiten eröffnete das Tor zu intensiven und wichtigen Erforschungen auf dem Gebiet der Stressphysiologie und der Pathophysiologie von endokrinen und psychiatrischen Störungen der HHN-Achse.

Kurz darauf folgte im Jahre 1983 bereits die Isolierung und Strukturaufklärung von CRH aus den Hypothalami von Ratten (Rivier et al. 1983) und im Jahre 1985 aus den Hypothalami von Schweinen (Patthy et al. 1985). Shibahara et al. isolierten und sequenzierten 1983 das humane CRH-Vorstufen-Gen, indem sie zuvor eine humane Gendatenbank auf Phagen, die Sequenzen des Vorstufen-CRH-Gens trugen, durch die in situ Hybridisierung mit oviner komplementärer Desoxyribonukleinsäure (cDNA) durchsuchten.

Die Präsenz von CRH im Zentralen Nervensystem und hier vor allem im Hypothalamus ist seit dem Jahre 1955 bekannt (Guillemin und Rosenberg 1955, Saffran und Schally 1955).

Der Gehalt an CRH wurde seitdem in verschiedensten Geweben durch Messungen der Aktivität und Immunreaktivität von CRH und mit Hilfe immunhistologischer und radioimmunlogischer Verfahren bestimmt. Neben der Verteilung im Zentralen Nervensystem ist das CRH auch in peripheren Geweben zu finden.

Im Gehirn wird hypothalamisches und extrahypothalamisches CRH unterschieden. Die Differenzierung der Topik des CRHs im Gehirn geht mit

verschiedenen zugeschriebenen Funktionen einher (Beyer et al. 1988, Frim et al. 1990, Geraciotti et al. 1992, Palkovits et al. 1998, Holsboer 1999, Kellner und Yehuda 1999, Newport et al. 2003).

#### **1.1.1.1 Hypothalamisches CRH**

Im Zentralen Nervensystem ist eine breite Verteilung von CRH vorzufinden. Das CRH wird hier zum größten Teil in den parvozellulären Neuronen des Nucleus paraventricularis (PVN) (Swanson et al. 1983) und einigen Oxytocin-haltigen magnozellularen Neuronen des PVN (Sawchenko et al. 1984) im Hypothalamus synthetisiert. Die parvozellulären Neurone projizieren in die Eminentia mediana und gelangen in das hypophysäre Portalgefäßsystem (stark vaskularisierte Region im Hypophysenstiel) der Hypophyse (Vigh et al. 1984). Die magnozellularen Neurone projizieren in die Neurohypophyse.

Auch in anderen hypothalamischen Kernen konnten CRH-Zellkörper nachgewiesen werden. Dazu gehören der Nucleus arcuatus, der Nucleus preopticus medialis, der Nucleus supraopticus, Gebiete im dorsomedialen, lateralen und posterioren Hypothalamus und der Nucleus mammillaris (Olschowka et al. 1982, Swanson et al. 1983, Merchenthaler 1984, Sawchenko et al. 1984).

#### **1.1.1.2 Extrahypothalamisches CRH**

Neben der hypothalamischen Quelle findet sich extrahypothalamisches CRH in anderen Gehirnregionen wie dem Cortex (Großhirnrinde), dem Hirnstamm und im limbischen System im zentralen Amygdalakern und im Nucleus striae terminalis (Bettkern der Stria terminalis) und verteilt im Rückenmark (Olschowka et al. 1982, Joseph und Knigge 1982, Cummings et al. 1983, Swanson et al. 1983, Thompson et al. 1987, Beaulieu et al. 1988, Gray 1990, Gray 1991). Auch in der Adenohypophyse selber wird CRH synthetisiert, das in autokriner und parakriner Form die ACTH-Sekretion stimuliert (Pecori Giraldi

und Gavagnini 1998).

Das im Blutplasma gemessene CRH stammt zum überwiegenden Anteil aus nicht-hypothalamischen gastrointestinalen Quellen (Bruhn et al. 1987, Cunnah et al. 1987, Sasaki et al. 1987, Orth 1992).

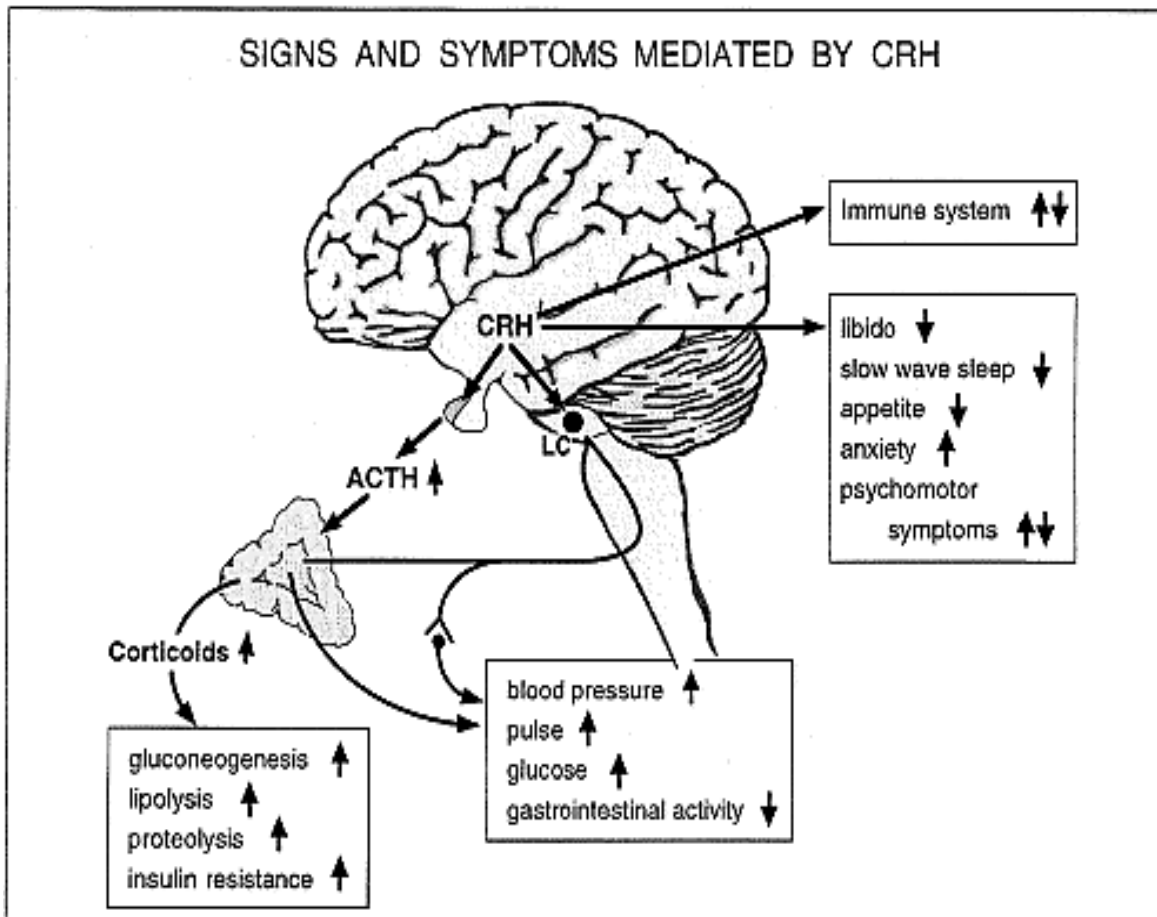
### **1.1.2 Das CRH im Gehirn und die Adaptation an Stress**

Die Hypothalamus-Hypophysen-Nebennierenrinde-Achse (HHN-Achse) ist ein wichtiges Steuerungszentrum im Organismus. Die Regulation der Hormone der HHN-Achse wie das Corticotropin-Releasing Hormon, Adrenocorticotropes Hormon (ACTH), und Cortisol spielt für verschiedenste endokrine und auch zentralnervöse Funktionen des Verhaltens, Denkens und Fühlens im Menschen eine sehr wichtige Rolle (Barden et al. 1995, Holsboer 1999, Kellner und Yehuda 1999, de Kloet et al. 2005) (vgl. Abbildung Nr.1).

Das hypothalamische Corticotropin-Releasing Hormon ist das wichtigste Steuerpeptid der Hypothalamus-Hypophysen-Nebennieren-Achse.

Die Aktivität der Hypothalamus-Hypophysen-Nebennieren-Achse wird durch Stress, das heißt durch zum Beispiel psychische oder physische Belastung, verändert. Dem CRH als sogenannten „Stresshormon“ ist hier eine tragende Rolle inne. Es ist der größte Stimulant der ACTH-Sekretion (Rivier et al. 1982, Vale et al. 1983), die wiederum die Cortisol-Ausschüttung aus der Nebennierenrinde bei Aktivierung des „Stresssystems“ des Körpers bewirkt.





**Abbildung 1:** CRH im Gehirn und seine Funktionen (aus Holsboer 1999)

Das CRH im Gehirn trägt eine immense Rolle in der Stressantwort im Organismus. CRH-Neurone aus dem hypothalamischen PVN projizieren ins das Pfortadersystem der Hypophyse (Vigh et al. 1984) und kontrollieren die HHN-Aktivität (de Kloet et al. 2005).

In der Hypophyse bindet das CRH an spezifische Rezeptoren der Adenohypophyse, den Typ-1-CRH-Rezeptoren (Millan et al. 1987, Chen et al. 1993), und erhöht durch die Aktivierung der Adenylatcyclase die intrazelluläre zyklischem Adenosinmonophosphat (cAMP) -Konzentration. Das cAMP aktiviert die cAMP-abhängige Proteinkinase A (Won und Orth 1990, Giguère et al. 1982). Auf diese Weise wird die Freisetzung von dem Adenocorticotropem Hormon und anderen Proopiomelanocortin (POMC) -Peptiden (Watanabe und Orth 1987, Aguilera et al. 2001) sowie die POMC-Synthese (Lundblad und

Roberts 1988) stimuliert.

ACTH fördert seinerseits die Synthese und Ausschüttung des Stresshormones Cortisol in der Nebennierenrinde. Bei einer bestimmten Konzentration an Cortisol im Körperkreislauf hemmt das Cortisol über einen negativen Rückkopplungsmechanismus die weitere CRH-, und ACTH-Sekretion. Die Stimuli, die zur CRH-Freisetzung führen sind neben dem circadianen Rhythmus (siehe Punkt 1.3.4) verschiedene Zytokine des Immunsystems und „Stress“ (Song et al. 1994, Andersen et al. 2005, McMorris et al. 2006).

Die HHN-Achse bildet einen hormonellen Regelkreis zwischen dem limbischen System, dem Hypothalamus, der Hypophyse und der Nebennierenrinde. Als wichtigstes neuroendokrines Steuerungszentrum vermittelt es die Stressantwort des Organismus auf eine Störung des biologischen Gleichgewichts, der Homöostase, und strebt dessen Wiederherstellung und eine erleichterte Adaption an die zeitweise neue Situation im Organismus an (de Kloet et al. 2005).

Das CSF-CRH könnte in diesem System als ein Index des Funktionierens der hormonellen Stressantwort und der dysregulierten beziehungsweise imbalancierten Stressstörung in übergeordneten Bereichen des menschlichen Gehirns fungieren (Kellner und Yehuda 1999, Newport et al. 2003, de Kloet et al. 2005).

Die Corticosteroid-Reaktionen und ihre wichtige Rolle als Vermittler der Stressantwort werden durch die Mineralo-, und Glucocorticoidrezeptoren, die vor allem im limbischen Gehirnbereich ansässig sind, reguliert (de Kloet et al. 2005). Die Mineralocorticoidrezeptoren sind vorrangig in der Bewertung neuer Situationen und der Einleitung und Organisation der Stressantwort involviert und die Glucocorticoidrezeptoren beenden die Stressreaktion und mobilisieren Energie für die Erholungs-, und Wiederherstellungsphase und fördern den Gedächtnisspeicher zur Erinnerung des aktuellen Stressprozesses für zukünftige Stressreaktionen (de Kloet et al. 2005).

Das CRH im Gehirn ist folglich essentiell für die Koordination der Verhaltens-, und metabolischen Stressantwort (de Kloet et al. 2005).

### **1.1.3 Das CRH im Gehirn und die autonomen und Verhaltensfunktionen**

Neuroanatomische Studien zeigen, dass das CRH aus dem Gehirn nicht nur in der Koordination der neuroendokrinen Adaptation auf Stress fungiert, sondern dass das CRH aus dem Gehirn auch als Vermittler von autonomen, endokrinen und Verhaltensfunktionen agiert und eine breite Verteilung der Projektionen der CRH-Neuronen mit gefundenen morphologischen Korrelaten in den entsprechenden Gehirnregionen vorliegt (Koob und Bloom 1985, Dunn und Berridge 1990, Holsboer et al. 1992, Owens und Nemeroff 1991).

Extrahypothalamisches CRH, das in Hirnrinden-, limbischen und Hirnstamm-Regionen gefunden worden ist, reguliert die endokrinen, autonomen und Verhaltensfunktionen wie Angst, den Schlaf-, Wachrhythmus, die Lokomotorik, und die Nahrungsaufnahme. Ebenfalls ist das CRH im Gehirn an der Regulation des Trieb-, und Affektverhaltens, der Aufmerksamkeit, Lernfunktion und der Sexualfunktion beteiligt und übt Einfluss auf die Gedächtnisfunktionen und auf die Verhaltensweisen aus.

#### Das CRH im Gehirn und die Zunahme des ängstlichen Verhaltens

Die meisten Studien haben intracerebroventrikuläre oder Gehirnregion-spezifische CRH-Injektionen genutzt, um die Verhaltensfunktionen vom CRH zu erforschen. Alle Forschungsgruppen fanden, dass das CRH Angst-auslösende und Furcht-verwandte Wirksamkeiten vermittelt: Das CRH erhöht das fellpflegende und erstarrende Verhalten und erniedrigt die Versuche der Futteraufsuche in Mäusen und Ratten als Ausdruck einer ängstliche Symptomatik (Britton et al. 1982, Sutton et al. 1982).

Auch Experimente die auf einer verminderten CRH-Neurotransmission beruhen stützen die Rolle des CRHs im Gehirn im angstausslösenden Verhalten: Versuche mit der Verabreichung eines CRH-Rezeptor-Antagonisten, des Alpha-helical CRF9-41, in Ratten zeigte eine Abnahme der lokomotorischen Aktivität der Ratten sowohl in der Situation mit anschließender Bestrafung als auch mit fehlender Bestrafung des Verhaltens der Ratten in einer Testsituation (Britton et al. 1986).

Die Verabreichung von antisense Oligodeoxynukleotiden (ODNs), die die Translation der CRH-mRNA (messenger Ribonukleinsäure, Boten-RNA) in CRH

verhindert, zeigt ebenfalls eine Unterdrückung des Angstverhaltens unter basalen und Stress-Bedingungen (Skutella et al. 1994).

Weitere Studien belegen eine CRH-induzierte Zunahme des akustischen Aufschreckens (Swerdlow et al. 1989) und des Stress-induzierten Erstarrens (Kalin et al. 1988) als weitere Indikatoren eines durch CRH vermittelten ängstlichsten Verhaltens in Ratten.

In einer Studie mit einer intracerebroventrikulären Injektion von CRH in Ratten zeigten beide Testdosen von einmal 100 ng CRH und 300 ng CRH eine verminderte aktive soziale Interaktion gemessen anhand des Parameters „in sozialer Interaktion verbrachte Zeit von Rattenpaaren“ ohne eine herabgesetzte Lokomotorik der Ratten (Dunn und File 1987). Die erforschte verminderte soziale Interaktion von Ratten als Reaktion auf einen Angstzustand ist auch auf erwachsene Männer und Frauen in ähnlichen Studien anwendbar (File und Tucker 1984, File 1987).

Es ist erwiesen, dass mit zunehmendem CRH-Gehalt im Gehirn das Angstverwandte Verhalten ansteigt: das explorative Verhalten nimmt mit zunehmendem CRH-Gehalt ab und die verbrachte Zeit von Ratten in abgedunkelten Räumen nimmt zu (Butler et al. 1990).

Die Gabe vom CRH in die Loci coerulei (LC) von anästhesierten Ratten zeigt zudem exzitatorische Effekte (Valentino et al. 1983).

Genetisch veränderte Mäuse mit einer Überexpression von CRH zeigen Gedächtnisbeeinträchtigungen (Heinrichs et al. 1996) und ein vermehrtes ängstliches Verhalten, das nach der Verabreichung von CRH-Rezeptor-Antagonisten reversibel ist (Stenzel-Poore et al. 1994).

### Das CRH im Gehirn und die Schlafstörungen, der Sexualtrieb und die Kognition

Das CRH im Gehirn ist zudem auch für weitere affektive Störungen in Menschen ursächlich. Der Erholungsschlaf mit Deltawellen im Schlaf-EEG (Schlaf-Elektroenzephalogramm) nimmt bei zentraler Injektion von CRH in Ratten so wie bei peripherer CRH-Gabe in gesunden menschlichen Probanden

ab und die Ausschüttung des Schlaf-bezogenen Wachstumsfaktors ist herabgesetzt (Ehlers et al. 1986, Holsboer et al. 1988).

Der Sexualtrieb (Sirinathsinghji et al.1983, Sirinathsinghji 1987) ist unter einer zentralen CRH-Gabe ebenso vermindert wie die Nahrungsaufnahme mit resultierender Stress-Anorexie in Ratten (Morley und Levine 1982, Gosnell et al. 1983, Krahn et al. 1986).

Die Wirksamkeit des CRHs auf die Kognition bei der Alzheimer Krankheit präsentiert sich in reduzierten CRH-Konzentrationen in Regionen der Hirnrinde und im Liquor cerebrospinalis (Bisette et al. 1985, Pomara et al. 1989). Die Ablösung von CRH von ihren Bindungsproteinen geht ebenfalls mit einer Verbesserung in im Merkgedächtnis und Lernen einher (Behan et al. 1995).

#### Das CRH im Gehirn und die Effekte auf das autonome Nervensystem

Intracerebroventrikuläre Injektionen vom ovinen CRH in Ratten resultieren in einem erhöhtem Blutdruck und einer erhöhten Herzfrequenz (Fisher et al. 1982) ebenso wie in einer erhöhten Glykämie, einer verminderten gastrointestinalen Aktivität (Taché et al. 1983) und erhöhten Plasmawerten vom Adrenalin und Noradrenalin (Brown et al. 1982).

In Anbetracht der Rolle vom CRH im Gehirn in den komplexen endokrinen und Verhaltenswirksamkeit werden Dysfunktionen im System der HHN-Achse und des CRHs in Verbindung mit der Pathophysiologie psychiatrischer Krankheiten gebracht (de Kloet et al. 2005).

## **1.2 Messmöglichkeiten von zentralnervösem CRH beim Menschen**

### **1.2.1 Indirekte Verfahren zur Messung von zentralnervösem CRH beim Menschen**

Zur indirekten Messung von CRH aus dem Gehirn in Form von Messungen von Cortisol als Index der Veränderungen und Aktivität der HHN-Aktivität aus dem menschlichen Blutplasma, Speichel oder Urin stehen einige indirekte endokrine Verfahren zu Verfügung.

Die indirekten Messmethoden und verschiedenen Stimulationstest von CRH dienen verschiedenen endokrinologischen Fragestellungen wie der Unterscheidung des Cushing-Syndroms vom Pseudo-Cushing-Syndrom, helfen in der Ursachensuche vom ACTH-abhängigen Cushing-Syndrom und in der Unterscheidung der verschiedenen Formen der Nebenniereninsuffizienz.

Im Besonderen spielen die indirekt endokrinen Messmethoden von CRH aus dem Gehirn beim Menschen in der Diagnostik und in den Verlaufskontrollen von psychiatrischen Störungen, vor allem der affektiven Störungen, eine bedeutsame Rolle.

#### **1.2.1.1 Die diagnostische Bedeutung der indirekten endokrinen Messung von zentralnervösem CRH beim Menschen in der Diagnostik von psychiatrischen Krankheiten**

Die indirekte Messung von CRH aus dem Gehirn in Form von Untersuchungen von Urin, Blutplasma und den endokrinologischen Funktionstests in psychiatrischen Störungen weisen eine erhöhte Aktivität der HHN-Achse, eine verminderte zirkadiane Rhythmik sowie eine Abschwächung der negativen Rückkopplung der HHN-Achse auf :

## **Neuroendokrinologische Veränderungen bei Depression**

Einen erhöhten basalen Cortisolspiegel im Blutplasma depressiv erkrankter Patienten berichteten erstmals Board et al. im Jahre 1956. Eine vermutete Korrelation zwischen der Höhe der Plasmacortisolspiegel und dem Schweregrad und der Erscheinungsform der Depression konnte sich allerdings nicht halten. Yehuda et al. analysierten 1996 den circadianen Rhythmus der Cortisolwerte im Blutplasma bei Depressiven und fanden heraus, dass diese Werte vor allem in den späten Abend-, (22-24 Uhr) und frühen Morgenstunden (3-4 Uhr) erhöht waren, in ihrer 24-stündigen Sammelperiode wurde allerdings keine insgesamt erhöhte Cortisolproduktion festgestellt. Vielmehr wurde die Dysregulation der Rhythmik der Cortisolfreisetzung in der HHN-Achse als notwendiges Merkmal der Depression definiert (Stokes und Sikes 1987, Gold et al. 1988, Yehuda et al. 1996).

Eine erhöhte Cortisolausscheidung im 24-Stunden-Sammelurin von depressiven Patienten mit den krankheitsspezifischen Merkmalen der Ängstlichkeit, Traurigkeit und psychotischen Desorganisation wurde von Sachar et al. 1970 und Carroll et al. 1976 beschrieben. Folgende Untersuchungen konnten diesen Befund des Hypercortisolismus im Urinmaterial bei Patienten mit Depressionen, und diesen spezifischen Merkmalen der Störung als Ausdruck eines emotionalen Arousals, bestätigen (Rubin et al. 1987, Yehuda et al. 1993, Scott und Dinan, 1998).

Einer der ersten neuroendokrinologischen Tests, der zur Untersuchung der Dysregulation der HHN-Achse Anfang der 80er Jahre bei depressiven Patienten eingeführt worden ist, war der Dexamethason-Suppressionstest (DST) (Carroll et al. 1981). In der Psychiatrie wird dieser Dexamethason-Hemmtest zur Einschätzung der Funktion der HHN-Achse genutzt. Aufgrund der homologen Struktur zum Cortisol greift Dexamethason als synthetisches Glucocorticoid wie dieses in den endokrinen Rückkopplungsmechanismus ein und hemmt die physiologische Ausschüttung von ACTH und Cortisol. Bei der Überzahl der depressiven Patienten bleibt diese Inhibition nach einer Dexamethasongabe von 1-2 mg aus und der Cortisolspiegel sinkt bei den Depressiven nicht wie bei den Gesunden, es wird von einer Cortisolnonsuppression gesprochen (Carroll

et al. 1982, Ribeiro et al. 1993). Mit der Cortisolnonsuppression ist eine Minderung der Fähigkeit des Dexamethasons, eine Inhibition der Freisetzung von ACTH in Rahmen der negativen Rückkopplung auszuüben, gemeint. Zwar besitzt der DST mit 47,6% eine geringe Spezifität (Watson et al. 2006) und eine geringe Sensitivität von 20-50% (Arana et al. 1991, Modell et al. 1997) für die Diagnosestellung der Depression, allerdings wird der Test bedingt als biologischer Verlaufsparemeter bei Patienten mit Depressionen genutzt. In der Psychiatrie gelten pathologische Werte des Dexamethason-Hemmtests, die nach einer geeigneten medikamentösen und psychotherapeutischen Therapie persistieren, als Indikator für eine erhöhte Rückfallquote (Ribeiro et al. 1993).

Der CRH-Stimulationstest bei Patienten mit Depression erwies anhand der Blutplasmawerte eine signifikante Abschwächung der ACTH-Sekretion im Vergleich zu gesunden Kontrollen (Holsboer et al. 1984, Holsboer et al. 1987). Forschungsarbeiten und vor allem die Vorbehandlung mit dem Cortisol synthese-Inhibitor Metyrapon und die daraufhin nicht mehr nachzuweisende abgeschwächte ACTH-Antwort auf die CRH-Gabe (von Bardeleben et al. 1988, Lisansky et al. 1989) handeln erhöhte Cortisolspiegel und desensibilisierte CRH-Rezeptoren an den corticotropen Zellen der Hypophysen aufgrund von Dauerstimulation (Owens und Nemeroff 1991) als ursächlich für diese Beobachtung.

Beim Dexamethason-CRH-Test (Dex/CRH-Test) erhalten die Patienten gemäß des Testprotokolls des Erstanwenders Yanovski et al. 1993 0,5 mg Dexamethason oral alle 6 Stunden ab 12.00 Uhr des Starttages über zwei Tage verabreicht. Zwei Stunden nach der letzten Gabe des Dexamethasons folgt eine intravenöse Applikation von 1 µg/kg humanem CRH. Blutentnahmen erfolgten 1 Minute und 15 Minuten vor der CRH-Gabe und 5, 15, 30, 45 und 60 Minuten nach der CRH-Gabe um den Cortisol-, und ACTH-Spiegelverlauf zu bestimmen.

Beim kombinierten Dexamethason/Corticotropin-Releasing Hormon- Test (Dex/CRH-Test) erhalten die Patienten gemäß des Test-Protokolls von Zobel et al. 2001 um 23.00 Uhr 1,5 mg Dexamethason vor der Stimulation mit 100 µg humanem CRH am Folgetag. Am nächsten Tag erfolgen ab 15 Uhr



viertelstündlich bis 16.15 Uhr Blutentnahmen um den Cortisol-, und ACTH-Spiegelverlauf zu bestimmen, nachdem noch nach der ersten Blutentnahme 100 µg humanes CRH intravenös appliziert wird.

Bei Gesunden wird durch die Vorbehandlung mit Dexamethason eine vermehrte Ausschüttung von ACTH und Cortisol nach Gabe von humanem CRH supprimiert. Wird der Test bei Patienten mit Depression durchgeführt, ist eine Steigerung der ACTH -, und Cortisol-Sekretion zu verzeichnen, da vermutet wird, dass das Dexamethason seine supprimierende Wirkung nicht wie das Cortisol an der Hypophyse, sondern am Hypothalamus ausübt (Evans und Nemeroff 1985, von Bardeleben und Holsboer 1989, Heuser et al. 1994). Somit ist im Dex/CRH-Test ein verlässlicher Parameter zum Aufzeigen einer Störung in der Glucocorticoid-Feedback-Regulation gefunden worden, der mit einer Sensitivität für die Diagnose Depression mit über 80% dem einfachen DST-Test deutlich überlegen ist (Heuser et al. 1994). Eine genetische Assoziation zur Entwicklung einer Depression wird dadurch gezeigt, dass Erstangehörige von Erkrankten endokrinologische Veränderungen im Dex/CRH-Test aufweisen (Modell et al. 1998).

### **Neuroendokrinologische Veränderungen bei Posttraumatischen Belastungsstörung (PTSD)**

Die Posttraumatische-Belastungsstörung (PTSD) profitiert ebenfalls von den indirekt endokrinologischen Messungen des CRHs. Die PTSD zeigt sich allerdings endokrinologisch häufig entgegengesetzt zur Depression.

Erniedrigte Cortisolspiegel im Urin bei PTSD-Patienten (Manson et al. 1986) wurden durch Yehuda et al. 1990 als Anpassungsmaßnahme der HNN-Achse auf den in der PTSD inkludierten chronischen Stress sowie als Vermeidungsverhalten gewertet (Yehuda et al. 1995). Konträr dazu berichteten Folgearbeiten in PTSD-Patienten normale oder erhöhte Cortisolspiegel im 24-Stunden-Sammelurin (Pitman und Orr 1990, Maes et al. 1998). Es wurde eine

umgekehrte Korrelation zwischen dem Cortisolspiegel und der vergangenen Zeit nach dem Trauma postuliert (Ramusson et al. 2001).

Cortisol-Messungen im Speichel und Blutplasma bei PTSD-Patienten wiesen uneinheitliche Ergebnisse auf: Bei PTSD-Patienten wurden einerseits basal erniedrigte Cortisolspiegel (Yehuda et al. 1994, Goenjian et al. 1996, Kellner et al. 1997) gefunden. Kellner et al. (1997) zeigten zudem eine Normalisierung der Werte bei Symptombesserung im Verlauf einer chronischen PTSD. Andererseits präsentierten andere Studienergebnisse keine Veränderungen der Speichelwerte bei PTSD-Patienten (Young et al. 2004). Die Untersuchungen der Cortisolspiegel im Blutplasma von PTSD-Patienten lieferten ebenfalls uneinheitliche Ergebnisse mit einerseits erniedrigten Cortisolspiegeln (Yehuda et al. 1991, Kellner und Yehuda 1999) und andererseits erhöhten Cortisolspiegeln (Lieberman et al. 1983, Lieberzon et al. 1999). Der Dexamethason-Hemmtest bringt in der PTSD mehr Klarheit. Eine hier gefundene gesteigerte Cortisol-suppression (Halbreich et al. 1989, Yehuda et al. 1991, Yehuda et al. 1993) spricht für eine unterschiedliche Regulation der HPA-Achse in der Depression und PTSD (Muhtz et al. 2008).

Der CRH-Stimulationstest dient im klinischen Alltag zur Beurteilung einer möglichen Nebennierenüberfunktion/-unterfunktion, der Prüfung der Funktionsfähigkeit der Hypophysen-HPA-Achse nach einer Langzeit-Glucocorticoidtherapie und hilft bei der diagnostischen Abgrenzung von der Diagnose beziehungsweise Differentialdiagnose des Cushing-Syndroms und in der Diagnostik von psychiatrischen Krankheiten.

Der Patient fastet über einen Zeitraum von mindestens vier Stunden vor der Testdurchführung. Vor Einhalten einer Ruheperiode von mindestens 30 Minuten wird eine Venenverweilkanüle gelegt. Blutentnahmen für ACTH und Cortisol werden vor und nach der CRH-Injektion entnommen. Die intravenöse Applikation von 100 µg CRH oder 1 µg/kg Körpergewicht erfolgt als Bolusgabe. Die weiteren Blutentnahmen für ACTH und Cortisol erfolgen nach 15, 30, 60, 90 und 120 Minuten. Sowohl ein Anstieg von ACTH als auch ein Anstieg von Cortisol im Blutserum werden als Kriterium für eine positive Antwort im CRH-Test definiert (Nieman et al. 1993).

Der CRH-Test führte bei Patienten mit PTSD bei Smith et al. 1989 zu einer signifikant abgeschwächten ACTH-Antwort bei normaler Cortisolantwort auf die CRH-Gabe, bei Rasmusson et al. zeigte sich 2001 allerdings eine verstärkte ACTH-, und Cortisol-Antwort als Zeichen einer möglichen Hyperreaktivität von Cortisol.

Im Provokationstest, in dem intravenös der panikogene CRH-Releaser Cholecystokin-Tetrapeptid (CCK-4) verabreicht wurde, präsentierten die PTSD-Patienten mit Angst-, und Paniksymptomen eine signifikant erniedrigte ACTH-Ausschüttung und einen rascheren Abfall des Anstiegs des Cortisolplasmas im Vergleich zu Gesunden, so dass die angenommene Cortisol-Überaktivität in PTSD-Patienten bei gesteigertem negativen Glucocorticoid-Feedback bei PTSD-Patienten gestützt wurde (Kellner et al. 2000).

Der Metyrapon-Test weist durch seine inhibierte Cortisolsynthese in der Nebennierenrinde und folgenden Abschirmung der Hypophyse von einer negativen Rückkopplung durch peripheres Cortisol, eine interessante Möglichkeit der Anschauung der Hypophysen-Aktivität auf. In PTSD-Patienten konnte ein gesteigerter ACTH-Plasmaspiegel und 11-Desoxycortisol als Hinweis auf ein gesteigertes Glucocorticoid-Negativ-Feedback aufgezeigt werden (Yehuda et al. 1996).

Kellner et al. fanden 2004 in Untersuchungen mit dem Metyrapon-Test in Form von einer nächtlichen Gabe von über 2000 mg Metyrapon und eines kombinierten Dexamethason/Metyrapon-Tests, dass bei Patienten der ausgeprägte ACTH-Anstieg nach Metyrapon-Gabe sowie dessen deutlicher Abfall bei zusätzlicher Dexamethason-Gabe sich nicht von den Ergebnissen gesunder Probanden unterschied. Somit konnte sich weder die Hypothese der gesteigerten negativen Rückkopplung bei PTSD noch eine von Kanter et al. 2001 postulierte verminderte adrenocorticale Ansprechbarkeit bestätigen.

Auch der kombinierte Dex/CRH Test bei Patienten mit komorbider PTSD bei einer Borderline-Persönlichkeitsstörung nach sexuellem Missbrauch in der

Kindheit zeigte eine Hypersuppression nach Dexamethason-Gabe (Rinne et al. 2002).

### **1.2.1.2 Die diagnostische Bedeutung der indirekten endokrinen Messung von zentralnervösem CRH beim Menschen in der Diagnostik des Cushing-Syndroms**

Das Cushing-Syndrom ist definiert als ein Zustand, bei dem es aufgrund erhöhter peripherer Cortisolspiegel (Hypercortisolismus) zu dem typischen cushingoiden Habitus kommt (Braun und Renz-Polster 2001).

Die Diagnostik des Cushing-Syndroms erfolgt in mehreren Schritten. Bei pathologischen Testergebnissen in der Basisdiagnostik schließt sich die Differentialdiagnostik des Cushing-Syndroms an. Die indirekten endokrinen Messungen von dem CRH spielen dabei eine relevante diagnostische Rolle.

So werden in der laborchemischen Basisdiagnostik des Cushing-Syndroms die Messung der Konzentration des freien Cortisols im 24h-Sammelurin ( 24hUFC) (David et al. 1968, Labhardt 1988) , die Erstellung eines Cortisol-Tagesprofils (Cortisol-TP) und der niedrigdosierte Dexamethason-Hemmtest (lowdoseDex-Test) verwendet. Bei der Erstellung Cortisol-Tagesprofils (Cortisol-TP) sollte es im Sinne der circadianen Rhythmik über den Tag zu einem deutlichen Abfall der Konzentration des Serumcortisols kommen. Ein mangelnder Abfall der Serumkonzentration des Cortisols, d.h. ein Abfall von weniger als 20%, spricht für das Vorliegen eines Cushing-Syndroms (Eddy et al. 1973). Beim niedrigdosierten Dexamethason-Hemmtest (lowdoseDex-Test ) wird dem Patienten 1 mg Dexamethason per os verabreicht und der Serumspiegel für Cortisol am Folgetag um 08.00 Uhr bestimmt. Der Physiologie nach ist eine Unterdrückung der Cortisolsekretion über einen Rückkopplungsmechanismus zu erwarten.

Die indirekten endokrinen CRH-Messungen dienen ebenfalls der Differenzierung der verschiedenen Ursachen der Entwicklung eines Cushing-Syndroms. Durch Tests wie die Bestimmung des ACTH-Serumspiegels, dem hochdosierten Dexamethason-Hemmtests mit 8 mg Dexamethason und dem CRH-Test lassen sich mit hoher Spezifität und Sensitivität bei Vorliegen eines pathologischen Resultats der Cortisolsekretion in der Basisdiagnostik (siehe oben im Punkt 1.2.1.2) beispielsweise der Morbus Cushing (M.Cushing), NNR(Neben-Nieren-Rinden)-Tumoren und Syndrome ektopter ACTH-Produktion voneinander differenzieren. Durch die Bestimmung des ACTH-Serumspiegels lässt sich ein NNR-Tumor oder eine iatrogene Glucocorticoidgabe von den anderen Ursachenpathologien differenzieren, da durch den negativen Rückkopplungsmechanismus es hier zu einer Suppression von ACTH kommt, die bei den anderen Ursachenformen ausbleibt. Der Morbus Cushing kann mithilfe des hochdosierten Dexamethason-Hemmtests von der ektopten ACTH-Produktion unterschieden werden. Werden die Cortisolwerte um mehr als 50 % supprimiert, ist also die negative Rückkopplung nicht komplett aufgehoben, spricht dies für einen M. Cushing. Bei Nicht-Abfall des Cortisolspiegels, ist an eine ektope ACTH-Produktion im Sinne eines Tumorleidens zu denken.

Beim CRH-Stimulationstest werden Cortisolwerte unter 14 µg als Beleg für ein Pseudo-Cushing-Syndrom ohne morphologisches Korrelat für den Hypercortisolismus angesehen (Nelson 1972). Ist die Stimulierbarkeit erhalten, d.h. steigt der Cortisolspiegel durch CRH-Gabe, liegt höchstwahrscheinlich ein M. Cushing vor. Fehlt der Anstieg von ACTH und Cortisol nach CRH-Gabe besteht der Verdacht einer ektopten ACTH-Produktion.

Zur Differenzierung des Cushing-Syndroms vom Pseudo-Cushing-Syndrom wird der Dexamethason-CRH-Tests (Dex/CRH-Test) genutzt, der im Vergleich zu den anderen Testverfahren wie dem lowdose-Dexamethason-Test oder dem CRH-Test eine Sensitivität von 100% und ähnlich hohe Werte für die Spezifität aufweist (Yanovski et al. 1993, Yanovski et al. 1998).

### **1.3 CRH im Liquor cerebrospinalis – Rolle bei der Pathophysiologie endokriner und psychiatrischer Erkrankungen beim Menschen**

#### **1.3.1 Liquormessungen von CRH beim Menschen**

Neben dem indirekten Verfahren ist ein praktizierter Ansatz die Messung von CRH als Einpunktmessung im Liquor cerebrospinalis (CSF) beim Menschen im Rahmen einer Lumbalpunktion (Kling et al. 1991, Heuser et al. 1998, Newport et al. 2003, Nikisch und Mathé 2008).

Diese Einpunktmessungen vom CSF-CRH sind möglicherweise durch den Einfluss der antizipatorischen Ängste und des Punktionsstressses bei den Probanden schlecht standardisierbar und sehr störanfällig.

Weiterhin sind derartige Einpunktmessungen meist in ihrer Aussagekräftigkeit eingeschränkt, da es sich bei der HHN-Achse um ein komplexes dynamisches System handelt und die Einpunktmessungen die Möglichkeit eines circadianen Rhythmus der CRH-Sekretion nicht beachten. Mehrfach wiederholte Lumbalpunktionen am gleichen Tag wären als Lösungsansatz für dieses Problem ärztlich-ethisch nicht vertretbar.

Sowohl wissenschaftlich und ethisch vertretbar ist aus diesen Gründen die serielle Konzentrationsmessung vom CRH mithilfe eines einige Stunden liegenden Subarachnoidalkatheters.

Die ersten Studien mit seriell gemessenen CSF-CRH Werten bestätigten die Informations-Überlegenheit der kontinuierlichen CSF-CRH Probensammlung (Horner et al. 1982, Huang et al. 1988, Ying et al. 1988, Adashi et al. 1990, Baumann 1990, Rosenfeld et al. 1990, Schneyer et al. 1990, Jan et al. 1991, Shimonaka et al. 1991, Sugino et al. 1991). Ebenfalls für eine aussagekräftigere serielle Liquorentnahme sprechen Geraciotti et al. (1992). Die Forschungsgruppe hat das CSF-CRH mithilfe eines sechs Stunden liegenden Subarachnoidalkatheters bei gesunden und depressiven Menschen gemessen und dabei eine rapide Rate in der Konzentrationsänderung vom CSF-CRH beobachtet. Die sich so schnell ändernde Konzentrationsrate vom CSF-CRH im Liquor der individuellen Studienteilnehmer wäre mit einer Liquor-Einpunktmessung nicht auffassbar gewesen und biete damit nur limitierte Informationen zur Interpretation der Studienergebnisse (Geraciotti et al. 1992).

Allerdings ist auch zu problematisieren inwieweit der Liquor cerebrospinalis als Abflusssystem des Gehirns hypothalamisches CRH enthält, CRH kommt in mehreren anderen Hirnregionen ebenfalls vor (Olschowka et al. 1982, Joseph und Knigge 1982, Cummings et al. 1983, Swanson et al. 1983, Thompson et al. 1987, Beaulieu et al. 1988, Gray 1990, Gray 1991) und der relative Anteil des Liquor-CRHs aus hypothalamischen Quellen ist unklar. Zudem wird das CRH in anderen Regionen des Gehirns zum Teil anders /eigenständig reguliert (Frim et al. 1990, Palkovits 1998).

Es sollte folglich geklärt werden, ob beim Menschen CRH-Messungen im Liquor cerebrospinalis die hypothalamische CRH-Sekretion reflektieren.

### **1.3.2 Das CSF-CRH und die Depression**

Die schwere Depression ist eine ernste und lebensbedrohliche Erkrankung weltweit. In depressiven Patienten wurden eine erhöhte CSF-CRH-Konzentration (Nemeroff et al. 1984), eine verminderte CRH-Bindung im Bereich des frontalen Cortex (Nemeroff et al. 1988), sowie eine abgestumpfte ACTH-Antwort als Reaktion auf intravenös appliziertes CRH beobachtet (Gold et al. 1986, Holsboer et al. 1986). Diese neuroendokrinen Veränderungen in der Entwicklung einer Depression wurden durch einen Defekt im Mechanismus des Glucocorticoid-Feedbacks erklärt, der durch einen erfolgreichen pharmakologischen Eingriff mit Antidepressiva behoben werden kann (Barden et al. 1995). Eine Therapie mit Antidepressiva erhöht nach Barden et al. (1995) die Expression von Mineralo-, und Glucocorticoidrezeptoren und deren Hormon-Bindungs-Aktivität und somit eine verminderte HHN-Achsen-Aktivität mit folglich reduzierter CRH-Konzentrationen, die gegen die Pathogenese der Depression wirkt.

Holsboer unterstützte mit seiner Arbeit im Jahre 1999 die These der Desensibilisierung der CRH-Rezeptoren zur Behandlung von Erkrankungen, die mit einer Hyperaktivität der HHN-Achse in Verbindung stehen. Während die Antidepressiva eine längere Zeitdauer zum Wirkeintritt beanspruchen, plädiert Holsboer (1999) für die die Blockade des CRH1-Reseptors, der in der

Vermittlung von Angst-, und Depressionszuständen eingeschaltet ist, für eine Abmilderung der pathologischen HHN-Achsen-Aktivität.

Ein weiteres Votum für die positive Auswirkung von Antidepressiva auf die Behandlung von Depressionen durch eine pharmakologisch erreichte Konzentrationssenkung vom CSF-CRH stellen Heusers et al. (1998) Forschungsergebnisse dar. Sowohl depressive Patienten als auch eine gesunde Kontrollgruppe nahmen über einen Zeitraum von sechs Monaten Amitriptylin (ein trizyklisches Antidepressivum) ein mit der Folge einer deutlichen CSF-CRH Konzentrationsreduzierung in der depressiven Responder-Gruppe und mit einer Tendenz zur CSF-CRH Reduzierung in der gesunden Kontrollgruppe (Heuser et al. 1998).

In der gleichen Forschungsgruppe wurde ebenfalls eine positive Korrelation zwischen dem Alter und der Konzentration vom CSF-CRH in gesunden Probanden festgestellt (Heuser et al. 1998). In der erkrankten Gruppe maskiert die Depression wohlmöglich diesen Zusammenhang, somit postulierten die Autoren eine bessere Reflektion des Alters durch die CSF-CRH-Messung als der Depression. Dafür sprechen auch keine hier gefundenen Konzentrationsunterschiede von CRH im Liquor cerebrospinalis in den verschiedenen Schweregraden der Depressionserkrankung (Heuser et al. 1998).

Auch die vierwöchige Behandlung schwer Depressiver mit Citalopram, einem Serotonin-Wiederaufnahmehemmer, senkte die Konzentration vom CSF-CRH und besserte die Symptomatik der Patienten (Nikisch und Mathé 2005).

Die unabdenklich wichtige Bedeutung des CRHs im Liquor cerebrospinalis als Angriffspunkt in der Therapie von Depressionen zeigt auch die erfolgreiche Behandlung von Antidepressiva-resistenten Patienten, die unter schweren Depression leiden mit der Elektrokrampftherapie (EKT; ein unter Kurznarkose und Muskelrelaxation durch Stromimpulse ausgelöster Krampfanfall unter anästhesistischer Bewachung wird erzeugt.). Die ermittelte Punktzahl in der Hamilton-Depressions-Skala (HAMD = für Hamilton rating scale for depression; ein Hilfsmittel zur Ermittlung der Schwere einer depressiven Störung; je höher die erreichte Gesamtpunktzahl, desto schwerwiegender ist die Depression) in



Antidepressiva-resistenten Patienten mit einer schweren Depression fiel nach achtmaliger Behandlung mit der Elektrokrampftherapie um 50 % (Nikisch und Mathé 2008).

Im Gegensatz zu den obig genannten Studien, die eine Hypersekretion vom CSF-CRH mit einhergehenden Hypercortisolismus bei an Depressionen erkrankten Patienten beobachtet und dadurch die Symptome der Depressiven wie beispielsweise dem Appetitverlust, der Erschöpfung und Schlafstörung und der reduzierten Libido erklärt haben, fanden Geraciotti et al. in ihren kontinuierlichen Konzentrationsmessungen des CSF-CRHs in depressiven Studienteilnehmern im Jahre 1992 sowie 1997 erniedrigte Werte des CSF-CRHs. Die Autoren erklärten die Varietät der CSF-CRH Werte in depressiven Patienten durch eine weitere nötige Differenzierung der depressiven Patienten: Patienten mit normalen Cortisolwerten, Suiziderfolg und einem erkennbaren Hospitalismus weisen somit keine erhöhtes CRH im Liquor auf (Geraciotti et al. 1997).

### **1.3.3 Das CSF-CRH und die Angstspektrumsstörungen**

In Patienten mit Posttraumatischen Belastungsstörungen wurden erhöhte Werte in Einpunktmessungen von CRH im Liquor festgestellt (Bremner et al. 1997).

In einer Untersuchung mit serieller Messung vom CRH-CSF in einer Gruppe von Patienten mit Posttraumatischer Belastungsstörung und einer gesunden Kontrollgruppe bestätigte sich eine signifikant erhöhte basale Konzentration von CSF-CRH in den Patienten, die unter Kriegstraumata leiden im Vergleich mit den gesunden Probanden (Baker et al. 1999). Die Plasma Werte vom Cortisol und ACTH im Vergleich zwischen erkrankten und gesunden Probanden zeigten allerdings im Gegensatz zu den Cortisol-Liquorwerten keinen Gruppenunterschied auf (Baker et al. 2005). Eine Überlegenheit der Messung der HHN-Achsen-Hormone im menschlichen Liquor im Vergleich zur Plasmabestimmung wird hier beispielhaft deutlich.

### 1.3.4 Das CSF-CRH im Cushing-Syndrom

Die Konzentrationen vom CRH und ACTH im Liquor cerebrospinalis geben außerdem eine diagnostische Unterscheidungshilfe zwischen den dysphorischen Syndromen im Cushing-Syndrom und in der schweren Depression, die beide mit erhöhten Cortisolwerten einhergehen (Sachar et al. 1970, Whybrow et al. 1976, Carroll et al. 1977, Becker et al. 1983).

Kling et al. untersuchten im Jahre 1991 dazu die CSF-, und Plasma-Werte vom ACTH und CRH in Cushing-, und Depressionspatienten und gesunden Menschen. Die CRH-, und ACTH-, Konzentrationsmessungen im Liquor, und v.a. der CSF/Plasma – ACTH- Quotient, fielen in Cushingpatienten niedriger aus als in depressiven Patienten und gesunden Probanden (Kling et al. 1991). Zudem geben die CSF-CRH-Werte weitere Auskünfte zur Symptomdifferenzierung zwischen den beiden Erkrankungen: Das CSF-CRH stimuliert die Reaktionsbereitschaft, die höher in Depressionspatienten ist, und supprimiert das Essverhalten, das vermehrt in Cushingpatienten mit depressiven Symptomen vorkommt.

Das CSF-CRHs kann demnach Diagnostikkriterium im klinischen Alltag sein.

### 1.3.5 Veränderungen der HHN-Achse in der Posttraumatischen Belastungsstörung (PTSD), in der Panikstörung und in der Depression

Zusammenfassend stellt das Schaubild von Kellner und Yehuda (1999) das Verhalten von CRH und Cortisol im Blutplasma, im Liquor cerebrospinalis, im Urin und unter Stimulationsbedingungen beim Menschen mit psychiatrischen Erkrankungen sehr gut dar:

**Table 1: Veränderungen der HHN-Achse in der Posttraumatischen Belastungsstörung (PTSD), in der Panikstörung und in der Depression (MDD, Major Depressive Disorder ) (aus Kellner und Yehuda, 1999)**

	PTSD	Panic	MDD
ACTH response to CRF	↓	↓	↓
ACTH response to metyrapone	↑	?	↑
Cortisol response to dexamethasone	↑	↑	↓
CSF-CRF concentration	↑	=	↑
Circadian plasma cortisol	↓	=	↑
Signal-to-noise ratio	↑	↑	↓
24-hr urine cortisol	↓	=	↑
GC receptor binding	↑	↑	↓

Kellner und Yehuda (1999) zeigen in ihrer tabellarischen Auflistung der Veränderungen in der HHN-Achse bei psychiatrischen Erkrankungen auf, dass das Verhalten bezüglich der Hormone der HHN-Achse sich bei der Panikstörung und der Posttraumatischen Belastungsstörung mehr ähneln als bei der Depression und die verschiedenen Parameter uneinheitliche Ergebnisse

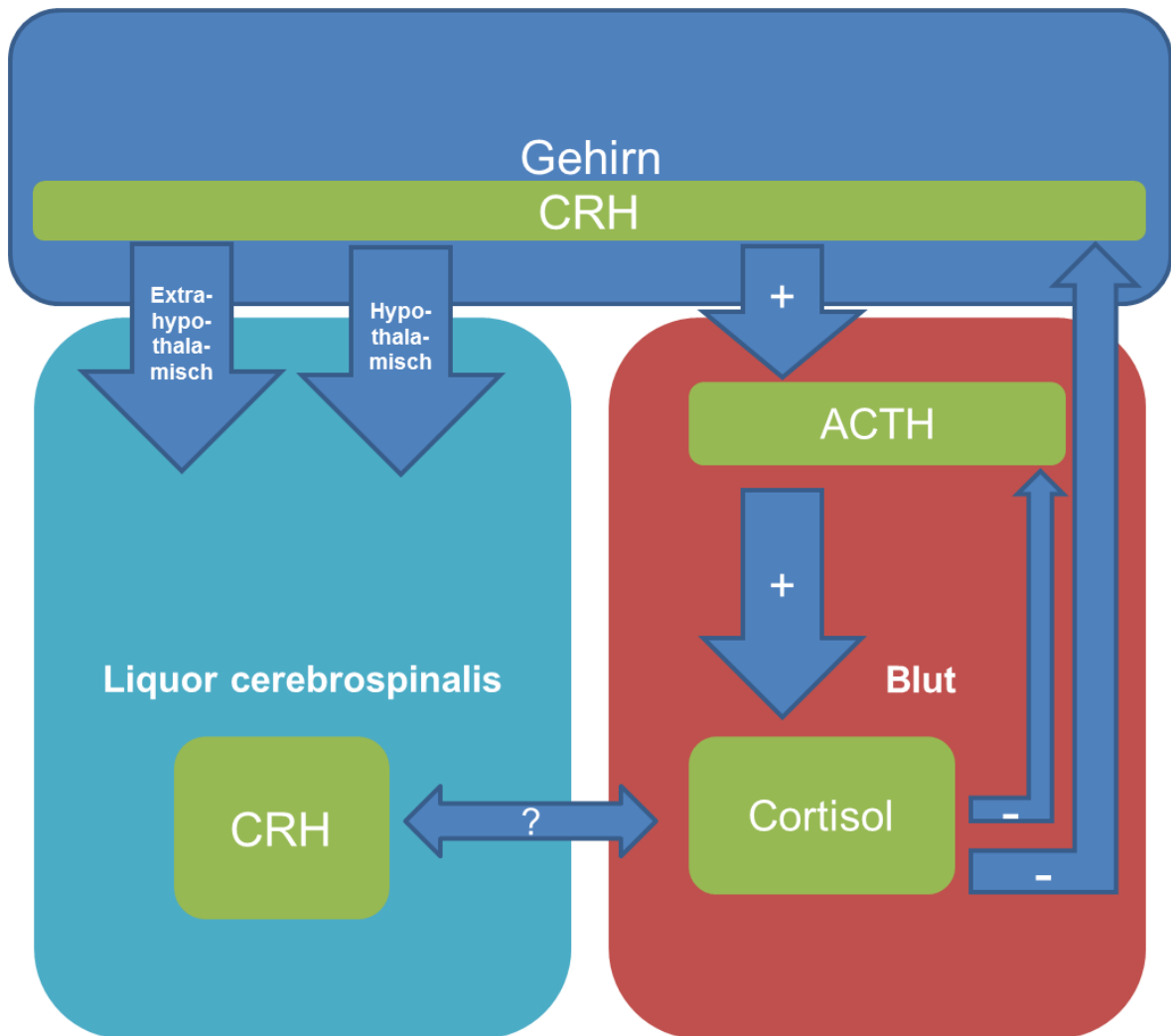
präsentieren, die durch die Klärung der Validität von CSF-CRH als das „Fenster zum Hirn“ (Geraciotti et al. 1992) in Einklang gebracht werden könnten.

## **1.4 Regulation von CRH im Liquor cerebrospinalis beim Menschen**

### **1.4.1 Regulation von CRH im Liquor cerebrospinalis im Vergleich zum Cortisol im Blutplasma beim Menschen**

Während die Regulation der Stresshormone der Hypothalamus-Hypophysen-Nebennierenrinden-Achse im Blutplasma sowohl bei gesunden als auch bei psychisch erkrankten Menschen vielfältig untersucht wurde (Rivier et al. 1982, Lytras et al. 1984, Nemeroff et al. 1984, Fisher 1989, Dunn und Berridge 1990, Wilkinson 1997, Holsboer 1999, Habib et al. 2000), ist der Rückkopplungsmechanismus und die Beziehung zur peripheren HHN-Achsen-Regulation von CRH im menschlichen Liquor cerebrospinalis noch unklar.

Folgendes Schaubild stellt die Regulation der Stresshormone der Hypothalamus-Hypophysen-Nebennierenrinden-Achse im Blut des Menschen dar und veranschaulicht die Fragestellung nach dem Ursprung von CRH im Liquor cerebrospinalis beim Menschen und die Rückkopplungsmechanismen von CSF-CRH und dessen Beziehung zu peripheren Regulation, das heißt die Beziehung des CSF-CRHs und des Cortisols im Blut und die Reflexion von CRH im Liquor cerebrospinalis beim Menschen durch Blutplasma-Cortisolwerte:



**Abbildung 2:** Schaubild zum Ursprung und Rückkopplungsmechanismus von CRH im Liquor cerebrospinalis und dessen Beziehung zur peripheren Regulation im Vergleich zur Regulation der Stresshormone der HHN-Achse im Blut beim Menschen

### **1.4.2 Historisches zur Regulation von CRH im Liquor cerebrospinalis**

Die ersten Konzepte, die dem Liquor neuroendokrine Funktionen zuschreiben, gehen bis in das 16. Jahrhundert zurück. Der berühmte Anatom Andreas Vesalius brachte erstmalig im Jahre 1543 die Rolle des Liquors die Regulation der adenohipophysären Sekretion betreffend in die Diskussion (Vesalius 1543).

Einige Jahrhunderte später demonstrierte die Forschungsgruppe um den Arzt Harvey Cushing im Jahre 1910 die Existenz biologisch aktiver Substanzen im CSF (Cushing und Goetsch 1910).

Im Jahre 1948 suggerierte Geoffrey Harris erstmals die Möglichkeit der humoralen Kontrolle der Hypophyse durch den Hypothalamus.

Der Nachweis der Aktivität eines physiologisch relevanten Neuropeptides, der die Hormonsekretion der Adenohipophyse stimuliert, belegte die These der hypothalamischen Kontrolle über die HHN-Achse (Guillemin und Rosenberg 1955, Saffran und Schally 1955): das CRH wurde entdeckt.

Mit der Entschlüsselung des CSF-CRH durch Vale et al. 1981 begann in Schafshypothalami eine bis heute anhaltende spannende Bewegung von Forschungsarbeiten, die der Regulation vom CRH und ACTH im menschlichen Liquor auf der Spur sind.

Doch auch 32 Jahre nach dessen Isolierung aus Schafshypothalami und erstmaligen Charakterisierung (Vale et al. 1981) ist der Ursprung und die Regulation vom CRH im Liquor cerebrospinalis noch nicht vollends erklärt und noch höchst Forschungs-relevant.

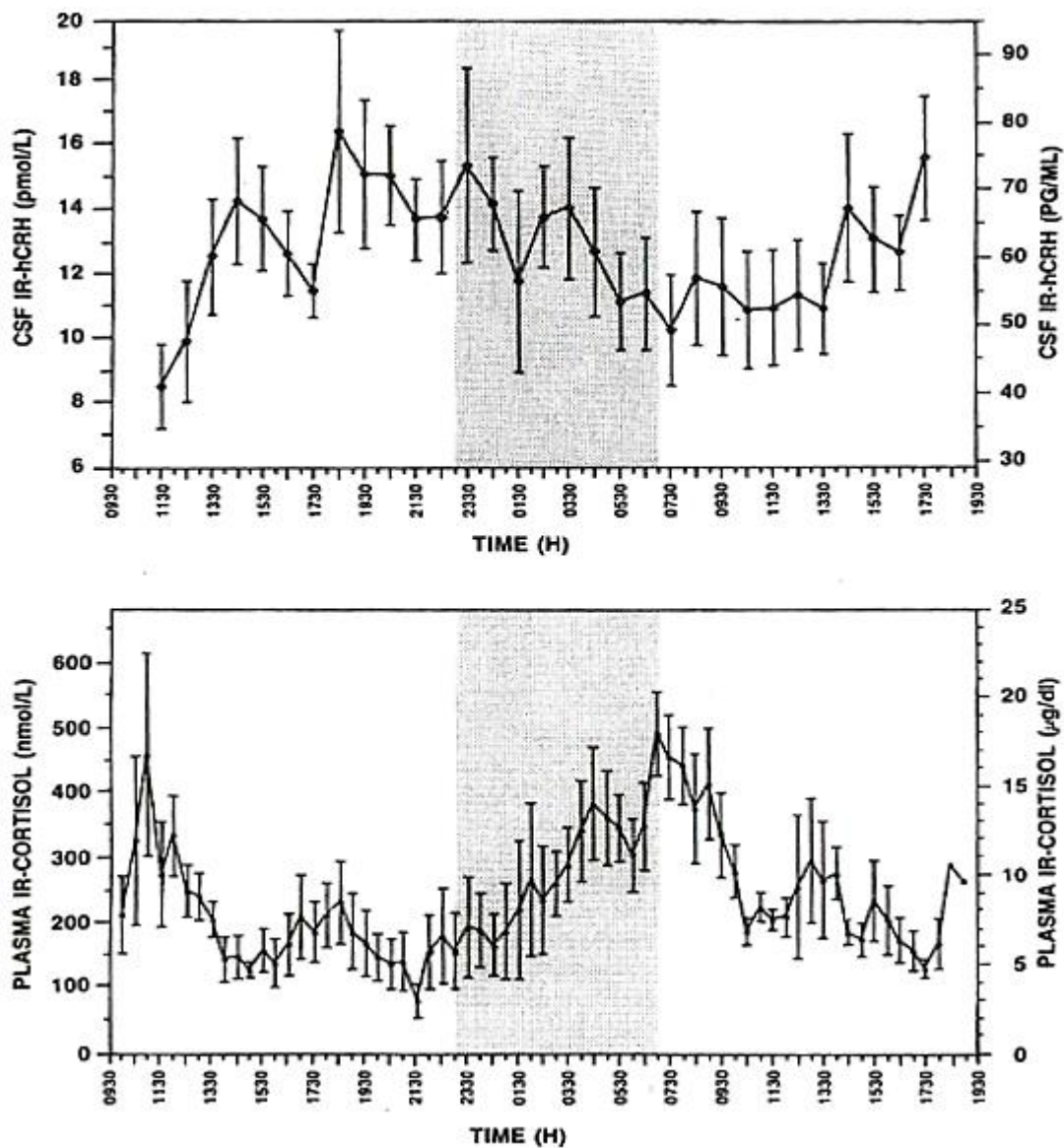
Vor allem interessant ist die Frage, ob das CRH im Liquor die hypothalamische CRH-Sekretion reflektiert (siehe Punkt 4.3).

### **1.4.3 Circadianer Rhythmus von CRH im Liquor cerebrospinalis beim Menschen**

Das CRH, das in den Blutkreislauf der Hypophyse gelangt, reguliert den circadianen Rhythmus der HHN-Achse. Dieser eigene, innere Zeitgeber zeigt bei gesunden Menschen ein Cortisol-Sekretionsmaximum (Peak) im Blutplasma früh am Morgen zwischen 06.00- 08.00 Uhr und ein Sekretionsminimum (Nadir) in den späten Nachtstunden an (Hellmann et al. 1970). Auch Untersuchungen des CRHs in dem Liquor cerebrospinalis von Primaten zeigten einen circadianen Rhythmus, der jedoch keine Beziehung zu der peripheren Hypophysen-Nebennierenrinden-Aktivität aufwies (Kalin et al. 1980, Berelowitz et al. 1981, Kalin et al. 1983, Reppert et al. 1983, Kalin 1986, Garrick et al. 1987, Kalin et al. 1987).

Fast genau umgekehrt zur zeitlichen Variation der Plasma-Cortisols-Sekretion zeigt auch das CRH, das in den menschlichen Liquor gelangt, einen circadianen Rhythmus (vgl. Abbildung Nr.3) mit einem Konzentrationsmaximum des CSF-CRHs abends zwischen 18.00 Uhr und 23.00 Uhr und einem Nadir morgens um 07.30 Uhr (Kling et al. 1994). In dieser Studie, in der die Immunreaktivität von CRH in Liquorproben gesunder Probanden, die über einen Zeitraum von 30 Stunden stündlich entnommen wurden, beobachteten Kling et al. (1994) zudem, im Gegensatz zu obigen Feststellungen von keiner Beziehung von CSF-CRH und der peripheren Hypophysen-Nebennierenrinden-Aktivität (u.a. Kalin et al. 1987), eine signifikante negative Korrelation zwischen dem CSF-CRH und den simultan abgenommenen Plasma-Cortisol-Werten. Diese Datenlage führte die Studienautoren zur Aussage, dass das CSF-CRH negativ von der peripheren Cortisolsekretion moduliert wird und die CRH-Sekretion in den Liquor cerebrospinalis partiell von Glucocorticoiden supprimiert werden kann (Kling et al. 1994).





**Abbildung 3: Circadianer Rhythmus von CRH im Liquor cerebrospinalis und Plasma von gesunden Probanden (aus Kling et al. 1994)**

In Übereinstimmung mit der obigen Hypothese hatte dieselbe Forschungsgruppe um Kling et al. bereits zuvor bei Cushing-Patienten mit erhöhten Plasmacortisolwerten, erniedrigte CRH-Werte und ACTH-Werte im Liquor im Rahmen einer Einpunktmessung erfasst (Kling et al. 1991).

Im Gegensatz zur obiger Hypothese von Klings Arbeitsgruppe, fanden jedoch weder Vythilingam et al. (2000) bei der seriellen CRH-Entnahme aus dem

Liquor und Cortisolbestimmung aus dem gleichzeitig entnommenen Blutplasma bei gesunden Probanden noch Geraciotti et al. bei depressiven Patienten (1992 und 1997) eine signifikante Korrelation zwischen dem CSF-CRH und dem Plasma-Cortisol.

#### **1.4.4 Regulation von CRH im Liquor cerebrospinalis unter Stimulationsbedingungen**

Unter verschiedenen Stimulationsbedingungen wurden folgende Arbeiten die Regulation von CRH im menschlichen Liquor cerebrospinalis betreffend verfasst:

##### **1.4.4.1 Präklinische Befunde**

In einer präklinischen Studie von Rock et al. im Jahre 1984 wurden Rhesusaffen (eine Primatenart) intracerebroventrikulär ovines CRH verabreicht um dessen mögliche Stimulation auf die Hypophysen-Nebennieren-Achse zu erforschen (Rock et al. 1984). Der beobachtete signifikante Anstieg von der Plasma-Cortisol-Konzentration innerhalb 30 Minuten nach der intracerebroventrikulären CRH-Gabe ähnelte dem Anstieg nach der intravenösen CRH-Applikation und blieb ohne Auswirkungen auf die Plasma-CRH-Konzentration (Rock et al. 1984). Die erreichte Plasma-Cortisol-Konzentration von 30 pg/ml (RIA-Detektionslimit) nach der intracerebroventrikulären CRH-Gabe reichte allerdings für eine ACTH-Stimulation nichts aus, da für diese eine Plasmakonzentration vom Cortisol von über 500 pg/ml in Primaten (Schulte et al. 1982) sowie in Menschen (Orth et al. 1983) nötig ist. Die Autoren interpretierten den Liquor cerebrospinalis als eine Art Reservoir beziehungsweise als Pfad über den das CRH sein Weg zum Hypophysenvorderlappen findet (Rock et al. 1984).

Allerdings zeigten andere Studien keine Korrelation zwischen der CRH-Konzentration im Liquor und der Aktivität der Hypophysen-Nebennieren-Hormone im Plasma nach Stimulation:

Eine Stimulation der HHN-Achse in Form von einer Erhöhung der Sekretion von ACTH in der Hypophyse und CRH im Hypothalamus durch Physostigmin (Parasympathomimetikum, Cholinesterasehemmer) und Metyrapon (Wirkstoff aus der Gruppe der Steroid-11beta-Hydroxylase-Hemmer, hemmt in der Nebennierenrinde die Bildung von Glucocorticoiden und Mineralocorticoiden) in Primaten zeigte keine Veränderung der CRH-Konzentration im Liquor (Kalin et al. 1987).

Auch die Stimulation der HHN-Achse durch m-Chlorophenylpiperazine (eine psychoaktive Substanz, Piperazin-Derivat und Serotonin-Rezeptor-Agonist) in Affen erbrachte ebenfalls keine Veränderungen des CSF-CRHs (Garrick et al. 1987).

#### **1.4.4.2 Klinische Befunde**

Vythilingam et al. berichten im Jahre 2000, dass die Stimulation der hypothalamischen CRH-Sekretion durch die intravenöse Applikation von Naloxon (Opioidantagonist) und Yohimbin (Indolalkaloid) bei gesunden Menschen lediglich eine Erhöhung des Plasma-Cortisols zeigte. Entsprechende Effekte in den CSF-CRH Werten bis auf einen nicht signifikanten Anstieg vom CSF-CRH durch das Yohimbin, konnten nicht beobachtet werden (Vythilingam et al. 2000). Aus dieser fehlenden Synchronisation zwischen dem CSF-CRH und der durch den Plasma-Cortisol-Wert repräsentierten HHN-Achsen-Aktivität, schlussfolgerte die Forschungsgruppe um Vythilingam et al. (2000), dass das CSF-CRH nicht die HHN-Achsen-Aktivität widerspiegelt, sondern die Aktivität von nicht-HHN-Achsen-CRH-Neuronen, also extrahypothalamischen und hypothalamischen Neuronen, die zu anderen Gebieten als der Eminentia mediana am Hypophysenstiel projizieren.

Ergänzend zu Rocks (1984) und Klings (1991 und 1994) Arbeiten (siehe Punkt 1.4.3 und Punkt 1.4.4.1) und die These der negativen Korrelation zwischen dem CSF-CRH und der HHN-Achsen-Aktivität, einhergehend mit der Möglichkeit einer peripheren Glucocorticoid-Suppression vom CSF-CRH, unterstützend, finden sich folgende Ausarbeitungen:

Das CRH-Neuropeptid ist in präklinischen Studien ein bekannter Appetitregulator (Britton et al. 1982, Morley und Levine 1982, Heinrichs und Koob 1992). Eine Untersuchung der Beziehung zwischen dem CSF-CRH, und Plasma-ACTH und Cortisol in Kombination mit der Empfindung von Hunger und eines Sättigungsgefühls in fastenden und gesättigten Freiwilligen, stellte eine leicht erniedrigte CSF-CRH Konzentration bei bekanntem peripherem ACTH-, und Cortisolanstieg fest (Kasckow et al. 2001). Dieser Abfall vom Liquor-CRH in gesättigten Menschen spielt dem CSF-CRH allerdings nicht die Rolle eines zentralen Sättigungsfaktors im Menschen zu, sondern wurde durch einen negativen Feedback (Rückkopplungs-) Mechanismus der peripheren Glucocorticoide erklärt (Kasckow et al. 2001). Es ist bereits aus präklinischen Studien gut bekannt, dass der gleiche Feedback-Mechanismus die CRH-Expression im Hypothalamus reguliert (Herman et al. 1996).

Auch Newport et al. (2003) und Lee et al. (2012) erforschten, dass zwischen der CRH-Konzentration im menschlichen Liquor und der Antwort der HHN-Achse auf exogen zugeführtes CRH ein inverser Zusammenhang besteht. Dazu führten Newport et al. (2003) Einpunktmessungen bei Frauen mit und ohne erhöhten CSF-CRH Werten von CRH im Liquor vor einem intravenösen Stimulationsversuch mit ovinem CRH und durchgeführten Plasma-ACTH Messungen durch. Die gefundene inverse Beziehung erklärte 56,5 % der Varianz in der ACTH-Stimulation.

Ergänzend zu Newports Ausführungen (2003) bestätigte Lee et al. (2012), dass eine Hypersekretion vom CSF-CRH in erwachsenen Studienteilnehmern mit Kindheitstraumata in der Lebensgeschichte im Gegensatz zu gesunden Probanden mit normalen CSF-CRH-Werten sich in einer abgestumpften Plasma-Cortisol und Plasma-ACTH-Antwort in dem Dex/CRH – Stimulationstest (ein sehr empfindliches Verfahren zur Prüfung der Regulationsfähigkeit des

Stresshormonsystems, siehe Punkt 1.2.1.1) mit intravenös zugeführten CRH äußert.

Ein weiterer Regulationsmechanismus wurde in der Studie von Geraciotti et al. im Jahr 2008 mithilfe einer psychologischen Stimulation berichtet (Geraciotti et al. 2008): Patienten mit einer posttraumatischen Belastungsstörung wurden mit einem emotionalen Film als Trauma-Stimulus und einem neutralen Film konfrontiert. Die CSF-CRH-, Plasma-ACTH-, und Plasma-Cortisol-Werte wurden vor, während und nach der Symptomprovokation bestimmt und verglichen. Alle drei Werte verzeichneten einen Abfall in der Testung mit dem Stimulus-Video im Vergleich mit den Werten des neutralen Filmes. Eine HHN-Achsen-Inhibition einhergehend mit einer CSF-CRH-Sekretions-Suppression durch den psychologischen Stress-Stimulus wurden neben einer Vermehrung der Glucocorticoid- (GR) , und Mineralocorticoid-Rezeptoren (GR1) im Gehirn im Sinne eines durch die Aufnahme des CRHs vom Liquor in das Gehirngewebe negativen Feedbacks des hypothalamischen CRHs und damit verminderten Plasma-Cortisol und Plasma-ACTH Werten (=verminderter HHN-Achsen-Aktivität), ursächlich erwähnt.

Zusammengefasst festgestellt ist die Regulation des CRHs im menschlichen Liquor gekoppelt an die damit verbundene Fragestellung, ob die Messungen des CSF-CRHs die hypothalamische Sekretion widerspiegeln, noch immer ungeklärt.

## **1.5 ACTH im Liquor cerebrospinalis beim Menschen**

Das Adrenocorticotrope Hormon (ACTH) und andere biosynthetische verwandte Peptide wurden sowohl in der Peripherie als auch im Gehirn gefunden. Die Funktion und die Regulation dieser Substanzen unterscheiden sich allerdings in den zentralen und peripheren Lokalisationen. Messungen von ACTH im Liquor cerebrospinalis beim Menschen könnten wertvolle Informationen über die Pathophysiologie und Diagnosestellung neurologischer, endokrinologischer und psychiatrischer Krankheiten sowie über die Reflexion der Gehirnaktivität durch das ACTH im Liquor cerebrospinalis bringen:

### **1.5.1 Rolle von ACTH im Liquor cerebrospinalis bei der endokrinen und Verhaltensregulation beim Menschen**

#### **1.5.1.1 Ursprung und Verteilung von ACTH im Gehirn**

Der Mediziner Hans Selye postulierte erstmalig 1936 die Bedeutung der Nebennierenrinde in der Stressantwort des Organismus. Es folgten präklinische Arbeiten, die die CRH-gesteuerte Freisetzung des ACTH aus der Hypophyse (Harris 1948, Guillemin und Rosenberg 1955, Saffran und Schally 1955) und die ACTH-abhängige Sezernierung der Glucocorticoide aus der Nebennierenrinde (Haynes et al. 1952, Saffran et al. 1952, Saffran und Bayliss 1953, Haynes et al. 1954, Stone und Hechter 1954, Waterman und Simpson 1985, Ganong und Murakami 1987, Simpson und Waterman 1988) bewiesen.

Das ACTH ist ein aus 39 Aminosäuren bestehendes Peptidhormon (Lee et al. 1959, Lee et al. 1960), dessen N-terminales Ende aus den Aminosäuren 1-18 eine biologische Aktivität aufweist (Bell et al. 1956, Li 1960, Hofmann et Yajima 1961, Otsuka et al. 1965).

In der Adenohypophyse wird ACTH neben weiteren Peptiden aus dem Vorläufermolekül Proopiomelanocortin (POMC) freigesetzt (Mains et al. 1977). Nachdem die Lokalisation des ACTH zunächst nur auf die Hypophyse beschränkt worden ist, fanden Krieger et al. 1977 und Orwoll et al. 1979 das ACTH und die anderen biosynthetisch verwandten Peptide im Gehirn.

Der Ursprung des ACTHs im Gehirn liegt den präklinischen Studien folgend in Zellkörpern, die in den basalen medialen Hypothalamus in weitere Regionen des Hypothalamus, limbischen Systems und des Hirnstamms projizieren (Watson et al. 1978, Romagnano und Joseph 1983). Auch in den Perikarien des Nucleus tractus solitarius wurde ACTH nachgewiesen (Schwartzberg und Nakane 1983). Ebenso wurde ACTH im Liquor cerebrospinalis des Menschen gefunden (Allen et al. 1974, Nakao et al. 1980, McLaughlin et al. 1981, Schoneshofer et al. 1981).

### **1.5.1.2 Das ACTH und seine Rolle im Gehirn**

Akil und Watson suggerierten in ihrer auf präklinischen Forschungen basierenden Arbeit im Jahre 1983, dass die Funktionen und die Regulation des ACTHs im Gehirn und in der Adenohypophyse sich unterscheiden: Während das periphere ACTH die bekannten spezifischen endokrine Funktionen erfüllt, spielt das ACTH im Gehirn eine bedeutsame Rolle in der Verhaltensregulation und der Regulation von Motivation, Gedächtnis, im Lernverhalten, in Schmerz-, und Angstsymptomen beim Menschen (Post et al. 1982), und in der Modulation von Neurotransmittersystemen im Gehirn (De Wied und Jolles 1982, Krieger 1983).

Um die Rolle von ACTH im Gehirn bei der Pathophysiologie von bestimmten psychiatrischen und endokrinen Krankheiten und bei bestimmten Verhaltensfunktionen zu erörtern und aufgrund der einfacheren Zugänglichkeit zum Liquor cerebrospinalis als zum Gehirn, schlug Krieger 1983 in ihrer neuroendokrinen Forschungsarbeit vor, ACTH und weitere Hirnpeptide im Liquor cerebrospinalis, als Anhaltspunkt für deren Verhalten im Gehirn, zu messen.

Auch Post et al. betonte 1982 die Bedeutung der CSF-Messungen von ACTH und weiteren Neuropeptiden als indirekte Marker für deren Aktivität im menschlichen Gehirn und als potentielle aktive Regulatoren der zentralnervösen Funktionen und Metabolisation und in der Verhaltensregulation.

Zahlreiche Forschungsarbeiten zeigten auch tatsächlich Veränderungen in der Konzentration von CSF-Neuropeptiden bei neurologischen, endokrinen und psychiatrischen Störungen, bei Schmerz-, und Angstsymptomen und ihrer Behandlung (u.a. in der präklinischen Arbeit von Kalin 1986).

Beckford et al. fanden 1985 heraus, dass das CSF-ACTH die gleiche biologische Aktivität aufweist wie das Plasma-ACTH in Rhesusaffen. Auch dieselbe Immunreaktivität von Plasma-ACTH und CSF-ACTH in Rhesusaffen konnte bewiesen werden (Kalin 1986). Der Frage welche Beziehung zwischen dem Plasma-ACTH und dem CSF-ACTH besteht und welche Faktoren die Konzentrationen des CSF-ACTH beeinflusst sowie der entscheidenden Frage, ob das ACTH aus dem Liquor cerebrospinalis das ACTH aus dem Gehirn reflektiert sind Hosobuchi 1982 und Kalin 1986 nachgegangen :

## **1.5.2 Regulation von ACTH im Liquor cerebrospinalis**

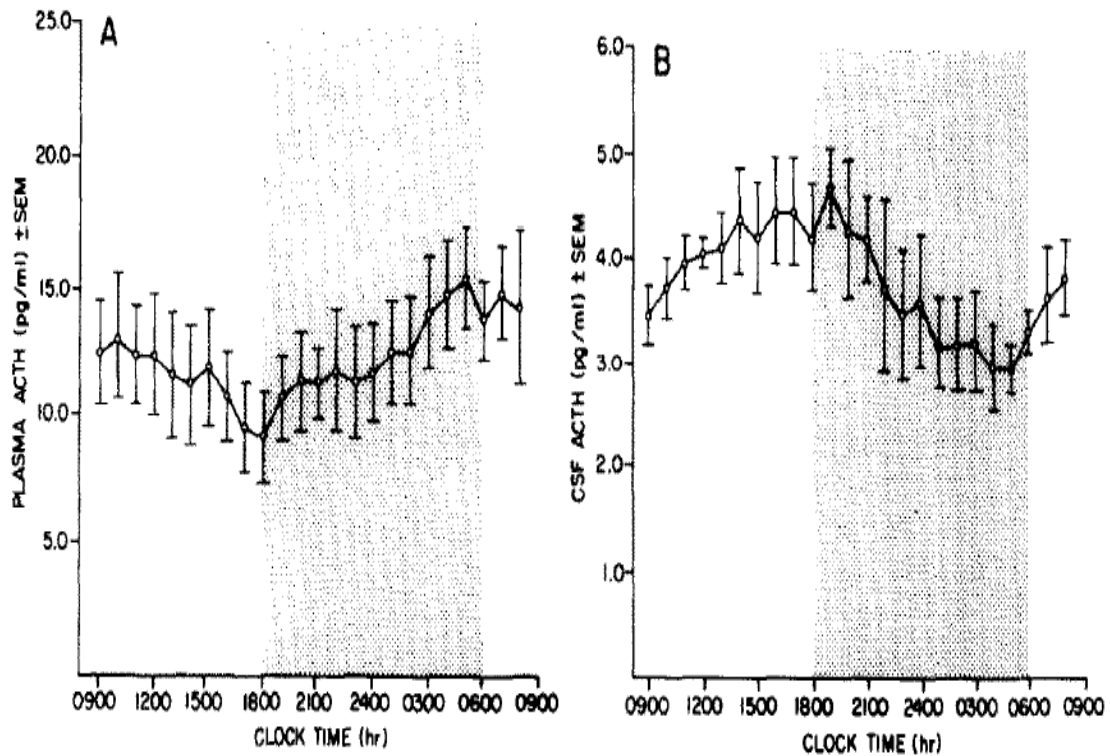
### **1.5.2.1 Circadianik von CSF-ACTH**

Die anfänglichen Forschungsarbeiten haben mit Einzelpunktmessungen von ACTH aus dem Liquor cerebrospinalis nicht dessen mögliche circadiane Rhythmik berücksichtigt (Kalin et al. 1981). Kontinuierliche Messungen vom CSF-ACTH verbesserten die Aussagekraft der folgenden Forschungsarbeiten.

Das Plasma-ACTH folgt beim Menschen bekannterweise einem circadianen Rhythmus mit einem Maximum der Konzentration von ACTH im Plasma am Morgen und einem Konzentrations-Nadir am Abend (Gallagher et al. 1973). Kalin et al. beschrieben im Jahre 1981 ebenfalls einen circadianen Rhythmus der ACTH-Konzentration im Liquor cerebrospinalis bei Rhesusaffen. Im Jahre 1986 fand die Arbeitsgruppe um Kalin dann heraus, dass sich der Rhythmus der ACTH-Immunreaktivität im Liquor cerebrospinalis allerdings von der Circadianik des Plasma-ACTHs unterscheidet (vgl. Abbildung 4). Dazu wurden parallel 24-Stunden-Sammelproben vom ACTH aus dem Liquor und Plasma-ACTH von Rhesusaffen untersucht. Das Immunreaktivitäts-Maximum von CSF-



ACTH wurde um 19 Uhr abends und das Nadir um 05.00 Uhr morgens detektiert (Kalin 1986). Durch diesen beachtlichen Unterschied in der Circadianik von ACTH im Plasma und Liquor cerebrospinalis suggerierte die Forschungsgruppe die Reflexion von ACTH im Gehirn durch Messungen vom CSF-ACTH (Kalin 1986).



**Abbildung 4: Circadianik von ACTH im CSF und Plasma von Rhesusaffen im Vergleich : Mittelwerte der Konzentrationen von ACTH im Plasma (A) und im CSF (B) über eine 24-Stunden Zeitspanne (aus Kalin et al. 1985)**

### **1.5.2.2 Beziehung von Plasma-ACTH und CSF-ACTH unter Stimulationsbedingungen**

Kalin (1986) zeigten in ihrer Forschungsarbeit mit Rhesusaffen, dass kontinuierliche Messungen von ACTH im Plasma und Liquor cerebrospinalis nach einmaliger Gabe von Dexamethason und CRH sowie in einer akuten Stresssituation, dass zwar akut Veränderungen im Plasma, aber nicht oder kaum Veränderungen von der ACTH-Immunreaktivität im Liquor cerebrospinalis bewirken.

Damit wurden Vorarbeiten mit Einzelpunktmessungen der Parameter, die suggerierten, dass keine Beziehung zwischen Plasma-ACTH und CSF-ACTH beim Menschen nachgewiesen werden kann (Allen et al. 1974, Nakao et al. 1980), unterstützt.

In derselben Veröffentlichung untersuchten die Autoren die Veränderungen der Immunreaktivität von Plasma-ACTH im Vergleich von CSF-ACTH in einer Langzeit-Stimulation durch eine kontinuierliche Dexamethason-Gabe und der kontinuierlichen Aussetzung eines sozialen Stressors und konnten signifikante Veränderungen der Immunreaktivität von CSF-ACTH zeigen. Die kontinuierliche Aussetzung durch einen sozialen Stressoren zeigte einen signifikanten Abfall der ACTH-Immunreaktivität im Liquor, jedoch nicht im Blutplasma (Kalin 1986). Die Regulationsmechanismen für diese Alterationen im CSF-ACTH sind noch nicht geklärt.

Weiter wurde festgehalten, dass nach Hypophysektomie und nachfolgender Stimulationsereignisse die Konzentration vom CSF-ACTH sich nicht verändert, während die Konzentration von Plasma-ACTH unter dem fehlenden Einfluss der Hypophyse sinkt (Kalin 1986).

Im Zusammenhang dieser Veränderungen des CSF-ACTHs nach Langzeitstimulation gesehen mit belegten Effekten in der Konzentration der Immunreaktivität vom CSF im Gehirn von Ratten nach peripherer ACTH-Manipulation (van Dijk et al. 1981) und nach Schmerzstimulation beim Menschen (Hosobuchi et al. 1980) konnte suggeriert werden, dass die Manipulationen sowohl Veränderungen im Gehirn und Liquor cerebrospinalis auslösen ohne das Plasma-ACTH zu tangieren, das heißt, dass das CSF-ACTH

nicht vom Plasma- ACTH abhängig ist (Kalin 1986).

Obwohl die genaue Beziehung der Konzentration von CSF-ACTH und des ACTHs aus dem Gehirn nicht geklärt ist, gibt es Hinweise für die Rolle von CSF-ACTH in der Reflexion von ACTH aus dem Gehirn (Hosobuchi et al. 1982).

### **1.5.3 Rolle des CSF-ACTHs bei der Pathophysiologie endokriner und psychiatrischer Erkrankungen beim Menschen**

Zahlreiche Forschungsarbeiten zeigten, wie Krieger (1983) und Post et al. (1982) annahmen, auch tatsächlich Veränderungen in der Konzentration von CSF-ACTH in neurologischen, endokrinen und psychiatrischen Störungen:

Die Konzentration von CSF-ACTH ist bei Patienten mit einer bipolaren Störung niedriger als in Patienten mit Depression (Kling et al. 1991). Im Vergleich mit Gesunden ist der Spiegel von CSF-ACTH erniedrigt bei Patienten mit Depression (Kling et al. 1991, Nemeroff et al. 1984).

Ein Abfall der CSF-ACTH Konzentration ist ebenfalls bei Patienten mit Alzheimer Demenz und Multiinfarktdemenz (Facchinetti et al. 1984, May 1987, Suemaru et al. 1993) und bei Patienten mit Anorexia nervosa notiert (Kaye et al. 1987).

Auch die Konzentration von CSF-ACTH ist bei Patienten mit Cushing-Syndrom signifikant erniedrigt im Vergleich mit Gesunden und auch im Vergleich mit depressiv Erkrankten (Kling et al. 1991). Und während bei gesunden Kontrollen eine positive Korrelation zwischen dem CSF-CRH und CSF-ACTH beobachtet wird, ist diese bei Cushing-Patienten aufgehoben und bei Patienten mit Depression nicht mehr signifikant (Kling et al. 1991).

Kling et al. postulierten, dass der Quotient aus CSF-ACTH und Plasma-ACTH ein gutes und vor allem genaues Instrument in der Diagnostik zur Unterscheidung von Patienten mit Cushing-Syndrom und Depressiven ist (Kling et al. 1991).

Die Regulation der Konzentration von CSF-ACTH ist zwar noch nicht hinreichend geklärt, aber erforscht wurde, dass eine intracerebroventriculäre Gabe von CRH zur Sekretion von immunreaktivem ACTH in den Liquor cerebrospinalis führt (Rock et al. 1984).

Diese Beobachtungen und der bekannte Hypercortisolismus in den vorliegenden Störungen (Kaye et al. 1987) ist kongruent mit einer Arbeit von Carnes et al. aus dem Jahre 1987, die eine Reduktion der CSF-ACTH Konzentrationsspiegel nach exogener Gabe von Glucocorticoiden in Primaten observierte.

Die Beobachtungen der Unterschiede von CSF-ACTH und CSF-CRH (siehe Punkt 1.5.3) im Patienten mit Cushing-Syndrom und in Patienten mit Depression könnten weiter für eine eher verschiedene als ähnliche Pathophysiologie der Krankheiten sprechen (Kling et al. 1991).

Für die Bewertung der veränderten Werte von ACTH im Liquor cerebrospinalis in Bezug auf Dysfunktionen im menschlichen Gehirn ist es wichtig, die Parameter, die das CSF-ACTH regulieren, weiter zu evaluieren und zu belegen inwieweit das CSF-ACTH die Aktivität des menschlichen Gehirns widerspiegelt.

## **2. Probanden, Material und Methoden**

### **2.1 Studiendesign**

Es handelt sich um eine Placebo-kontrollierte, einfachblinde, randomisierte Pilotstudie.

Die Probandenzahl der Pilotstudie beträgt  $n=10$ .

Die Studie war auf zehn Probanden ausgelegt, die in zwei Gruppen unterteilt wurden: Eine Gruppe, die das Cortisol injiziert bekommen hat, und eine Kontrollgruppe, die ein Placebo verabreicht bekommen hat. Jede der zwei Gruppen beinhaltete folglich die Daten von jeweils fünf Probanden. Die Randomisierung erfolgte also im Verhältnis 1:1 in Zweierblöcken.

### **2.2 Probanden**

#### **2.2.1 Probandensuche und Probandenauswahl**

Die Probandensuche richtete sich auf Medizinstudenten aus, da diese aufgrund ihrer medizinischen Vorkenntnisse vor allem für die invasive Methode des Legens eines Subarachnoidalkatheters zur Güterabwägung bezüglich einer eventuellen Studienteilnahme als am besten geeignet angesehen wurden. Die Ethikkommission befürwortete die Ausrichtung der Probandensuche auf Medizinstudenten aus gleichen Gründen ebenfalls.

Durch Aushänge auf dem Gelände des Universitätsklinikums Hamburg-Eppendorf (UKE) und Anzeigen in Foren der Hamburger Medizinstudenten wurden potentielle Probanden gesucht. Rund 100 Interessierte an der Studienteilnahme meldeten sich daraufhin. Die Interessenten erhielten weitere Informationen zum genauen Studienthema und Studienablauf und bekamen sorgfältige Antwort auf alle ihre Fragen.

Weiterhin interessierte potentielle Probanden wurden einer gründlichen Überprüfung ihrer Geeignetheit zur Teilnahme an unserer Pilotstudie unterzogen. Am Anfang dieser Überprüfung stand eine Probandencheckliste mit festgesetzten Ein-, und Ausschlusskriterien.

Die Probandencheckliste fasste zudem die Namen und Kontaktdaten der Interessenten auf.

Erfüllten die potentiellen Probanden alle Einschlusskriterien und wurden sie auch nicht ausgeschlossen von der Studie, folgte das weitere Prozedere zur Überprüfung der Teilnahmefähigkeit an unserer Untersuchung.

Diese beinhaltete die professionelle Bearbeitung des SKID I- und SKID II-Fragenkataloges (Strukturiertes klinisches Interview für DSM-IV) zum Ausschluss psychischer Syndrome und Störungen, inklusive von Persönlichkeitsstörungen.

Zur genauen Gesundheitsüberprüfung und zum Ausschluss absehbarer Gesundheitsgefährdungen im Falle einer weiteren Studienteilnahme erfolgte eine ärztliche, körperliche Untersuchung mit Durchführung eines Elektrokardiogrammes und Blut-, und Urinuntersuchungen (unser besonderes Interesse galt hier vor allem den Gerinnungsparametern im Hinblick auf die Lumbalpunktion und des venösen Zugangs und die Tests auf Drogenkonsum im Urin). Die Voruntersuchung fand nicht mehr als sieben Tage und nicht weniger als ein Tag vor dem jeweiligen Studientagstermin in den Räumlichkeiten der Klinik für Psychiatrie und Psychotherapie des UKEs statt. Die Blut-, und Urinproben wurden im Zentrallabor und im Labor der Rechtsmedizin untersucht.

Nur potentielle Interessenten, die jedes erforderliche Kriterium erfüllten, durch keinen Aspekt ausgeschlossen werden mussten, und die körperlich sowie psychisch gesund waren und nach ausführlicher Aufklärung über die Studienteilnahme freiwillig einwilligten, wurden als Probanden akzeptiert.

Alle Probanden erhielten als Aufwandsentschädigung jeweils 400 Euro für die Studienteilnahme.

### 2.2.1.1 Ein-, und Ausschlusskriterien

Folgende Ein-, und Ausschlusskriterien wurden definiert:

#### Einschlusskriterien, die von den Probanden erfüllt werden mussten :

- Männliches Geschlecht
- Alter : 20-30 Jahre
- BMI (Body-Mass-Index) : 20-25 kg/m<sup>2</sup>
- Student der Humanmedizin
- Lesen der Probandeninformationen
- Teilnahme an weiterer, folgender Überprüfung der Geeignetheit zur Studienteilnahme (siehe Punkt 2.2.1)

#### Ausschlusskriterien, die von der Studienteilnahme abhielten :

- Raucher
- Operationen, insbesondere die zeitnah zur Studienteilnahme lagen, eine Vollnarkose voraussetzten oder im Gebiet der Lumbalpunktion stattfanden
- **Körperliche Erkrankungen**

#### Hier vor allem :

- Magengeschwüre  
Tuberkulose  
Diabetes Mellitus  
Epilepsie
- Arterielle Hypertonie
- Osteoporose
- Grüner Star
- Impfung mit einem Lebendimpfstoff (zeitnah zur Studienteilnahme)
- Einnahme von Medikamenten ( ,die unsere zu untersuchenden Parameter beeinflussen könnten)

- **Psychische Erkrankungen**

Hier vor allem :

- Depression
- Angststörung
- Sucht (Alkohol, Drogen )
- Psychose
- Psychiatrische Familienanamnese ( insbesondere Erstangehörige )
- Alkoholkonsum ( maximal vier Bier pro Woche )
- Kaffeekonsum ( maximal vier Tassen pro Tag )
- Schichtdienst
- Transkontinentalflüge während der letzten zwei Monate

### **2.2.2 Ethikkommission und Einwilligung**

Das Pilotprojekt wurde durch die Ethikkommission der Ärztekammer Hamburg gemäß der Deklaration von Helsinki des Weltärzteverbandes zur „Erklärung ethischer Grundsätze für medizinische Forschung am Menschen“ (Bundesärztekammer 2008) am 27.08.2009 unter der Bearbeitungsnummer „PV3207“ genehmigt.

Die Probanden wurden schriftlich und mehrfach mündlich über die Zielsetzung, Durchführung, Risiken, Belastungen, mögliche gesundheitliche Konsequenzen, Freiwilligkeit und den Versicherungsschutz des Projektes vor Studienbeginn sorgfältig aufgeklärt. Alle Studienteilnehmer willigten mit ihrem schriftlichen Einverständnis freiwillig ein. Jedem Probanden stand es frei auch ohne Angabe von Gründen zu jedem Zeitpunkt die Studienteilnahme zurückzuziehen.



## 2.3 Materialien zur Untersuchung

Die Firmen und eine nähere Beschreibung der Produkte stehen in Klammern.

### 2.3.1 Materialien für die Lumbalpunktion

- OP-Hauben (Barrier® Top Grün, Mölnlycke Health Care GmbH, Erkrath, Deutschland)
- Mundschutz (Barrier® Standard, Mölnlycke Health Care GmbH, Erkrath, Deutschland)
- Einmalhandschuhe (Protégé® Nitrilhandschuhe, Aurelia Medical GmbH, Achern, Deutschland)
- Händedesinfektionsmittel 1L (Sterillium®, BODE Chemie GmbH, Hamburg, Deutschland)
- Sterile Handschuhe (Gammex® PF Hydrasoft® puderfrei, Ansell GmbH, München, Deutschland)
- Gefärbtes Desinfektionsmittel 1L (Cutasept® G, BODE Chemie GmbH, Hamburg, Deutschland)
- PDK (Peridural-Kather-)-Set (ProSet Perifix® One, B.Braun AG ,Melsungen, Deutschland)
- 18G (G=Gauge: Messgröße für Kanülen und Schläuche; 18G=1,2mm Durchmesser ) – Perican® Tuohy-Nadel ( B. Braun AG, Melsungen, Deutschland)
- 22G ( G=Gauge; 22G= 0,76 mm Durchmesser ) –Periduralkatheter (B.Braun AG, Melsungen, Deutschland)
- Lidocain 1%, 5ml Ampullen (B.Braun AG, Melsungen Deutschland)
- Sterile Pflaster (OPSITE® Post-OP, Smith&Newphew GmbH, Hamburg, Deutschland)

### **2.3.2 Materialien für die Probeentnahmen**

- Spritzen 1+2 ml (zur Liquorentnahme), (B.Braun AG, Melsungen, Deutschland)
- Spritzen 10 ml (zur Blutentnahme) , (B.Braun AG, Melsungen, Deutschland)

### **2.3.3 Materialien für die Probenanalyse**

- Safe-Lock-Tubes 2ml, Eppendorf Quality™, (Eppendorf AG, Hamburg, Deutschland)
- EDTA-Röhrchen 13 ml mit Rundboden, (Sarstedt AG & Co., Nümbrecht, Deutschland),
- EDTA (4g Titriplexriplex III auf 100 ml aqua), (Merck KGaA, Darmstadt, Deutschland)
- Tubes, 5ml, 75x12mm, PP (Polypropylene), (Sarstedt AG, Nümbrecht, Deutschland )
- Kühltruhe (bei -80°C) (Schröder GmbH, Pinnebergerstraße 70, 22457 Hamburg, Deutschland)
- „RIA MANUAL (RIASTAR)“ (für das Radioimmunassay und Immunradiometrische Assay im Hamburger Labor), (PerkinElmer LAS, Rodgau, Deutschland)
- Kommerzielles Radioimmunassay (DRG, Marburg, Deutschland)
- Kühlzentrifuge „4K15“(bei 4 Grad Celsius), (Sarstedt AG, Nümbrecht, Deutschland)
- ACTH (Adrenocorticotropes Hormon), (DiaSorin GmbH, Dietzenbach, Deutschland)
- Cortisol (Pfizer, Puurs, Belgien)

#### 2.3.4 Weitere Materialien

- NaCl (Natriumchlorid) 0,9%, 10ml Ampullen (B.Braun AG, Melsungen, Deutschland)
- Händedesinfektionsmittel Spray (Cutasept® F, BODE Chemie GmbH, Hamburg, Deutschland)
- Pflasterrolle, weiß, 5cm (Leukoplast®, BSM medical GmbH, Hamburg, Deutschland)
- Kanülenabwurfbehälter
- Infusionslösung, balanciert, 500 ml (Ringerlösung Ecoflac® plus, B.Braun AG, Melsungen, Deutschland)
- Infusionssystem (Infusionsgerät V86P 175 cm, CODAN pvb Medical GmbH, Lensahn, Deutschland)
- Pflaster ,Rolle (5cm x 10 cm, Mefix®, Mölnlycke Health Care GmbH, Erkrath, Deutschland)
- Coffeinum N 0,2g Tabletten, Mylan dura GmbH
- Monitor mit automatischer Blutdruckmessung und Sauerstoffsättigung (DINAMAP®, GE Healthcare, München, Deutschland)
- Braunülen® ( „die grünen Braunülen®“ = 18G(Gauge)-Braunülen®= 1,22 mm Durchmesser ), (B.Braun AG, Melsungen, Deutschland)
- Das Notfall-Set bestand aus : Akrinor® (Mischung aus Theoadrenalin (Theophyllin) und Cafedrin (Coffein und Epinephrin) (zur Blutdruckanhebung), Atropin (gegen Bradykardien), Norepinephrin (Noradrenalin) und Epinephrin (Adrenalin) (gegen eventuellen Schock, für eine Cardiopulmonale Reanimation, oder sonstige Notfälle)
- Mobiles 12-Kanal-Elektrokardiogramm (Typ AT-101, Schiller AG, Baar, Schweiz)

## **2.4 Methoden**

### **2.4.1 Messparameter**

Primärer Zielparameter war das CRH im Liquor cerebrospinalis. Sekundäre Zielparameter waren das Cortisol im Plasma und Liquor cerebrospinalis und das ACTH im Liquor cerebrospinalis. Alle Messparameter wurden radioimmunometrisch bestimmt (siehe Punkt 2.4.3).

### **2.4.2 Studienprotokoll**

Die wissenschaftliche Untersuchung fand in einem Untersuchungsraum im Untergeschoss der Klinik für Psychiatrie und Psychotherapie des Universitätsklinikums Hamburg-Eppendorf statt. Der Untersuchungsraum war mit einem Untersuchungsbett für die Probanden, allen benötigten Materialien zur Studiendurchführung (siehe obige Auflistung unter Punkt 2.3), und natürlich einem Notfallmedikations-Set (siehe Punkt 2.3) ausgestattet und bot eine ruhige und stressfreie Umgebung. Aus einem Nebenraum wurden die Probanden während der gesamten Studiendauer ständig durch medizinisches Fachpersonal beaufsichtigt, zu dem sie immer Kontakt aufnehmen konnten.

Die eigentliche wissenschaftliche Untersuchung dauerte von 08.00 Uhr bis 14.00 Uhr. Das Prozedere wurde für alle 10 Probanden gleich gehalten. Alle zehn Probanden erschienen zu verschiedenen Studientagen, d.h. jeder Proband hatte seinen eigenen Studientag. Die Probanden erschienen am Untersuchungstag ess-, und trinknüchtern um 07:45 Uhr im Eingangsbereich der Klinik für Psychiatrie und Psychotherapie des UKE.

Die letzte Nahrungs-, und Flüssigkeitszufuhr erfolgte spätestens um 22:00 Uhr des Vortages. Auch während der gesamten Studiendauer durfte nicht gegessen oder getrunken werden. Die Probanden konnten bevor es gemeinsam zum Untersuchungsraum ging, noch einmal die Toilette nutzen und eventuelle letzte Fragen klären. Vor dem konkreten Untersuchungsbeginn versicherte sich die Anästhesistin nochmal, ob das abgenommene Labor und

die Urinbefunde der Probanden im Normbereich waren und die Studiendurchführung erlaubten.

Die Probanden wurden dann nochmal mit dem Studienablauf vertraut gemacht und deren Blutdruck und Herzfrequenz wurden gemessen. Waren die Studienteilnehmer bereit, konnte die Untersuchung starten.

Außer zur Lumbalpunktion und zum Herausziehen des Subarachnoidalkatheters, befanden sich die Probanden die ganze Zeit in liegender Position auf dem Rücken oder wenn sie wollten in Seitenlage. Das Kopfteil des Bettes durfte nur leicht hochgehoben werden (nicht mehr als 45 Grad). Zum Notfall stand eine Urinflasche im Untersuchungsraum bereit. Der Untersuchungsraum war für unsere Stresshormonstudie wie oben beschrieben einfach gehalten und hatte auch keine Fenster. Es herrschte Raumtemperatur und es wurde vorher durchlüftet im Untersuchungsraum, so dass keine Gerüche irritierten. Die Probanden wurden von allen äußeren Einflüssen abgeschirmt. „Aufregende“ Filme, Musik oder Lektüre waren untersagt, so dass die Probanden „stressfrei“ gehalten wurden. Außer zu den Probeentnahmen befanden sich die Probanden alleine im Untersuchungsraum. Die Probanden haben während der gesamten Untersuchungszeit nicht geschlafen und die Augen nicht geschlossen.

Um 08.00 Uhr wurden den Probanden ein venöser Zugang (Braunüle®) in den Arm zur Blutentnahme und der Subarachnoidalkatheter im Lendenwirbelsäulenbereich für die Liquorentnahme gelegt. Dies geschah in sitzender Position, für die Lumbalpunktion vor allem in sitzender Position mit stark gekrümmten Rücken und nach vorne fallenden Schultern auf Anweisungen der Anästhesistin. Vor jedem Schritt erklärte die zuständige Anästhesistin den Versuchsteilnehmern genau, was sie gleich machen würde. Das Legen des Subarachnoidalkatheters erfolgte in der Vorbereitung unter lokaler Narkose Anästhesie für die untere Körperhälfte mit dem Lokalanästhetikum Lidocain (1%).

Zum Ablauf der Lumbalpunktion (Larsen 2010):

Als Punktions technik kam das klassische „Through-the-Needle“-Verfahren zur Anwendung, bei dem die Punktionskanüle mit einem Periduralkatheter kombiniert wird.

Die Punktionsstelle befand sich entweder auf Höhe L4/5 oder auf Höhe L3/4 (auf Höhe zwischen den Lendenwirbelkörpern 4 und 5 oder zwischen den Lendenwirbelkörpern 3 und 4) . Nach sterilem Abwaschen der Punktionsstelle erfolgte die Abdeckung mit einem Lochtuch. Alle Schritte wurden unter streng sterilen Kautelen durchgeführt. Danach wurde eine Hautquaddel mit dem Lokalanästhetikum ( Lidocain ) erzeugt. Mittels der LOR (= Loss of resistance )-Technik wurde der Epiduralraum mit einer „Tuohy-Nadel 18G“ aufgesucht. Die „Tuohy-Nadel 18 G“ ist eine Standardnadel für die Periduralanästhesie mit einem Durchmesser von 1,2 mm. Bei der „Loss of resistance-Technik“, das heißt der Widerstandsverlust-Technik, wird der Fokus auf die verschiedenen Widerstände beim Vorschieben der Punktionsnadel gelegt. Der Widerstand beim Durchstechen des Ligamentum flavum ist der Größte, ist das Band mit der Nadelspitze durchstoßen, wird ein Widerstandsverlust verspürt, der anzeigt, dass der Periduralraum erreicht ist. Dann wurde die Nadel wenige Millimeter weiter zur Punktion der Dura vorgeschoben. Beim zurückfließenden Liquor, wurde der Katheter durch die „Tuohy-Nadel“ ca. 5cm weit in den Liquorraum eingelegt. Die Punktionskanüle wurde dann über den liegenden Katheter vorsichtig herausgezogen. Es erfolgte die Prüfung auf Aspiration.

Durch den Zugang in der Armvene erhielten die Probanden eine 0,9% Kochsalzlösung (NaCl, Natriumchlorid) mit einer Durchlaufgeschwindigkeit von 50 ml/Stunde. So beugten wir einer Dehydratation der Probanden vor. Nur für die Zeit der Entnahmen wurde die Infusion gestoppt.

Nach dem Legen des Zugangs und des Katheters verweilten die Probanden bis 10.40 Uhr ruhig in ihrem Bett.

Um 10.40 Uhr und bis 14.00 Uhr wurden in 20-minütigen Abständen je 2 ml Liquor und 10 ml Blut entnommen. Weiterhin wurden in den 20-minütigen

Abständen stets der Blutdruck und der Puls gemessen. Zu den oben genannten Zeiten wurde das Befinden der Probanden mit Hilfe zweier 100 mm Visueller-Analog-Skalen für die Parameter „Anspannung“ und „Angst“ charakterisiert.

Zu jeder Entnahme wurden die ersten 0,5 ml Liquor und 2 ml Blut wegen des Totraumes verworfen.

Es wurden folglich insgesamt bei jedem Probanden 11 Entnahmen aus jeweils zwei verschiedenen Körperflüssigkeiten (Blut, Liquor) vollzogen.

Nur wenn das Wohlbefinden und die gemessenen Puls-, und Blutdruckwerte der Probanden in Ordnung waren, wurde mit der Untersuchung fortgefahren. Während der gesamten Untersuchungsdauer stand die Anästhesisten und der leitende Studienleiter telefonisch und falls es nötig war persönlich zur Verfügung.

Um 11.02 Uhr erhielten die Probanden entweder ein Placebo (20 ml 0,9%ige Kochsalzlösung) oder 100 mg Cortisol in 20 ml 0,9%iger Kochsalzlösung in die Vene gespritzt. Um welchen Stoff es sich handelt wussten die Studienteilnehmer nicht (einfachblinde, randomisierte Studie).

Die Proben wurden auf Eis sofort nach Entnahme gekühlt. Das Eis zum Kühlen der Flüssigkeiten wurde um 12-13 Uhr nochmals erneuert, um die Proben kühl zu halten.

Zu jeder Entnahme trug das medizinische Personal Handschuhe, arbeitete sauber und desinfizierte die Oberflächen der Entnahmestellen mit Desinfektionsmittel. Kam es eventuell zum leichten Stocken des Flusses von Blut und Liquor bei der Entnahme, so wurde sich mit vorsichtigem Lagerungsumstellungen der Probanden oder geringem Hervorziehen des Subarachnoidkatheters beziehungsweise der Braunüle verholphen.

Nach der letzten Entnahme um 14.00 Uhr wurden der venöse Zugang und der Subarachnoidkatheter herausgezogen und die Einstichstellen mit einem entsprechenden Pflaster versehen. Die Probanden hatten jetzt noch die Möglichkeit sich hinzulegen und ihre ersten Versuche aufzustehen geschahen

unter Kontrolle. Nur wenn ihr Blutdruck, Puls und Allgemeinbefinden in der Norm waren, wurden die Probanden entlassen.

Die Proben wurden sofort nach der letzten Entnahme in das Labor im Sockelgeschoß der Klinik für Psychiatrie und Psychotherapie des UKEs gebracht und wurden dort weiter verarbeitet und gelagert.

### **2.4.3 Probenbestimmung**

#### **2.4.3.1 Labor der Klinik für Psychiatrie und Psychotherapie des UKEs**

Im Labor der Klinik für Psychiatrie und Psychotherapie im Sockelgeschoß des Gebäudes W37 des UKEs, wurden die gesammelten Proben gelagert und untersucht. Weitere Messungen der Proben fanden im Labor des Max-Planck-Instituts für Psychiatrie in München statt (siehe Punkt 2.4.3.2).

#### **Vorbereitung**

Damit eine sichere Zuordnung der Proben im Labor und später in der Auswertung erfolgen konnte, war die Vorarbeit des Studientages im Labor von großer Wichtigkeit. Am Vortag jeder Untersuchung wurden die Utensilien für den Folgetag vorbereitet und kontrolliert. Die Gefäße für die Probeentnahmen vor Ort und für die spätere Lagerung und Untersuchung wurden eindeutig und ordentlich beschriftet. Jeder Proband erhielt eine eindeutige und eigene Kennung nach dem Schema „CS X“, so dass die zehn Probanden die Kennung „CS1“ bis „CS10“ hatten. Auch die Probengefäße waren jedem Probanden, jedem Entnahmezeitpunkt und jeder Art der Probe (Liquor, Plasma) eindeutig zugeordnet und konnten somit nicht verwechselt werden. Die Kennung der Probandenproben war folglich „CS X/1-11“, wobei die Nummerierung „1-11“ die Reihenfolge der Entnahmezeitpunkte zuordnete. „CSX/1“ kennzeichnete den ersten Entnahmezeitpunkt um 10.40 Uhr, und „CS X/11“ bezeichnete die letzte Entnahme von Blut und Liquor um 14.00 Uhr.

Nach der Beschriftung wurden die Gefäße steril bedeckt und in den Laborräumen sicher abgestellt. Die fertigen EDTA-Röhrchen wurden bis zum Studienbeginn in der Kühlkammer gelagert.



### **Nachbereitung**

Im Labor der Klinik für Psychiatrie und Psychotherapie im Sockelgeschoß des Gebäudes W37 des UKEs wurde das Cortisol im Plasma und Liquor und das ACTH im Liquor gemessen.

Zuvor wurden die Proben wurden bei 4000 U/min für 10 Minuten bei 4°C zentrifugiert.

Die Proben wurden bei -85 ° Celsius gelagert.

Die Cortisolmessungen wurden nach der Labormethode des Radioimmunassays (RIA) der Firma DRG, Marburg, Deutschland durchgeführt. Die ACTH-Proben wurden mit dem Immunradiometrischen Assay (IRMA) untersucht.

### **Radioimmunassay (RIA)**

Der Radioimmunassay (RIA) ist ein quantitatives immunologisches Analyseverfahren zur Substanzmessung mit radioaktivmarkierten Antigenen. Vorausgesetzt für den Radioimmunassay ist das Vorhandensein eines spezifischen Antikörpers gegen das zu bestimmende Antigen aus der Probe. Bei diesem Radioimmuntest wird im Ansatz das in der Probe zu bestimmende Antigen, eine konstante Menge eines Tracers, also in diesem Falle eines radioaktiv markierten Antigens, zusammen mit einem spezifischen Antikörper inkubiert. Die radioaktivmarkierten Antigene und die Antigene aus der Probe konkurrieren um die Bindungsstellen an den Antikörpern. Es bilden sich Antigen-Antikörper-Komplexe. Bei dem radioaktivmarkierten Antigen handelt sich um ein  $^{125}\text{I}$ - (radioaktives Iod-Isotop) Antigen. Nach der erfolgten Reaktion der im Ansatz vorhandenen Reaktionspartner, werden die Antigen-Antikörper-Komplexe von den freien, ungebundenen Antigenen und Tracer abgetrennt. Die markierten und nicht markierten Antigene verhalten sich identisch im Bindungsverhalten an den Antikörper, dessen Bindungsstellen begrenzt sind. Durch diesen Sachverhalt kann eine erste Aussage bezüglich der Substanzmenge der Probe getroffen werden. Sind mehr radioaktive Antigene

an den Antikörpern gebunden, ist der Gehalt an nicht markierten Antigenen in der Probe niedrig. Liegt ein hoher Antigengehalt in der Probe vor, ist wenig radioaktiv markiertes Antigen an die Antikörper gebunden. Gemessen wird zu diesem Zweck die Radioaktivität der Antigen-Antikörper-Komplexe: Je höher die Radioaktivität ist, desto weniger Antigen ist in der Probe und je niedriger die Radioaktivität ist, desto mehr Antigen liegt in der Probe vor. Die quantitative Auswertung erfolgt mit Hilfe einer Standardkurve.

(Vollmar et al. 2005, Murphy et al. 2008, Bruhn et al. 2011)

### **Immunradiometrischer Assay (IRMA)**

Beim Immunradiometrischen Assay (IRMA) handelt es sich ebenfalls um ein quantitatives Analyseverfahren zur Substanzbestimmung. Er stellt eine Alternative zum Radioimmunassay (RIA) dar, bei der mit radioaktiv markierten Antikörpern gearbeitet wird.

Bei diesem Test reagiert das in der Probe enthaltene Antigen mit monoklonalen Antikörpern und es bilden sich Antigen-Antikörper-Komplexe, die an eine feste Phase wie zum Beispiel eine Röhrchenwand gebunden sind. Nach Auswaschen der im Ansatz befindlichen freien Antikörper, wird ein zweiter, radioaktiv markierter Antikörper zugegeben. Der radioaktivmarkierte Antikörper bindet das Antigen mit gleicher Spezifität wie der nicht markierte Antikörper an der zweiten Bindungsstelle des Antigens. Nach der Inkubation liegt also ein Antikörper-Antigen-Antikörper-Komplex (auch Sandwich-Komplex genannt) vor. Bei dem radioaktiv markierten Antikörper handelt es sich um einen  $^{125}\text{I}$ -(radioaktives Iod-Isotop) markierten Antikörper. Die freien, nicht gebundenen, markierten Antikörper werden durch Dekantierung und Waschen entfernt. Gemessen wird die Radioaktivität des zweiten gebundenen Antikörpers. Die Radioaktivität des zweiten Antikörpers ist proportional zur Konzentration der Antigene in der Probe. Die quantitative Auswertung der Probe mit den darin zu bestimmenden Antigenen erfolgt mit einer Standardkurve.

(Vollmar et al. 2005, Murphy et al. 2008, Luttmann et al. 2009, Bruhn et al. 2011)

Im Labor der Klinik für Psychiatrie und Psychotherapie des UKEs wurde der Radioimmunassay (RIA) und der Immunradiometrischen Assay (IRMA) an dem „RIA MANUAL (RIASTAR)“ der Firma „PerkinElmer“ gemessen. Die gemessenen Werte wurden als einzelne Werte und gegen eine Standardkurve aufgetragen und ausgedruckt. Pflichtgemäß sind immer Qualitätskontrollen bei den Tests mitgelaufen.

#### **2.4.3.2 Labor des Max-Planck-Instituts für Psychiatrie in München**

Im Labor des Max-Planck-Instituts für Psychiatrie in München wurden unter der Leitung von Professor Dr.med.Günter K.Stalla das Corticotropin-Releasing Hormon (CRH) im menschlichen Liquor cerebrospinalis untersucht.

Die zu untersuchenden Proben wurden von Hamburg in Styroporboxen mit Trockeneis (Kyroboxen) in das Labor des Max-Planck-Instituts für Psychiatrie in München transportiert.

Das Corticotropin-Releasing Hormon im menschlichen Liquor cerebrospinalis der Probanden wurde wie bereits in der Studie „Intravenous application of ovine and human corticotropin releasing factor (CRF): ACTH, cortisol and CRF levels.“ von Stalla et al. im Jahre 1986 mit einem spezifischen Radioimmunassay (RIA) analysiert (zur Methode eines Radioimmunassays siehe Punkt 2.4.3.1).

Bei diesem spezifischen Radioimmunassay wurde als Tracer, also als radioaktiv markiertes Antigen, ein N-tyr-hCRH Tracer (Thyreoglobulin mit einer N (NH<sub>2</sub>= Aminogruppe ) -glykosidischen Bindung) verwendet. Dieser Tracer wurde vorher mit <sup>125</sup>I-(Iod-Radionuklid) radioaktiv markiert. Analog zur obigen zur Beschreibung des Radioimmunassay , mit dem zu bestimmenden Antigen und spezifischen Antikörper in der Probe inkubiert. Es bildeten sich Antigen-Antikörper-Komplexe und die freien, ungebundenen Tracer wurden entfernt. Gemessen wurde die Radioaktivität des radioaktiv markierten Antigens, dessen Intensität umgekehrt proportional zum Antigengehalt der Probe ist. Die quantitative Auswertung erfolgte mit Hilfe einer Standardkurve.

Das CRH-Assay erfolgte als Direktmessung ohne Extraktion. Das Probenvolumen betrug 1,5 ml.

### **2.4.3.3 Datenerhebung**

Die Daten der endokrinen Analyse wurden mithilfe des quantitativ immunologischen Verfahren des Radioimmunassays (RIA) und des Immunradiometrischen Assays (IRMA) ermittelt (siehe Punkt 2.4.3.1).

Für die Cortisol-Konzentration befand sich der Inter-, und Intraassay Variationskoeffizient unter 8 % und die Nachweisgrenze des Cortisols wurde auf 0,5 ng /ml festgesetzt. Der Inter-, und Intraassay Variationskoeffizient lag für die CRH-Konzentration unter 9 %.

Die Nachweisgrenze („limit of detection“, „LoD“) gibt den Messwert an, bei dem die zu bestimmende Substanz mit den verwendeten Analysemethoden noch erfasst werden kann und dabei die statistischen Vorgaben einhält.

Der Variationskoeffizient („relative Standardabweichung“) ist der Quotient aus Standardabweichung (absolutes Streuungsmaß vom arithmetischen Mittel) und arithmetischen Mittel („Mittelwert“). Bei hohen Variationskoeffizienten liegt eine hohe Streuung, das heißt eine große Abweichung der Messwerte in der betrachteten Verteilung vom Mittelwert vor, niedrige Variationskoeffizienten spiegeln eine geringe Streuung wieder.

## 2.5 Nachbehandlung der Probanden

Alle Probanden wurden vor Studienteilnahme über mögliche Belastungen und Risiken aufgeklärt. Im Zusammenhang damit waren vor allem mögliche geringe Schmerzen durch die Liquor-, und Venenpunktion, eine mögliche Infektion der Einstichstellen und des Liquors, das Entstehen von Blutergüssen im Rückenmarksbereich und die postpunktionellen Kopfschmerzen durch das Liquorverlustsyndrom und die damit sehr seltenen kurz andauernden Lähmungen der abduzierenden Augenmuskeln zu nennen. Die Probanden konnten zu jedem Zeitpunkt Fragen stellen und auch nach Studienteilnahme stand für 72 Stunden ein ärztlicher Ansprechpartner Tag und Nacht für die Probanden für mögliche Fragen oder Beschwerden nach Studienteilnahme zur Verfügung. Zudem wurde allen Probanden dazu geraten sich nach der Studienteilnahme nicht zu belasten ( zum Beispiel kein Sport zu machen ), sondern zu schonen. Auf Grundlage einiger Studien zum Thema postpunktioneller Kopfschmerzen wurden zur Therapie etwaiger postpunktioneller Beschwerden jeweils drei Koffeintabletten (Coffeinum N 0,2 g) mitgegeben.

Traten Beschwerden nach der Studienteilnahme auf, wurde zunächst versucht mit konservativen Ratschlägen wie „sich Hinlegen“ und ausreichende Flüssigkeitszufuhr weiterzuhelfen. Ergab sich keine Besserung wurden die Probanden erneut einbestellt und erhielten einen autologen periduralen Blutpatch. Der Blutpatch ist eine Maßnahme zur Behandlung postpunktioneller Kopfschmerzen. Hierzu werden dem Patienten ( in diesem Falle dem Probanden ) unter aseptischen Bedingungen 10-20 ml Blut entnommen und peridural in die ehemalige Punktionsstelle der Lumbalpunktion verabreicht. Anschließend bleibt der Betroffene circa zwei Stunden auf dem Rücken oder Bauch liegen. In dieser Zeit gerinnt das Blut. Diese Prozedur kann nach 24 Stunden wiederholt werden falls die Kopfschmerzen nicht verschwinden sollten. Die erste Injektion hilft allerdings in 90% der Fälle alleine. Mit dem autologen periduralen Blutpatch wurden die Probanden bei bestehenden Beschwerden frühestens drei Tage nach der Lumbalpunktion versorgt.

(Larsen 2010)

## 2.6. Statistische Auswertungen

### 2.6.1 Deskriptive Statistik

Für die verschiedenen Hormonparameter wurden die Indikatoren „AUC“ („Area Under the Curve“), und „ML“ („Mean Location“) und deren Mittelwert („Mean“) und Standardfehler des Mittelwertes („SEM“, „Standard Error of the Mean“) ermittelt.

Der Indikator „AUC“ beschreibt die Fläche unter einer Kurve in einem Koordinatensystem, in dem zwei zu vergleichende Parameter gegeneinander aufgetragen werden. Wird die Konzentration eines Stoffes beziehungsweise eines Hormonparameters im menschlichen Körper ( im Blut und Liquor) gegen die Zeit aufgetragen, so definiert diese „Fläche unter der Kurve“ („Area Under the Curve“, „AUC“) die Bioverfügbarkeit des untersuchten Stoffes im menschlichen Körper zum zeitlichen Verlauf. Die „AUC“ ist mathematisch und pharmakokinetisch gesehen das Integral zur Darstellung der zu untersuchenden Stoffkonzentration im menschlichen Körper. Zur Berechnung der „AUC“ wird das Trapezverfahren angewandt, das der näherungsweisen Berechnung von Integralen dient. Dazu erfolgt zunächst eine lineare Interpolation, das heißt es werden die gegebenen Datenpunkte ( jeweils nacheinander zwei Datenpunkte der Kurve ) durch eine Strecke verbunden und das Intervall der gegebenen Integralfunktion wird in Subintervalle geteilt. Diese Subintervalle bilden gleich breite Trapezflächen. Die Trapezoidformel beruht auf dem Prinzip der Annäherung der „AUC“ bis zum letzten Messzeitpunkt mittels Summation dieser einzelnen gebildeten Trapezflächen. Da durch die lineare Trapezoidformel die einzelnen Trapezteilflächen aufgrund des exponentiellen Verlaufs der Stoffkonzentration im Bereich der Elimination überschätzt werden, wird durch Abzug des linearen Hintergrundes mittels logarithmischer Interpolation die „AUC“ genauer bestimmt.

Der Indikator „Mean Location“, d.h. „mittlere Lage“, ist, vorausgesetzt die Meßabstände sind gleich, der Mittelwert der Messwerte auf einer Verlaufskurve.

Der Standardfehler des Mittelwertes („SEM“) ist ein Streumaß der Mittelwerte aus dem Stichprobenumfang um den Mittelwert der Grundgesamtheit. Anhand dessen kann die Variabilität des Mittelwertes in der Verteilung abgelesen werden. Somit kann auf die Präzision des Mittelwertes geschlossen und dessen Konfidenzintervall ( „Vertrauensintervall“ ) berechnet werden. Der Standardfehler der Mittelwertes wird folglich als die Standardabweichung des Mittelwertes bezeichnet. Die Standardabweichung gibt als Präzisionsmaß die Schwankungen der Werte in einer Verteilung an.

(Trampisch und Windeler 1997, Weiß 2013)

### **2.6.2 Interferentielle Statistik**

Die interferentielle Statistik, auch induktive oder schließende Statistik genannt, beschäftigt sich im Gegensatz zur deskriptiven Statistik mit dem Teil des beziehungsweise der Stichprobe, und bezieht diese auf die Eigenschaften des Ganzen. Diese Grundgesamtheit ist das Objekt der deskriptiven Statistik. Die Wahrscheinlichkeitstheorie der Mathematik bietet der induktiven Statistik das Instrument für ihre Schlussfolgerungen aus einer Stichprobenbetrachtung, Aussagen über eine statistische Gesamtheit zu treffen.

Mit der multifaktoriellen Varianzanalyse („MANOVA“, multivariate analysis of variance) wurden die Unterschiede der Indikatoren „AUC“ und „ML“ zwischen dem in der Studie den Probanden verabreichten Hydrocortison und dem Placebo geprüft.

Die multifaktorielle Varianzanalyse untersucht Unterschiede zwischen den Subruppen einer Stichprobe und vergleicht diese mit den Unterschieden innerhalb einer Gruppe. Als statistisches Verfahren dient die Varianzanalyse zur Aufdeckung von Mittelwerts-Unterschieden zwischen den Gruppen. Die Multifaktorialität der Analyse besteht im Betrachten und Vergleichen mehrerer Faktoren („unabhängiger Variablen“), die Einfluss auf die im Vergleich stehenden „Zielvariablen“ haben.

Wurden Gruppenunterschiede in der Varianzanalyse mithilfe des multivariaten WILKS-Lambda-Tests (mehrdimensionaler Gesamttest) gefunden, wurde mit dem univariaten F-Test (eindimensionaler Einzeltest) geprüft, ob die gefundenen Unterschiede in den Varianzen statistisch gesichert sind oder auf Zufällen beruhen und welche Parameter die Unterschiede bewirken.

Der F-Test (benannt nach dem Statistiker Ronald Aylmer FISHER) besteht aus der Quotientenbildung zweier Varianzen (größere Varianz geteilt durch die kleinere Varianz). Diese sogenannte Prüfgröße wird mit Daten einer „F-Wert“-Tabelle

verglichen. Es wird geprüft, ob die berechnete Prüfgröße in den definierten Ablehnungsbereich einer Stichprobe fällt und somit die Nullhypothese („Es gibt keinen Unterschied oder Effekt.“) verworfen wird oder nicht.

Die Gruppenmittelwerte der Hormone CRH und ACTH im menschlichen Liquor nach Placebo-, beziehungsweise Cortisolgabe wurden durch die Funktion „POLYNOMIAL“ in „Microsoft Excel“ linear angepasst und damit der Hormonanstieg über die Zeit dargestellt. Durch lineare beziehungsweise polynomiale Anpassung werden Werte eines Datensatzes in einem Korrdinatensystem durch mathematische Berechnungen so angepasst, dass aus den zerstreuten Werten lineare Funktionen (Geraden) beziehungsweise Polynomkurven erstellt werden können, wenn die Werte einen linearen oder höhergradigen polynomialen Trend ausweisen.

Als Signifikanzniveau  $\alpha$  wurde in der Studie  $\alpha = 0,05$  festgelegt. Die Bonferroni-Korrektur wurde bei Ergebnissen geringerer Signifikanz mithilfe von Post-Hoc-Tests durchgeführt, um den Fehler erster Art möglichst klein zu halten.

Das Signifikanzniveau beschreibt die Wahrscheinlichkeit, mit der die Nullhypothese verworfen wird, obwohl sie eigentlich richtig ist (Fehler erster Art oder  $\alpha$ -Fehler). Sie wird auch als Irrtumswahrscheinlichkeit bezeichnet. Je kleiner das Signifikanzniveau gewählt wird, desto geringer ist die Wahrscheinlichkeit die Nullhypothese fälschlicherweise zu verwerfen.

Die Bonferroni-Korrektur dividiert das Signifikanzniveau durch die Anzahl der durchgeführten statistischen Signifikanztests für gleiche Datensätze. Bei dieser



Quotientenbildung gelten Testergebnisse mit p-Werten (statistische Signifikanz) kleiner als 0,01 als statistisch signifikant. Die p-Werte der statistischen Signifikanz sind umso größer, je wahrscheinlicher die erzielten Ergebnisse die Nullhypothese bestätigen.

Alle Daten wurden als Mittelwert mit dem dazugehörigen Standardfehler des Mittelwertes angegeben.

(Trampisch und Windeler 1997, Weiß 2013)

### **3. Ergebnisse**

#### **3.1 Charakterisierung der Probandenstichprobe**

Die Probanden, die ein Placebo erhalten haben, waren im Mittel 22,8 Jahre alt. Die Probanden, denen das Cortisol injiziert wurde, waren im Mittel 22,6 Jahre alt. Das gemeinsame Durchschnittsalter betrug 22,7 Jahre mit einer Altersspannweite von 21 bis 27 Jahren.

Der Mittelwert des BMI der Placebogruppe und der Kontrollgruppe war 24,3 kg/m<sup>2</sup>.

Wie die Ein-, und Ausschlusskriterien (siehe Punkt „Probanden, Material und Methoden“) für die Studienteilnahme vorschrieben, waren alle Probanden Nichtraucher und nahmen keine rezeptpflichtigen oder verschreibungsfreien Medikamente ein.

Die Gesundheitsprüfung anhand einer ärztlichen Anamnese und ärztlichen, körperlichen Untersuchung mit der Durchführung eines Elektrokardiogrammes und anhand von Blut-, und Urinuntersuchungen (u.a. Standardlabor und auch Screening auf Drogenkonsum und Gerinnungsstörungen) bescheinigte allen Studienteilnehmern einen einwandfreien Gesundheitszustand.

Keiner der Probanden absolvierte in den letzten drei Monaten einen Transkontinentalflug oder arbeitete im Schichtsystem.

Bei allen Studienteilnehmern wurden aktuelle oder vergangene psychische Syndrome und Störungen mithilfe der professionellen Bearbeitung des SKID I- und SKID II- Fragenkataloges (Strukturiertes klinisches Interview für DSM-IV) ausgeschlossen.

### 3.1.1 Randomisierung der Stichprobe

Die Probanden konnten subjektiv in der im Verhältnis 1:1 in Zweierblöcken randomisierten, einfachblinden durchgeführten Studie die Verum-, und Placebobedingungen nicht unterscheiden.

Nach der praktischen Durchführung der Studie fand die Entblindung statt.

**Tabelle 2: Entblindung der Untersuchungsbedingungen**

Proband	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Intravenöse Injektion	Verum	Placebo	Verum	Placebo	Verum	Placebo	Verum	Placebo	Verum	wäre Placebo gewesen

### **3.2 Nebenwirkungen und Komplikationen**

Es wurden keine akuten Nebenwirkungen des intravenös applizierten Cortisols oder Placebos festgestellt.

Von den zehn Probanden entwickelten sieben Studienteilnehmer postpunktionelle Kopfschmerzen durch das Liquorverlustsyndrom im Verlauf des späten Nachmittags am Studientag. Bei zwei von den sieben Probanden, die an den postpunktionellen Kopfschmerzen litten, klangen die Beschwerden innerhalb weniger Tage vollständig ab. Fünf der sieben Probanden mit postpunktionellen Kopfschmerzen erhielten einen autologen periduralen Blutpatch (Erklärung dazu siehe unter „Probanden, Material und Methoden“ ). Die Behandlung der Nebenwirkungen mit dem autologen Blutpatch führte in allen Fällen zum schnellen und vollständigen Erfolg.

Das Auftreten der beschriebenen Nebenwirkungen ist mit anderen Studien vergleichbar (Gosch et al. 2005).

In einem Fall der insgesamt zehn durchgeführten Lumbalpunktionen bei den Probanden während des Studiendurchführungstages hat der gelegte Subarachnoidkatheter aus technischen Gründen keinen Liquor cerebrospinalis gewinnen können. Daher konnten die Hormonbestimmungen nur in neun von zehn Probanden durchgeführt werden. Der Proband, bei dem die Parameterbestimmung nicht erfolgen konnte, gehörte zur Placebogruppe.

### 3.3 Endokrine Parameter

#### 3.3.1 Ermittlung der Indikatoren AUC und ML

Für die Hormonparameter Plasma-Cortisol, CSF-Cortisol, CSF-CRH und CSF-ACTH wurden die Gruppenmittelwerte mit dem dazugehörigen Standardfehler für die Indikatoren AUC und ML der Hormone jeweils in der Placebogruppe und in der Verumgruppe bestimmt (vgl. Tabelle 3) und miteinander verglichen.

**Tabelle 3: Gruppenmittelwerte mit dem dazugehörigen Standardfehler der verschiedenen Hormonparameter**

PCB= Placebo, HCT= Hydrocortison= Cortisol, F-CSF/Plasma = Cortisol-CSF/Plasma, A-CSF= ACTH-CSF, STDEV= standard deviation, Standardabweichung

	PCB			HCT		
	Mean	STDEV	N	Mean	STDEV	N
<i>Area under the Curve without the LB</i>						
CRH_AUC	-2,6	54,23	5	-23	31,74	4
F- CSF_AUC	-1,46	7,39	5	161,69	54,95	4
A-CSF_AUC	-15,7	22,26	5	-1,57	22,76	4
F-PLASMASMA_AUC	-172,66	173,3	5	4928,44	1127,94	4
<i>Mean Locations</i>						
CRH_ML	36,36	9,2	5	37,16	7,85	4
F-CSF_ML	2,43	1,64	5	65,56	11	4
A-CSF_ML	65,75	3,34	5	65,66	5,52	4
F-PLASMA_ML	158,14	27,1	5	843,38	26,31	4

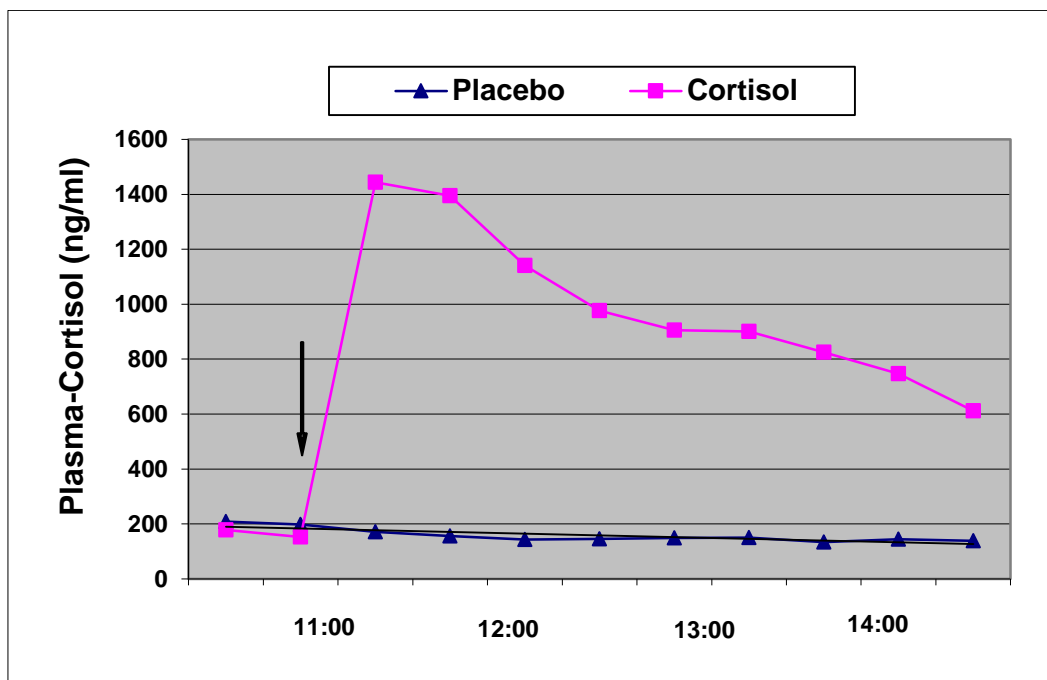
Die Prüfung der Unterschiede zwischen dem Placebo und dem Cortisol in den Indikatoren AUC und ML der Hormone zeigte, dass beide Indikatoren im WILKS-Lambda und F-Test signifikante Gruppenunterschiede aufweisen (AUC →  $F(6,2) = 256.63$ , sig of  $F = p = 0.004$  und ML →  $F(6,2) = 168.92$ , sig of  $F = p = 0.006$ ). Diese Unterschiede machen sich vorwiegend bei den Parametern F-CSF und F-PLA (univariate F-tests,  $p < 0.05$ ).

### 3.3.2 Cortisol

#### 3.3.2.1 Cortisol im Plasma

Vgl. Graphik Nr.1

Das Cortisol im Plasma stieg initial von dem Zeitpunkt der intravenösen Cortisol-Applikation um 11.02 Uhr an und erreichte nach einem leichten Abfall nach einer Stunde ein Plateau, das für den restlichen Beobachtungszeitraum, bis 14 Uhr, stetig leicht abfiel. Insgesamt präsentierten sich aber erhöhte Cortisolwerte im Blutplasma in der Gruppe, die das Cortisol injiziert bekommen haben, während kein Effekt unter Placebo-Gabe zu beobachten war.



**Graphik Nr.1: Cortisol-Konzentration im Blutplasma (Mittelwerte  $\pm$ Standardabweichungen) aufgetragen gegen die Beobachtungszeit (Uhr) in gesunden männlichen Probanden nach einer intravenösen Injektion von 100mg Cortisol vs. Placebo um 11.02 Uhr (Pfeil)**

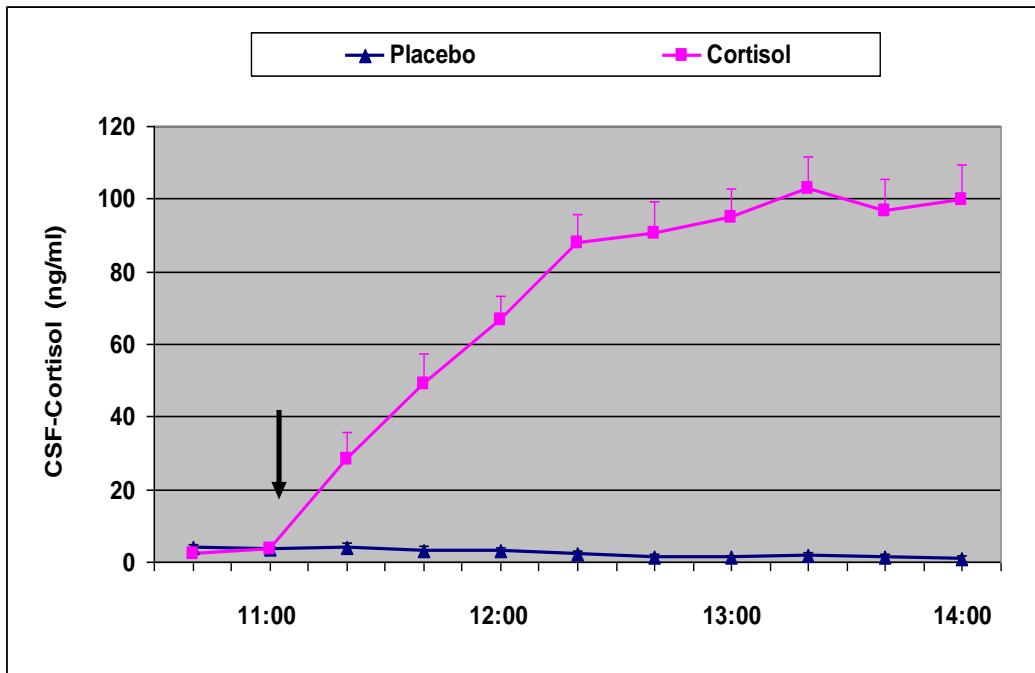
### 3.3.2.2 CSF-Cortisol

Vgl. Graphik Nr.2

Das CSF-Cortisol stieg kontinuierlich von dem Zeitpunkt der intravenösen Cortisol-Applikation um 11:02 Uhr über einen Zeitraum von 90 Minuten an und erreichte ein Plateau, das für den restlichen Beobachtungszeitraum, bis 14 Uhr, anhielt. Die Konzentrationen vom CSF-Cortisol in der Plateauphase zeigten einen 50-fachen Anstieg.

Der Indikator ML (Mean Location) lag bei  $65,6 \pm 11$  ng/ml und die dazugehörige AUC (Area Under the Curve) betrug  $161,7 \pm 55,0$  nach der intravenösen Injektion mit Cortisol.

Der multivariante WILKS-Lambda-Tests und F-Test zeigten einen signifikanten Effekt ( $F(4,4) = 27,26$ , sig of  $F = p = 0,004$ ) der intravenösen Cortisol-Injektion bezogen auf die CSF-Cortisol Indikatoren ML ( $F(1,7) = 165,93$ ,  $p < 0,0001$ ) und AUC ( $F(1,7) = 44,63$ ,  $p < 0,0001$ ).



**Graphik Nr.2:** Cortisol-Konzentrationen im Liquor cerebrospinalis (Mittelwerte  $\pm$  Standardabweichungen) aufgetragen gegen die Beobachtungszeit (Uhr) in gesunden männlichen Probanden nach einer intravenösen Injektion von 100mg Cortisol vs. Placebo um 11.02 Uhr (Pfeil)



### 3.3.3 CSF-CRH

Vgl. Graphik Nr.3

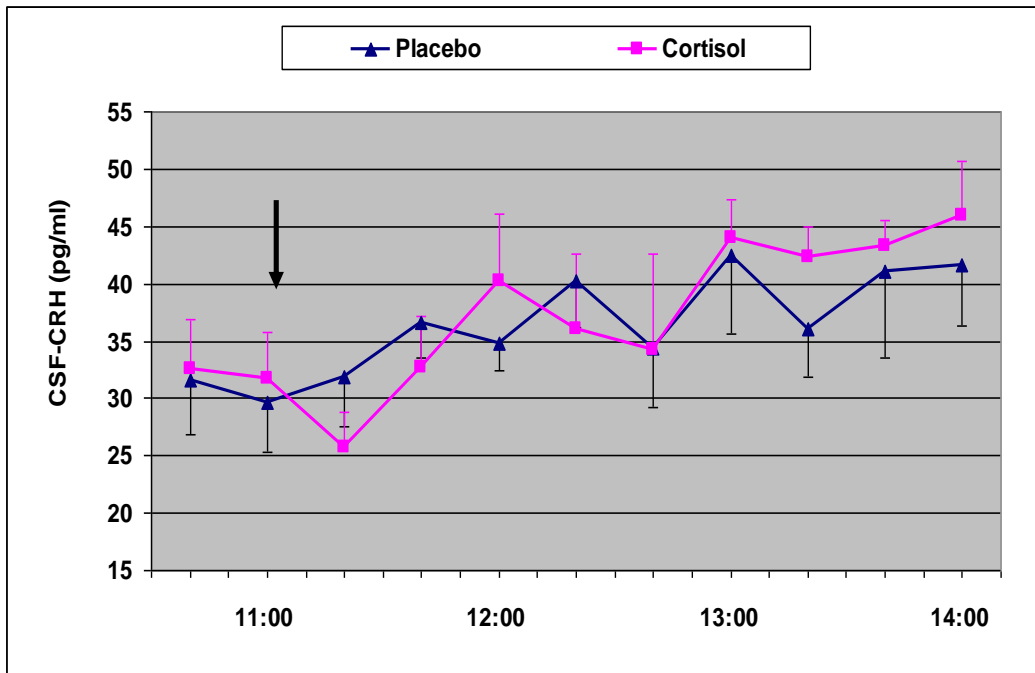
Die Graphik Nr.3 zeigt die Konzentrationen von CSF-CRH während des Beobachtungszeitraumes von 10.40 Uhr bis 14.00 Uhr.

Die intravenöse Cortisol-Applikation um 11.02 Uhr zeigte keinen ersichtlichen Effekt auf die Konzentrationen vom CSF-CRH. Sowohl in der Gruppe der Probanden denen das Cortisol injiziert wurde als auch in der Gruppe der Probanden, die ein Placebo appliziert bekommen haben, stiegen die Konzentrationsspiegel von CSF-CRH leicht während des Beobachtungszeitraumes von 10.40 Uhr bis 14.00 Uhr an.

Der Indikator ML lag bei  $2,4 \pm 1,6$  ng/ml und die dazugehörige AUC betrug  $-1,5 \pm 7,4$  nach der intravenösen Injektion mit dem Placebo.

Anders als beim CSF-Cortisol (siehe Punkt 3.3.3.1), ergab sich kein signifikanter Unterschied der intravenösen Cortisol-Injektion bezogen auf die CSF-CRH Indikatoren ML ( $F(1,7) = 0,01$ ,  $p = 0,90$ ) und AUC ( $F(1,7) = 0,44$ ,  $p = 0,53$ ).

Die polynomiale Anpassung der CSF-CRH Konzentrationen zeigte einen signifikanten linearen Trend in beiden Behandlungsgruppen : Sowohl in der Gruppe mit der Cortisol-Applikation ( $F(1,3) = 13,33$ ,  $p = 0,035$ ) als auch in der Gruppe mit der Placebo-Injektion ( $F(1,4) = 13,55$ ,  $p = 0,021$ ) präsentierte sich ein signifikanter linearer Hormonkonzentrations-Anstieg über die Beobachtungszeitdauer, der auf einen circadianen Anstieg der Konzentration des endokrinen Parameters während des Beobachtungsdauer hinweist. Bei der Cortisol-Gruppe ist die Steigung (s. Graphik Nr.3) etwas größer als bei der PLB-Gruppe (1.631 vs. 1.085).

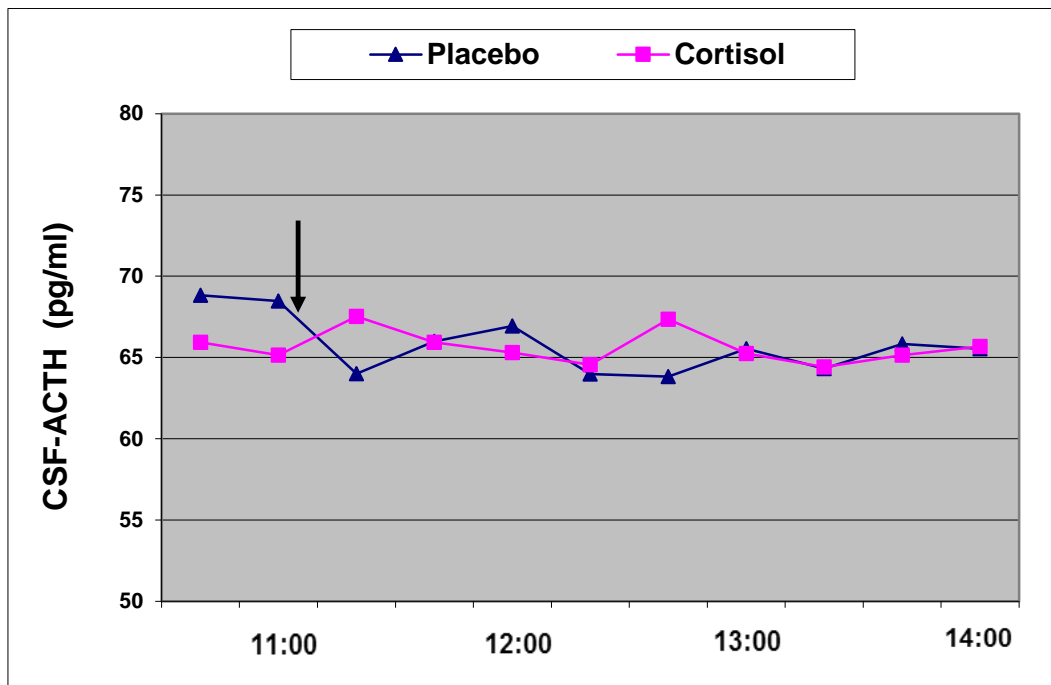


**Graphik Nr.3:** CRH-Konzentrationen im Liquor cerebrospinalis (Mittelwerte  $\pm$ Standardabweichungen) aufgetragen gegen die Beobachtungszeit (Uhr) in gesunden männlichen Probanden nach einer intravenösen Injektion von 100mg Cortisol vs. Placebo um 11.02 Uhr (Pfeil)

### 3.3.4 CSF-**ACTH**

Vgl. Graphik Nr.4

Die ACTH-Werte im Liquor cerebrospinalis weisen über den gesamten Beobachtungszeitraum von 10.40 Uhr bis einschließlich 14.00 Uhr mit Placebo-, beziehungsweise Verumgabe um 11.02 Uhr weder in der Placebo-, noch in der Cortisolgruppe einen linearen oder höheren Grades polynominalen Trend auf (linearer Trend: PLB  $\rightarrow F(1,4) = 6.57, p = 0.062$ ; HCT  $\rightarrow F(1,3) = 0.679, p = 0.470$ ).



**Graphik Nr.4: ACTH-Konzentration im Liquor cerebrospinalis (Mittelwerte  $\pm$ Standardabweichungen) aufgetragen gegen die Beobachtungszeit (Uhr) in gesunden männlichen Probanden nach einer intravenösen Injektion von 100mg Cortisol vs. Placebo um 11.02 Uhr (Pfeil)**

## **4. Diskussion**

Im Rahmen dieser Pilotstudie wurden erstmalig die akuten Effekte von Cortisol auf das CSF-CRH im Menschen charakterisiert.

Durch eine zum ersten Mal nach intravenöser Cortisol-Applikation durchgeführten seriellen Konzentrationsmessung von CRH im menschlichen Liquor cerebrospinalis von zehn gesunden, männlichen Probanden und parallel im Blut wurde untersucht, welchen Rückkopplungsmechanismen CRH im Liquor cerebrospinalis unterliegt und welche Beziehung zur peripheren Regulation besteht.

### **4.1 Zusammenfassung und Interpretation der eigenen Ergebnisse**

Wir konnten erstmals den Nachweis erbringen, dass das CSF-CRH in gesunden Probanden akut in einem Zeitfenster von drei Stunden nicht von einer intravenösen Cortisol-Gabe supprimiert wird, obwohl die Cortisolkonzentration im Liquor cerebrospinalis schnell und in einem beträchtlichem Ausmaß stieg.

Unsere Pilotstudie unterstützt nicht die Hypothese, dass das CSF-CRH als Indikator für das hypothalamische CRH genutzt werden kann. Dies ist allerdings aufgrund der kleinen Fallzahl und des begrenzten Zeitfensters in unseren Untersuchungen als vorläufiges Ergebnis anzusehen.

## **4.2 Vergleich der eigenen Ergebnisse mit der Literatur**

### **4.2.1 Circadianer Rhythmus von CSF-CRH**

Die Studiendurchführung und Abnahme der zu messenden endokrinen Parameter dieser Pilotstudie wurden zwischen 08.00 Uhr und 14.00 Uhr durchgeführt. Kling et al. (1994) beschrieben den circadianen Rhythmus von CSF-CRH in gesunden menschlichen Probanden mit einem Konzentrationsmaximum des CSF-CRHs abends zwischen 18.00 Uhr und 23.00 Uhr und einem Nadir morgens um 07.30 Uhr. Die initiale Hypothese der Supprimierung des CSF-CRHs durch Cortisol sollte daher erneut mit jungen, männlichen Probanden, die die höchste Sensitivität bezüglich der negativ modulierenden Wirkung vom peripheren Cortisol auf die HHN-Achse zeigen (Wilkinson et al. 1997), in den Abendstunden wiederholt werden.

### **4.2.2 Ursprung des CRHs im Liquor cerebrospinalis**

Die exakten anatomischen Quellen des CSF-CRHs und deren relativer Anteil an dem Liquor-CRH unter verschiedenen Bedingungen sind immer noch nicht hinreichend geklärt. Aus diesem Grunde sind Liquor-Messungen von CRH schwierig zu interpretieren.

In präklinischen Studien resultierten durch eine Reduktion von Cortisol unterschiedliche Effekte auf die mRNA von CRH in den verschiedenen Gehirnanteilen: Es kam zu einem Anstieg der CRH-mRNA im Hypothalamus (Beyer et al. 1988, Frim et al. 1990, Imaki et al. 1991), einem Abfall von CRH-mRNA in der Amygdala (Beyer et al. 1988, Palkovits et al. 1998), und keine Veränderungen wurden im Cortex observiert (Frim et al. 1990, Imaki et al. 1991).

Im Jahre 1993 abladierten Hong et al. in den Gehirnen von Ratten beidseits den Nucleus paraventricularis, der im Hypothalamus unter anderem für die CRH-Produktion fungiert. Messungen von CSF-CRH aus der Cisterna magna (einer Erweiterung des Subarachnoidalraumes; enthält den Liquor aus dem vierten

Gehirnventrikel) zeigten nach der Prozedur eine Abnahme um etwa 50% (Hong et al. 1993). Dies führte zur Annahme, dass ein hoher Anteil des CSF-CRHs hypothalamischen Ursprungs sei.

Beyer et al. (1988) analysierten zuvor die mRNA vom Liquor-CRH und fanden im Vergleich mit dem bekannten CRH aus dem Nucleus paraventricularis einen gleich großen relativen Gehalt an CRH in dem Nucleus centralis amygdalae, im Nucleus supraopticus und im Nucleus striae terminalis.

Allerdings zeigte sich nach der in der Studie ebenfalls durchgeführten beidseitigen Adrenalektomie im Versuch mit männlichen Ratten ein Anstieg von CRH-mRNA nur im PVN und nicht in den anderen Gehirnregionen.

Ebenfalls nur das CRH aus dem PVN zeigte nach einer peripheren Glucocorticoidgabe mit Dexamethason einen Effekt in Form von einer Abnahme von 40% der CRH-mRNA im PVN (Beyer et al. 1988).

Daraus wurde schlussgefolgert, dass zwar CRH auch in anderen Gehirnregionen außerhalb des PVN gebildet wird, aber dass dieses extrahypothalamische CRH allerdings nicht an der Regulation der HCN-Achse teilnimmt (Beyer et al. 1988). Weitere Versuche mit präzentriertem Anstieg der CRH-mRNA im Hypothalamus und keinem Anstieg der CRH-mRNA im Cortex (Frim et al. 1990) oder Verminderung der CRH-mRNA in der Amygdala (Palkovits et al. 1998) nach Adrenalektomie bestätigen diese These.

#### **4.2.3 Halbwertszeit von CRH im Liquor cerebrospinalis und Untersuchungszeitspanne**

Die Beobachtungszeitspanne dieser Pilotstudie belief sich auf ca. 3 Stunden nach der Cortisolgabe. Eine angenommene Halbwertszeit des CRHs im Liquor cerebrospinalis von zehn Minuten und aufgrund der Tatsache, dass der Übertritt von CRH aus dem Cranium in den lumbalen Spinalkanal in etwa eine Stunde bei Menschen beträgt (Geraciotti et al. 1992), ist es nicht unmöglich im Rahmen dieser Studiendurchführung feine kurzzeitige Effekte verpasst zu haben.

Kalin et al. (1987) postulierten jedoch aufgrund einer engen Korrelation der Konzentrationen zwischen dem CRH aus den Zisternen im Gehirn und dem

CSF-CRH in Rhesusaffen, dass das aus Lumbalpunktion gewonnene CSF-CRH in adäquaterweise in seiner Rolle als „das Fenster zum Hirn“ (Geraciotti et al. 1992) Veränderungen des ZNS reflektiert.

Auch die Arbeit von Kasckow et al. (2001), die einen vorübergehenden Abfall von CSF-CRH nach einer Intervention in Form von einer Mahlzeitgabe bei Menschen in den ersten drei Untersuchungsstunden berichtete, unterstützt den Beobachtungszeitraum von drei Stunden in dieser Pilotstudie.

Andererseits rechtfertigen präklinische Studien mit dem Ergebnis, dass nach einem „Stressereignis“ die CRH-mRNA nicht vor Ablauf der ersten 24 Stunden signifikant reagiert (Imaki et al. 1991), dass das CSF-CRH auch am folgenden Tag nach Cortisol-Applizierung gemessen wird.

Darüberhinaus kann nicht ausgeschlossen werden, dass anhaltend erhöhte Cortisolspiegel das CSF-CRH im Sinne eines verzögerten Feedback-Mechanismus beeinflussen.

#### **4.2.4 Interpretation der CSF-ACTH-Befunde**

Auch das ACTH im Liquor cerebrospinalis beim Menschen wurde in dieser Pilotstudie akut in einem Zeitfenster von drei Stunden nicht von einer intravenösen Cortisol-Applikation supprimiert.

Ebenfalls wie beim CSF-CRH sollte auch beim ACTH im Liquor cerebrospinalis beim Menschen in folgenden Studien mehr die Circadianik von CSF-ACTH berücksichtigt werden. Kalin et al. (1981 und 1986) zeigten in ihren Studien mit Rhesusaffen, die dem Menschen als Forschungsmodell vom neuroendokrinen Standpunkt aus recht ähnlich sind (Leshner et al. 1978), dass der circadiane Rhythmus von CSF-ACTH sein Immunreaktivitäts-Maximum um 19 Uhr abends und sein Nadir um 05.00 Uhr morgens erreicht. Dementsprechend sind Nachfolge-Studien zu diesen Zeiten wiederholend dieser Pilotstudie durchzuführen.

Der exakte anatomische Ursprung von ACTH im Liquor cerebrospinalis und seine physiologische und pathophysiologische Rolle im Menschen ist analog zum CSF-CRH noch nicht abschließend geklärt und deshalb gestaltet sich die

Interpretation von Liquor-Messungen von CRH auch hier bis zu endgültigen Aufklärung schwierig.

Kalin (1986) und Hosobuchi et al. (1980 und 1982) unterstützen diese Pilotstudie in der Ansicht, dass das ACTH im Liquor cerebrospinalis als Reflexion zum ACTH im Gehirn zu sehen ist. Deswegen gilt es auch beim CSF-ACTH die Beobachtungszeitspanne und die Halbwertszeit sowie die Übertrittszeit von ACTH aus dem Gehirn in den Liquor cerebrospinalis in folgenden Studien, analog zum CSF-CRH, im Auge zu behalten. In der präklinischen Studie von Kalin (1986) wurden die beobachtete Veränderungen von CSF-ACTH nach einer Intervention (sozialer Separation der Rhesusaffen) und nach Hypophysektomie in einem Zeitraum von vier Tagen beobachtet und rechtfertigen aus dem diesem Grunde für nachfolgende Studien ein länger anzusetzendes Zeitfenster als in dieser Pilotstudie um mögliche Effekte, auch in Bezug auf das Verhältnis von Plasma-ACTH und CSF-ACTH, nicht zu verpassen.

Die Rolle von CSF-ACTH bei psychiatrischen Krankheiten beim Menschen (u.a. Nemeroff et al. 1984, Kling et al. 1991) wird aus den genannten Gründen erst bei endgültigerer Klärung von Ursprungsquelle und regulativen Mechanismen von ACTH im Liquor cerebrospinalis in den vorgeschlagenen, verheißungsvollen Forschungsarbeiten in der Zukunft mehr an Aussagekraft gewinnen.



### **4.3 Ausblick auf mögliche zukünftige Entwicklungen in der Medizin**

Diese Pilotstudie unterstützt, dass die weitere Forschung zum Thema Ursprungsquelle und Regulation von CSF-CRH sowie dessen Rolle in der Physiologie und Pathophysiologie beim Menschen ein spannendes Forschungsgebiet in der Neuropsychiatrie bleibt.

Wissenschaftliche Arbeiten, die CRH im Liquor cerebrospinalis beim Menschen mit psychiatrischen Krankheiten thematisierten, haben sich meist auf Einzelpunktmessungen von CSF-CRH als Grundlage für ihre Studienaussagen bezogen (Kling et al. 1991, Heuser et al. 1998, Newport et al. 2003, Nikisch und Mathé 2008).

Die einzig seriellen Konzentrationsmessungen von CRH aus dem Liquor cerebrospinalis beim Menschen führten Geraciotti et al. (1992 und 1997) bei Patienten mit Depressionen und Baker et al. (1999) bei Patienten mit Posttraumatischen Belastungsstörungen durch. In Patienten mit Posttraumatischen Belastungsstörungen konnten die erhöhten Werte von CSF-CRH in der Einzelpunktmessung auch in der kontinuierlichen Konzentrationsmessung von Liquor-CRH beim Menschen wiederholt werden (Bremner et al. 1997, Baker et al. 1999), während in depressiven Patienten anders als in der Einzelpunktmessung in der seriellen Liquormessungen erniedrigte Werte von CSF-CRH in Patienten mit Depressionen gemessen worden sind (Nemeroff et al. 1984, Geraciotti et al. 1992, Geraciotti et al. 1997).

Verschiedene Versuche der Stimulation der HHN-Achse und anschließender vergleichender Beobachtung auf die Auswirkung darauf auf die CSF-CRH Konzentrationen, die Plasma-Cortisol-Werte, und die Hypothalamus-Hypophysen-Nebennieren-Aktivität erbrachten sowohl keine beobachteten Korrelationen (Geraciotti et al. 1992, Geraciotti et al. 1997, Vythilingham et al. 2000) als auch negativ korrelierende Ergebnisse zwischen den CRH-Konzentrationen im Plasma und Liquor (Kling et al. 1994, Newport et al. 2003, Lee et al. 2012).

Die genannten Arbeitsgruppen, die keine Korrelation zwischen peripherer HPA-Aktivität und dem CSF-CRH fanden und demnach dem CSF-CRH eher einen extrahypothalamischen Ursprung zuschrieben, wurden von Berichten über eine

fehlende Verbindung des bekannten circadianen Rhythmus der Plasma-HPA-Hormone im CSF-CRH (Garrick et al. 1987, Kalin et al. 1987) in ihren Beobachtungen unterstützt.

Eine Klärung der Validität der CRH-Liquorbestimmungen in Menschen als Indikator für psychiatrische Krankheiten (de Kloet et al. 2005) ist aus diesem Grunde und vor dem Hintergrund der CSF-CRH-Befunde dieser Pilotstudie erstrebenswert. Die hier zum ersten Mal gezeigten fehlenden akuten Effekte von Cortisol auf das CSF-CRH beim Menschen unterstützen zwar nicht die Hypothese, dass das CSF-CRH hypothalamischen Ursprungs ist, weitere Studien mit einem größeren Untersuchungszeitfenster zu weiteren Tageszeiten und mit einer größeren Stichprobenanzahl sind nötig.

Bis die genauen anatomischen Ursprungsquellen des CSF-CRHs und dessen relativer Anteil an dem Liquor-CRH unter verschiedenen Bedingungen sowie die physiologische und pathophysiologische Rolle von CSF-CRH beim Menschen nicht hinreichend geklärt sind, scheinen Liquor-Messungen von CRH schwierig zu interpretieren zu sein.

Folgestudien mit einer größeren Stichprobenzahl und einem größeren Beobachtungszeitfensters unter genauer Beachtung des circadianen Rhythmus von CRH im Liquor cerebrospinalis beim Menschen wären zur weiteren Klärung von der Ursprungsquelle und den Regulations-, und Rückkopplungsmechanismen von CRH im menschlichen Liquor cerebrospinalis wünschenswert.

## 5. Zusammenfassung

Als wichtigstes Steuerpeptid der Hypothalamus-Hypophysen-Nebennierenrinden (HHN)-Achse spielt das hypothalamische Corticotropin-Releasing Hormon (CRH) eine zentrale Rolle bei der Stressantwort im menschlichen Körper. Das CRH wird als das „Fenster zum Hirn“ (Geraciotti et al. 1992) als Indikator für die endokrine und Verhaltensregulation beim Menschen gesehen (Barden et al. 1995, Holsboer 1999, Kellner und Yehuda 1999, de Kloet et al. 2005). Messungen von CRH im Blut lassen auf Grund einer Maskierung durch die intestinale CRH-Produktion (Nieuwenhuyzen Kruseman et al. 1984, Suda et al. 1984) keine Rückschlüsse über hypothalamisches CRH zu. Unklar ist, woher das CRH im Liquor cerebrospinalis (CSF-CRH) stammt und welchen Regelkreisen es unterliegt.

In dieser Placebo-kontrollierten, randomisierten, einfachblinden Studie wurden erstmalig die akuten Auswirkungen einer intravenösen Cortisol-Applikation (100mg) auf CRH im Liquor cerebrospinalis bei zehn gesunden männlichen Probanden in einem Beobachtungszeitraum von 10.40 Uhr -14.00 Uhr charakterisiert.

Es wurde in dem beobachteten Zeitfenster von drei Stunden akut eine CRH-Suppression im menschlichen Liquor cerebrospinalis hypothetisiert.

Nach intravenösen Cortisol-Applikation wurde das CSF-CRH akut in einem Zeitfenster von drei Stunden nicht von einer intravenösen Cortisol-Gabe supprimiert, obwohl die Cortisolkonzentration im menschlichen Liquor cerebrospinalis schnell und einem beträchtlichen Ausmaß stieg.

Die Resultate lassen einen extrahypothalamischen Ursprung des CSF-CRH vermuten.

Es bedarf weiterer Studien mit einer größeren Teilnehmerzahl an gesunden, männlichen Probanden und unter Berücksichtigung des circadianen Rhythmus von CSF-CRH.

## 6. Abkürzungsverzeichnis

11-DOC	11-Desoxycortisol
24hUFC	24 Stunden- Urinary Free Cortisol, Messung der Konzentration des freien Cortisols im 24 Stunden-Sammelurin
ACTH	Adrenocorticotropes Hormon
AUC	Area Under the Curve
BMI	Body-Mass-Index
°C	Grad Celcius
cAMP	zyklisches Adenosinmonophosphat
CCK-4	Cholecystokinin-Tetrapeptid
cDNA	komplementäre Desoxyribonukleinsäure
cm	Zentimeter
Cortisol-TP	Cortisol-Tagesprofil
CRH	Corticotropin-Releasing Hormon
CRF	Corticotropin-Releasing Factor
CSF	Cerebrospinal Fluid, Liquor cerebrospinalis
CSF-ACTH	Adrenocorticotropes Hormon im Liquor cerebrospinalis
CSF-CRH	Corticotropin-Releasing Hormon im Liquor cerebrospinalis
Dex/CRH-Test	Dexamethason-CRH-Test
DST	Dexamethason-Suppressionstest
EEG	Elektroenzephalogramm
EKT	Elektrokrampftherapie

F-Test	Fisher-Test, statistischer eindimensionaler Einzeltest
G	Gauge, Messgrösse für Kanülen und Schläuche
GC	Glucocorticoid
h	hour, Stunde
HAMD	Hamilton-Depressions-Skala
hCRH	humanes Corticotropin-Releasing Hormon
HCT	Hydrocortison= Cortisol
HHN-Achse	Hypothalamus-Hypophysen-Nebennierenrinden-Achse
<sup>125</sup> I	radioaktives Iod-Isotop
IRMA	Immunradiometrischen Assay
kg/m <sup>2</sup>	Kilogramm pro Quadratmeter
LOR-Technik	Loss Of Resistance -Technik
lowdoseDex-Test	niedrigdosierter Dexamethason-Hemmtest
MANOVA	Multivariate Analysis Of Variance, multifaktorielle Varianzanalyse
M.Cushing	Morbus Cushing
MDD	Major Depressive Disorder
mg	Milligramm
µg/kg	Mikrogramm pro Kilogramm
ML	Mean Location
ml	Milliliter
mm	Millimeter
mRNA	messenger Ribonukleinsäure

n	Stichprobengröße
NaCl	Natriumchlorid, Kochsalzlösung
ng	Nanogramm
ng/ml	Nanogramm pro Milliliter
NNR	Neben-Nieren-Rinde
ODN	Oligodeoxynukleotid
PCB	Placebo
pg/ml	Picogramm pro Milliliter
POMC	Proopiomelanocortin
PTSD	Post-Traumatic Stress Disorder, Posttraumatische Belastungsstörung
PVN	Nucleus paraventricularis
p-Wert	statistische Signifikanz
RIA	Radioimmunassay
SEM	Standard Error of the Mean, Standardfehler des Mittelwertes
sig of F	sig of F = p, statistische Signifikanz
SKID	Strukturiertes klinisches Interview für DSM-IV (Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, 4.Auflage)
STDEV	Standard Deviation, Standardabweichung
U/min	Umdrehungen pro Minute
UKE	Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf

## 7. Literaturverzeichnis

Adashi EY, Resnick CE, Hernandez ER, Hurwitz A, Rosenfeld RG (1990).

Ovarian granulosa cell-derived insulin-like growth factor (IGF) binding proteins: release of low molecular weight, high-affinity IGF-selective species. *Molecular and Cellular Endocrinology* 74 (3), 175-85.

Aguilera G, Rabadan-Diehl C, Nikodemova M (2001). Regulation of pituitary corticotropin releasing hormone receptors. *Peptides* 22 (5), 769-774.

Akil H, Watson SJ (1983). Beta-Endorphin and biosynthetically related peptides in the central nervous system. In : *The Handbook of Psychopharmacology*, Iversen LL, Iversen SD, Snyder S (Hrsg.) Springer US, Volume 16: Neuropeptides, New York, 209-253.

Allen JP, Kendall JW, McGilvra R, Vancura C (1974). Immunoreactive ACTH in cerebrospinal fluid. *Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* 38 (4), 586-593.

Andersen ML, Martins PJF, D'Almeida V, Bignotto M, Tufik S (2005). Endocrinological and catecholaminergic alterations during sleep deprivation and recovery in male rats. *Journal of Sleep Research* 14 (1), 83-90.

Arana GW, Baldessarini RJ, Ornstein M (1991). The dexamethasone suppression test for diagnosis and prognosis in psychiatry. *Archives of General Psychiatry* 42 (12), 1193–1204.

Baker DG, West SA, Nicholson WE, Ekhtor NN, Kasckow JW, Hill KK, Bruce AB, Orth DN, Geraciotti TD Jr. (1999). Serial CSF corticotropin-releasing hormone levels and adrenocortical activity in combat veterans with posttraumatic stress disorder. *American Journal of Psychiatry* 156 (4), 585–588.

Baker DG, Ekhtor NN, Kasckow JW, Dashevsky B, Horn PS, Bednarik L, Geraciotti TD Jr. (2005). Higher Levels of Basal Serial CSF Cortisol in Combat Veterans With Posttraumatic Stress Disorder. *American Journal of Psychiatry*. 162 (5), 992-994.

Barden N, Reul JM, Holsboer F (1995). Do antidepressants stabilize mood through actions on the hypothalamic-pituitary-adrenocortical system?. *Trends in Neuroscience* 18 (1), 6-11.

Baumann G (1990). Growth hormone binding proteins in plasma- An Update. *Acta Paediatrica Scandinavica Supplement* 367, 142-147.

Beaulieu S, Gagne B, and Barden N (1988). Glucocorticoid regulation of the proopiomelanocortin messenger ribonuclein acid content of rat hypothalamus. *Molecular Endocrinology* 2 (8), 727-731.

Becker L, Gold PW, Chrousos GP (1983). Analogies between Cushing's disease and depression: a case report. *General Hospital Psychiatry* 5 (2), 89-91.

Beckford V, Herbert J, Jones MT, Martens ND, Nicholson SA, Gillham B, Hamer JD (1985). Relationship between adrenocorticotrophin bioactivity in blood and cerebrospinal fluid of rhesus monkeys. *Journal of Endocrinology* 104 (3), 331-338.

Behan DP, Heinrichs SC, Troncoso JC, Liu X-J, Kawas CH, Ling N, de Souza EB (1995). Displacement of corticotropin releasing factor from its binding protein as a possible treatment for Alzheimer's disease. *Nature* 378 (6554), 284-287.

Bell PH, Howard KS, Shepherd RG, Finn BM, Meisenhelder JH (1956). Studies with Corticotropin. II. Pepsin Degradation of  $\beta$ -Corticotropin. *Journal of the American Chemical Society* 78, 5059-5066.

Berelowitz M, Perlow MJ, Hoffman HJ, Frohman LA (1981). The diurnal variation of immunoreactive thyrotropin-releasing hormone and somatostatin in the cerebrospinal fluid of the rhesus monkey. *Endocrinology* 109 (6), 2102-9.

Beyer HS, Matta SG, Sharp BM (1988). Regulation of the messenger ribonucleic acid for corticotropin-releasing factor in the paraventricular nucleus and other brain sites of the rat. *Endocrinology* 123 (4), 2117-2123.



- Bissette G, Reynolds GP, Kilts CD, Widerlöv E, Nemeroff CB (1985), Corticotropin-releasing factor-like immunoreactivity in senile dementia of the Alzheimer type. Reduced cortical and striatal concentrations. *Journal of the American Medical Association* 254 (21), 3067-3069.
- Board F, Persky H, Hamburg DA (1956). Psychological Stress and Endocrine Function. *Psychosomatic Medicine* 18 (4), 324-333
- Braun J, Renz-Polster H (2001). *Basislehrbuch Innere Medizin*. Urban und Fischer Verlag München-Jena 2. Auflage, S.735-758.
- Bremner JD, Licinio J, Daarnell A, Krystal JH, Owens MJ, Southwick SM, Nemeroff CB, Charney DS (1997). Elevated CSF corticotropin-releasing factor concentrations in posttraumatic stress disorder. *American Journal of Psychiatry* 154 (5), 624-629.
- Britton KT, Koob GF, River H, Vale W (1982). Intraventricular corticotropin-releasing factor enhances behavioral effects of novelty. *Life Sciences* 31 (4), 363-367.
- Britton KT, Lee G, Vale W, Rivier J, Koob GF (1986). Corticotropin-releasing factor (CRF) receptor antagonist blocks activating and "anxiogenic" actions of CRF in the rat. *Brain Research* 369 (1-2), 303-306.
- Brown M R, Fisher L A, Spiess J, Rivier C, Rivier J, Vale W (1982). Corticotropin-releasing factor: actions on the sympathetic nervous system and metabolism. *Endocrinology* 111 (3), 928-931.
- Bruhn HD, Junker R, Schäfer H, Schreiber S (2011). *LaborMedizin: Indikationen, Methodik und Laborwerte Pathophysiologie und Klinik*. 3.Auflage, Schattauer GmbH, Stuttgart, S. 36-42.
- Bruhn TO, Engeland WC, Anthony EL (1987). Corticotropin-releasing factor in the dog adrenal medulla is secreted in response to hemorrhage. *Endocrinology* 120 (1), 25-33.
- Butler PD, Weiss JM, Stout JC, Nemeroff CB (1990). Corticotropin-releasing factor produces fear-enhancing and behavioural activating effects following infusion into the locus coeruleus. *Journal of Neuroscience* 10 (1), 176-183.

Carnes M, Barksdale CM, Kalin NH, Brownfield MS, Lent SJ (1987). Effects of dexamethasone on central and peripheral ACTH systems in the rat.

Neuroendocrinology 45 (2), 160-164.

Carroll BJ, Curtis GC, Davies BM, Mendels J, Sugarman AA (1976). Urinary free cortisol excretion in depression. Psychological Medicine 6 (1), 43-50.

Carroll BJ, Feinberg M, Greden JF, Traika J, Albalba A, Haskett MB, James N, Knofal Z, Lohr N, Steiner M, DeBigne J, Young E (1981). A specific laboratory test for the diagnosis of melancholia. Archives of General Psychiatry 38 (1), 15-22.

Carroll BJ (1982). The dexamethasone suppression test for melancholia. British Journal of Psychiatry: the journal of mental science 140, 292-304.

Chen R, Lewis KA, Perrin MH, Vale WW (1993). Expression cloning of a human corticotropin-releasing factor receptor. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America 90 (19), 8967-8971.

Cummings S, Elde R, Ells J, Lindall A (1983). Corticotropin-releasing factor immunoreactivity is widely distributed within the central nervous system of the rat: an immunohistochemical study. Journal of Neuroscience 3 (7), 1355-1368.

Cunnah D, Jessop DS, Besser GM, Rees LH (1987). Measurement of circulating corticotrophin-releasing factor in man. Journal of Endocrinology 113 (1), 123-131.

Cushing H, Goetsch E (1910). Concerning the secretion of the infundibular lobe of the pituitary body and its presence in the cerebrospinal fluid. American Journal of Physiology 27, 60-86.

David R, August G, Gandy HM (1968). A virilising adrenal tumor with borderline elevation of urinary ketosteroids. Pediatrics 42 (1), 139-148.

de Kloet ER, Joëls M, Holsboer F (2005). Stress and the brain: from the adaptation to the disease. Nature Reviews Neuroscience 6 (6), 465-475.

De Wied D, Jolles J (1982). Neuropeptides derived from pro-opiocortin: Behavioral, physiological and neurochemical effects. Physiological Reviews 62 (3), 976-1059.

- Dunn AJ, File SE (1987). Corticotropin-releasing factor has an anxiogenic action in the social interaction test. *Hormones and Behaviour* 21 (2), 193-202.
- Dunn AJ, Berridge CW (1990). Physiological and behavioral responses to corticotropin-releasing factor administration: is CRF a mediator of anxiety or stress responses?. *Brain Research Reviews* 15 (2), 71-100.
- Eddy RL, Jones AL, Gilliland PF, Ibara JD Jr., Thompson JQ, McMurray JF Jr. (1973). Cushing's syndrome: a prospective study of diagnostic methods. *American Journal of Medicine* 55 (5), 621-630.
- Ehlers CL, Reed TK, Henriksen SJ (1986). Effects of corticotropin-releasing factor and growth hormone-releasing factor on sleep and activity in rats. *Neuroendocrinology* 42 (6), 467-474.
- Evans DL, Nemeroff CB (1985). Use of dexamethasone suppression test using DSM III criteria on an inpatient psychiatric unit. *Biol Psychiatry* 18 (4), 505-511.
- Facchinetti F, Nappi G, Petraglia F, Martignoni E, Sinforiani E, Genazzini AR (1984). Central ACTH deficit in degenerative and vascular dementia. *Life Sciences* 35 (16), 1691-1697.
- File SE, Tucker JC. (1984). Lasting behavioral effects after treating rats with CGS 8216 on postnatal days 9 to 21. *Physiology & Behavior* 32 (3), 351-356.
- File SE (1987). The contribution of behavioural studies to the neuropharmacology of anxiety. *Neuropharmacology* 26 (7B), 877-886.
- Fisher L.A, Rivier J, Rivier C, Spiess J, Vale WW, Brown MR (1982). Corticotropin-releasing factor (CRF): Central effects on mean arterial blood pressure and heart rate in rats. *Endocrinology* 110 (6), 2222-2224.
- Fisher LA (1989). Corticotropin-releasing factor: endocrine and autonomic integration of response to stress. *Trends in Pharmacological Sciences* 10 (5), 189-193.
- Frim DM, Robinson BG, Pasiaka KB, Majzoub JA (1990). Differential regulation of corticotropin-releasing hormone mRNA in rat brain. *American Journal of Physiology* 258 (4 Pt 1), E686-E692.

Gallagher TF, Yoshida K, Roffwarg HD, Fukushima DK, Weitzman ED, Hellman L (1973). ACTH and cortisol secretory patterns in man. *Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* 36 (6), 1058-1068.

Ganong WF, Murakami K (1987). The role of angiotensin II in the regulation of ACTH secretion. *Annals of the New York Academy of Sciences* 512, 176-86.

Garrick NA, Hill JL, Szele FG, Tomai TP, Gold PW, Murphy DL (1987). Corticotropin-releasing factor: a marked circadian rhythm in primate cerebrospinal fluid peaks in the evening and is inversely related to the cortisol circadian rhythm. *Endocrinology* 121 (4), 1329-1334.

Geraciotti TD Jr., Orth DN, Ekhtor NN, Blumenkopf B, Loosen PT (1992). Serial cerebrospinal fluid corticotropin-releasing hormone concentrations in healthy and depressed humans. *Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* 74 (6), 1325-1330.

Geraciotti TD Jr., Loosen PT, Orth DN (1997). Low cerebrospinal fluid corticotropin-releasing hormone concentrations in eucortisolemic depression. *Biological Psychiatry* 42 (3), 166-174.

Geraciotti TD Jr., Baker DG, Kasckow JW, Strawn JR, Jeffrey Mulchahey J, Dashevsky BA, Horn PS, Ekhtor NN (2008). Effects of trauma-related audiovisual stimulation on cerebrospinal fluid norepinephrine and corticotropin-releasing hormone concentrations in post-traumatic stress disorder. *Psychoneuroendocrinology* 33 (4), 416-24. doi: 10.1016/j.psyneuen.2007.12.012. Epub 2008 Mar 4.

Giguere V, Hollenberg SM, Rosenfeld MG, Evans RM (1982). Functional domains of the human glucocorticoid receptor. *Cell* 46 (5), 645-652.

Goenjian AK, Yehuda R, Pynoos RS, Steinberg AM, Tashjian M, Yang RK, Najarian LM, Fairbanks LA (1996). Basal cortisol, dexamethasone suppression of cortisol, and MHPG in adolescents after the earthquake in Armenia. *American Journal of Psychiatry* 153 (7), 929-934.

Gold PW, Loriaux DL, Roy A, Kling MA, Calabrese JR, Kellner CH, Nieman LK, Post RM, Pickar D, Gallucci W, Augerinos P, Paul S, Oldfield EH, Cutler GB, Chrousos GP (1986). Response to corticotropin-releasing hormone in the hypercortisolism of depression and Cushing's disease. Pathophysiologic and diagnostic implications. *New England Journal of Medicine* 314 (21), 1329–1335.

Gold PW, Goodwin FK, Chrousos GP (1988). Clinical and biochemical manifestations of depression: relation to the neurobiology of stress (part II of II parts). *New England Journal of Medicine* 319 (21), 413-420.

Gosch UW, Hueppe M, Hallschmid M, Born J, Schmucker P, Meier T (2005). Post-dural puncture headache in young adults: comparison of two small-gauge spinal catheters with different needle design. *British Journal of Anaesthesia* 94 (5), 657-661. Epub 2005 Feb 18.

Gosnell BA, Morley JE, Levine AS (1983). A comparison of the effects of corticotropin-releasing factor and sauvagine on food intake. *Pharmacology, Biochemistry, and Behavior* 19 (5), 771-775.

Gray TS (1990). The organization and possible function of amygdaloid corticotropin-releasing factor pathways. In: *Corticotropin-releasing Factor: Basic and Clinical Studies of a Neuropeptide* De Souza E, Nemeroff CB (Hrsg.) Boca Raton, Florida, 53-68.

Gray TS (1991). Limbic pathways and neurotransmitters as modulators of autonomic and neuroendocrine responses to stress. The amygdala, In: *Stress: Neurobiology and Neuroendocrinology* Brown MR, Koob GF, Rivier C (Hrsg.) Marcel Dekker, New York, 73-89.

Guillemin R, Rosenberg B (1955). Humoral hypothalamic control of anterior pituitary: a study with combined tissue cultures. *Endocrinology* 57 (5), 599-607.

Habib KE, Weld KP, Rice KC, Pushkas J, Champoux M, Listwak S, Webster EI, Atkinson A, Schulkin J, Contoreggi C, Chrousos G, Mc Cann SM, Suomi SJ, Higley JD, and Gold PW (2000). Oral administration of a corticotropin-releasing hormone receptor antagonist significantly attenuates behavioral, neuroendocrine, and autonomic responses to stress in primates. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 97, 6079-6084.

- Halbreich U, Olympia J, Carson S, Glogowski J, Yen C-H, Axelrodt S (1989). Hypothalamo-pituitary-adrenal activity in endogenously depressed posttraumatic stress disorder patients. *Psychoneuroendocrinology* 14, 365-370.
- Harris GW (1948). Neural control of the pituitary gland. *Physiological Reviews* 28, 139-179.
- Haynes R, Savard K, Dorfman RI (1952). An action of ACTH on adrenal slices. *Science* 19 (3025), 690-691.
- Haynes R, Savard K, Dorfman RI (1954). The action of adrenocorticotrophichormone on beef adrenal slices. *Journal of Biological Chemistry* 207 (2), 925-938.
- Heinrichs SC, Koob GF (1992). Corticotropin-releasing factor modulates dietary preference in nutritionally and physically stressed rats. *Psychopharmacology* 109 (1-2), 177-184.
- Heinrichs SC, Stenzel-Poore MP, Gold LH, Battenberg E, Bloom FE, Koob GF, Vale WW, Merlo-Pich E (1996). Learning impairment in transgenic mice with central overexpression of corticotropin-releasing factor. *Neuroscience* 74 (2), 303-311.
- Hellman L, Nakada F, Curti J, Weitzman ED, Kream J, Roffwarg H, Ellman S, Fukushima D K, Gallagher TF (1970). Cortisol is secreted episodically by normal man. *Journal of Clinical Endocrinology* 30 (4), 411 -422.
- Herman JP, Prewitt CMF, Cullinan WE (1996). Neuronal circuit regulation of the hypothalamo-pituitary-adrenocortical stress axis. *Critical Reviews in Neurobiology* 10 (3-4), 371-394.
- Heuser I, Yassouridis A, Holsboer F (1994). The combined dexamethasone/CRH test: A refined laboratory test for psychiatric disorders. *Journal of Psychiatric Research* 28 (4), 341-356.
- Heuser I, Bissette G, Dettling M, Schweiger U, Gotthardt U, Schmider J, Lammers CH, Nemeroff CB, Holsboer (1998). Cerebrospinal fluid concentrations of corticotropin-releasing hormone, vasopressin, and somatostatin in depressed patients and healthy controls: response to amitriptyline treatment (1998). *Depression and Anxiety* 8 (2), 71-79.

Hofmann K, Yajima H (1961). *Journal of the American Chemical Society* 83, 2289-2293.

Holsboer F, Müller OA, Doerr HG, Sippell WG, Stalla GK, Gerken A, Steiger A, Boll E, Benker O (1984). ACTH and multiteroid responses to corticotropin-releasing factor in depressive illness: relationship to multiteroid responses after ACTH stimulation and dexamethasone suppression. *Psychoneuroendocrinology* 9 (2), 147-169.

Holsboer F, Gerken A, von Bardeleben U, Grimm W, Beyer H, Müller OA, Stalla GK (1986). Human corticotropin-releasing hormone in depression. *Biological Psychiatry* 21 (7), 601-611.

Holsboer F, von Bardeleben U, Buller R, Heuser I, Steiger A (1987). Stimulation response to corticotropin-releasing hormone (CRH) in patients with depression, alcoholism and panic disorder. *Hormone and metabolic research. Supplement series* 16, 80-88.

Holsboer F, von Bardeleben U, Steiger A (1988). Effects of intravenous corticotropin-releasing hormone upon sleep-related growth hormone surge and sleep EEG in man. *Neuroendocrinology* 48 (1), 32–38.

Holsboer F, Spengler D, Heuser I (1992). The role of corticotropin-releasing hormone in the pathogenesis of Cushing's disease, anorexia nervosa, alcoholism, affective disorders and dementia. *Progress in Brain Research* 93, 385-317.

Holsboer F (1999). The rationale for corticotropin-releasing hormone receptor (CRH-R) antagonists to treat depression and anxiety. *Journal of Psychiatric Research* 33 (3), 181-214.

Hong S-K, Gold PW, Herkenham M (1993). Hypothalamic paraventricular nucleus lesions decrease corticotropin-releasing hormone in the CSF and elevate TH mRNA in the locus ceruleus. *Society for Neuroscience Abstracts* 19, 762.

Horner JM, Liu F, Hintz RL (1982). Comparison of [125I]somatomedin A and [125I]somatomedin C radioreceptor assays for somatomedin peptide content in whole and acid-chromatographed plasma. *Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* 47 (6), 1287-95.

Hosobuchi Y, Rossier J, Bloom FE (1980). Oral loading with L-tryptophan may augment the simultaneous release of ACTH and beta-endorphin that accompanies periaqueductal stimulation in humans. *Advances in Biochemical Psychopharmacology* 22, 563-570.

Hosobuchi Y (1982). Brain and CSF ACTH and their roles in neurologic function. In: *Brain Peptides and Hormones*. Collu R, Ducharme JR, Barbeau A, Tolis G (Hrsg.) Raven Press, New York, 197–205.

Huang SS, O'Grady P, Juang JS (1988). Human transforming growth factor beta-alpha-2-macroglobulin complex is a latent form of transforming growth factor beta. *Journal of Biological Chemistry* 263 (3), 1535-1541.

Imaki T, Nahan JL, Rivier C, Sawchenko PE, Vale W (1991). Differential regulation of corticotropin-releasing factor mRNA in rat brain regions by glucocorticoids and stress. *The Journal of Neuroscience* 11 (3), 585-599.

Jan T, Shaw MA, Baumann G (1991). Effects of growth hormone-binding proteins on serum growth hormone measurements. *Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* 72 (2), 387-391.

Joseph SA, Knigge KM (1983). Corticotropin releasing factor: immunocytochemical localization in rat brain. *Neuroscience Letters* 35 (2), 135-141.

Kalin NH, Cohen RM, Murphy DL (1980). Circadian variation in the CSF cortisol concentration of the rhesus monkeys. *Life Sciences* 26 (18), 1485-1487.

Kalin NH, Insel TR, Cohen RM, Risch SC, Murphy DL (1981). Diurnal variation in cerebrospinal fluid prolactin concentration of the rhesus monkey. *Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* 52 (5), 857-858.

Kalin NH, Shelton SE, Kraemer GW, McKinney WT (1983). Associated endocrine, physiological and behavioral changes in rhesus monkeys after intravenous CRF administration. *Peptides* 4 (2), 211-215.

Kalin NH, Shelton SE, Barksdale CM, Carnes M (1985). The diurnal variation of immunoreactive adrenocorticotropin in rhesus monkey plasma and cerebrospinal fluid. *Life Sciences* 36 (12), 1135-1140.



Kalin NH (1986). ACTH in plasma and CSF in the rhesus monkey. *Biological Psychiatry* 21 (2), 124-140.

Kalin NH, Shelton SE, Barksdale CM, Brownfield MS (1987). A diurnal rhythm in cerebrospinal fluid corticotrophin-releasing hormone different from the rhythm of pituitary-adrenal activity. *Brain Research* 426 (2), 385-391.

Kalin NH, Sherman JE, Takahashi LK (1988). Antagonism of endogenous CRH systems attenuates stress-induced freezing behavior in rats. *Brain Research* 457 (1), 130-135.

Kanter ED, Wilkinson CW, Radant AD, Petrie EC, Dobie KJ, Mc Fal ME, Peskind ER, Raskind MA (2001). Glucocorticoid feedback sensitivity and adrenocortical responsiveness in post-traumatic stress disorder. *Biological Psychiatry* 50 (4), 238-245.

Kasckow JW, Hagan M, Mulchahey JJ, Baker DG, Ekhtator NN, Strawn JR, Nicholson W, Orth DN, Loosen PT, Geraciotti TD (2001). The effect of feeding on cerebrospinal fluid corticotropin-releasing hormone levels in humans. *Brain Research* 904 (2), 218-224.

Kaye WH, Berrettini WH, Gwirtsman HE, Chretien M, Gold PW, George DT, Jimerson DC, Ebert MH (1987). Reduced cerebrospinal fluid levels of immunoreactive pro-opiomelanocortin related peptides (including beta-endorphin) in anorexia nervosa. *Life Sciences* 41 (18), 2147-2155.

Kellner M, Baker DG, Yehuda R (1997). Salivary cortisol and PTSD symptoms in Persian Gulf War combatants. *Annals of New York Academy of Sciences* 821, 442-443.

Kellner M, Yehuda R (1999). Do panic disorder and posttraumatic stress disorder share a common psychoneuroendocrinology?. *Psychoneuroendocrinology* 24 (5), 485-504.

Kellner M, Wiedemann K, Yassouridis A, Levengood R, Guo LS, Holsboer F, Yehuda R (2000). Behavioral and endocrine response to cholecystokinin tetrapeptide in patients with posttraumatic stress disorder. *Biological Psychiatry* 47 (2), 107-111.

- Kellner M, Otte C, Yassouridis A, Schick M, Jahn H, Wiedeman K (2004). Overnight metyrapone and combined dexamethasone/metyrapone tests in post-traumatic stress disorder: preliminary findings. *European Neuropsychopharmacology* 14 (4), 337-339.
- Kling MA, Roy A, Doran AR, Calabrese JR, Rubinow DR, Whitfield HJ Jr., May C, Post RM, Chrousos GP, Gold PW (1991). Cerebrospinal fluid immunoreactive corticotropin-releasing hormone and adrenocorticotropin secretion in Cushing's disease and major depression: potential clinical implications. *Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* 72 (2), 260-271.
- Kling MA, DeBellis, MD, O'Rourke DK, Listwak SJ, Geraciotti TD, McCutcheon IE, Kalogeras KT, Oldfield EH, Gold PW (1994). Diurnal variation of cerebrospinal fluid immunoreactive corticotropin-releasing hormone levels in healthy volunteers. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 79 (1), 233-239.
- Koob GF, Bloom FE (1985). Corticotropin-releasing factor and behavior. *Federation Proceedings* 44 (1 Pt 2), 259-263.
- Krahn DD, Gosnell BA, Grace M, Levine AS (1986). CRF antagonist partially reverses CRF- and stress-induced effects on feeding. *Brain Research Bulletin* 17 (3), 285-289.
- Krieger DT, Liotta A, Brownstein MS (1977). Presence of corticotropin in brain of normal and hypophysectomized rats. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 74 (2), 648-652.
- Krieger DT (1983). Brain peptides: What, where and why. *Science Magazine* 222 (4627), 975-985.
- Labhardt A (1988). *Clinical Endocrinology*. Springer Verlag Berlin-Heidelberg-New York.
- Larsen R (2010). *Anästhesie*. 9. Auflage, Urban & Fischer in Elsevier, München, S. 577-581, S. 586, S. 605.
- Lee TH, Lerner AB, Buettner-Janusch V (1959). Isolation and structure of human corticotropin (ACTH). *Journal of the American Chemical Society* 81, 6084.

- Lee TH, Lerner AB, Buettner-Janusch V (1960). Ciba Foundation colloquia on endocrinology, Vol. XIII, Little, Brown & Company, Boston, 251.
- Lee JL, Hempel J, TenHarmsel A, Liu T, Mathé AA, Klock A (2012). The neuroendocrinology of childhood trauma in personality disorder. *Psychoneuroendocrinology* 37 (1), 78–86.
- Leshner AI, Toivola PI, Terasau E (1978). Circadian variations in the plasma of female rhesus monkeys. *Journal of Endocrinology* 78 (1), 155-156.
- Li CH 1960. Adrenocorticotropins. XIX. Esterified adrenocorticotropin. *Journal of Biological Chemistry* 235, 1383-5.
- Liberzon I, Abelson JL, Flagel SB, Raz J, Young EA (1999). Neuroendocrine and psychophysiologic responses in PTSD: a symptom provocation study. *Neuropsychopharmacology* 21 (1), 40-50.
- Lieberman JA, Brenner R, Lesser M, Coccaro E, Borenstein M, Kane JM (1983). Dexamethasone suppression tests in patients with panic disorder. *The American Journal of Psychiatry* 140 (7), 917-919.
- Lisansky J, Peake GT, Strassmann RJ, Qualls C, Meikle AW, Risch SC, Fava GA, Zownir-Brazis M, Hochla P, Britton D (1989). Augmented pituitary corticotropin response to a threshold dosage of human corticotropin-releasing hormone in depressives pre-treated with metyrapone. *Archives of General Psychiatry* 46 (7), 641-649.
- Lundblad JR, Roberts JL (1988). Regulation of proopiomelanocortin gene expression in pituitary. *Endocrine Reviews* 9 (1), 135-158.
- Luttmann W, Bratke K, Küpper M, Myrtek D (2009). *Der Experimentator: Immunologie*. 3. Auflage, Spektrum Akademischer Verlag in Elsevier, München, S. 107-115.
- Lytras N, Grossman A, Perry L, Tomlin S, Wass JA, Coy DH, Schally AV, Rees LH, Besser GM (1984). Corticotrophin releasing factor: responses in normal subjects and patients with disorders of the hypothalamus and pituitary. *Clinical Endocrinology* 20 (1), 71-84.

Maes M, Lin A, Bonaccorso S (1998). Increased 24-hour urinary cortisol excretion in patients with post-traumatic stress disorder and patients with major depression, but not in patients with fibromyalgia. *Acta Psychiatrica Scandinavica* 98 (4), 328-35.

Mains RE, Eipper BA, Ling N (1977). Common precursor to corticotrophins and endorphins. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 74 (7), 3044-3048.

Mason JW, Giller EL., Kosten TR, Ostroff RB, Podd L (1986). Urinary free-cortisol levels in posttraumatic stress disorder patients. *Journal of Nervous and Mental Disease* 174 (3), 145-149.

May C, Rapoport SI, Tomai TP, Chrousos GP, Gold PW (1987). Cerebrospinal fluid concentrations of corticotropin-releasing hormone (CRH) and corticotropin (ACTH) are reduced in patients with Alzheimer's disease. *Neurology* 37 (3), 535-538.

McLoughlin L, Lowry PG, Ratter SJ, Hope J, Besser GM, Rees LH (1981). Characterisation of the pro-opioid family of peptides in human cerebrospinal fluid. *Neuroendocrinology* 32 (4), 209–212.

McMorris T, Swain J, Smith M, Corbett J, Delves S, Sale C, Harris RC, Potter J (2006). Heat stress, plasma concentrations of adrenaline, noradrenaline, 5-hydroxytryptamine and cortisol, mood state and cognitive performance. *International Journal of Psychophysiology: official journal of the International Organization of Psychophysiology* 61 (2), 204-215 .

Merchenthaler I (1984). Corticotropin releasing factor (CRF)-like immunoreactivity in the rat central nervous system. Extrahypothalamic distribution. *Peptides* 5 Suppl. 1, 53-69.

Millan MA, Samra AB, Wynn PC, Catt KJ, Aguilera G (1987). Receptors and actions of corticotropin-releasing hormone in the primate pituitary gland. *Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* 64 (5), 1036-1041.

Modell S, Yassouridis A, Huber J, Holsboer F (1997). Corticosteroid receptor function is decreased in depressed patients. *Neuroendocrinology* 65 (3), 216-222.

- Modell S, Lauer CJ, Schreiber W, Huber J, Krieg J-C, Holsboer F (1998). Hormonal response pattern in the combined DEX/CRH test is stable over time in subjects at high familial risk for affective disorders. *Neuropsychopharmacology* 18 (4), 253-262.
- Morley JE, Levine AS (1982). Corticotropin releasing factor, grooming and digestive behavior. *Life Sciences* 31 (14), 1459-1464.
- Muhtz C, Wester M, Yassouridis A, Wiedemann K, Kellner M (2008). A combined dexamethasone/corticotropin-releasing hormone test in patients with chronic PTSD--first preliminary results. *Psychiatry Research* 42 (8), 689-693. Epub 2007 Sep 19.
- Murphy KM, Travers P, Walport M (2008). *Janeway's Immunobiology*. 6.Auflage, Taylor & Francis Ltd, New York, USA.
- Nakao K, Oki S, Tanada I, Horii K, Nakai Y, Furui T, Fukushima M, Kuwayama A, Kageyama N, Imura H (1980). Immunoreactive beta-endorphin in human cerebrospinal fluid. *The Journal of Clinical Investigation* 66 (6), 1383-1390.
- Nelson DH (1972). Regulation of glucocorticoid release. *American Journal of Medicine* 53 (5), 590-594.
- Nemeroff CB, Widerlöv E, Bissette G, Walléus H, Karlsson I, Eklund K, Kilts CD, Loosen PT, Vale W (1984). Elevated concentrations of CSF corticotropin-releasing factor-like immunoreactivity in depressed patients. *Science Magazine*. 226 (4680), 1342-1344.
- Nemeroff CB, Owens MJ, Bissette G, Andorn AC, Stanley M (1988). Reduced corticotropin releasing factor binding sites in the frontal cortex of suicide victims. *Archives of General Psychiatry*. 45 (6), 577-579.
- Newport DJ, Heim C, Owens MJ, Ritchie JC, Ramsey CH, Bonsall R, Miller AH, Nemeroff CB (2003). Cerebrospinal fluid corticotropin-releasing factor (CRF) and vasopressin concentrations predict pituitary response in the CRF stimulation test: a multiple regression analysis. *Neuropsychopharmacology* 28 (3), 569-576.

Nieman LK, Oldfield EH, Wesley R, Chrousos GP, Loriaux DL, Cutler GB Jr. (1993). A simplified morning ovine corticotropin-releasing hormone stimulation test for the differential diagnosis of adrenocorticotropin-dependent Cushing's syndrome. *Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* 77 (5), 1308-1312.

Nieuwenhuijzen Kruseman AC, Linton EA, Lowry PJ, Rees LH, Besser GM (1982). Corticotropin-releasing factor immunoreactivity in human gastrointestinal tract. *Lancet* 2(8310), 1245-1246.

Nikisch G, Mathé AA, Czernik A, Thiele J, Bohner J, Eap CB, Agren H, Baumann P (2005). Long-term citalopram administration reduces responsiveness of HPA axis in patients with major depression: relationship with S-citalopram concentrations in plasma and cerebrospinal fluid (CSF) and clinical response. *Psychopharmacology (Berl)* 181 (4), 751-60. Epub 2005 Sep 29.

Nikisch G, Mathé AA (2008). CSF monoamine metabolites and neuropeptides in depressed patients before and after electroconvulsive therapy. *European Psychiatry* 23 (5), 356-359.

Olschowka JA, O'Donohue TL, Mueller GP, Jacobowitz DM (1982). The distribution of corticotropin-releasing factor-like immunoreactive neurons in the rat brain. *Peptides* 3 (6), 995–1015.

Orth DN, DeBold CR, DeCherney GS, Jackson RV, Alexander AN, Rivier J, Rivier C, Spiess J, Vale W (1982). Pituitary microadenomas causing Cushing's disease respond to corticotropin-releasing factor. *Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* 55 (5), 1017-1019.

Orth DN, Jackson RV, DeCherney GS, DeBold CR, Alexander AN, Island DP, Rivier J, Rivier C, Spiess J, Vale W (1983). Effect of synthetic ovine corticotropin-releasing factor. Dose response of plasma adrenocorticotropin and cortisol. *Journal of Clinical Investigation* 71 (3), 587-595.

Orwoll E, Kendall JW, Lamorena L, McGilvra R (1979). Adrenocorticotropin and melanocytstimulating hormone in the brain. *Endocrinology* 104 (6), 1845-1852.

Otsuka H, Tanaka K, Sakai N (1965). Influence of adrenocorticotropic hormone (ACTH) on the biosynthesis of corticosteroid in vitro. *The Journal of Biochemistry* Vol. 43, No.4, 445-452.

Owens MJ, Nemeroff CB (1991). Physiology and pharmacology of corticotropin-releasing factor. *Pharmacological Reviews* 43 (4), 425-473.

Palkovits M, Young WS, Kovács K, Tóth Z, Makara GB (1998). Alterations in corticotropin-releasing hormone gene expression of central amygdaloid neurons following long-term paraventricular lesions and adrenalectomy. *Neuroscience* 85 (1), 135–147.

Patthy M, Horvath J, Mason-Garcia M, Szoke B, Schlesinger DH, Schally AV (1985). Isolation and amino acid sequence of corticotropin-releasing factor from pig hypothalami. *Proceedings of the National Academy of the United States of America* 82 (24), 8762-8766.

Pecori Giraldi F, Cavagnini F (1998). Corticotropin-releasing hormone is produced by rat corticotropes and modulates ACTH secretion in a paracrine/autocrine fashion. *Journal of Clinical Investigation* 101 (11), 2478-2484.

Pitman RK, Orr SP (1990). Twenty-four hour urinary cortisol and catecholamine excretion in combat-related posttraumatic stress disorder. *Biological Psychiatry* 27 (2), 245-247.

Pomara N, Singh RR, Deptula D, Lewitt PA, Bissette G, Stanley M, Nemeroff CB (1989). CSF corticotropin-releasing factor (CRF) in Alzheimer's disease: its relationship to severity of dementia and monoamine metabolites. *Biological Psychiatry* 26 (5), 500-504.

Post RM, Gold P, Rubinow DR, Ballenger JC, Bunney WE Jr, Goodwin FK (1982). Peptides in the cerebrospinal fluid of neuropsychiatric patients: an approach to central nervous system peptide function. *Life Sciences* 31 (1), 1-15.

Rasmusson et al. 2001 Rasmusson AM, Lipschitz DX, Wand S, Hu S, Vojvoda D, Bremner JD (2001). Increased pituitary and adrenal axis reactivity in premenopausal women with posttraumatic stress disorder. *Biological Psychiatry* 50 (12), 965-977.

Reppert SM, Schwartz WJ, Artman HG, Fisher DA (1983). Comparison of the temporal profiles of vasopressin and oxytocin in the cerebrospinal fluid of the cat, monkey and rat. *Brain Research* 261 (2), 341-345.

Ribeiro SC, Tandon R, Grunhaus L, Greden JF (1993). The DST as a predictor of outcome in depression: a meta-analysis. *American Journal of Psychiatry* 150 (11), 1618-1629.

Rinne T, de Klooe ER, Wouters L (2002). Hyperresponsiveness of hypothalamic–pituitary–adrenal axis to combined dexamethasone/corticotropin-releasing hormone challenge in female borderline personality disorder subjects with a history of sustained childhood abuse. *Biological Psychiatry* 52 (11), 1102 -1112.

Rivier C, J. Rivier, W. Vale (1982). Inhibition of adrenocorticotrophic hormone secretion in the rat by immunoneutralization of corticotropin-releasing factor. *Science* 218 (4570), 377–379.

Rivier J, Spiess J, Vale W (1983). Characterization of rat hypothalamic corticotropin-releasing factor. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 80 (15), 4851-4855.

Rock JP, Oldfield E, Schulte HM, Gold PW, Kornblith PL, Loriaux L, Chrousos GP (1984). Corticotropin releasing factor administered into the ventricular CSF stimulates the pituitary–adrenal axis. *Brain Research* 323 (2), 365–368.

Romagnano MA, Joseph SA (1983). Immunocytochemical localization of ACTH1-39 in the brainstem of the rat. *Brain research* 276 (1), 1-16.

Rosenfeld RG, Lamson G, Pham H, Oh Y, Conover C, De Leon DD, Donovan SM, Ocrant I, Giudice L (1990). Insulinlike growth factor-binding proteins. *Recent Progress in Hormone Research* 46, 99-159; discussion 159-163.

Rubin RT, Poland RE, Lesser IM, Martin DJ, Blodgett AL, Winston RA (1987). Neuroendocrine aspects of primary endogenous depression. III. Cortisol secretion in relation to diagnosis and symptom patterns. *Psychological Medicine* 17 (3), 609-619.

Sachar EJ, Hellman L, Fukushima DK, Gallagher TF (1970). Cortisol production in depressive illness: A clinical and biochemical clarification. *Archives of General Psychiatry* 23 (4), 289-298.

Saffran M, Grad B, Bayliss MJ (1952). Production of corticoids by rat adrenals in vitro. *Endocrinology* 50 (6), 639-643.



Saffran M, Bayliss MJ (1953). In vitro bioassay of corticotrophin. *Endocrinology* 52 (2), 140-148.

Saffran M, Schally AV (1955). The release of corticotropin by anterior pituitary tissue in vitro. The release of corticotrophin by anterior pituitary tissue in vitro. *Canadian Journal of Biochemistry and Physiology* 33 (3), 408-415.

Sasaki A, Sato S, Murakami O, Go M, Inoue M, Shimizu Y, Hanew K, Andoh N, Sato I, Sasano N, Yoshinaga K (1987). Immunoreactive corticotropin-releasing hormone present in human plasma may be derived from both hypothalamic and extrahypothalamic sources. *Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* 65 (1), 176-182.

Sawchenko PE, Swanson LW, Vale WW (1984). Corticotropin-releasing factor: co-expression within distinct subsets of oxytocin-, vasopressin-, and neurotensin-immunoreactive neurons in the hypothalamus of the male rat. *The Journal of Neuroscience* 4 (4), 1118-1129.

Schneyer AL, Mason AJ, Burton LE, Ziegner JR, Crowley WF (1990). Immunoreactive inhibin alpha subunit in human serum: Implications for RIA. *Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* 70 (4), 1208-1212.

Schöneshöfer M, Fenner A, Molnar I (1981). Heterogeneity of corticotropin-immunoreactive compounds in human body fluids. *Clinical Chemistry* 27 (11), 1875-1877.

Schulte HM, Chrousos GP, Gold PW, Oldfield EH, Phillips JM, Munson JP, Cutler GB, Loriaux DL (1982). The effects of corticotropin releasing factor on the anterior pituitary function of stalk-sectioned cynomolgus macaques: dose response of cortisol secretion. *Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* 55 (4), 810-812.

Schwartzberg DG, Nakane PK (1983). ACTH-related peptide containing neurons within the medulla oblongata of the rat. *Brain Research* 276 (2), 351-356.

Scott LV, Dinan TG (1998). Vasopressin and the regulation of hypothalamic-pituitary-adrenal axis function: implications for the pathophysiology of depression. *Life Sciences* 62 (22), 1985-1998.

Selye H (1936). A syndrome produced by diverse nocuous agents. 1936. *The Journal of Neuropsychiatry and Clinical Neurosciences* 10 (2), 230-231.

Shibahara S, Morimoto Y, Furutani Y, Notake M, Takahashi H, Shimizu S, Horikawa S, Numa S (1983). Isolation and sequence analysis of the human corticotropin-releasing factor precursor gene. *The EMBO Journal* 2 (5), 775-779.

Shimonaka M, Inouye S, Shimasaki S, Ling N (1991). Follistatin binds to both activin and inhibin through the common beta-subunit. *Endocrinology* 128 (6), 3313-3315.

Simpson ER, Waterman MR (1988). Regulation of the synthesis of steroidogenic enzymes in adrenal cortical cells by ACTH. *Annual Review of Physiology* 50, 427-440.

Sirinathsingji DJ, Rees LH, Rivier J, Vale W (1983). Corticotropin-releasing factor is a potent inhibitor of sexual receptivity in the female rat. *Nature* 305 (5931), 232-235.

Sirinathsingji DJ (1987). Inhibitory influence of corticotropin releasing factor on components of sexual behaviour in the male rat. *Brain Research* 407 (1), 185-190.

Skutella T, Criswell H, Moy S, Probst JC, Breese GR, Jirikowski GF, Holsboer F (1994). Corticotropin-releasing hormone (CRH) antisense oligodeoxynucleotide induces anxiolytic effects in rat. *Neuroreport* 5 (16), 2181-2185.

Smith MA, Davidson J, Ritchie JC, Kudler H, Lipper S, Chappell P, Nemeroff CB (1989). The corticotropin-releasing hormone test in patients with posttraumatic stress disorder. *Biological Psychiatry* 26 (4), 349-355.

Song C, Kelly JP, Leonard BE (1994). The effect of stressful behavioural exposure on endocrine and immune parameters in the rat. *Stress Medicine* Vol.10, Issue 4, 239-245.

Stalla GK, Hartwimmer J, Schopohl J, von Werder K, Müller AO (1986). Intravenous application of ovine and human corticotropin releasing factor (CRF): ACTH, cortisol and CRF levels. *Neuroendocrinology* 42 (1), 1-5.

- Stenzel-Poore MP, Heinrichs SC, Rivest S, Koob GF, Vale WW (1994). Overproduction of corticotropin-releasing factor in transgenic mice: a genetic model of anxiogenic behavior. *The Journal of Neuroscience: the official Journal of the Society for Neuroscience* 14 (5 Pt 1), 2579-2684.
- Stokes PE, Sikes CR (1987). Hypothalamic-pituitary-adrenal axis in affective disorders. In: *Psychopharmacology: The third generation of progress*. Meltzer H (Hrsg.) Raven Press, New York, 589-607.
- Stone D, Hechter O (1954). Studies on ACTH action in perfused bovine adrenals: the site of action of ACTH in corticosteroidogenesis. *Archives of Biochemistry and Biophysics* 51 (2), 457-469.
- Suda T, Tomori N, Tozawa F, Mouri T, Demura H, Shizume K (1984). Distribution and characterization of immunoreactive corticotropin-releasing factor in human tissues. *Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* 59 (5), 861-866.
- Suemaru S, Suemaru K, Hashimoto K, Ogasa T, Hirasawa R, Makino S, Kageyama J (1993). Cerebrospinal fluid corticotropin-releasing hormone and ACTH, and peripherally circulating choline-containing phospholipid in senile dementia. *Life Sciences* 53 (9), 697-706.
- Sugino H, Sugino K, Nakamura T, Takio K, Kogawa K, Titani K (1991). Molecular multiplicity of activin-binding protein/follistatin from the porcine ovary. Program of the 73<sup>rd</sup> Meeting of The Endocrine Society, Washington, DC, The Endocrine Society Abstracts No.1510, 408.
- Sutton RE, Koob GF, Le Moal M, Rivier J, Vale W (1982). Corticotropin releasing factor produces behavioural activation in rats. *Nature* 297 (5864), 331-333.
- Swanson LW, Sawchenko PE, Rivier J, Vale WW (1983). Organization of ovine corticotropin-releasing factor immunoreactive cells and fibers in the rat brains: an immunohistochemical study. *Neuroendocrinology* 36 (3), 165-186.
- Swerdlow NR, Britton KT, Koob KF (1989). Potentiation of acoustic startle by corticotropin-releasing factor (CRF) and by fear are both reversed by  $\alpha$ -helical CRf (9-41). *Neuropsychopharmacology* 36 (3), 165-186.

- Taché Y, Goto Y, Gunion MW, Vale W, Rivier J, Brown M (1993). Inhibition of gastric acid secretion in rats by intracerebral injection of corticotropin-releasing factor. *Science* 222 (4626), 935-937.
- Thompson RC, Seasholtz AF, Douglass JO, Herbert E. (1987). The rat corticotropin-releasing hormone gene. *Annals of the New York Academy of Sciences* 512, 1-11.
- Trampisch HJ, J. Windeler (1997). *Medizinische Statistik*. 2.Auflage, Springer Verlag, Berlin, Heidelberg.
- Vale W, Spiess J, Rivier C, Rivier J. (1981). Characterization of a 41-residue ovine hypothalamic peptide that stimulates secretion of corticotropin and beta-endorphin. *Science Magazine* 213 (4514), 1394-1397.
- Vale W, Vaughan J, Smith M, Yamamoto G, Rivier J, Rivier C (1983). Effects of synthetic ovine corticotropin-releasing factor, glucocorticoids catecholamines, neurohypophysial peptides, and other substances on cultured corticotropic cells. *Endocrinology* 113 (3), 1121-113.
- Valentino RJ, Foote SL, Aston-Jones G (1983). Corticotropin-releasing factor activates noradrenergic neurons of the locus coeruleus. *Brain Research* 270 (2), 363-367.
- van Dijk AM, van Wimersma Greidanus TB, Burbach JP, de Kloet ER, de Wied D (1981). Brain adrenocorticotrophin after adrenalectomy and sham-operation of rats. *Journal of Endocrinology* 88 (2), 243-253.
- Vesalius A (1543). *De Humani Corporis Fabrica Libri Septem*. School of Medicine, Padua, Italien.
- Vigh S, Merchenthaler I, Torres-Almeán I, Sueras-Diaz J, Coy DH, Carter WH, Petrusz P, Schally AV (1982). Corticotropin releasing factor (CRF): Immunocytochemical localization and radioimmunoassay (RIA). *Life Sciences* 31 (22), 2441-2448.
- Vollmar A, Zündorf I, Dingermann T (2005). *Immunologie: Grundlagen und Wirkstoffe*. 1.Auflage, Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft GmbH, Stuttgart.

von Bardeleben U, Stalla GK, Müller OA, Holsboer F (1988). Blunting of ACTH response to human CRH in depressed patients is avoided by metyrapone pretreatment. *Biological Psychiatry* 24 (7), 782-786.

Vythilingam M, Anderson GM, Owens MJ, Halaszynski TM, Bremner JD, Carpenter LL, Henninger GR, Nemeroff DB, Charney DS (2000). Cerebrospinal fluid corticotropin-releasing hormone in healthy humans: effects of yohimbine and naloxone. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 85 (11), 4138–4145.

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

Waterman MR, Simpson ER (1990). Sterogenic capacity in the adrenal cortex and its regulation. *Progress in Drug Research* 34, 359-381.

Watson S, Gallagher P, Smith MS, Ferrier IN, Young AH (2006). The dex/CRH test—Is it better than the DST?. *Psychoneuroendocrinology* 31 (7), 889-894. Epub 2006 May 15.

Watson SJ, Richard CW, Barchas JD (1978). Adrenocorticotropin in rat brain: immunocytochemical localization in cells and axons. *Science* 200, 1180-1182.

Weiße C (2013). *Basiswissen Medizinische Statistik* 6. Auflage, Springer, Berlin-Geidelberg.

Whybrow PC, Hurwitz T (1976). Psychological disturbances associated with endocrine disease and hormone therapy. In: *Hormones, behavior, and psychopathology*. Sachar EJ (Hrsg.) Raven Press, New York, 125-143.

Wilkinson CW, Peskind ER, Raskind MA (1997). Decreased hypothalamic-pituitary-adrenal axis sensitivity to cortisol feedback inhibition in human aging. *Neuroendocrinology* 65 (1), 79–90.

Won JG, Orth DN (1990). Roles of intracellular and extracellular calcium in the kinetic profile of adrenocorticotropin secretion by perfused rat anterior pituitary cells. I. Corticotropin-releasing factor stimulation. *Endocrinology* 126 (2), 849-857.

Yanovski JA, Cutler GB jr., Chrousos GP, Nieman LK (1993). Corticotropin-releasing hormone stimulation following low-dose dexamethasone administration. A new test to distinguish Cushing's syndrome from pseudo-Cushing's states. *Journal of the American Medical Association* 269 (17), 2232-2238.

Yanovski JA, Cutler GB, Chrousos GP, Nieman LK (1998). The dexamethasone-suppressed corticotropin-releasing hormone stimulation test differentiates mild Cushing's disease from normal physiology. *Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* 83 (2), 348-352.

Yehuda R, Southwick SM, Nussbaum G, Wahby V, Giller EL Jr., Mason JW (1990). Low urinary cortisol excretion in patients with posttraumatic stress disorder. *Journal of Nervous and Mental Disease* 178 (6), 366-369.

Yehuda R, Lowy MT, Southwick SM, Shaffer D, Giller EL Jr. (1991). Lymphocyte glucocorticoid receptor number in posttraumatic stress disorder. *American Journal of Psychiatry* 148 (4), 499-504.

Yehuda R, Southwick SM, Krystal JH, Bremner D, Charney DS, Mason JW (1993). Enhanced suppression of cortisol following dexamethasone administration in posttraumatic stress disorder. *American Journal of Psychiatry* 150 (1), 83-86.

Yehuda R, Teicher MH, Levengood RA, Trestman RL, Siever LJ (1994). Circadian regulation of basal cortisol levels in posttraumatic stress disorder. *Annals of the New York Academy of Sciences* 746, 378-380.

Yehuda R, Boisoneau D, Lowy MT, Giller EL Jr. (1995). Dose-response changes in plasma cortisol and lymphocyte glucocorticoid receptors following dexamethasone administration in combat veterans with and without PTSD. *Archives of General Psychiatry* 52 (7), 583-593.

Yehuda R, Levengood RA, Schmeidler J, Wilson S, Guo LS, Gerber D (1996). Increased pituitary activation following metyrapone administration in posttraumatic stress disorder. *Psychoneuroendocrinology* 21 (1), 1-16.

Ying SY (1988). Inhibins, activins, and follistatins: Gonadal proteins modulating the secretion of follicle-stimulating hormone. *Endocrine Reviews* 9 (2), 267-293.

Young EA, Tolman R, Witkowski K, Kaplan G (2004). Salivary cortisol and posttraumatic stress disorder in a low-income community sample of women. *Biological Psychiatry* 55 (6), 621-626.

## **8. Danksagung**

Mein besonderer Dank gilt Herrn Prof. Dr.med. M. Kellner für die freundliche Überlassung des Themas, die konstruktive und hilfreiche Zusammenarbeit und Betreuung und die stetige Erreichbarkeit.

Außerdem danke ich Herrn Prof. Dr.med. K. Wiedemann für die Aufnahme in das ihm unterstehende Neurobiologische Labor, sowie den medizinisch-technischen Assistentinnen dieses Labors, namentlich Frau I. Remlinger-Marten und Frau K. Huwald, für die kompetente Zusammenarbeit.

Weiterhin danke ich Dr.rer.nat. Alexander Yassouridis aus dem Max-Planck Institut für Psychiatrie in München für die äußerst kompetente und freundliche Kooperation in den statischen Auswertungen und Prof. Dr. med. G.K. Stalla und seinem Labor des Max-Planck-Instituts für Psychiatrie in München für die freundliche Zusammenarbeit.

Ein großer Dank gilt auch den Probanden dieser Studie.

Von ganzem Herzen danke ich meiner geliebten Familie, meinen Eltern Hanna und Marek, meiner großen Schwester Edith, und meinen wundervollen Nichten Lisa-Marie, Miryam und Olivia Lilli Urbanowicz, auf die ich sehr stolz bin.

Ebenfalls danke ich auch all meinen Freunden, vor allem meinen alten Schulfreundinnen Anna, Amber, Jacqueline, Nina und Van-Anh und allen meinen Freunden, die ich im Medizinstudium kennenlernen durfte.

Ganz besonders und von ganzem Herzen danke ich den ebenfalls angehenden Doctores Medicinae Christopher Blüggel, Mustafa Pamirsad und Sasan Maximilian Towhidi, die ich sehr schätze und tief ins liebende Herz geschlossen habe.



## **9. Lebenslauf**

Persönliche Daten werden nicht veröffentlicht.

Hamburg, den 29.12.2014

Tatiana Theresa Urbanowicz

## **10. Eidesstaatliche Versicherung**

Ich versichere ausdrücklich, dass ich die Arbeit selbständig und ohne fremde Hilfe verfasst, andere als die von mir angegebenen Quellen und Hilfsmittel nicht benutzt und die aus den benutzten Werken wörtlich oder inhaltlich entnommenen Stellen einzeln nach Ausgabe (Auflage und Jahr des Erscheinens), Band und Seite des benutzten Werkes kenntlich gemacht habe.

Ferner versichere ich, dass ich die Dissertation bisher nicht einem Fachvertreter an einer anderen Hochschule zur Überprüfung vorgelegt oder mich anderweitig um Zulassung zur Promotion beworben habe.

Ich erkläre mich einverstanden, dass meine Dissertation vom Dekanat der Medizinischen Fakultät mit einer gängigen Software zur Erkennung von Plagiaten überprüft werden kann.

Unterschrift: .....