

Aus der Klinik für Psychiatrie und Psychotherapie

Direktor: Prof. Dr. med. Tilo Kircher

des Fachbereichs Medizin der Philipps-Universität Marburg

in Zusammenarbeit mit dem Universitätsklinikum

Gießen und Marburg GmbH

Standort Marburg

**Immunoendokrinologie bei Stress – Interaktion von
Cortisol und Makrophagen Migrationsinhibierendem
Faktor (MIF) bei akutem und chronischem Stress im
Menschen**

Inaugural-Dissertation zur Erlangung des Doktorgrades

der gesamten Humanmedizin

dem Fachbereich Medizin der Philipps-Universität Marburg



vorgelegt von

Ariane Kvint geb. Weber aus Tübingen

Marburg, 2009

Angenommen vom Fachbereich Medizin der Philipps-Universität
Marburg am: 19.11.2009

Gedruckt mit Genehmigung des Fachbereichs.

Dekan: Prof. Dr. M. Rothmund

Referent: Prof. Dr. H. Vedder

1. Korreferent: Prof. Dr. P. Kann

2. Korreferent: Prof. Dr. A. Steinmetz

Inhaltsverzeichnis

	Seite
1 Einleitung	5
1.1 Immunoendokrinologie bei Stress – die Wechselwirkungen von Hormonen und Zytokinen	5
1.2 Cortisol	7
1.2.1 Stress und Cortisol	10
1.3 Makrophagen Migrationsinhibierender Faktor (MIF)	12
1.3.1 MIF im Immunsystem	12
1.3.2 MIF und Glukokortikoide/Stress	15
1.3.3 Weitere Eigenschaften von MIF	17
1.4 Depression	19
1.4.1 Einführung und Symptomatik	19
1.4.2 Epidemiologie	21
1.4.3 Ätiopathogenese	22
1.4.4 Therapie	23
1.4.5 Neuroimmunoendokrinologische Störungen bei Depression	23
1.5 Zielsetzung	28
2 Materialien und Methoden	30
2.1 Studie zum akuten Stress bei Gesunden – „Plunge-Test-Studie“ (nach Zimmer, C., 2000)	30
2.1.1 Probanden	30
2.1.2 Plunge-Test	31
2.1.3 Versuchsbedingungen - „Treatments“	32
2.1.4 Ablauf der Untersuchung	33
2.1.5 ELISA-Technik („Enzyme-linked Immunosorbent Assay“)	36
2.1.6 Statistische Auswertung	38
2.2 Chronisches Stress-Paradigma bei depressiven Patienten	39
2.2.1 Probanden	39
2.2.2 Ablauf der Untersuchung	40
2.2.3 ELISA-Technik	42
2.2.4 Statistische Auswertung	44

3	Ergebnisse	45
3.1	Studie zum akuten Stress – „Plunge-Test-Studie“	45
3.1.1	Cortisol im Verlauf	46
3.1.2	MIF im Verlauf	48
3.1.3	Cortisol- und MIF-Verlauf bei „low-“ und „high-cortisol-respondern“	52
3.1.4	MIF und Cortisol im Verlauf bei „low“- und „high-MIF-secretors“	54
3.1.5	MIF und Cortisol im Verlauf bei „low-“ und „high-cortisol-secretors“	59
3.1.6	Korrelation zwischen Cortisol-Reaktion und MIF-Baseline	61
3.1.7	Korrelation zwischen Cortisol-Baseline-Abfall und MIF-Baseline-Konzentration	63
3.2	Chronisches Stress-Paradigma bei depressiven Patienten	64
3.2.1	Studienteilnehmer	64
3.2.2	Psychopathometrie	65
3.2.3	Cortisol im Verlauf	67
3.2.4	MIF im Verlauf	71
3.2.5	Dichotomisierung nach Serum-MIF	75
3.2.6	Dichotomisierung nach Speichel-MIF	87
3.2.7	Dichotomisierung nach Serum-Cortisol	90
3.2.8	Dichotomisierung nach Speichel-Cortisol	92
4	Diskussion	93
4.1	MIF und Cortisol im akuten Stress	93
4.1.1	Cortisol im Verlauf	93
4.1.2	MIF im Verlauf	93
4.1.3	MIF und Cortisol	95
4.1.4	Männer und Frauen	97
4.2	MIF und Cortisol bei chronischem Stress	100
4.2.1	Cortisol im Verlauf	100
4.2.2	MIF im Verlauf	104
4.2.3	MIF und Cortisol	106
4.3	Zusammenführung	107
4.4	Stellungnahme zu den Hypothesen	109
5	Zusammenfassung	111
6	Literaturverzeichnis	113
7	Anhang	129
7.1	Abkürzungen	129
7.2	Danksagung	132
7.3	Verzeichnis akademischer Lehrer	133

1 Einleitung

1.1 Immunoendokrinologie bei Stress – die Wechselwirkungen von Hormonen und Zytokinen

Bei Stress kann man zwischen akutem Stress und chronischem, längerfristigem kontinuierlichem Stress unterscheiden. Akuter Stress tritt plötzlich auf und ist nach kurzer Zeit (Minuten, Stunden) wieder vorüber, während chronischer Stress über längere Zeit besteht (unter Umständen über Jahre) und durch die ständige Aktivierung körperlicher Systeme zu teilweise irreversiblen körperlichen Schäden führen kann (z.B. Herz-Kreislauf Erkrankungen).

Durch Stress werden im Körper eine Reihe physiologischer Reaktionen in Gang gesetzt. Die wichtigste Rolle auf neuroendokriner Ebene spielt hier die Hypothalamus-Hypophysen-Nebennierenrinden-Achse (HHNA), auch Stressachse genannt.

Auf einen Stressreiz wird im Hypothalamus vermehrt „Corticotropin-Releasing-Hormone“ (CRH) sezerniert, was in der Hypophyse zu einer gesteigerten Freisetzung von Adrenocorticotropem Hormon (ACTH) führt. Dies wiederum erhöht die Sezernierung von Cortisol in der Nebennierenrinde (Klinke et al. (Hrsg.) 1994).

Auch das Immunsystem reagiert auf Stress. In einer Reihe von Versuchen mit Ratten, bei denen die zellvermittelte Immunantwort vom verzögerten Typ an der Haut unter verschiedenen Bedingungen untersucht wurde, zeigte sich bei Tieren, die akutem Stress ausgesetzt waren, eine verstärkte Reaktion im Vergleich zu Kontrolltieren. Chronisch gestresste Tiere reagierten hingegen schwächer als die nicht gestressten Kontrollen. Akuter Stress führt demnach zu einer Aktivierung des Immunsystems, während die Immunfunktion bei chronischem Stress unterdrückt ist (Dhabhar and McEwen 1997; McEwen 2000). Hauptverantwortlich für die Verstärkung der Immunantwort bei akutem Stress sind die Hormone der Nebennierenrinde, insbesondere die Glukokortikoide (Dhabhar and McEwen 1999).

Zytokine wirken als Mediatoren zwischen neuroendokrinem System und Immunsystem (Abbildung 1).

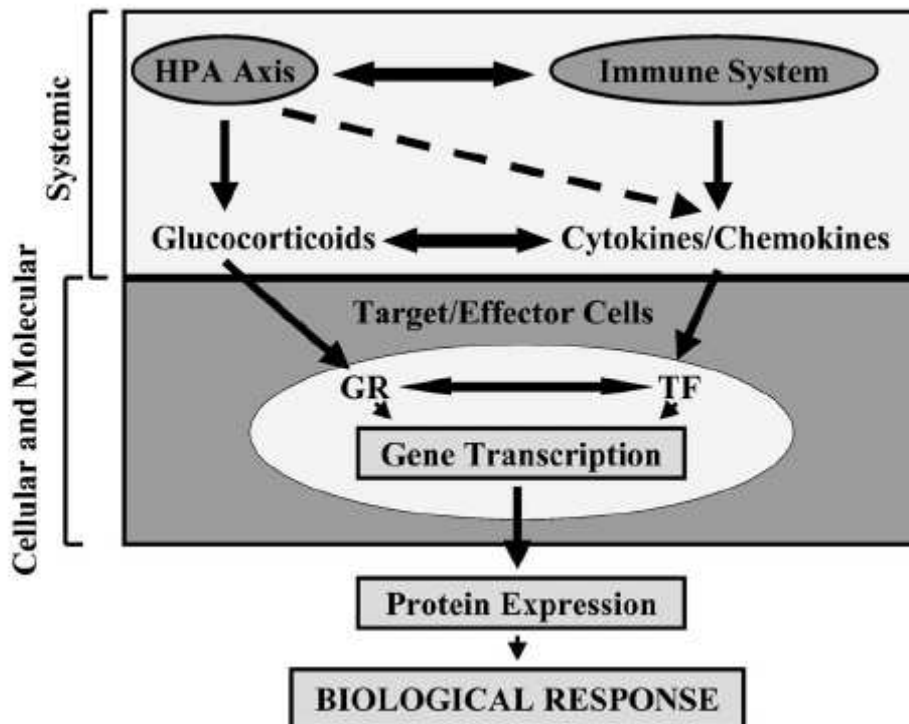


Abbildung 1: Systemische und zelluläre/molekulare Interaktion zwischen HHNA („HPA Axis“) und Immunsystem bei der Regulation der Glukokortikoid- und Zytokinsekretion und Gen-Expression [GR – Glukokortikoid Rezeptor; TF – Transkriptions-Faktor] (nach Haddad et al. 2002).

Zytokine sind große lösliche Polypeptide, die Wachstum, Differenzierung und Funktion von vielen verschiedenen Zellarten regulieren. Klassischerweise werden die Zytokine mit der Regulierung von Immun- und Entzündungsprozessen assoziiert. Man findet die Zytokine und ihre Rezeptoren aber nicht nur in Zellen des Immunsystems, sondern auch in zahlreichen anderen Geweben, so auch in endokrinen Drüsen und im Gehirn. Außerdem wirken viele Zytokine auch bei einer Vielzahl von physiologischen Reaktionen außerhalb der Immunregulation mit, wie zu Beispiel bei Fieber, Schlaf, Appetitlosigkeit (Anorexie), Unwohlsein und Veränderung der neuroendokrinen Sekretion (Turnbull und Rivier 1999).

Durch Zytokine wie IL-6 (Interleukin-6) und TNF- α (Tumornekrosefaktor-alpha), die beispielsweise bei einer Entzündung als sogenannte „Akutphaseproteine“ vermehrt freigesetzt werden, wird im Hypothalamus die CRH-Freisetzung angeregt, also die HHNA aktiviert, was zu einem Anstieg der Glukokortikoide führt (Angeli et al. 1999; Chikanza et al. 2000). Glukokortikoide inhibieren ihrerseits wiederum die Produktion

von proinflammatorischen Zytokinen. So entsteht quasi ein immun-neuroendokriner regulatorischer feed-back-Mechanismus.

Von Känel et al. fanden bei gesunden männlichen Probanden nach akutem mentalem Stress neben einem Anstieg der Cortisol-Konzentration auch eine Erhöhung von IL-6 (von Känel et al. 2006). Dabei stieg die IL-6-Konzentration nach Stress verzögert an und es zeigte sich auch nach dreimaliger Wiederholung des Stressors keine Adaptation der IL-6-Reaktion im Vergleich zur Abschwächung des Cortisol-Anstiegs zum dritten Zeitpunkt (von Känel et al. 2006).

Der Makrophagen Migrationsinhibierende Faktor („Macrophage migration inhibitory factor“, MIF) wurde als eines der ersten Zytokine entdeckt (Bloom and Bennett 1966; David 1966). Spätere Untersuchungen erbrachten die interessante Beobachtung, dass MIF auch in der Adenohypophyse lokalisiert ist, dort durch CRH induziert wird (Nishino et al. 1995) und selbst durch sehr niedrige Cortisol-Konzentrationen vermehrt ausgeschüttet werden kann (Calandra et al. 1995).

Dieser offensichtliche Zusammenhang zwischen Immunsystem (MIF) einerseits und Hormonsystem (Cortisol) andererseits ist in vivo noch kaum untersucht, so dass im Rahmen dieser Arbeit erstmals die Interaktion von MIF und Cortisol bei akutem und chronischem Stress im Menschen untersucht werden sollte.

In der vorliegenden Arbeit wurde der sogenannte Plunge-Test als akuter Stressor bei gesunden Probanden eingesetzt. Bei Patienten mit einer depressiven Erkrankung findet man in der Regel einen erhöhten Cortisolspiegel, was auf eine Aktivierung der HHNA schließen lässt. Daher wurde die depressive Erkrankung als Modell für einen chronischen Stressor verwendet.

1.2 Cortisol

Cortisol ist ein Glukokortikoid, das in der Zona fasciculata der Nebennierenrinde aus Cholesterin synthetisiert wird. Die Sezernierung folgt einem deutlichen Tag-Nacht-Rhythmus mit einem Maximum in den frühen Morgenstunden und einer Abnahme der Konzentration über den Tag. Im Plasma ist das Cortisol zu über 90% an

Transportproteine gebunden – vor allem an Cortisolbindendes Globulin CBG oder Albumin – wobei jedoch nur die ungebundene Fraktion biologisch aktiv ist. Im Speichel findet man dagegen nur freies Cortisol, weshalb die gemessenen Konzentrationen hier deutlich niedriger liegen als im Blut. Die Cortisol-Konzentrationen in Speichel und Blut korrelieren sowohl bezüglich der Basalwerte als auch nach Stress und in dynamischen Tests positiv miteinander (Reid et al. 1992; Baghai et al. 2002; Galard et al. 2002). Nach Aktivierung der HHNA ist hierbei ein stärkerer Anstieg des Speichel-Cortisols zu beobachten (Aardal-Eriksson et al. 1998). Bezüglich der basalen Cortisol-Konzentration findet man eine non-lineare Korrelation, d.h. bei höheren Serum-Konzentrationen ist die Korrelation zum Speichel-Cortisol weniger stark (Aardal and Holm 1995).

Betrachtet man die basale Cortisol-Sekretion im Verhältnis zum Lebensalter, so kann man bei älteren Menschen insgesamt höhere Cortisol-Konzentrationen finden als bei Jüngeren. Frauen weisen im Mittel ebenfalls höhere Cortisol-Werte auf als Männer (Halbreich et al. 1984; Heuser et al. 1994).

Im folgenden sind die jeweiligen Normwerte für Serum und Speichel aufgeführt.

Tabelle 1: Konzentrationen von Cortisol in Serum und Speichel (nach DRG Instruments – Cortisol-ELISA-Beschreibung).

Tageszeit	Konzentration im Serum	Konzentration im Speichel
8:00-10:00 h	50-230 ng/ml \cong 138-635 nmol/l	4-10 ng/ml \cong 11-28 nmol/l
16:00 h	30-150 ng/ml \cong 82,8-414 nmol/l	0,7-1,5 ng/ml \cong 2-4 nmol/l

Die Sezernierung von Cortisol wird über einen Regelkreis gesteuert. Physische oder psychische Stressoren bewirken eine Freisetzung von CRH im Hypothalamus, was wiederum in der Adenohypophyse eine vermehrte Ausschüttung von ACTH induziert. Durch ACTH wird in der Zona fasciculata der Nebennierenrinde die Cortisolfreisetzung angeregt. Ein erhöhter Cortisolspiegel hemmt rückwirkend die CRH- und ACTH-Freisetzung, wodurch ein hormonelles Gleichgewicht erreicht wird.

An der Zielzelle wird Cortisol über Bindung an intrazelluläre Rezeptoren (Glukokortikoidrezeptor GR, Mineralokortikoidrezeptor MR), Transport ins

Karyoplasma und dortige Transkription der mRNA (messenger-Ribonukleinsäure) - Synthese aktiv.

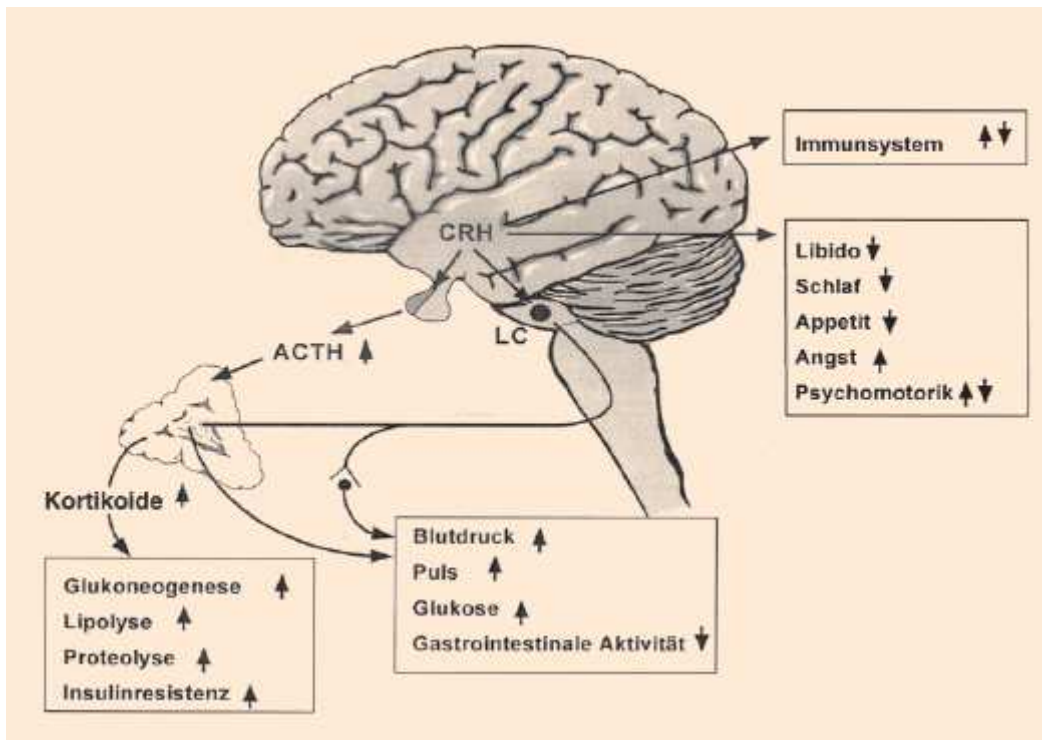


Abbildung 2: Übersicht über den Cortisol-Regelkreis (HHNA) und die Wirkungen von Glukokortikoiden und CRH [LC – locus coeruleus] (nach Holsboer 1999, modifiziert von Ströhle 2003)

Nachfolgend sind einige der vielfältigen biologische Effekte/Wirkungen des Cortisols aufgeführt:

- Stimulation der Glukoneogenese, Erhöhung des Blutzuckerspiegels
- vermehrter Abbau von Proteinen, katabole Wirkung auf den Proteinstoffwechsel
- Stimulation der Lipolyse, Hemmung der Lipogenese
- mineralokortikoide Wirkung auf den Elektrolythaushalt
- Hemmung von Immunprozessen und Entzündungsreaktionen
- Vermehrung von Erythrozyten und Thrombozyten
- Potenzierung der Empfindlichkeit von Adrenorezeptoren gegenüber Katecholaminen und anderen vasokonstriktorisches Substanzen
- Effekte im zentralen Nervensystem (ZNS), z.B. gesteigerte Wahrnehmung von Reizen (akustisch, taktil, olfaktorisch etc.)

1.2.1 Stress und Cortisol

Bei akutem physischem und psychischem Stress steigt die Cortisolkonzentration über die Aktivierung der HHNA an. Ein Sekretionsgipfel von Cortisol ist ca. 20 min. nach dem stimulierenden Reiz zu beobachten (Klinke et al. (Hrsg.) 1994). Hierbei zeigen sich individuelle Unterschiede bezüglich der Stärke der HHNA-Aktivierung auf einen Stressor. Unabhängig vom subjektiven Schmerz- bzw. Stressempfinden kann man „high responders“ und „low responders“ bezüglich der Cortisolantwort auf einen Stressor unterscheiden (Berger et al. 1987; van Eck et al. 1996a+b; Singh et al. 1999; Abbildung 3).

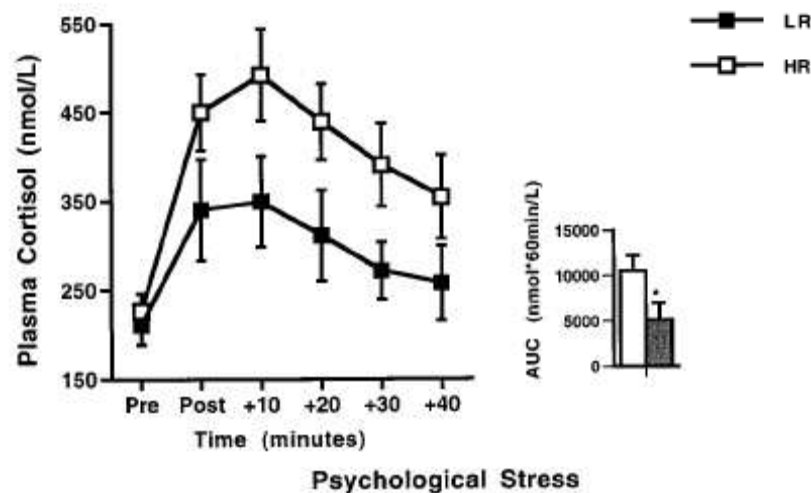


Abbildung 3: Plasma-Cortisol-Konzentration unter psychologischen Stress bei „high responders“ HR und „low responders“ LR [AUC - „area under the curve“] (nach Singh et al. 1999).

„High responders“ zeigen einen deutlichen Anstieg der Cortisol- und ACTH-Konzentration nach Stress, während bei „low responders“ diese Reaktion viel schwächer bis fast gar nicht zu beobachten ist (Singh et al. 1999). Auch findet man bei „high responders“ nach mehrmaliger Konfrontation mit einem Stressor (z.B. an aufeinanderfolgenden Tagen) keine Abschwächung der Cortisol- und ACTH-Reaktion im Sinne einer Anpassung, wie es bei „low responders“ der Fall ist (Kirschbaum et al. 1995; Gerra et al. 2001).

Klinische Bedeutung gewinnt die Unterscheidung von „high“ und „low responders“ durch die Beobachtung, dass Männer mit hoher Cortisol-Reaktion auf Stress höhere

Cholesterinwerte (LDL-Cholesterin, Gesamtcholesterin/HDL-Cholesterin-Ratio, Gesamtcholesterin tendenziell) und tendenziell niedrigere HDL-Cholesterin-Konzentrationen, außerdem eine erhöhte psychische Aktivität unter Stress aufweisen als „low responders“ (Roy et al. 2001). Die Höhe der Cortisol-Reaktion auf Stress ist demnach mit einem erhöhten metabolischen Risiko assoziiert.

Eine frühere Untersuchung an älteren Frauen zeigt, dass Frauen mit hoher kardialer sympathischer Reaktivität höhere Stress-bedingte Veränderungen der ACTH- und Cortisol-Konzentrationen im Plasma zeigen (Cacioppo et al. 1995).

Insgesamt fällt auf, dass Männer eine stärkere Cortisolreaktion auf Stress zeigen als Frauen (1,5-2fach stärkerer Anstieg des freien Cortisols bei psychischem Stress) (Kirschbaum et al. 1992).

Berücksichtigt man bei den Frauen den jeweiligen hormonellen Status bezüglich des Menstruationszyklusses bzw. der Einnahme hormoneller Kontrazeptiva, so findet man bei Messung des freien Cortisols im Speichel nach psychologischem Stress bei Frauen in der Lutealphase eine gleichstarke Reaktion wie bei Männern. Frauen in der Follikelphase zeigen jedoch wie Frauen, die hormonelle Kontrazeptiva einnehmen, eine deutlich schwächere Cortisol-Reaktion (Kirschbaum et al. 1999). Es zeigte sich in dieser Untersuchung außerdem bei Männern eine stärkere ACTH-Reaktion auf Stress als bei Frauen.

Van Eck kam in Untersuchungen zu der Hypothese, dass zwar das negative Gefühlserleben, nicht jedoch die subjektive Stresswahrnehmung bzw. Stressempfindung, mit erhöhter Cortisol-Sekretion bei normalen Alltagstätigkeiten und mit insgesamt höheren Cortisol-Konzentrationen im Verlauf eines Stresstestes (Baseline, kurz vor und nach dem Stressor) assoziiert ist (van Eck et al. 1996a und 1996b). Umgekehrt sezernieren Menschen mit positivem Gefühlserleben im Mittel weniger Cortisol während eines Tages (Steptoe et al. 2005). Auch hier zeigt sich kein Zusammenhang zur Wahrnehmung von psychologischem Stress.

Auch bei chronischem Stress kommt es zu einer Veränderung der HHNA. In Untersuchungen mit Ratten findet man bei chronisch gestressten Tieren deutlich höhere basale Cortisol-Konzentrationen als bei naiven Ratten (Mizoguchi et al. 2001). Es fällt außerdem eine erhöhte negative Feed-back-Regulation der HHNA bei chronischem

Stress auf. Werden chronisch gestresste Ratten einem akuten Stressreiz ausgesetzt, so geht die akute Cortisol-Ausschüttung schneller auf den basalen Wert zurück als bei naiven Ratten unter akutem Stress (Mizoguchi et al. 2001). Im chronischen Stress kommt es zudem zu einer Herunterregulation der GR im Hippokampus, was zu einer Störung des negativen Feed-back-Mechanismus der HHNA führt und somit die erhöhten basalen Cortisol-Konzentrationen erklärt (Mizoguchi et al. 2001). Hierdurch lässt sich auch das Fehlen einer adäquaten Cortisol-Unterdrückung nach Gabe des synthetischen Glukokortikoids Dexamethason (Dex) bei chronisch gestressten Individuen erklären (Mizoguchi et al. 2001).

Betrachtet man die Nebennieren, so findet man diese bei chronisch gestressten Tieren im Vergleich zu nicht gestressten Tieren vergrößert (Mizoguchi et al. 2001).

Alle diese Beobachtungen lassen sich auch bei Menschen mit einer depressiven Erkrankung nachweisen, was verdeutlicht, dass die depressive Erkrankung einen Status von chronischem Stress darstellt (siehe 1.4.5).

1.3 Makrophagen Migrationsinhibierender Faktor (MIF)

MIF wurde Anfang der 60er Jahre als eines der ersten Zytokine entdeckt. Es wurde als ein löslicher Faktor beschrieben, der von aktivierten T-Zellen freigesetzt wird und eine migrationshemmende Wirkung auf Makrophagen aufweist (Bloom and Bennett 1966; David 1966).

Danach ruhte die weitere Untersuchung von MIF nahezu 25 Jahre, was hauptsächlich auf Schwierigkeiten der molekularen Bestimmung der Aminosäuresequenz des Proteins zurückzuführen ist. 1989 konnte MIF schließlich erfolgreich kloniert werden (Weiser et al. 1989) und damit die Untersuchungen der vielfältigen Funktionen von MIF weiter vorangetrieben werden.

1.3.1 MIF im Immunsystem

Die zentrale Rolle von MIF in der Immunregulation konnte durch den Nachweis untermauert werden, dass die Makrophagen selbst – wie auch die T-Zellen - auf proinflammatorische Stimuli (Lipopolysaccharide (LPS), TNF- α , Interferon-gamma

(IFN- γ) MIF sezernieren (Calandra et al. 1994; Bacher et al. 1996). Durch MIF stimulierte Makrophagen setzen ihrerseits/wiederum TNF- α frei (Calandra et al. 1994). Untersuchungen an T-Zellen ergaben, dass Antikörper gegen MIF die Proliferation der Zellen und deren antigenspezifische Antikörperbildung verhindern (Bacher et al. 1996).

Nach Stimulation mit proinflammatorischen Stimuli (LPS, bakterielle Produkte) kommt es innerhalb weniger Stunden zu einer initialen MIF-Ausschüttung aus peripheren Makrophagen. Das zentrale MIF aus der Hypophyse erscheint erst einige Stunden später (ca. 8-20 h nach Stimulation) (Bernhagen et al. 1993, 1998; Calandra et al. 1994).

Die frühe Freisetzung von MIF aus Makrophagen durch proinflammatorische Stimuli geschieht in einer glockenförmigen Dosis-Wirkungs-Kurve, d.h. bei hohen Toxindosen wird kein MIF mehr ausgeschüttet. Dies könnte ein Schutzmechanismus sein, der eine überschießende Entzündungsreaktion durch MIF verhindert. Bezüglich der zentralen MIF-Ausschüttung aus der Hypophyse findet sich diese glockenförmige Dosis-Wirkungs-Kurve nicht (Bernhagen et al. 1993, 1998; Calandra et al. 1994).

In kultivierten Endothelzellen kann MIF *in vitro* auch seine eigene Freisetzung induzieren (Lai et al. 2003).

MIF gewann weiter an Bedeutung, als seine (zentrale) Rolle im LPS-induzierten Schock bekannt wurde – insbesondere durch die Entdeckung, dass eine MIF-Blockade die Schocksymptomatik deutlich abmildern kann (Bernhagen et al. 1993; Calandra et al. 1995; Bacher et al. 1997; Bozza et al. 1999). Bei Mäusen steigt die MIF-Konzentration im Plasma nach Injektion des Endotoxins LPS an. Bei zusätzlicher Gabe von MIF nimmt die Sterblichkeit dieser Mäuse deutlich zu. Gibt man LPS-injizierten Mäusen dagegen anti-MIF-Antikörper, so steigt die Überlebensrate auf nahezu 100% (Bernhagen et al. 1993). Zusätzlich verabreichte Glukokortikoide können bei Mäusen nach LPS-Injektion die Sterblichkeitsrate verringern, gibt man diesen Mäusen aber noch MIF dazu, so überleben nicht wesentlich mehr Mäuse als in einer Gruppe nur mit LPS behandelter Mäuse (Calandra et al. 1995). MIF übertrifft hier die schützende Wirkung von Glukokortikoiden.

MIF kann auch selbst die Symptome eines endotoxämischen Schocks hervorrufen, die aber nicht tödlich sind (Bernhagen et al. 1993).

Mittlerweile wurde die Rolle von MIF bei verschiedenen entzündlichen/immunreaktiven Erkrankungen untersucht (Lue et al. 2002).

So findet man erhöhte MIF-Konzentrationen sowohl im Endotoxin-Schock (Bernhagen et al. 1993; Bacher et al. 1997), als auch bei Gram-negativer und Gram-positiver bakterieller Sepsis (Calandra et al. 1998, 2000). Es zeigt sich ausserdem eine positive Korrelation zwischen der Schwere der Sepsis, der Mortalität und der MIF-Konzentration (Bozza et al. 2004; Emonts et al. 2007, Chuang et al. 2007). Periphere Monozyten von Patienten mit septischem Schock sezernieren höhere Mengen MIF nach ex vivo Stimulation mit einem proinflammatorischen Agens als Monozyten von gesunden Kontrollen. Unter Glukokortikoidbehandlung sinkt die MIF-Sekretion der Patienten-Monozyten auf das Niveau der Kontrollen ab (Maxime et al. 2005). Die Behandlung mit Glukokortikoiden normalisiert also die Freisetzung von MIF aus peripheren Monozyten bei Patienten mit Sepsis.

Bei Patienten mit akutem Lungenversagen („acute respiratory distress syndrome“, ARDS) misst man signifikante Mengen von MIF im Alveolarraum (Donnelly et al. 1997), sowie im Endothel von Alveolar-Kapillaren und in infiltrierenden Makrophagen (Lai et al. 2003). In vitro stimuliert MIF die Alveolarzellen zur Sekretion von Zytokinen (u.a. TNF- α), was durch Antikörper (AK) gegen MIF (anti-MIF-AKs) abgeschwächt werden kann (Donnelly et al. 1997). Die Behandlung von an ARDS erkrankten Mäusen mit anti-MIF-AKs oder Glukokortikoiden schwächt die Pathologie deutlich ab und vermindert die Synthese von MIF und TNF- α (Lai et al. 2003).

Bei Asthmatikern findet man in der bronchoalveolaren Flüssigkeit nach Lavage höhere MIF-Konzentrationen als bei gesunden Nichtasthmatikern (Rossi et al. 1998). Auch im Serum und im Sputum von Asthmatikern sind erhöhte MIF-Konzentrationen nachweisbar (Yamaguchi et al. 2000). Der Nachweis von MIF in eosinophilen Granulozyten und dessen vermehrte Sekretion nach Stimulation legt nahe, dass MIF auch bei Asthma und anderen allergisch-inflammatorischen Erkrankungen eine Rolle spielt (Rossi et al. 1998; Yamaguchi et al. 2000). Mäuse mit einem Mangel an MIF zeigen eine schwächere Überreaktion der Luftwege sowie niedrigere IgE-Konzentrationen nach Asthma auslösendem Reiz als Wildtyp-Kontrollen (Mizue et al. 2005).

Auch bei Autoimmunerkrankungen zeigen sich erhöhte MIF-Konzentrationen im Serum (Mizue et al. 2000). Besonders für die rheumatoide Arthritis ist MIF als wichtiger, das Krankheitsgeschehen verstärkender Faktor nachgewiesen worden (Leech

et al. 1998, 1999; Morand et al. 2002, 2003), hier kann man nach Antagonisierung von MIF oder bei MIF-Mangel eine verminderte Krankheitsaktivität beobachten (Santos and Morand 2006). In Nierenbiopsien findet man bei der proliferativen Glomerulonephritis eine erhöhte MIF-Expression, die mit der Leukozyten-Infiltration und histologischen Zerstörung korreliert ist (Lan et al. 2000).

Mäuse zeigen in Läsionen der Hypersensitivitätsreaktion vom Verzögerten Typ („delayed-type hypersensitivity reaction“, „DTH-reaction“), wie z.B. der Tuberkulin-Reaktion, eine erhöhte Konzentration von MIF-mRNA und MIF-Protein. Die Gabe von anti-MIF-AKs verhindert die Ausbildung einer „DTH-reaction“ (Bernhagen et al. 1996).

Eine erhöhte Expression von MIF wird somit in verschiedensten Läsionen und bei unterschiedlichen entzündlichen Erkrankungen oder Immunerkrankungen gefunden.

Mittlerweile wurde ein Zusammenhang zwischen einzelnen genetischen Varianten von MIF bei unterschiedlichen entzündlichen Erkrankungen, wie z.B. juvenile und adulte rheumatoide Arthritis, Colitis ulcerosa, Atopie und Sarkoidose, gefunden (Renner et al. 2005). Hier zeigt sich bei einigen sog. MIF-Polymorphismen eine Assoziation zu erhöhter Empfänglichkeit für eine Erkrankung bzw. Schweregrad einer Erkrankung (Renner et al. 2005; Radstake et al. 2005).

1.3.2 MIF und Glukokortikoide/Stress

Das Interesse für MIF wurde neu geweckt, als es als Zytokin in der Adenohypophyse entdeckt wurde (Bernhagen et al. 1993). MIF wurde hier in ACTH-sezernierenden (cortikotropen) Zellen und in Thyroideastimulierendes Hormon (TSH)-sezernierenden Zellen nachgewiesen. Dort ist es zum Teil in denselben Sekretgranula wie ACTH bzw. TSH lokalisiert. Die Gabe von CRH induziert die MIF-Sekretion (dosisabhängig). MIF reagiert sogar sensibler auf CRH als ACTH, d.h. um einen MIF-Peak zu sezernieren, scheint eine geringere Menge CRH nötig zu sein (Nishino et al. 1995; Tierney et al. 2005).

Weitere Studien erbrachten die erstaunliche Entdeckung, dass MIF einerseits als Gegenspieler der antiinflammatorischen und immunsuppressiven Wirkung von Glukokortikoiden wirkt, gleichzeitig aber auch durch niedrigere Glukokortikoiddosen

induziert wird (Calandra et al. 1995). Dies ist augenscheinlich notwendig, um die immunsuppressive Wirkung der Glukokortikoide im Gleichgewicht zu halten. Die Tatsache, dass MIF durch hohe Glukokortikoiddosen nicht induziert wird, legt möglicherweise einen Schutzmechanismus gegen überschießende, lebensbedrohliche Immunreaktionen nahe.

Dass erhöhte MIF-Konzentrationen die Glukokortikoid-Sensitivität vermindern und MIF-Mangel bzw. Antagonismus von MIF die Effektivität der Glukokortikoid-Wirkung erhöht, konnte man mittlerweile bei verschiedenen Erkrankungen beobachten (Aeberli et al. 2006). MIF-Antagonismus könnte damit ein Weg sein, Steroide in der Therapie einzusparen.

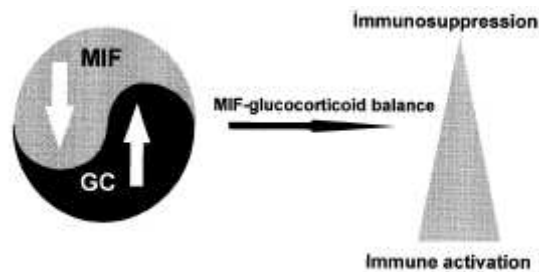


Abbildung 4: Schematische Darstellung des Gleichgewichtes zwischen den Gegenspielern MIF (proinflammatorisch) und Glukokortikoiden (GC; antiinflammatorisch) (nach Bernhagen et al. 1998).

In einer weiteren Untersuchung fand man einen deutlichen zirkadianen Verlauf von MIF im Plasma mit einem Morgenpeak um ca. 8:00 h und einem nächtlichen Tiefpunkt um ca. 3:00 h (Petrovsky et al. 2003). MIF folgt demnach der Zirkadianik von Cortisol. Der gleichzeitige Morgenpeak beider Substanzen läßt vermuten, dass MIF die immunsuppressiven Effekte von Cortisol gegenreguliert.

Nach Gabe von niedrigen Glukokortikoiddosen steigt die Konzentration von Plasma-MIF innerhalb von 1-2 h an. Gibt man dagegen hochdosiert Glukokortikoide, kommt es zu einer Suppression von Plasma-MIF (Petrovsky et al. 2003).

Eine Untersuchung an Patienten mit Vogt-Koyanagi-Harada-Krankheit (einer Autoimmunerkrankung der Augen) zeigte jedoch einen Anstieg der MIF-Konzentration im Serum nach Hochdosis Corticosteroid-Therapie (Kitaichi et al. 2000).

Werden Ratten exogenem Stress ausgesetzt, so führt dies nach ca. 3-4 Stunden zu einem Anstieg der MIF-Konzentration im Serum (Calandra et al. 1995).

Durch proinflammatorische Stimuli und Stress wird die HHNA aktiviert, was zur Freisetzung sowohl antiinflammatorischer (Glukokortikoide) als auch proinflammatorischer (MIF) Substanzen führt. (Calandra et al. 1995).

Die physiologische Aktivierung der HHNA (mittels exogenem Stress bei Ratten) führt somit gleichzeitig mit dem ACTH- und Cortisol-Anstieg zu einer Erhöhung der MIF-Konzentration im Serum (Calandra et al. 1995; Bernhagen et al. 1998).

In neueren Untersuchungen wird jedoch gezeigt, dass sich die MIF-Konzentration auf Gabe von CRH, ACTH oder Dexamethason nicht verändert, eine akute Modulation der HHNA also keine signifikante Veränderung der zirkulierenden MIF-Konzentrationen bewirkt (Isidori et al. 2002).

Auch die Aktivierung der HHNA mittels Insulin-Toleranz-Test bewirkt keine Veränderung der MIF-Konzentration im Plasma (Petrovsky et al. 2003).

MIF wird auf allen Ebenen der HHNA produziert - in Neuronen des Hypothalamus (Bacher et al. 1998; Vedder et al. 2000), in Zellen des Hypophysenvorderlappens (Nishino et al. 1995) und in der Nebennierenrinde (Bacher et al. 1997), wo es seine Wirkung im Zusammenspiel mit den Glukokortikoiden entfalten kann.

1.3.3 Weitere Eigenschaften von MIF

Im Laufe der Zeit konnte MIF bei einer Reihe von anderen Erkrankungen und Regelkreisläufen als wichtiger Faktor nachgewiesen werden.

So fördert MIF die mikrovaskuläre Endothelzellproliferation und trägt dadurch zum Tumorwachstum bei (Chesney et al. 1999; Ogawa et al. 2000). In B-Zell-Lymphomen oder dem adenomatösen Kolonkarzinom kommt es durch Gabe von Anti-MIF-AKs zu einer Verminderung der Neovaskularisierung und somit einer Reduzierung des Tumorwachstums (Chesney et al. 1999; Ogawa et al. 2000). Bei Patienten mit kolorektalem Karzinom oder malignem Melanom findet man erhöhte MIF-Konzentrationen im Serum im Vergleich zu gesunden Kontrollen (Yasasever et al. 2007).

In β -Zellen des Pankreas ist MIF zum Teil in denselben Sekretgranula wie Insulin lokalisiert (Waeber et al. 1997). Neutralisation von MIF in diesen Zellen durch anti-MIF-AK führt zu einer geringeren Glukose-induzierten Insulin-Ausschüttung, die Zugabe von exogenem MIF hingegen potenziert die Insulin-Ausschüttung. (Waeber et al. 1997). Umgekehrt steigt bei Inkubation von Insulin-sezernierenden Zellen mit hochkonzentrierter Glukose die Transkriptionsaktivität von MIF an (Plaisance et al. 2002). In β -Zellen des Pankreas ist die MIF-Expression somit durch die Glukose-Homöostase geregelt, MIF ist jedoch selbst ein wichtiger Regulator der Glukose-Homöostase.

Untersuchungen an Muskelzellen von Mäusen zeigten, dass MIF auch im Kohlehydratstoffwechsel, insbesondere in der Glykolyse, eine wichtige Rolle spielt (Benigni et al. 2000). So wird durch Zugabe von MIF über die katabole Wirkung von TNF- α die Glykolyse verstärkt, die Glukose-Konzentration im Serum sinkt. Anti-MIF-AK können diese Effekte verhindern und vor Hypoglykämie schützen (Benigni et al. 2000).

Bei Menschen mit Typ 2 Diabetes finden sich erhöhte Konzentrationen von MIF im Serum (Yabunaka et al. 2000; Herder et al. 2006).

In einer anderen Untersuchung zeigten sich erhöhte Plasma-MIF-Konzentrationen bei übergewichtigen im Vergleich zu normalgewichtigen Menschen. Hier fand sich auch eine signifikante positive Korrelation zwischen Plasma-MIF-Konzentration und BMI („Body Mass Index“) sowie zwischen der Konzentration von MIF und freien Fettsäuren im Plasma. Übergewichtige Menschen mit höheren Fettsäure-Konzentrationen hatten ebenfalls höhere MIF-Konzentrationen im Plasma (Dandona et al. 2004).

Erstaunlich ist, dass MIF auch enzymatische Eigenschaften zeigt. So fand man MIF als Katalysator der Tautomerisierung von D-Dopachrom in 5,6-Dihydroxy-Indol-2-Carboxolsäure (Rosengren et al. 1996). Später wurde eine weitere enzymatische Aktivität als Protein-Thiol-Oxidoreduktase entdeckt (Kleemann et al. 1998).

Strukturell ist MIF als Homotrimer aufgebaut, bestehend aus drei monomeren Untereinheiten, sog. Trimeren. Ein Trimer besteht aus zwei antiparallelen α -Helices und sechs β -Strängen. Am ungewöhnlichsten ist ein Kanal, der durch das Zentrum des Moleküls führt. Dieser Kanal hat eine positiv geladene Region und könnte hier mit negativ geladenen Teilchen interagieren. Abbildung 5 zeigt eine schematische Darstellung des MIF-Proteins.



Abbildung 5: Schematische Darstellung des MIF-Proteins. Die drei Untereinheiten sind farblich gekennzeichnet, die α -Helices sind spiralförmig dargestellt. Man blickt von oben auf den zentralen Kanal des Moleküls (nach Bernhagen et al. 1998).

Die vielfältigen biologischen Eigenschaften von MIF sind noch wenig erforscht, sicher ist aber, dass MIF neben seinen Zytokin-Eigenschaften auch hormonelle und enzymatische Funktionen aufweist und somit eine weitaus bedeutendere Rolle in zahlreichen Regelkreisläufen als ursprünglich angenommen spielt.

1.4 Depression

1.4.1 Einführung und Symptomatik

Der Begriff „Depression“ fand seinen Eingang in die psychiatrische Nomenklatur in der ersten Hälfte des 19. Jahrhunderts und wurde zunächst auf Erkrankungen angewandt, die durch eine sog. generelle „psychische Unterfunktion“ charakterisiert

waren. Später konzipierte Kraepelin die Krankheitseinheit des „manisch-depressiven Irreseins“ (Kraepelin 1913). Hier steht „depressiv“ für „melancholische oder depressive Zustände mit trauriger oder ängstlicher Verstimmung sowie einer Erschwerung des Denkens und des Handelns“.

In neuerer Zeit wurden zunehmend operationalisierte Klassifikationssysteme eingeführt. Als die beiden wichtigsten gelten die „International Classification of Diseases“ der Weltgesundheitsorganisation (WHO) in der 10. Fassung (ICD-10) und das Diagnostische und Statistische Manual der Amerikanischen Psychiatrie-Vereinigung (in der 4., revidierten Auflage) DSM-IV-R.

Im Folgenden ist die Symptomatik einer depressiven Episode nach beiden Klassifizierungssystemen gegenübergestellt (Tabelle 2).

Tabelle 2: Symptomatik einer depressive Episode nach DSM-IV-R und ICD-10.

DSM-IV-R („Major Depression“)	ICD-10 (depressive Episode)
Depressive Verstimmung	Gedrückte Stimmung (evtl. „Morgentief“)
Verlust an Interesse oder Freude	Interessenverlust, Freudlosigkeit
Gewichtsverlust/ -zunahme, verminderter/gesteigerter Appetit	Verminderter Appetit, Gewichtsverlust
Schlaflosigkeit / vermehrter Schlaf	Schlafstörungen, frühmorgendliches Erwachen
Psychomotorische Unruhe/Verlangsamung	Psychomotorische Hemmung/Agitiertheit
Müdigkeit oder Energieverlust	Verminderung des Antriebs/der Energie, erhöhte Ermüdbarkeit
	Vermindertem Selbstwertgefühl und Selbstvertrauen
Gefühle von Wertlosigkeit, Schuldgefühle	Schuldgefühle, Gefühle von Wertlosigkeit
	Negative und pessimistische Zukunftsperspektiven
Denkhemmung, Konzentrationschwierigkeiten, verringerte Entscheidungsfähigkeit	Verminderte Konzentration und Aufmerksamkeit
Gedanken an den Tod, Suizidideen, Suizidversuche	Suizidgedanken, Selbstverletzung, Suizidhandlungen
	Libidoverlust
Mindestdauer: 2 Wochen	Mindestdauer: 2 Wochen

1.4.2 Epidemiologie

Die Depression ist eines der häufigsten Krankheitsbilder, depressive Erkrankungen nehmen immer mehr zu. Aufgrund der hohen Dunkelziffer ist die Prävalenz der Erkrankung nicht sicher anzugeben. Man schätzt, dass zwischen 8 und 20% der Gesamtbevölkerung im Laufe ihres Lebens an einer Depression erkranken (Möller et al. (Hrsg.) 1995), wobei Frauen ca. zweimal häufiger erkranken als Männer.

1.4.3 Ätiopathogenese

Bisher konnte kein befriedigendes Erklärungsmodell für die Genese der Depression gefunden werden, man geht daher von einer multifaktoriell bedingten Entstehung nach dem Vulnerabilitätskonzept (anlagebedingte Verletzlichkeit) aus.

Familien-, Adoptions- und Zwillingsstudien belegen eine genetische Disposition für affektive Erkrankungen. Die Konkordanzrate für depressive Erkrankungen liegt für eineiige Zwillinge bei ungefähr 65%, für zweieiige Zwillinge bei ca. 20% (Möller et al. (Hrsg.) 1995).

In den 60er Jahren wurde die sogenannte Monoaminmangel-Hypothese entwickelt, die als eine Ursache der depressiven Erkrankung eine Verminderung der Noradrenalin- und Serotonin-Konzentration im synaptischen Spalt postulierte. Diese Hypothese entstand insbesondere durch die Aufklärung des Wirkmechanismus antidepressiver Medikamente, welche durch Wiederaufnahmehemmung, Hemmung des Abbaus oder erhöhte Ausschüttung die Konzentration von Noradrenalin und/oder Serotonin im synaptischen Spalt erhöhten. Gestützt wurde diese Theorie außerdem durch die Beobachtung, dass das blutdrucksenkende Medikament Reserpin bei einem Teil der hypertonen Patienten durch Entleerung der Monoaminspeicher mit nachfolgendem Noradrenalindefizit depressive Zustände hervorrief.

Es zeigte sich jedoch im Verlauf, dass Antidepressiva zwar akut die Monoaminkonzentration im synaptischen Spalt erhöhen, eine therapeutische Wirkung jedoch erst nach 2-4 Wochen sichtbar ist. Auch findet man nach Noradrenalin- bzw. Serotonin-Depletion keine Induktion depressiver Symptome bei Gesunden bzw. keine Verschlechterung der depressiven Symptomatik bei unbehandelten depressiven Patienten (Heninger et al. 1996).

Man geht daher heute von einem komplexeren Zusammenhang aus. Demnach führt eine erhöhte Monoamin-Konzentration unter antidepressiver Medikation im Verlauf zu einer zunehmenden Desensibilisierung der inhibitorischen Rezeptoren des Systems, was wiederum in einer höheren zentralen monoaminergen Aktivität resultiert (Elhwuegi 2004). Diese Veränderungen zeigen sich ungefähr zeitgleich mit einer therapeutischen Wirkung der Antidepressiva.

Neuroendokrinologisch findet man bei depressiven Patienten Regulationsstörungen der HHNA und der Hypothalamus-Hypophysen-Schilddrüsen-Achse (HHSA). Bei euthyreoten Konzentrationen der Schilddrüsenhormone Trijodthyronin T3 und Thyroxin T4 findet man bei einigen depressiven Patienten eine verminderte Ausschüttung von Thyroideastimulierendem Hormon TSH nach exogener Gabe von „Thyreotropin-Releasing- Hormone“ TRH (Rubin 1989, Maes et al. 1993).

Die Regulationsstörungen der HHNA sind in Abschnitt 1.4.5 näher ausgeführt.

Psychosoziale Stressoren werden außerdem als Risikofaktoren für die Auslösung einer Depression angesehen.

1.4.4 Therapie

Bei der Behandlung mit Psychopharmaka kommen in erster Linie Antidepressiva (Trizyklika, Serotonin-Wiederaufnahmehemmer u.a.), ausserdem auch Tranquillizer, Anxiolytika und Neuroleptika zum Einsatz.

Zu den alternativen biologischen Verfahren gehören Schlafentzugstherapie, Lichttherapie und als ultima ratio Elektrokrampftherapie, die vor allem bei therapieresistenten Depressionen durchgeführt wird.

Psychotherapeutische Verfahren bilden ebenfalls ein wichtiges Standbein bei der Behandlung depressiver Episoden, hier spielen besonders kognitive Verfahren eine Rolle.

1.4.5 Neuroimmunoendokrinologische Störungen bei Depression

Bei depressiven Patienten kann man signifikant höhere basale Cortisol-Konzentrationen als bei gesunden Kontrollpersonen finden (Halbreich et al. 1985; Rubin et al. 1996; Deuschle et al. 1997; Parker et al. 2003). Genauer betrachtet zeigen sich diesbezüglich jedoch unterschiedliche Beobachtungen. So finden sich in einigen Untersuchungen 40-60% der depressiven Patienten mit deutlich erhöhten Cortisol-Werten (Parker et al. 2003), in anderen nur 20-30% (Halbreich et al. 1985; Young et al. 2001).

Es zeigte sich später, dass sich eine Imbalance im Stress-Hormonsystem bei depressiven Patienten eindeutiger unter Stimulations- oder Suppressionsbedingungen darstellen lässt (im nächsten Abschnitt genauer beschrieben). Da in der vorliegenden Untersuchung jedoch die basalen Hormonwerte bestimmt wurden, folgt hier zunächst eine Übersicht der Studienlage diesbezüglich.

Deuschle et al. fanden in einer Untersuchung bei depressiven Männern deutlich erhöhte Cortisol-Werte über 24 Stunden im Vergleich zu männlichen Kontrollpersonen, während Young zwischen depressiven und gesunden Frauen keine Unterschiede des 24h-Cortisols nachweisen konnte (Deuschle et al. 1997; Young et al. 2001). Wie schon beim akuten Stress deutet dies auch beim chronischen Stress auf eine unterschiedliche Reaktion der HHNA bei Männern und Frauen hin.

In anderen Untersuchungen zeigt sich eine Beziehung zwischen Cortisol-Konzentration und der Schwere der Depression. So findet man bei Patienten mit melancholischer Depression signifikant höhere Cortisol-Konzentrationen im Vergleich zur Subgruppe der nicht-melancholischen Patienten und den gesunden Kontrollpersonen (Kaestner et al. 2005). Patienten mit psychotischer Depression weisen höhere Cortisol-Konzentrationen am Abend auf als nicht-psychotische depressive Patienten und gesunde Kontrollpersonen (Keller et al. 2006).

Ambulante depressive Patienten haben keine erhöhten Cortisol-Konzentrationen im Vergleich zu nicht-depressiven Personen, selbst bei Unterscheidung nach Schweregrad der Depression (Brouwer et al. 2005). Es fallen hier jedoch deutlich erniedrigte Cortisol-Werte bei Patienten mit atypischer Depression im Vergleich zu nicht-atypischer und melancholischer Depression auf (Brouwer et al. 2005).

In einer Untersuchung von älteren Menschen (ab 65 Jahren) mit depressiver Erkrankung zeigten sich sowohl deutlich erhöhte als auch deutlich erniedrigte Cortisol-Konzentrationen im Vergleich zu gesunden Kontrollen, es besteht demnach ein U-förmiger Zusammenhang zwischen Cortisol-Konzentration und dem Vorliegen einer depressiven Erkrankung im Alter (Bremmer et al. 2007). Hier fand man bei depressiven Patienten mit niedrigen Cortisol-Werten eine Assoziation zum weiblichen Geschlecht sowie zum Vorliegen von Gelenk-Erkrankungen, während Depressive mit hohem Cortisol eher männlich und älter waren und häufiger an kardiovaskulären Erkrankungen litten (Bremmer et al. 2007).

Betrachtet man speziell die Cortisol-Werte nach dem Aufwachen so steigt das Cortisol nach dem Erwachen gewöhnlich schnell an, um dann nach einem Peak (ca. 30 min nach Erwachen) wieder abzufallen. Akut depressive Patienten sezernieren in dieser Zeit deutlich mehr Cortisol als gesunde Kontrollen, die Cortisol-Konzentration ist jedoch 60 min nach Erwachen wieder gleich wie bei den Kontrollpersonen (Bhagwagar et al. 2005). Pruessner et al. fanden für Menschen, die im nichtklinischen Bereich auf der Hamilton Depression Scale (HAMD) lagen (Punktescore <14), eine positive Korrelation zwischen der Höhe der Cortisol-Sekretion in der ersten Stunde nach Erwachen und des Punktescores im HAMD (Pruessner et al. 2003).

Bei depressiven Patienten findet man häufig eine Erhöhung des CRHs (Galard et al. 2002). Bezüglich des ACTHs sind sowohl eine Erhöhung (Deuschle et al. 1997) als auch eine Erniedrigung dieses Hormons beschrieben (Rubin et al. 1995 und 1996). Dies legt die Hypothese nahe, dass sich die Neurobiologie der Cortisol-Übersekretion im Verlauf der Depression verändert. In der akuten Depression führt die Übersekretion von CRH aus dem Hypothalamus in der Hypophyse zu einer vermehrten Sekretion von ACTH, was wiederum die Freisetzung von Cortisol aus der Nebennierenrinde stimuliert. Bei chronisch depressiven Patienten bleibt die Cortisol-Konzentration erhöht, während die ACTH-Konzentration erniedrigt ist (Parker et al. 2003; Abbildung 6). Bei chronischer Depression kommt es somit zur Hyperreagibilität der Nebenniere auf niedrigere ACTH-Konzentrationen (Parker et al. 2003).

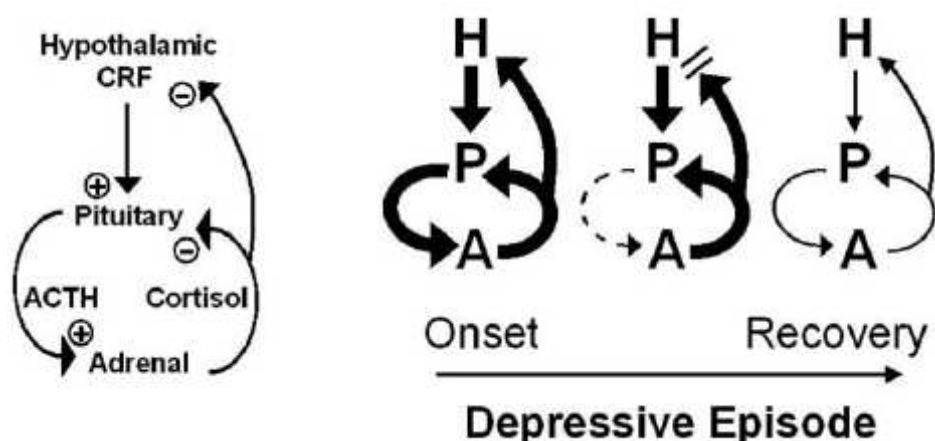


Abbildung 6: Schematische Darstellung der HHNA-Regulation bei depressiver Episode. Die gestrichelten Linien zeigen erniedrigte, die dünnen normale und die

dicken Linien erhöhte Hormon-Konzentrationen [\oplus stimulierender Effekt; \ominus inhibitorischer Effekt] (nach Parker et al. 2003).

Bereits in den 80er Jahren fand man bei vielen depressiven Patienten nach exogener Gabe von ACTH eine überschießende Cortisol-Sekretion im Vergleich zu Gesunden (Amsterdam et al. 1986; Gerken und Holsboer 1986). Gibt man Depressiven exogenes CRH, so zeigt sich im Vergleich zu Gesunden eine abgeschwächte ACTH-Reaktion bei gleicher Cortisol-Sekretion (Holsboer et al. 1984 und 1987; von Bardeleben et al. 1988). Durch vorherige Gabe von Metyrapon, welches die Cortisol Biosynthese durch Blockade der C-11-beta-Steroid-Hydroxylase hemmt, wird diese Abschwächung der ACTH-Reaktion aufgehoben, was darauf hindeutet, dass die abgeschwächte ACTH-Reaktion nach CRH-Gabe durch erhöhte Cortisol-Konzentrationen im Plasma zustande kommt (von Bardeleben et al. 1988).

Die Erfassung der Veränderung der HHNA-Reaktivität bei depressiven Patienten lässt sich insgesamt eindeutiger in dynamischen Tests erfassen. Unter exogener Gabe von Dexamethason (Dex) kommt es bei Gesunden zu einer Unterdrückung der Cortisol-Sekretion, bei Depressiven, wie auch im Zustand des chronischen Stresses, findet man weiterhin erhöhte Cortisol-Konzentrationen, der negative Feed-Back-Mechanismus ist gestört (Carroll 1982; Holsboer et al. 1982). Gibt man am Tag nach Dex-Gabe exogenes CRH, so findet man bei Gesunden weiterhin eine abgeschwächte Cortisol-Antwort, während depressive Patienten mit überschießenden Cortisol-Konzentrationen reagieren (Holsboer-Trachsler et al. 1991; Barden et al. 1995). Auch hier fehlt die adäquate negative Feed-Back-Reaktion im Zustand der Depression. Sowohl der sog. Dexamethason-Suppressions-Test (DST) sowie der Dex/CRH-Test normalisieren sich mit Rückgang der depressiven Symptomatik (Holsboer et al. 1982; Holsboer-Trachsler et al. 1991). Eine erhöhte Cortisol-Reaktion im Dex/CRH-Test fand sich zum einen korreliert mit einer 4-6fach höheren Rezidivrate bei depressiven Patienten in Remission (Zobel et al. 2001) sowie bei Angehörigen ersten Grades von depressiven Patienten, sogenannten „high-risk“-Personen (Holsboer et al. 1995). Somit zeigte sich insbesondere der Dex/CRH-Test nützlich als Verlaufsparemeter und Messinstrument bezüglich des Rezidivrisikos.

Wie bei den basalen Cortisol-Konzentrationen findet man auch beim DST eine größere Anzahl an Patienten mit fehlender Unterdrückung des Cortisols nach Dexamethason-

Gabe in der Gruppe der psychotisch Depressiven als bei den Patienten mit nicht-psychotischer Depression (Nelson and Davis 1997).

In CT- sowie MRT-Untersuchungen findet man die Nebenniere bei depressiven Patienten vergrößert (Amsterdam et al. 1987; Nemeroff et al. 1992; Rubin et al. 1995 und 1996). Die Größe der Nebenniere korreliert jedoch nicht mit der Stärke der Reaktion im Dexamethason-Suppressions-Test, dem Alter des Patienten und der Dauer und Schwere der depressiven Episode (Nemeroff et al. 1992). Man ging zunächst von einer Hyperplasie der Nebennierenrinde (NNR) durch trophische Effekte von ACTH – aus, die nach Rückgang der Depression reversibel ist (Rubin et al. 1995 und 1996). Spätere Untersuchungen zeigten jedoch keinen Unterschied der Reagibilität der NNR auf ACTH-Stimulation zwischen depressiven Patienten und gesunden Kontrollen, was andere Faktoren als Ursache der Nebennieren-Vergrößerung wahrscheinlich werden lässt (Rubin et al. 2006).

Wie im Zustand des chronischen Stresses kommt es somit auch bei depressiven Patienten zu einer Störung der negativen Feed-Back-Reaktion durch die vermehrte Cortisol-Sekretion. Die überhöhten Cortisol-Konzentrationen führen zu keiner konsekutiven Hemmung einer weiteren Cortisol-Ausschüttung über die HHNA. Als verantwortlich hierfür fand man in verschiedenen Untersuchungen bei depressiven Patienten eine reduzierte Ansprechbarkeit bzw. eine Herunterregulation der GR (Pariante und Miller 2001; Pariante 2006). Insbesondere in-vitro Untersuchungen zeigen einen Rückgang der reduzierten Ansprechbarkeit der GR nach antidepressiver Behandlung (Pariante und Miller 2001).

Mit Rückgang der depressiven Symptomatik kommt es auch zur Rückbildung der Störung des negativen Feed-Back-Mechanismus der HHNA, Hyperreagibilität und Hyperplasie der NNR bilden sich zurück, CRH-, ACTH- und Cortisol-Konzentrationen normalisieren sich. Alle diese Phänomene könnten als Indikatoren bzw. Zustandsfaktoren, sogenannte „state marker“, einer depressiven Episode angesehen werden. Bei Angehörigen ersten Grades von depressiven Patienten lässt sich eine erhöhte Cortisol-Reaktion im Dex/CRH-Test beobachten, die sich auch im Verlauf von 4 Jahren konstant zeigte (Modell et al. 1998). Man könnte somit auch die Störung der

HHNA, die sich in einer erhöhten Cortisol-Antwort im Dex/CRH-Test ausdrückt, als sogenannten „trait marker“, bzw. vererbten Vulnerabilitätsfaktor, ansehen.

Bezüglich des Immunsystems finden sich für die Zytokine TNF- α und IL-6 häufig erhöhte Konzentrationen bei depressiven Patienten im Vergleich zu gesunden Kontrollpersonen (Maes et al. 1997; Lanquillon et al. 2000; Mikova et al. 2001; Sutcigil et al. 2007). Maes entdeckte sogar eine positive Korrelation zwischen Cortisol und IL-6 im Plasma bei depressiven Patienten (Maes et al. 1995). Derartige Zusammenhänge zwischen TNF- α und IL-6 bei Depressiven ließen sich jedoch nicht in allen Untersuchungen nachweisen (Haak et al. 1999; Kronfol et al. 2000 rev.).

1.5 Zielsetzung

Die vorliegende Arbeit dient dem Zweck, den Zusammenhang zwischen MIF und Cortisol in-vivo zu untersuchen. Da Cortisol über die Aktivierung der HHNA durch Stress vermehrt ausgeschüttet wird, bietet sich hierfür die Untersuchung im akuten und chronischen Stress beim Menschen an.

Im Setting für den akuten Stress wurden junge gesunde Probanden einem akuten Schmerzstressor ausgesetzt, MIF und Cortisol wurden im Verlauf im Speichel gemessen.

Unter der Prämisse, dass bei einem Großteil der Patienten mit depressiver Störung eine Aktivierung der HHNA vorliegt, wurden als Modell für chronischen Stress depressive Patienten im Vergleich mit gesunden Probanden bezüglich MIF- und Cortisol-Konzentrationen in Serum und Speichel untersucht (Tabelle 3).

Tabelle 3: Im Rahmen der vorliegenden Arbeit verwendete Modelle für akuten und chronischen Stress.

Akuter Stress	Chronischer Stress
Schmerzstressor („Plunge-Test“)	Depressive Erkrankung

Hypothesen:

1. Nach akutem Stress steigen sowohl die Cortisol-, als auch die MIF-Konzentration im Speichel an.
2. Bei den Probanden, die einem akuten Stressreiz ausgesetzt werden, kann man sog. „high responders“ und „low responders“ bezüglich der Stärke der Cortisol-Reaktion unterscheiden. Die MIF-Konzentrationen differieren in beiden Gruppen.
3. Bei depressiven Patienten ist die MIF-Konzentration, sowie auch die Cortisol-Konzentration, in Blut und Speichel zu Beginn der Behandlung erhöht und fällt mit Remission auf eine vergleichbare Konzentration wie bei den Kontrollpersonen ab.

2 Materialien und Methoden

2.1 Studie zum akuten Stress bei Gesunden – „Plunge-Test-Studie“ (nach Zimmer, C., 2000)

Die 1999 von C. Zimmer und der Arbeitsgruppe von S. Lautenbacher durchgeführte Studie diente der Untersuchung, ob die Ausschüttung von Cortisol als Indikator der Reaktion der Hypothalamus-Hypophysen-Nebennierenrinden-Achse (HHNA) auf Stress durch kognitive Copingstrategien verändert werden kann. Dazu wurden gesunde Probanden einem Schmerzstressor in Form eines Plunge-Tests (Eintauchen des Unterarmes in Eiswasser) ausgesetzt. Die Versuchspersonen wurden auf vier Gruppen verteilt, die unterschiedlich kognitiv behandelt wurden.

Die aktuelle Untersuchung diente nun zur Ermittlung, inwieweit die MIF-Sekretion auf die Aktivierung der HHNA reagiert und ob man einen Zusammenhang zwischen Cortisolreaktion und MIF-Reaktion nachweisen kann.

Das Studienprotokoll der Untersuchung wurde der Ethikkommission der Philipps-Universität Marburg vorgelegt und von dieser genehmigt.

2.1.1 Probanden

Die untersuchte Gruppe bestand aus 84 Versuchsteilnehmern, 42 weiblichen und 42 männlichen, die zwischen 19 und 29 Jahre alt waren. Die Probanden waren fast alle Studierende, zwei machten ein Referendariat. Dem BMI nach waren die Versuchspersonen nahezu alle normalgewichtig (BMI Frauen zwischen 17 und 26, Männer zwischen 19 und 28 - Normwerte: Frauen: 18-24, Männer: 19-25).

Ausschlusskriterien waren:

- schwere Erkrankungen in jüngerer Vergangenheit
- Endokrinopathien
- Psychische Störungen
- Neurologische Erkrankungen mit Störungen der Somatosensibilität und Zeichen einer abnormen Streßreagibilität
- Raucher

Die Ausschlussdiagnostik erfolgte auf anamnestischer Basis.

Die Probanden wurden gleichmäßig auf die vier Behandlungsgruppen verteilt, so dass in jeder Gruppe gleich viele Frauen und Männer waren.

2.1.2 Plunge-Test

Der Plunge-Test wurde nach einer modifizierten Versuchsanordnung des in der Psychologie zur Schmerzauslösung gebräuchlichen „Cold-Pressor-Tests“ durchgeführt. Beim „Cold-Pressor-Test“ wird die Hand bis zum Unterarm für maximal 5 min in 2-5°C kaltes Wasser getaucht, wobei zwei verschiedene Paradigmen eine Rolle spielen. In dem Paradigma der offenen Verweildauer nimmt der Proband die Hand aus dem Wasser, sobald er den Schmerz nicht mehr aushalten kann. Hierbei kommt es zu einer interindividuellen Variation der Toleranzzeiten. Beim Paradigma der festen Verweildauer wird die Hand für eine definierte Zeitdauer ins Wasser getaucht, wobei es zu einer Variation im Schmerzrating kommt.

In der vorliegenden Studie wurden beide Paradigmen miteinander kombiniert, um den Stressfaktor zu erhöhen. Es wurde von einer Eintauchphase und einer Ruhephase von jeweils 15 Sekunden ausgegangen und maximal 9 Zyklen von jeweils 30 Sekunden Dauer durchgeführt. Der Stress wurde durch eine zeitliche Einteilung der 30 Sekunden-Phasen in 5/10/15 Sekunden-Abschnitte erhöht, so dass jeweils ein 30 Sekunden Tripletts entstand, das nach einer festgelegten Zufallsreihe variierte (Zimmer, C., 2000). Der Test wurde beendet, sobald der Proband den Schmerz nicht mehr tolerierte, maximal jedoch nach 9 Zyklen. Der Test wurde zweimal durchgeführt, jeweils einmal am rechten und am linken Arm.

Tabelle 4: Schematische Darstellung zweier Zyklen von je 30 Sekunden [s – Sekunde]. Ein Durchgang des Plunge-Tests bestand aus maximal neun Zyklen. Es wurden zwei Durchgänge, jeweils einer mit rechtem und linkem Arm, durchgeführt.

Zyklus	Seite	Zeit / Phase	Zeit / Phase	Zeit / Phase
1. Zyklus	rechter Arm	10 s / eintauchen	15 s / ruhen	5 s / eintauchen
2. Zyklus	rechter Arm	5 s / ruhen	10 s / eintauchen	15 s / ruhen

Zu Beginn der Untersuchung wurde eine Schmerzschwellenbestimmung durchgeführt, bei der die Probanden aufgefordert wurden, eine Hand in das Eiswasserbecken zu tauchen und sie aus dem Wasser zu nehmen, sobald der Kältereiz schmerzhaft wird. Dies diente unter anderem zur Induktion hoher Selbstwirksamkeitserwartungen in den Versuchsgruppen zwei und vier. Einer Voruntersuchung zufolge kann eine Aktivierung der HHNA durch die Schmerzschwellenbestimmung zu diesem frühen Zeitpunkt der Untersuchung ausgeschlossen werden (Zimmer, C., 2000).

2.1.3 Versuchsbedingungen - „Treatments“

Die Versuchsteilnehmer wurden in randomisierter Form den vier experimentellen Bedingungen zugeteilt, wobei jeder Gruppe gleich viele Frauen und Männer zugewiesen wurden.

2.1.3.1 Kontrollbedingung – „Treatment 1“

Die Probanden wurden hier in ein Gespräch über ihr Studium verwickelt, das nicht im Zusammenhang mit dem bevorstehenden Experiment stand. So bekamen sie ungefähr dasselbe Maß an sozialer Zuwendung wie die Teilnehmer der anderen Gruppen.

2.1.3.2 Induktion hoher Selbstwirksamkeitserwartungen – „Treatment 2“

Den Versuchspersonen wurde ungeachtet des tatsächlich gemessenen Schmerzschwellenwertes nahegebracht, dass sie bei der Schmerzschwellenbestimmung besonders hohe Werte erreicht hätten und aufgrund der geringen Schmerzempfindlichkeit den Plunge-Test gut bewältigen könnten.

2.1.3.3 Vermittlung einer kognitiven Copingstrategie – „Treatment 3“

Den Probanden wurde erläutert, dass sie den Schmerz dadurch kontrollieren könnten, indem sie ihre Aufmerksamkeit bewusst auf etwas anderes richteten und somit vom Schmerz weglenkten. Sie wurden in einer fünfminütigen Übung angeleitet, sich zu entspannen und Bilder von einem Ort der Ruhe und Entspannung zu imaginieren, und gebeten, diese Übung während des Plunge-Tests anzuwenden. Es wurde ihnen ferner

mitgeteilt, dass die Wirksamkeit dieser Methode bei starken Schmerzreizen noch nicht eindeutig erwiesen sei und noch daran geforscht würde.

2.1.3.4 Vermittlung einer kognitiven Copingstrategie plus Induktion hoher Selbstwirksamkeitserwartungen – „Treatment 4“

Die Versuchsteilnehmer wurden wie oben beschrieben in die kognitive Strategie zur Schmerzkontrolle eingewiesen. Allerdings wurde ihnen gesagt, dass sich diese Methode als wirksames Mittel zur Schmerzlinderung erwiesen hätte und dementsprechend eine hohe Schmerztoleranz und geringe Schmerzintensität zu erwarten seien. Außerdem wurde ihnen wie in Gruppe zwei ungeachtet des tatsächlichen Schmerzschwellenwertes erklärt, dass sie aufgrund des guten Abschneidens bei der Schmerzschwellenbestimmung den Plunge-Test gut bewältigen könnten.

2.1.4 Ablauf der Untersuchung

Die Untersuchung fand zwischen 17 und 20 Uhr statt, da die zirkadiane Rhythmik des Cortisols mit den in dieser Zeit niedrigen Werten berücksichtigt werden sollte. Es wurden insgesamt acht Speichelcortisolmessungen durchgeführt, vier präexperimentell – vier postexperimentell. Zwischen den vier Speichelproben, die vor dem Plunge-Test entnommen wurden, hatten die Teilnehmer die Möglichkeit, zur Ruhe zu kommen, so dass die Cortisolwerte sich auf einen Ruhewert einpendeln konnten. In dieser Phase erfolgte auch die Erfassung soziodemographischer Daten und die Schmerzschwellenbestimmung. Eine Schmerzreizung mittels Plunge-Test zu Beginn der Untersuchung resultierte in einer zuvor durchgeführten Pilotstudie nicht zu einer Aktivierung der HHNA, man konnte somit davon ausgehen, dass die Schmerzschwellenbestimmung in der vorliegenden Untersuchung keine weitere Auswirkung auf den Cortisol-Verlauf hat. Die Dia-Präsentation diente zur Konstanthaltung der Versuchsbedingungen. Die vierte Speichelprobe wurde kurz vor dem Plunge-Test entnommen. 20 Minuten nach dem Plunge-Test erfolgte im Abstand von je 15 Minuten die Gewinnung von vier weiteren Speichelproben. Im Rahmen der Studie wurden zu bestimmten Zeitpunkten noch weitere Parameter erhoben (wie z.B. Blutdruck, Herzfrequenz, aktuelles psychisches Befinden, Schmerzparameter), die in

die hier vorliegende Untersuchung allerdings nicht mit einbezogen wurden. Eine genaue Darstellung des Untersuchungsablaufes ist in Abbildung 7 dargestellt.

Abbildung 7: Ablauf der „Plunge-Test“-Untersuchung zum akuten Stress.

Zeit in Stunden	Speichelproben, Zeitpunkt	Interventionen
00:00		Wartezeit
00:10	1	Fragebogen Bestimmung der Schmerzschwelle
00:30	2	
		Dia-Präsentation Ruhe (lesen)
00:57	3	
		Ruhe (lesen) Einführung in experimentelle Bedingung (je nach Gruppe: Treatment 1 - 4)
01:42	4	← 2 Plunge-Tests (Schmerzreiz)
02:12	5	
02:27	6	
02:42	7	
02:57	8	

Der Speichel wurde mit einer Salivette (Sarstedt, Nümbrecht-Rommelsdorf) gesammelt, wobei eine selbständige Probengewinnung durch die Probanden möglich war. Diese wurden aufgefordert, das Zelluloseröllchen zu entnehmen, ca. 1-2 Minuten leicht zu kauen und in die Salivette zurückzugeben. Die Proben wurden bei $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ eingefroren, vor der biochemischen Analyse aufgetaut und für 10 Minuten bei 5000U/min zentrifugiert. Aus den Speichelproben wurden Cortisol- und MIF-Konzentrationen mittels ELISA-Technik bestimmt.

2.1.5 ELISA-Technik („Enzyme-linked Immunosorbent Assay“)

2.1.5.1 Cortisol-ELISA (Speichel)

Der Cortisol-ELISA ist ein kompetitiver Immunoassay, bei dem das unmarkierte Cortisol der Proben mit HRP-konjugiertem Cortisol (Meerrettich-peroxydiertem Cortisol) um eine festgelegte Anzahl Antikörperbindungsstellen konkurriert. Der Anteil des gebundenen Konjugats wird mit Chromogen sichtbar gemacht. Die optische Dichte der Lösung ist umgekehrt proportional zur Cortisolkonzentration der Proben.

Für die Durchführung des Cortisol-ELISA wurde ein Kit für Speichel-Cortisol-ELISA der Firma DRG Instruments verwendet.

Der Kit enthielt folgende Bestandteile:

- eine mit einem monoklonalen anti-Cortisol Antikörper (von der Maus) beschichtete Mikrotiter-Platte
- Cortisol-Standards in verschiedenen Verdünnungen (im Bereich von 0 bis 220,8 nmol/l)
- Mit Meerrettich-Peroxidase konjugiertes Cortisol (HRP-Cortisol-Konjugat)
- Waschlösung (25 ml – in 475 ml destilliertem Wasser zu verdünnen)
- Chromogen (TMB – 3,3´-5,5´ Tetramethylbenzidin) / Substrat (H_2O_2) Lösung
- Stop-Lösung (H_2SO_4)

Durchführung des ELISA:

Die beschichtete Mikrotiter-Platte wurde mit 50µl der Cortisol-Standards / Speichelproben beschickt und zu jedem Well 300µl HRP-Cortisol-Konjugat zugegeben. Nach Inkubation der unbedeckten Platte für 60 min bei Raumtemperatur

wurde die Platte viermal mit der Waschlösung gewaschen. 100µl der Chromogen/Substrat-Lösung wurden in jedes Well pipettiert, und die Platte bei Raumtemperatur für 15 min inkubiert. Die Reaktion wurde durch Zugabe von 100µl Stop-Lösung beendet.

Die Farbreaktion wurde bei 450nm gemessen. Über die Standarddeichkurve wurden die Konzentrationen der Proben berechnet.

2.1.5.2 MIF-ELISA (Speichel)

Zur Durchführung des MIF-ELISAs wurden folgende Materialien verwendet:

- monoklonaler „anti-human MIF“ Antikörper (0,5mg/ml; R&D Systems)
- biotinylierter „anti-human MIF“ Antikörper (50µg/ml; R&D Systems)
- MIF Standard (10ng/µl; R&D Systems)
- Blockpuffer (Super Block Blocking Buffer in TBS; Pierce)
- o-Phenylendiamin (OPD) Tabletten (Sigma)
- Streptavidin-Peroxidase-Konjugat (500U/ml; Boehringer)
- Mikrotiter-Platten (F96 Maxisorp NUNC-Immuno Plate; NalgeNUNC)
- Beschichtungspuffer: PBS pH 7,4
- Waschpuffer: PBS + 0,05% Tween
- Substratpuffer: 7,3g Citronensäure x H₂O + 9,47g Na₂HPO₄ ad 1 Liter H₂O, pH 5,0
- Stop-Lösung: 2,5N H₂SO₄

Durchführung des ELISA:

Zur Beschichtung der Mikrotiter-Platten wurde der monoklonale anti-human MIF Antikörper 1:500 in Beschichtungspuffer verdünnt, 100µl in jedes Well gegeben und über Nacht bei 4 °C inkubiert. Nach viermaligem Waschen der Platte erfolgte eine Blockung mit 200µl Blockpuffer und Inkubation für 1h bei Raumtemperatur. Nach abermals viermal Waschen wurden je 100µl der Speichelproben zugegeben und für die Standardkurve in TBS verdünnter MIF Standard zugefügt (Konzentrationsbereich: 0,39ng/ml bis 50ng/ml). Die Platte wurde bei 37 °C 30min inkubiert, viermal gewaschen und mit 100µl biotinyliertem anti-human MIF Antikörper – 1:500 in TBS verdünnt – beschickt. Die Inkubation erfolgte bei Raumtemperatur für 1h, danach wurde die Platte wieder viermal gewaschen. Das Streptavidin-Peroxidase-Konjugat

wurde 1:5000 in TBS verdünnt und 100µl der Lösung in jedes Well gegeben. Nach Inkubation für 30min bei 37 °C und viermaligem Waschen der Platte erfolgte die Zugabe von 100µl OPD-Lösung. Hierfür wurde eine 10mg Tablette OPD in 10ml Substratpuffer gelöst und 10µg H₂O₂ (30%) zugegeben. Nach Inkubation bei Raumtemperatur für 20min wurde die Reaktion mit 25µl 2,5N Stop Lösung gestoppt. Die Messung der Farbreaktion erfolgte bei 490nm. Die Konzentrationen der Proben wurden über die Standarddeichkurve berechnet.

Die optische Dichte der Lösung ist direkt proportional zur MIF-Konzentration der Proben.

2.1.6 Statistische Auswertung

Die Daten wurden mittels des Statistikprogramms SPSS (Statistical Package for Social Sciences for IBM PC Inc., Chicago – IL, USA) ausgewertet. Es wurden nachträglich Studienteilnehmer von der Auswertung ausgeschlossen aufgrund von vorzeitigem Ausscheiden aus der Studie auf eigenen Wunsch, fehlendem bzw. ungenügendem Probenmaterial, extrem hohen bzw. niedrigen Cortisol- bzw. MIF-Konzentrationen (explorative Datenanalyse, Extreme nach stem-and-leaf). Mittelwerte, Standardabweichung, Standardfehler, Median, Häufigkeiten wurden mit deskriptiver und explorativer Datenanalyse berechnet. Mittels des Kolmogorov-Smirnov-Anpassungstest wurden die Daten auf Normalverteilung überprüft. Die Berechnung des Meßwiederholungseffekts, sowie des Innersubjekteffekts (Meßwiederholung*Bedingung) und des Zwischensubjekteffekts erfolgte nach dem allgemeinen linearen Modell (ALM) mit Meßwiederholung. Die Unterschiede in den Verläufen und zwischen den Gruppen wurden mittels Kontrastberechnung und anschließender Bonferroni-Korrektur näher bestimmt. Das Signifikanzniveau wurde auf 0,05 gesetzt. Mittels Bonferroni-Korrektur soll die Alphafehler-Kumulierung bei multiplen Paarvergleichen neutralisiert werden. Bei einem Signifikanzniveau von 0,05, ergäbe sich bei Untersuchung von 10 Paarvergleichen an einem Datensatz also ein Signifikanzniveau von $p'=0,05/10$, also $p'=0,005$ nach Bonferroni-Korrektur. Die Korrelation wurde nach Pearson berechnet. Die Darstellung der Daten erfolgte in Mittelwert \pm SEM (Standardfehler).

2.2 Chronisches Stress-Paradigma bei depressiven Patienten

Die an depressiven Patienten durchgeführte Studie diente der Untersuchung, ob MIF, und Cortisol bei Patienten mit depressiver Symptomatik in anderen Konzentrationen im Vergleich zu gesunden Probanden sezerniert werden, und ob im Verlauf bei Patienten eine Veränderung der Konzentration dieser Stoffe nachweisbar ist. Dabei wurden die chronischen Veränderungen der Stressachse, die bei depressiven Patienten nachgewiesen wurden, als chronisches Stress-Paradigma genutzt.

Das Studienprotokoll der Untersuchung wurde der Ethikkommission der Philipps-Universität Marburg vorgelegt und von dieser genehmigt.

2.2.1 Probanden

Es wurden 25 Patienten untersucht, die zum Zeitpunkt der Untersuchung an einer depressiven Episode (Diagnose F32/F33 nach ICD-10; nach DSM-IV(Major Depression): 296.2/296.3) erkrankt waren, außerdem 12 gesunde Kontrollpersonen.

Die Gruppe der depressiven Patienten bestand aus 9 Frauen und 16 Männern. Das Alter der Patienten lag zwischen 26 und 78 Jahren (Mittel 55,60; SD 14,75). Die Patienten befanden sich zum Zeitpunkt der Untersuchung in stationärer Behandlung.

In der Kontrollgruppe befanden sich 7 Frauen und 5 Männer im Alter zwischen 31 und 74 Jahren (Mittel 53,25; SD 13,69).

Ausschlußkriterien bei Patienten und Kontrollpersonen waren:

- psychiatrische Vor- und Begleiterkrankungen
- Erkrankungen, die das immunologische und neuroendokrine System beeinflussen:
- akute und chronische Infektionskrankheiten
- Autoimmunerkrankungen
- endokrine Erkrankungen
- neoplastische Krankheiten
- andere schwere körperliche Erkrankungen: Herzinfarkt, Hirninfarkt, körperliche Traumata/Operationen in den letzten acht Wochen
- Schwangerschaft

- Einnahme von Cortisonpräparaten
- Abhängigkeit/Mißbrauch von Substanzen in den letzten drei Jahren
- akute Selbst- und Fremdgefährdung
- nicht zustimmungsfähige Probanden

Die Ausschlussdiagnostik erfolgte auf anamnestischer Basis.

2.2.2 Ablauf der Untersuchung

Die Patienten wurden über einen Zeitpunkt von sechs Wochen (bzw. bis zur Remission) einmal pro Woche untersucht. Zum Aufnahmezeitpunkt (Woche 1) wurde an einem Tag um 8.00 Uhr zur MIF- und Cortisol-Bestimmung eine Blutentnahme sowie eine Speichelentnahme durchgeführt. Um 13.00 Uhr und 19.00 Uhr erfolgte nochmals je eine Speichelentnahme. Außerdem wurde in einem Interview die Psychometrie erhoben. Nach 1/2/3/4 Wochen (Woche 2-5) wurde jeweils um 8.00 Uhr Speichel entnommen und die Psychometrie untersucht. In Woche 6 (bzw. bei Remission) erfolgte wie in Woche 1 um 8.00 Uhr eine Blutentnahme, Speichelentnahme um 8.00 Uhr, 13.00 Uhr und 19.00 Uhr und eine Messung der Psychometrie. In Abbildung 8 findet sich eine genaue Darstellung des Untersuchungsablaufes.

Abbildung 8: Untersuchungsablauf der Studie zum chronischen Stress.

Uhrzeit:	Woche 1 / Beginn	Woche 2 bis Woche 5	Woche 6 / Abschluß
8:00	Serum: Cortisol MIF Speichel: Cortisol MIF Psychometrie: HAMD MADRS BDI	Speichel: Cortisol MIF Psychometrie: HAMD MADRS BDI	Serum: Cortisol MIF Speichel: Cortisol MIF Psychometrie: HAMD MADRS BDI
13:00	Speichel: Cortisol MIF		Speichel: Cortisol MIF
19:00	Speichel: Cortisol MIF		Speichel: Cortisol MIF

Bei den Kontrollpersonen wurde einmalig an einem Tag um 8.00 Uhr Blut entnommen, um 8.00 Uhr , 13.00 Uhr und 19.00 Uhr Speichel gewonnen und in einem Interview die Psychometrie untersucht.

Die Psychometrie wurde mit drei für die Diagnostik depressiver Störungen gebräuchlichen Tests erhoben. Zur Fremdbeurteilung dienten die Hamilton Depression Scale (HAMD) und die Montgomery Asberg Depression Scale (MADRS). Das Becksche Depressions Inventar (BDI) war von den Patienten selbst auszufüllen. Aus den psychometrischen Tests errechnete sich jeweils eine Punktzahl (Score), nach welcher man die schwere der depressiven Symptomatik bzw. deren Verlauf beurteilen

konnte. Die maximal zu erreichende Punktzahl betrug beim HAMD 65 Punkte, beim MADRS 60 Punkte und beim BDI zwischen 63 und 126 Punkten. Die Patienten galten bei Abnahme des Punktescores von HAMD und MADRS um mindestens 50% des Ausgangswertes als remittiert.

Das Blut wurde in Citratröhrchen entnommen und daraus durch Zentrifugieren Plasma gewonnen, aus welchem MIF und Cortisol mittels ELISA bestimmt wurde.

Der Speichel wurde mit einer Salivette (Sarstedt, Nümbrecht-Rommelsdorf) gewonnen wie in Abschnitt 2.1.4. beschrieben und per ELISA-Technik MIF und Cortisol gemessen.

2.2.3 ELISA-Technik

2.2.3.1 Cortisol-ELISA (Speichel)

Der ELISA für Speichel-Cortisol wurde wie in Abschnitt 2.1.5.1 beschrieben durchgeführt.

2.2.3.2 MIF-ELISA (Speichel)

Die Durchführung des Speichel-MIF-ELISA erfolgte wie in Abschnitt 2.1.5.2 beschrieben.

2.2.3.3 Cortisol-ELISA (Serum)

Das Serum-Cortisol wurde ähnlich wie das Speichel-Cortisol mit einem Kit für Serum-Cortisol-ELISA der Firma DRG Instruments gemessen.

Der Kit enthielt folgende Bestandteile:

- eine mit einem monoklonalen anti-Cortisol Antikörper (von der Maus) beschichtete Mikrotiter-Platte
- Cortisol-Standards in verschiedenen Verdünnungen (im Bereich von 0 bis 2208 nmol/l)
- Mit Meerrettich-Peroxidase konjugiertes Cortisol (HRP-Cortisol-Konjugat)
- Waschlösung (50 ml – in 450 ml destilliertem Wasser zu verdünnen)

- Chromogen (TMB – 3,3´-5,5´ Tetramethylbenzidin) / Substrat (H₂O₂) Lösung
- Stop-Lösung (H₂SO₄)

Durchführung des ELISA:

Jedes Well der beschichteten Mikrotiter-Platte wurde mit 20µl der Cortisol-Standards / Speichelproben beschickt und jeweils 200µl HRP-Cortisol-Konjugat zugegeben. Die unbedeckten Platte wurde für 60 min bei Raumtemperatur inkubiert und danach viermal mit der Waschlösung gewaschen. Nach Zugabe von 100µl der Chromogen/Substrat-Lösung in jedes Well wurde die Platte bei Raumtemperatur für 15 min inkubiert. Die Reaktion wurde durch Zugabe von 100µl Stop-Lösung beendet.

Die Messung der Farbreaktion erfolgte bei 450nm. Über die Standardeichkurve wurden die Konzentrationen der Proben berechnet.

2.2.3.4 MIF-ELISA (Serum)

Der ELISA zur Bestimmung von Serum-MIF wurde wie der Speichel-MIF-ELISA durchgeführt (siehe Abschnitt 2.1.5.2) mit folgenden Änderungen:

- Beschichtungspuffer: Carbonat pH 9,6
- Chromogen: TMB-Substrat (Biosource)
- Streptavidin-HRP-Konjugat (Biosource)

Es wurden folgende Materialien verwendet:

- monoklonaler „anti-human MIF“ Antikörper (0,5mg/ml; R&D Systems)
- biotinylierter „anti-human MIF“ Antikörper (50µg/ml; R&D Systems)
- MIF Standard (10ng/µl; R&D Systems)
- Blockpuffer (Super Block Blocking Buffer in TBS; Pierce)
- TMB-Substrat (Biosource)
- Streptavidin-HRP-Konjugat (Biosource)
- Mikrotiter-Platten (F96 Maxisorp NUNC-Immuno Plate; NalgeNUNC)
- Beschichtungspuffer: Carbonat pH 9,6
- Waschpuffer: PBS + 0,05% Tween
- Substratpuffer: 7,3g Citronensäure x H₂O + 9,47g Na₂HPO₄ ad 1 Liter H₂O, pH 5,0
- Stop-Lösung: 2,5N H₂SO₄

Durchführung des ELISA:

Der monoklonale anti-human MIF Antikörper wurde 1:500 in Beschichtungspuffer verdünnt, zur Beschichtung der Mikrotiter-Platten 100µl in jedes Well gegeben und über Nacht bei 4 °C inkubiert. Die Platte wurde viermal gewaschen, mit 200µl Blockpuffer geblockt und für 1h bei Raumtemperatur inkubiert. Nach abermals viermal Waschen wurden je 100µl der Speichelproben zugegeben und für die Standardkurve in TBS verdünnter MIF Standard zugefügt (Konzentrationsbereich: 0,39ng/ml bis 50ng/ml). Nach Inkubation für 30 min bei 37 °C und nachfolgendem viermaligem Waschen der Platte erfolgte die Zugabe von 100µl biotinyliertem anti-human MIF Antikörper – 1:500 in TBS verdünnt. Die Platte wurde 1h bei Raumtemperatur inkubiert und danach abermals viermal gewaschen. In jedes Well wurden nun 100µl des 1:5000 in TBS verdünnten Streptavidin-HRP-Konjugates gegeben. Die Platte wurde bei 37 °C für weitere 30 min inkubiert, viermal gewaschen, und 100µl TMB-Substrat zugegeben. Nach Inkubation bei Raumtemperatur für 20min wurde die Reaktion mit 25µl 2,5N Stop Lösung gestoppt.

Die Messung der Farbreaktion erfolgte bei 490nm. Die Konzentrationen der Proben wurden über die Standarddeichkurve berechnet.

2.2.4 Statistische Auswertung

Die statistischen Berechnungen wurden ebenfalls mittels des Statistikprogramms SPSS durchgeführt (siehe Abschnitt 2.1.6), der nachträgliche Ausschluss von Studienteilnehmern aus der Auswertung erfolgte nach den in Abschnitt 2.1.6 genannten Kriterien. Unterschiede zwischen den Gruppen wurden mit Varianzanalyse (ANOVA), Mittelwertsvergleiche mit Student's t-Tests für abhängige bzw. unabhängige Stichproben durchgeführt.

3 Ergebnisse

3.1 Studie zum akuten Stress – „Plunge-Test-Studie“

Nach Ausscheiden von unsicheren Probanden (bei 19 Probanden kam es zu sogenannten „missing values“ aufgrund von fehlendem Probenmaterial, bei 3 Probanden bestanden extrem starke Schwankungen im Verlauf) blieben von den 84 Versuchspersonen noch 62 „sichere“ Kandidaten übrig, davon 28 Frauen und 34 Männer. Eine Übersicht über die Verteilung bezüglich des Geschlechts und der 4 Versuchsbedingungen ist in nachfolgender Tabelle dargestellt.

	N	Treatment 1	Treatment 2	Treatment 3	Treatment 4
Gesamtgruppe	62	17	15	17	13
Männer	34	10	8	9	7
Frauen	28	7	7	8	6

Tabelle 5: Verteilung der Probanden nach Geschlecht und Versuchsbedingung („Treatment“). Die Versuchsbedingungen hierbei waren (siehe auch Abschnitt 2.1.3):

Treatment 1: Kontrollbedingung

Treatment 2: Induktion hoher Selbstwirksamkeitserwartungen

Treatment 3: Vermittlung einer kognitiven Copingstrategie

Treatment 4: Induktion hoher Selbstwirksamkeitserwartungen plus Vermittlung einer kognitiven Copingstrategie

Die Konzentrationen für MIF im Speichel lagen zwischen 0,01ng/ml als niedrigstem Wert und 53,33ng/ml als höchstem Wert.

Für Speichel-Cortisol lagen die Konzentrationen zwischen 0,01ng/ml und 14,36ng/ml.

Sowohl MIF- als auch Cortisolwerte waren nach Überprüfung mittels Kolmogorov-Smirnov-Anpassungstest normalverteilt.

3.1.1 Cortisol im Verlauf

Im allgemeinen linearen Modell (ALM) mit Meßwiederholung zeigte sich ein signifikanter Effekt in der Gesamtgruppe im Cortisol-Verlauf (Innersubjekteffekt: $p < 0,005$). Dieser Effekt beruht auf einem signifikanten Cortisol-Anstieg nach dem Plunge-Test (Zeitpunkt 5 und 6) im Vergleich zu vorher (Zeitpunkt 3 ($p < 0,05$) und 4 ($p < 0,001$)), außerdem fand sich zwischen Zeitpunkt 6 und Zeitpunkt 7 und 8 ein signifikanter Rückgang der Cortisol-Reaktion ($p < 0,05$; siehe Abbildung 9).

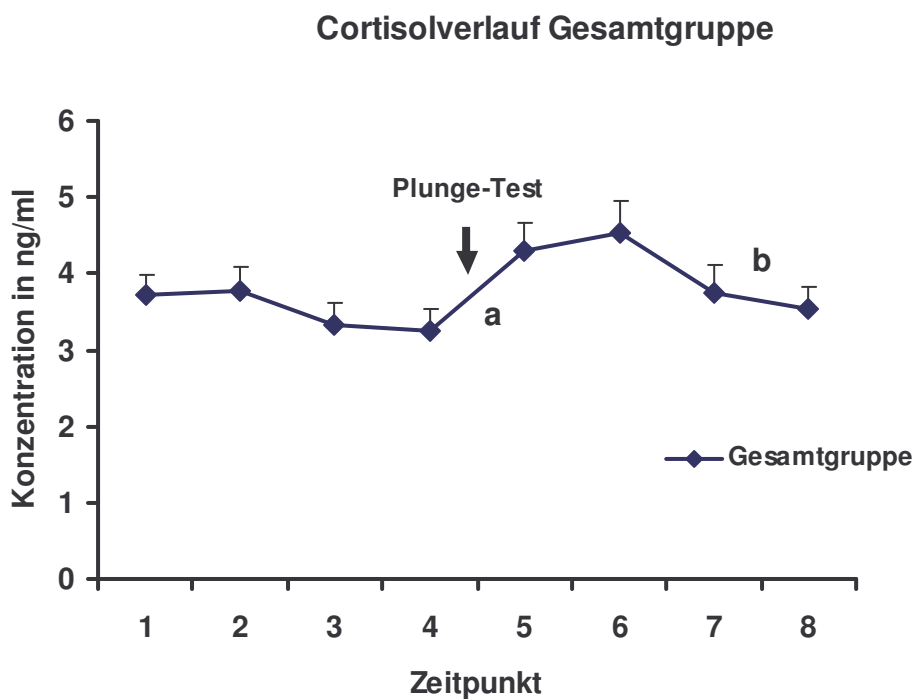


Abbildung 9: Cortisolverlauf in der Gesamtgruppe nach Bonferroni-Korrektur:

- a) Stress-Reaktion in der Gesamtgruppe: Zp 3 vs Zp 5+6 ($p < 0,05$), Zp 4 vs Zp 5 + 6 ($p < 0,001$).
- b) Zp 7 + 8 vs Stress-Reaktion Zp 6 ($p < 0,05$).

Betrachtet man die 4 Treatment-Gruppen im Vergleich, so fand man keine signifikanten Unterschiede in der Cortisolreaktion bezüglich der vier verschiedenen kognitiven Behandlungen (Innersubjekteffekt: $p=0,45$; Zwischensubjekteffekt: $p=0,68$; siehe auch Zimmer, C. 2000). Daher kann man die Daten in der vorliegenden Untersuchung unabhängig der vier kognitiven Treatments betrachten (siehe Abbildung 10).

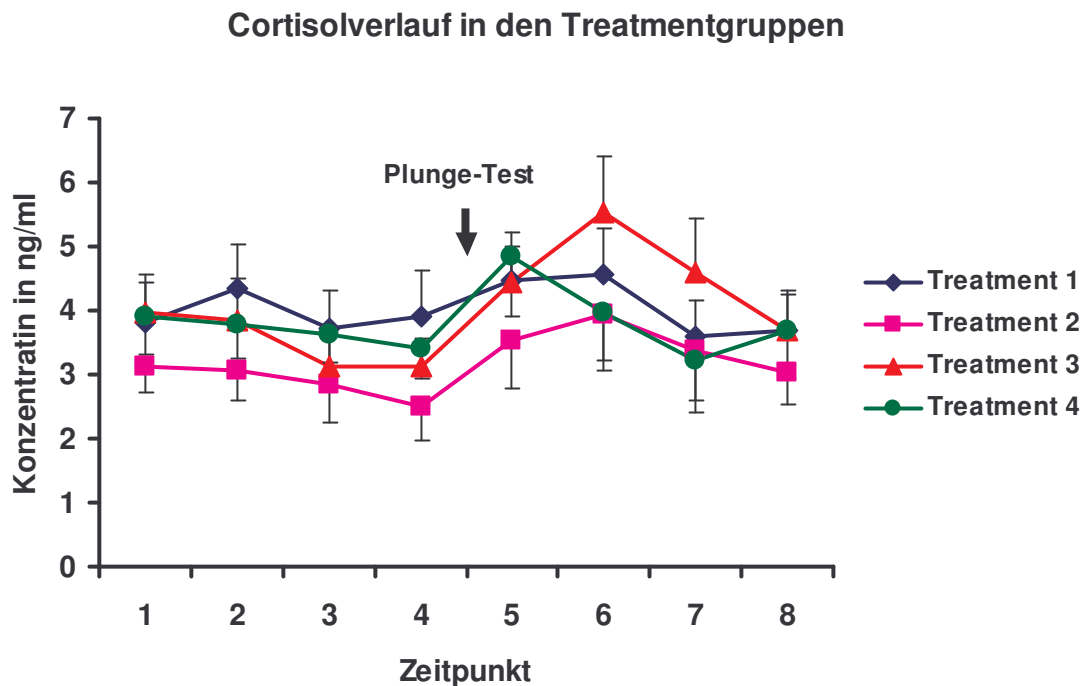


Abbildung 10: Bezüglich der 4 Treatment-Gruppen ergab sich kein signifikanter Unterschied im Cortisolverlauf (ALM mit Meßwiederholung, Innersubjekteffekt: $p=0,45$).

Auch zwischen Männern und Frauen fand sich kein signifikanter Unterschied im Cortisol-Verlauf (Innersubjekteffekt: $p=0,39$; Zwischensubjekteffekt: $p=0,82$), wobei bei Frauen deskriptiv eine insgesamt verzögerte Cortisolreaktion nach Stressreiz sowie ein konsekutiver langsamerer Abfall der Cortisol-Konzentration als bei Männern auffiel, dies ist doch lediglich eine Tendenz und somit nicht signifikant (siehe Abbildung 11).

Cortisolverlauf in den Geschlechtergruppen

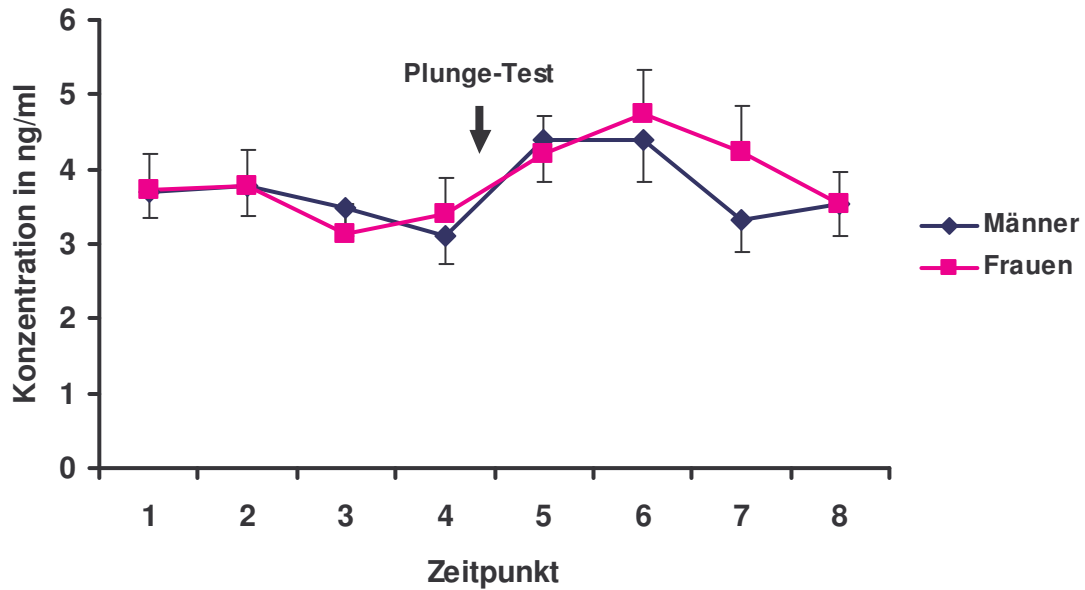


Abbildung 11: Das Cortisol zeigte keinen signifikant unterschiedlichen Verlauf zwischen Männern und Frauen im ALM (Innersubjekteffekt: $p=0,39$).

3.1.2 MIF im Verlauf

Im allgemeinen linearen Modell mit Meßwiederholung zeigte sich für MIF ein Trend im Verlauf der Gesamtgruppe (Innersubjekteffekt: $p=0,08$), der auf einem Anstieg der MIF Konzentration zwischen Zeitpunkt 3 und 4, also prästressorisch, beruht ($p<0,05$; siehe Abbildung 12).

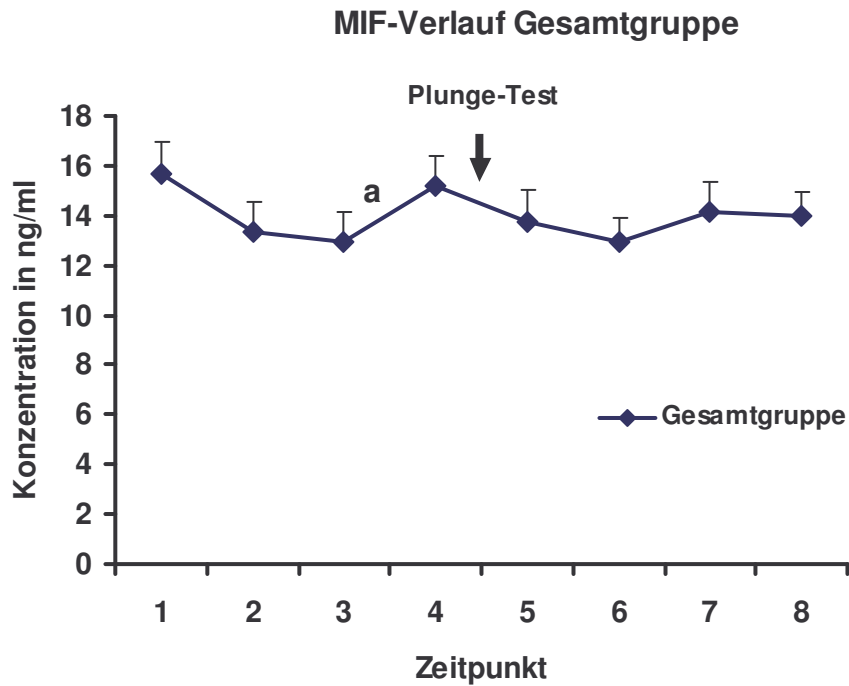


Abbildung 12: MIF-Verlauf in der Gesamtgruppe nach Bonferroni-Korrektur:

a) Prästressorischer MIF-Peak: Zp 3 vs Zp 4 ($p < 0,05$).

Bezüglich der Interaktion mit den 4 Treatments (Meßwiederholungsfaktor*treatment) fand sich kein signifikanter Unterschied im MIF-Verlauf, jedoch ebenfalls ein Trend (Innersubjekteffekt: $p = 0,08$; siehe Abbildung 13).

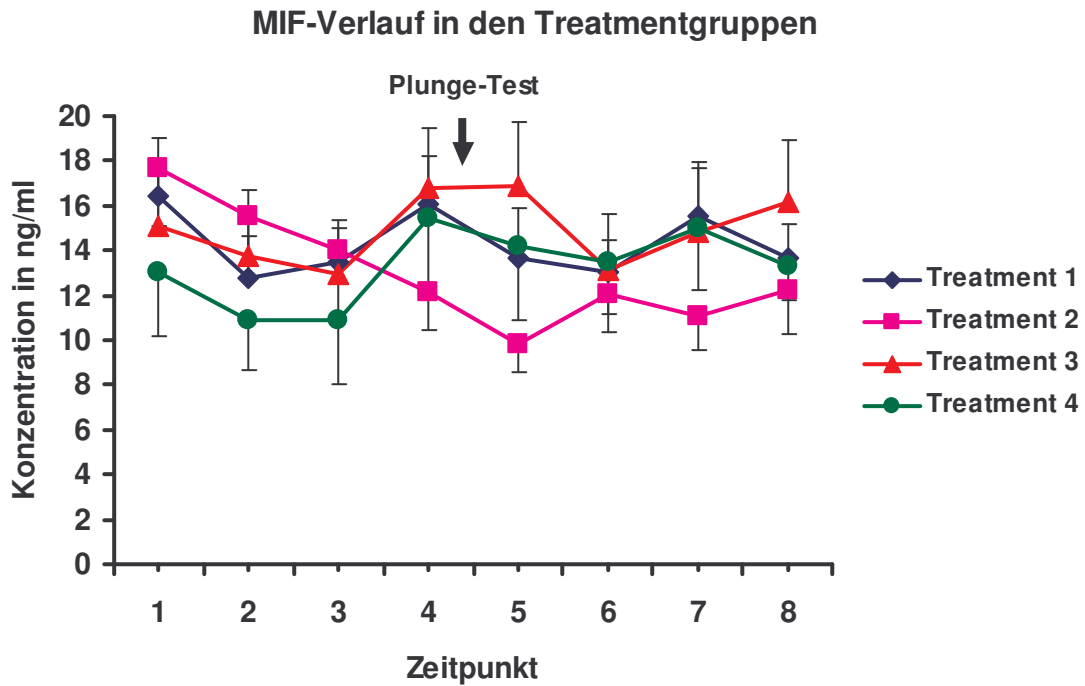


Abbildung 13: Es zeigte sich kein signifikanter Unterschied zwischen den vier Treatmentgruppen bezüglich des MIF-Verlaufes, jedoch ein Trend (ALM mit Meßwiederholung, Innersubjekteffekt: $p=0,08$).

Männer und Frauen zeigten keinen signifikant unterschiedlichen Verlauf der MIF-Konzentration (Innersubjekteffekt: $p=0,32$; Zwischensubjekteffekt: $p=0,73$: siehe Abbildung 14).

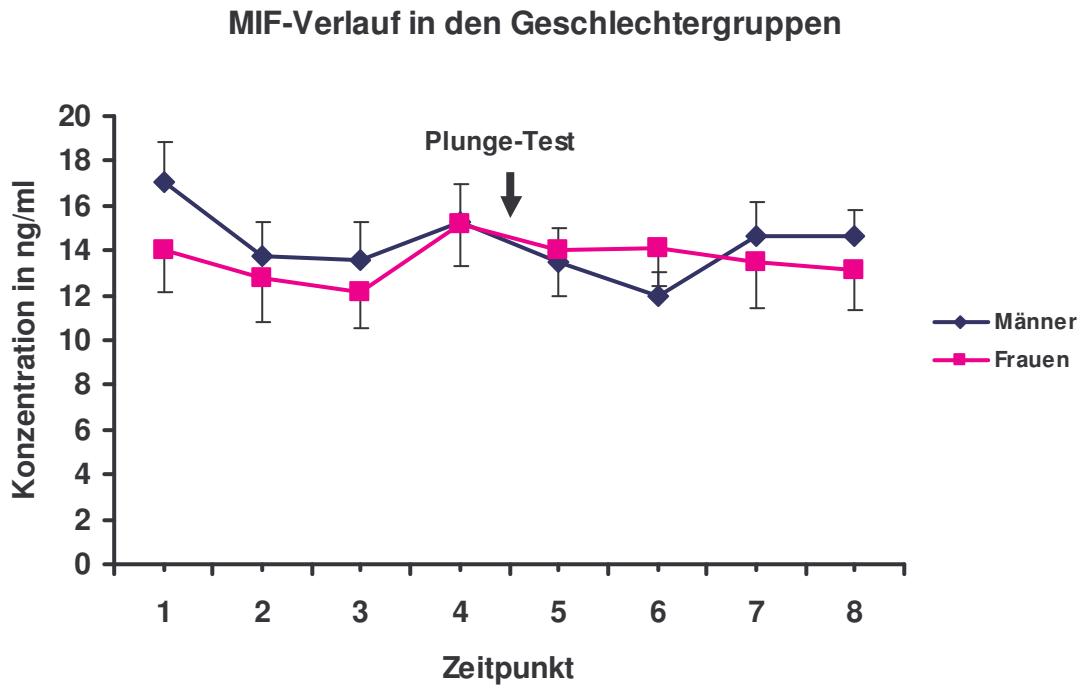


Abbildung 14: Männer und Frauen zeigten keinen signifikanten Unterschied im MIF-Verlauf (ALM mit Meßwiederholung, Innersubjekteffekt: $p=0,32$).

3.1.3 Cortisol- und MIF-Verlauf bei „low-“ und „high-cortisol-respondern“

Die Cortisol-Reaktion wurde definiert als Differenz zwischen dem Mittelwert der vier poststressorischen Cortisolwerte (Zeitpunkt 5 bis 8) und dem Mittelwert der vier prästressorischen Werte (Zeitpunkt 1 bis 4), sog. „Cortisol-Baseline“. Die Einteilung in „low-“ bzw. „high-cortisol-responders“ bezüglich der Cortisol-Reaktion auf den Stressreiz „Plunge-Test“ erfolgte am Median der Cortisol-Reaktion, d.h. durch die Methode der Dichotomisierung. Es ergaben sich jeweils zwei gleich große Gruppen. Neben der Gesamtgruppe wurden Männer und Frauen jeweils separat betrachtet. Die folgende Tabelle stellt Median und Einteilung der Gruppen dar.

	Gesamtgruppe	Männer	Frauen
N	62	34	28
Median der Cortisol-Reaktion in ng/ml	0,12	-0,77	0,24
N nach Einteilung am Median	31/31	17/17	14/14

Tabelle 6: Median der Cortisol-Reaktion und jeweilige Gruppengröße vor und nach Dichotomisierung.

Sowohl in der Gesamtgruppe als auch bei Männern und Frauen zeigte sich ein hochsignifikanter Unterschied im Cortisolverlauf zwischen „low-cortisol-responders“ und „high-cortisol-responders“ (ALM mit Messwiederholung, Innersubjekteffekte jeweils $p < 0,001$). So zeigte die Gruppe der „high-cortisol-responders“ jeweils eine deutliche Cortisolantwort nach Schmerzstressor, während die „low-cortisol-responders“ sogar eher im Verlauf leicht abfallende Cortisolkonzentrationen aufwiesen. Abbildung 15 zeigt den Cortisolverlauf in der Gesamtgruppe, bei Männern und Frauen ergaben sich vergleichbare Verläufe.

Cortisolverlauf bei low-/high-cortisol-responders - Gesamtgruppe

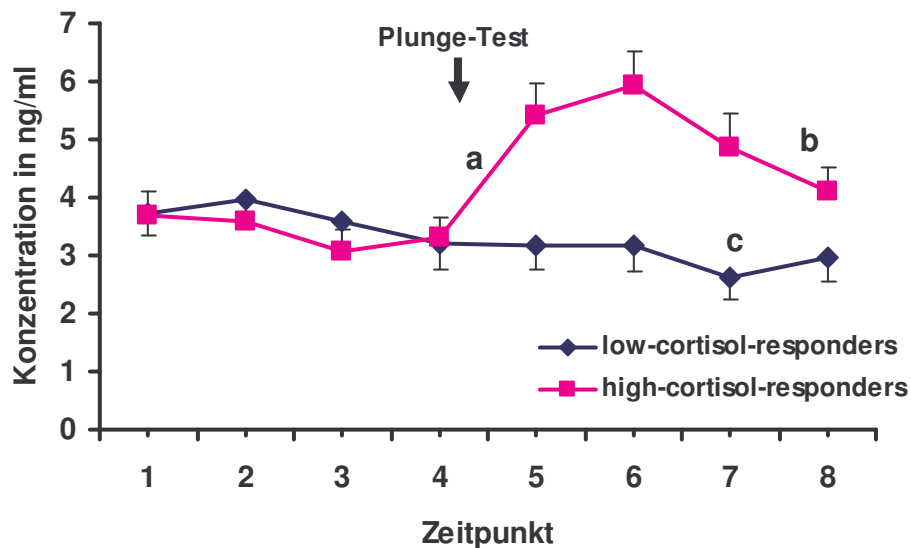


Abbildung 15: Cortisolverlauf dichotomisiert nach „Cortisol-Response“ in der Gesamtgruppe nach Bonferroni-Korrektur (Innersubjekteffekt im ALM hochsignifikant ($p < 0,001$)):

- a) Stress-Reaktion bei den „high-cortisol-responders“: Zp 1 vs Zp 5 ($p < 0,05$), Zp 1 vs. Zp 6 und Zp 2–4 vs. Zp. 5+6 ($p < 0,001$).
- b) Poststressorischer Cortisol-Abfall bei „high-cortisol-responders“: Zp 6 vs Zp 8 ($p < 0,001$).
- c) Abfall der Cortisol-Konzentration bei „low-cortisol-responders“: Zp 1+2 vs Zp 7+8 und Zp 3 vs Zp 7 ($p < 0,01$).

Bei Betrachtung der MIF Konzentration im Verlauf bei Probanden mit starker bzw. schwacher Cortisol-Reaktion auf Stress fand sich kein signifikanter Unterschied im Verlauf und zwischen „high“- und „low-cortisol-responders“, sowohl in der Gesamtgruppe (ALM mit Meßwiederholung, Innersubjekteffekt: $p = 0,45$; Zwischensubjekteffekt: $p = 0,19$) als auch bei Männern (Innersubjekteffekt: $p = 0,17$; Zwischensubjekteffekt: $p = 0,17$) und Frauen (Innersubjekteffekt: $p = 0,35$; Zwischensubjekteffekt: $p = 0,71$) getrennt. In Abbildung 16 ist der MIF-Verlauf in der

Gesamtgruppe dargestellt, für Männer und Frauen ergaben sich jeweils vergleichbare Verläufe.

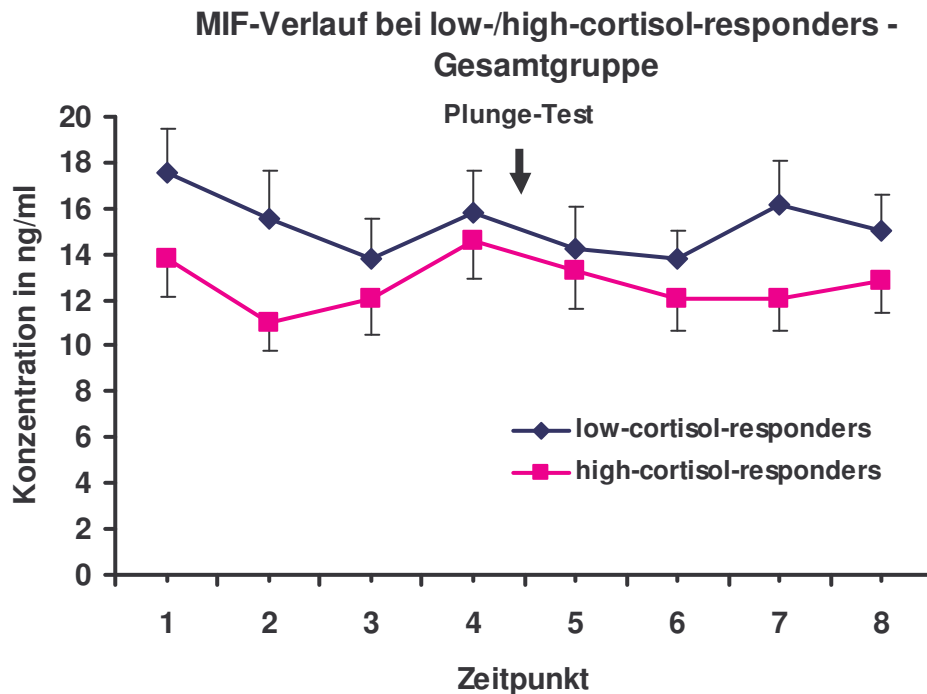


Abbildung 16: In der Gesamtgruppe zeigte sich kein signifikanter Unterschied bezüglich des MIF-Verlaufes bei „high-“ und „low-cortisol-responders“ (ALM mit Meßwiederholung, Innersubjekteffekt: $p=0,45$).

3.1.4 MIF und Cortisol im Verlauf bei „low“- und „high-MIF-secretors“

Bei den Probanden konnte man zwei Gruppen bezüglich der MIF-Sekretion unterscheiden – Personen mit insgesamt hohem MIF – „high MIF-secretors“ - und solche mit niedrigem MIF – „low MIF-secretors“.

Als sog. MIF-Baseline wurde der Mittelwert der ersten drei prästressorischen Werte (Zeitpunkt 1-3) zu Grunde gelegt (also vor dem MIF-Anstieg zu Zeitpunkt 4).

Die beiden Gruppen wurden nach dem Median der Baseline dichotomisiert – für die MIF-Baseline in der Gesamtgruppe lag der Median bei 14,28ng/ml. Männer und Frauen wurden jeweils noch einmal separat betrachtet (siehe Tabelle 7).

	Gesamtgruppe	Männer	Frauen
N	62	34	28
Median der MIF-Baseline in ng/ml	14,28	14,96	12,42
N nach Einteilung am Median	31/31	17/17	14/14

Tabelle 7: Median der MIF-Baseline und jeweilige Gruppengröße vor und nach Dichotomisierung.

Sowohl die einfaktorielle Varianzanalyse als auch das ALM mit Meßwiederholung erbrachte einen hoch signifikanten Unterschied zwischen den beiden Gruppen (Zwischensubjekteffekt, $p < 0,001$), d.h. die „high-MIF-secretors“ wiesen über den gesamten Verlauf signifikant höhere MIF-Konzentrationen als die „low-MIF-secretors“ auf.

Betrachtet man das MIF im Verlauf, so fand man in der Gesamtgruppe einen signifikanten Anstieg zum Zeitpunkt 4 (siehe oben). Im ALM mit Meßwiederholung zeigte sich auch ein signifikanter Unterschied in der Interaktion Meßwiederholungsfaktor MIF*MIF-Baseline (Innersubjekteffekt: $p < 0,01$).

Bei den „low-MIF-secretors“ fand man einen deutlichen MIF-Peak zum Zeitpunkt 4 (Zeitpunkt 2 + 3 versus Zeitpunkt 4: $p < 0,05$; Zeitpunkt 4 versus Zeitpunkt 5: $p < 0,05$). Bei den „high-MIF-secretors“ war dieser Peak nicht nachweisbar, hingegen fiel das MIF zwischen Zeitpunkt 1 und Zeitpunkt 6 und 8 signifikant ab ($p < 0,01$).

In Abbildung 17 ist der MIF-Verlauf bei Dichotomisierung in „low-“ und „high-MIF-secretors“ in der Gesamtgruppe dargestellt. Vergleichbare MIF-Verläufe ergaben sich auch bei separater Betrachtung von Männern und Frauen.

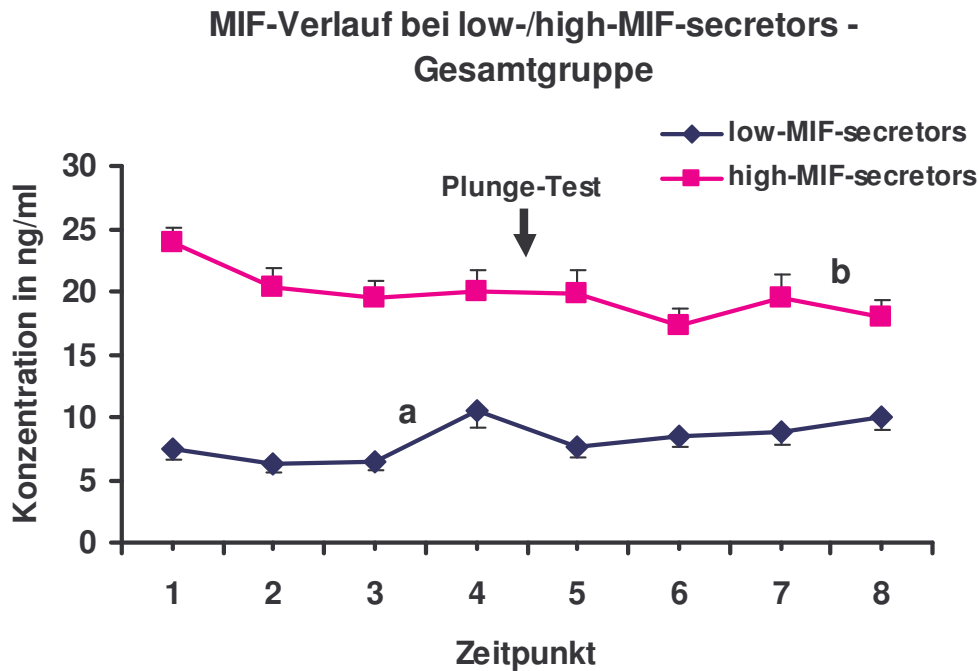


Abbildung 17: MIF-Verlauf in der Gesamtgruppe nach Bonferroni-Korrektur dichotomisiert nach MIF-Baseline-Konzentration:

- a) Prästressorischer MIF-Peak bei „low-MIF-secretors“: Zp 3 vs Zp 4 ($p < 0,01$), Zp 4 vs Zp 5 ($p < 0,05$).
- b) Abfall der MIF-Konzentration bei „high-MIF-secretors“: Zp 1 vs Zp 6 + 8 ($p < 0,01$).

Im Folgenden wurde die Stressreaktion von Cortisol in Abhängigkeit von der MIF-Konzentration betrachtet.

Das allgemeine lineare Modell mit Meßwiederholung ergab für die Gesamtgruppe (N=62) einen signifikanten Effekt im zeitlichen Verlauf (siehe oben). Bei Betrachtung der „low-“ und „high-MIF-secretors“ im Vergleich fand man einen deutlichen tendenziellen Unterschied zwischen den Gruppen bezüglich des Verlaufs (Messwiederholungsfaktor (Cortisol)*Gruppenfaktor (MIF-Baseline), Cortisolverlauf*MIF-Baseline, Innersubjekteffekt: $p=0,069$).

Bei den „low-MIF-secretors“ zeigte sich ein signifikanter Anstieg der Cortisol-Konzentration zwischen Zeitpunkt 1 und 6, Zeitpunkt 2 und Zeitpunkt 5 und 6 und zwischen Zeitpunkt 4 und 5 (jeweils $p < 0,05$), also unmittelbar nach dem Plunge-Test. Desweiteren fand sich ein Cortisol-Abfall von Zeitpunkt 6 zu Zeitpunkt 8 ($p < 0,05$).

Bei den „high-MIF-secretors“ fand man lediglich einen schwachen Cortisol-Anstieg nach Stress (zwischen Zeitpunkt 4 und Zeitpunkt 5: $p < 0,05$), hingegen beobachtete man

einen signifikanten Abfall der Cortisolkonzentration zwischen Zeitpunkt 1 und 4 – also in der Cortisol-Baseline (Cortisol zu Zeitpunkt 1 signifikant höher als zum Zeitpunkt 4, zum Zeitpunkt 2 signifikant höher als zu den Zeitpunkten 3 und 4 ($p < 0,05$), Abbildung 18A).

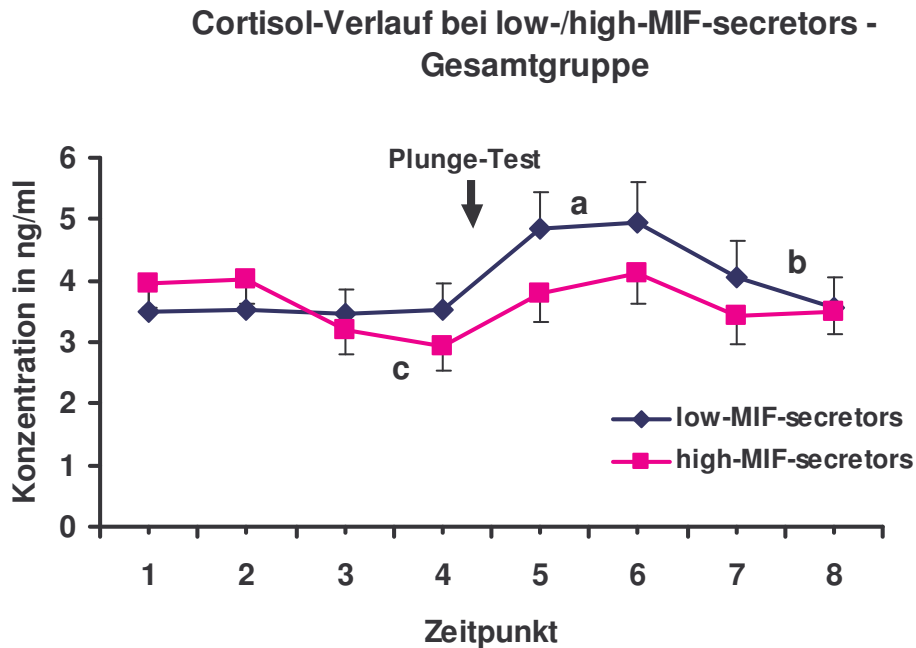


Abbildung 18A: Cortisolverlauf in der Gesamtgruppe nach Bonferroni-Korrektur dichotomisiert nach MIF-Baseline-Konzentration:

- a) Stress-Reaktion bei „low-MIF-secretors“: Zp 1 vs Zp 6, Zp 2 vs Zp 5 + 6, Zp 4 vs Zp 5 ($p < 0,05$).
- b) Zp 8 vs Stress-Reaktion Zp 6 ($p < 0,05$).
- c) Cortisol-Baseline-Abfall bei „high-MIF-Secretors“: Zp 1 vs Zp 4, Zp 2 vs Zp 3 + 4 ($p < 0,01$); Stress-Reaktion: Zp 4 vs Zp 5 ($p < 0,05$).

Bei separater Betrachtung der Geschlechtergruppen zeigte sich bei den Männern ein signifikanter Unterschied im Cortisol-Verlauf zwischen „low-“ und „high-MIF-secretors“ (ALM mit Meßwiederholungsfaktor, Innersubjekteffekt: $p < 0,05$). In der Gruppe der „low-MIF-secretors“ fand sich ein Anstieg der Cortisolkonzentration nach Schmerzstressor (zwischen Zeitpunkt 3 und Zeitpunkt 5 ($p < 0,05$) und Zeitpunkt 4 und Zeitpunkt 5 ($p < 0,01$)) sowie ein Rückgang der Stress-Reaktion (zwischen Zeitpunkt 5 und Zeitpunkt 8 ($p < 0,05$)). Bei den „high-MIF-secretors“ beobachtete man keine

signifikante Cortisolreaktion auf den Schmerzstressor, dagegen zeigte sich hier ein deutlicher Abfall der Cortisol-Baseline (Zeitpunkt 1 bis 4) (Cortisol zum Zeitpunkt 1 und 2 signifikant höher als zum Zeitpunkt 4; $p < 0,01$; Abbildung 18B).

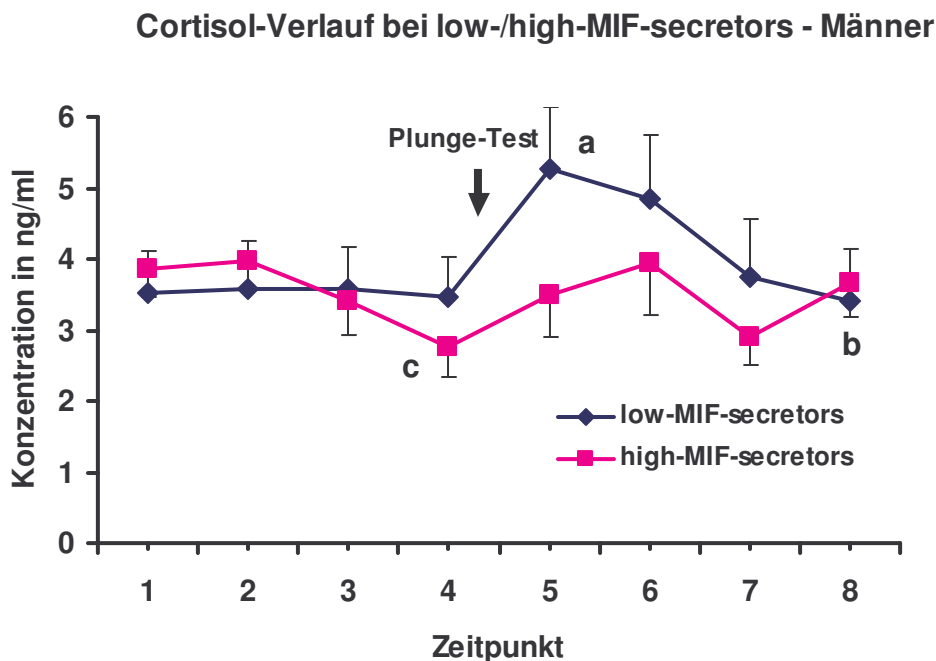


Abbildung 18B: Cortisol-Verlauf bei den Männern nach Bonferroni-Korrektur dichotomisiert nach MIF-Baseline-Konzentration:

- a) Signifikante Stressreaktion bei „low-MIF-secretors“: Zp 3 vs Zp 5 ($p < 0,05$), Zp 4 vs Zp 5 ($p < 0,01$).
- b) Zp 8 vs Stress-Reaktion Zp 5 ($p < 0,05$).
- c) Abfall der Cortisol-Baseline bei „high-MIF-secretors“: Zp 1 + 2 vs Zp 4 ($p < 0,01$).

Bei den Frauen zeigte sich keine Signifikanz zwischen den Gruppen bezüglich der MIF-Sekretion (Messwiederholungsfaktor (Cortisol)*Gruppenfaktor (MIF-Baseline), Innersubjekteffekt: $p = 0,70$).

In der Kontrastberechnung nach Bonferroni-Korrektur fand sich bei den „high-MIF-secretors“ ein signifikanter Abfall in der Cortisol-Baseline zwischen Zeitpunkt 2 und Zeitpunkt 3 ($p < 0,05$), bei den „low-MIF-secretors“ ein Cortisol-Anstieg nach Stress zwischen Zeitpunkt 5 und Zeitpunkt 6 ($p < 0,05$), Abbildung 18C.

Cortisol-Verlauf bei low-/high-MIF-secretors - Frauen

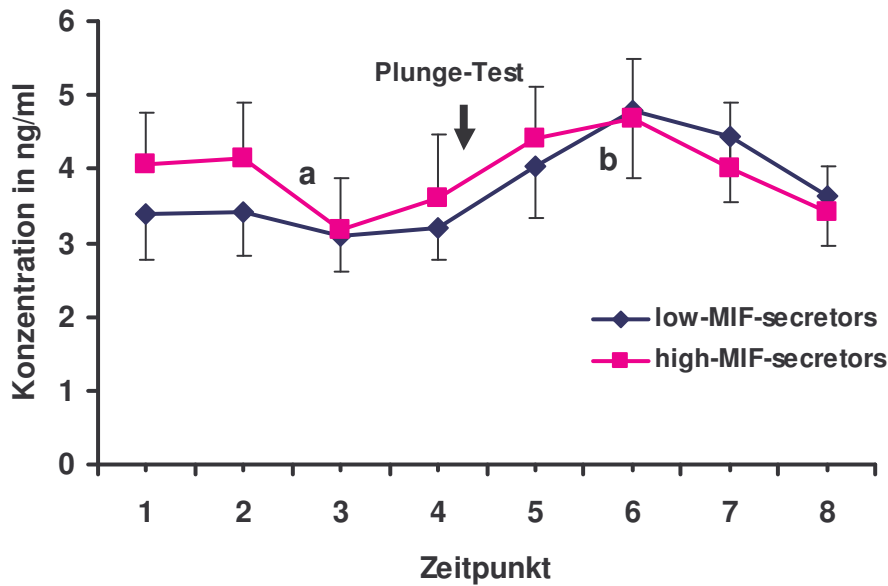


Abbildung 18C: Cortisolverlauf bei den Frauen nach Bonferroni-Korrektur dichotomisiert nach MIF-Baseline-Konzentration:

- a) Abfall der Cortisol-Baseline bei „high-MIF-secretors“: Zp 2 vs Zp 3 ($p < 0,05$).
- b) Cortisol-Anstieg nach Stress bei „low-MIF-secretors“: Zp 5 vs Zp 6 ($p < 0,05$).

3.1.5 MIF und Cortisol im Verlauf bei „low-“ und „high-cortisol-secretors“

Die Cortisol-Baseline ergab sich aus dem Mittelwert der vier prästressorischen Cortisol-Konzentrationen (Zeitpunkt 1 – 4). Durch Dichotomisierung am Median der Cortisol-Baseline konnte man „low-“ und „high-cortisol-secretors“ unterscheiden. Der Cortisolverlauf unterschied sich hochsignifikant zwischen „low-“ und „high-cortisol-secretors“ sowohl in der Gesamtgruppe als auch bei Männern und Frauen separat (ALM mit Meßwiederholung, Zwischensubjektfaktor: $p < 0,001$), „low-cortisol-secretors“ wiesen durchgängig niedrigere Cortisol-Konzentrationen auf als „high-cortisol-secretors“. Abbildung 19 zeigt den Cortisolverlauf bei „low-“ und „high-cortisol-secretors“ in der Gesamtgruppe, Männer und Frauen wiesen vergleichbare Verläufe auf.

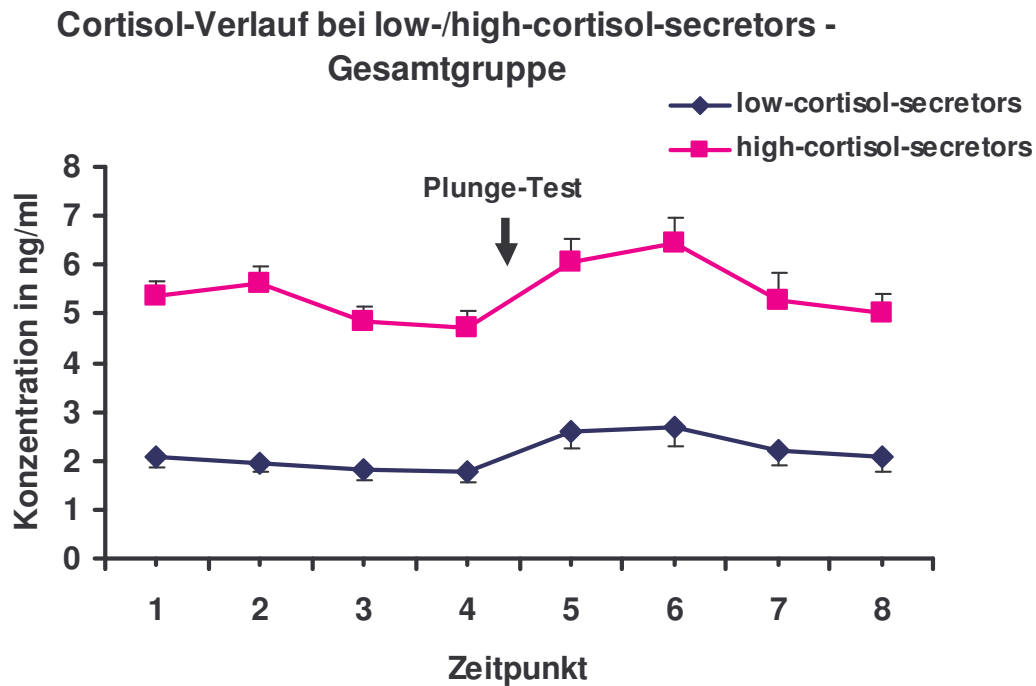


Abbildung 19: Cortisolverlauf dichotomisiert nach Cortisol-Baseline-Konzentration in der Gesamtgruppe nach Bonferroni-Korrektur (Zwischensubjekteffekt im ALM: $p < 0,001$).

Bei Betrachtung des MIF im ALM zeigte sich kein signifikanter Verlaufs-Unterschied zwischen „low-“ und „high-Cortisol-secretors“ in allen drei Gruppen – Gesamtgruppe (Innersubjekteffekt: $p=0,79$; Zwischensubjekteffekt: $p=0,45$), Männer (Innersubjekteffekt: $p=0,91$; Zwischensubjekteffekt: $p=0,71$) und Frauen (Innersubjekteffekt: $p=0,33$; Zwischensubjekteffekt: $p=0,39$). In Abbildung 20 ist der MIF-Verlauf bei „low-“ und „high-cortisol-secretors“ in der Gesamtgruppe dargestellt, für Männer und Frauen ergaben sich vergleichbare Verläufe.

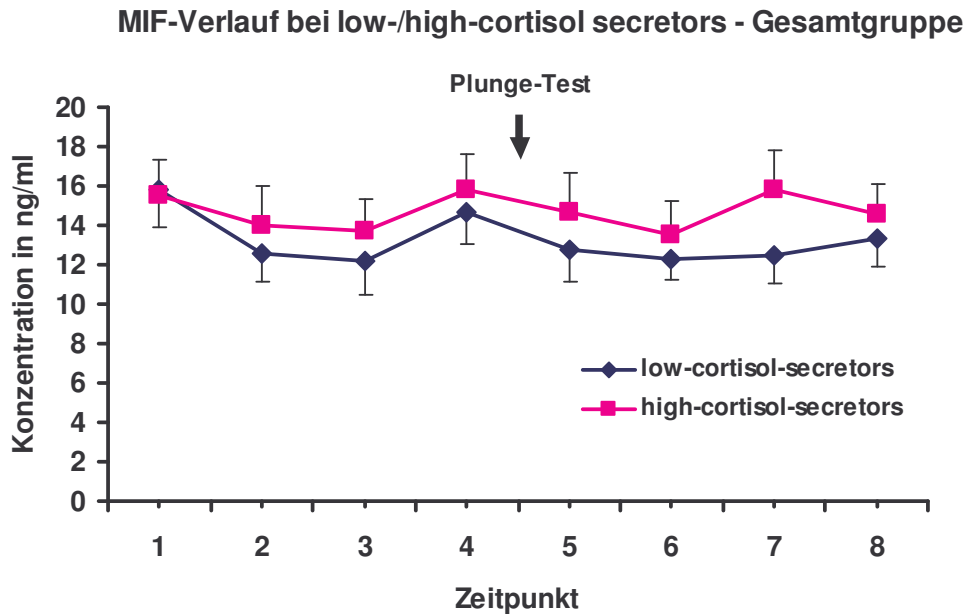


Abbildung 20: MIF-Verlauf dichotomisiert nach Cortisol-Baseline-Konzentration in der Gesamtgruppe nach Bonferroni-Korrektur, keine Signifikanz im ALM (Innersubjekteffekt: $p=0,79$; Zwischensubjekteffekt: $p=0,45$).

3.1.6 Korrelation zwischen Cortisol-Reaktion und MIF-Baseline

Im Folgenden wurde die Cortisol-Reaktion (Differenz zwischen den vier poststressorischen Cortisolwerten (Zeitpunkt 5 bis 8) und der Cortisol-Baseline (Zeitpunkt 1 bis 4)) mit der MIF-Baseline (Mittelwert Zeitpunkt 1 bis 3) korreliert. In der Gesamtgruppe fand sich eine signifikante negative Korrelation ($r = -0,273$; $p < 0,05$). Das heißt je niedriger die MIF-Baseline war, desto stärker fiel die Cortisol-Reaktion aus. Dieser Zusammenhang zeigte sich auch bei der Untergruppe der Männer ($r = -0,387$; $p < 0,05$), jedoch nicht in der Untergruppe der Frauen ($r = -0,179$; $p = 0,36$), siehe Abbildung 21A-C.

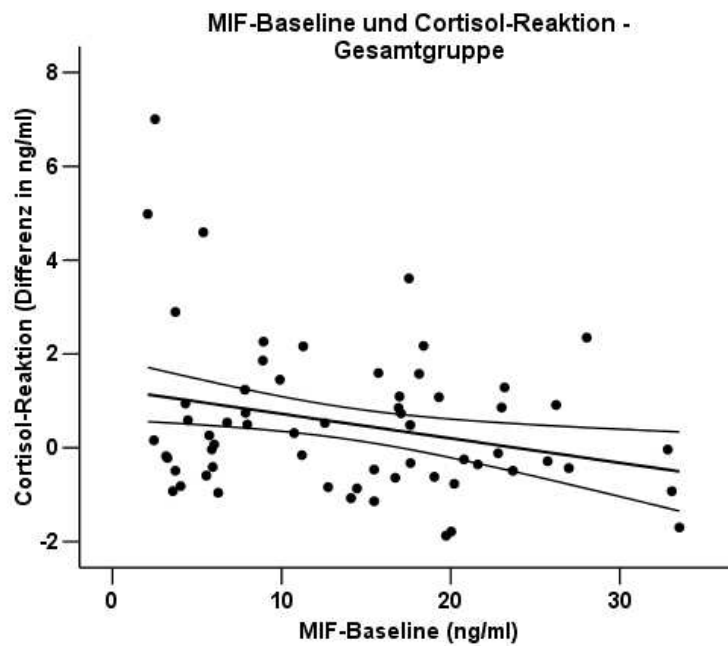


Abbildung 21A: Negative Korrelation zwischen Cortisol-Reaktion und MIF-Baseline-Konzentration in der Gesamtgruppe ($r = -0,273$; $p < 0,05$).

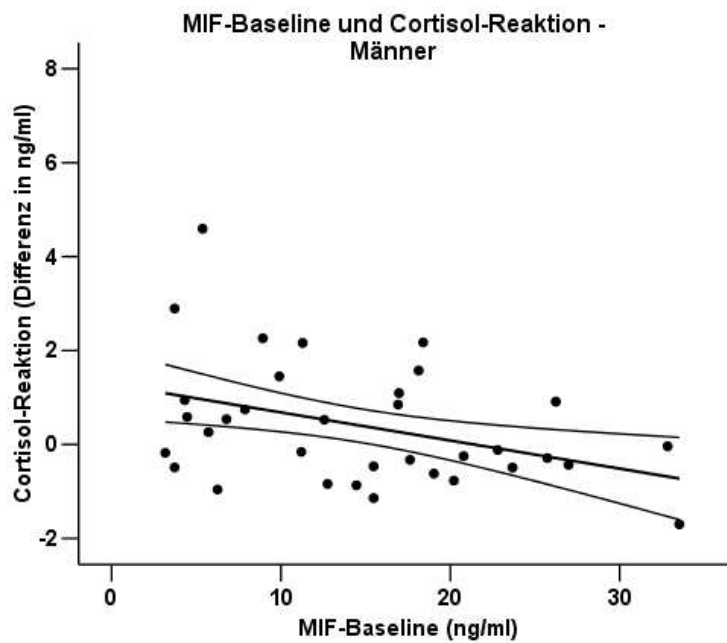


Abbildung 21B: Negative Korrelation zwischen Cortisol-Reaktion und MIF-Baseline-Konzentration bei den Männern ($r = -0,387$; $p < 0,05$).

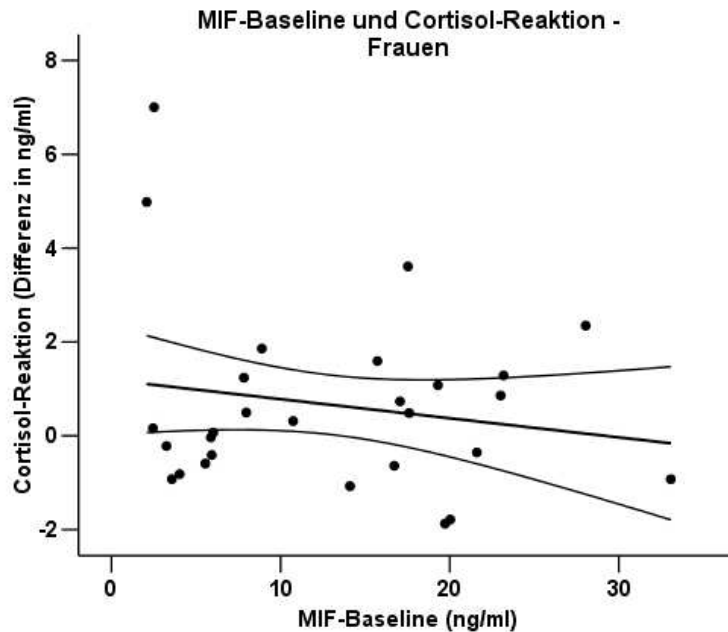


Abbildung 21C: Kein Zusammenhang zwischen Cortisol-Reaktion und MIF-Baseline-Konzentration bei Frauen ($r = -0,179$; $p=0,362$).

3.1.7 Korrelation zwischen Cortisol-Baseline-Abfall und MIF-Baseline-Konzentration

Der Abfall der Cortisol-Baseline wurde definiert als Differenz zwischen dem Mittel des 3.+4. prästressorischen Cortisolwertes und dem Mittel des 1.+2. Cortisolwertes und mit der MIF-Baseline korreliert.

Es fand sich in allen drei Gruppen keine signifikante Korrelation, jedoch war bei den Männern ein deutlicher Trend zu einem negativen Zusammenhang zu erkennen ($r = -0,311$; $p=0,073$), d.h. je höher die MIF-Baseline desto stärker der Abfall der Cortisol-Baseline (Abbildung 22).

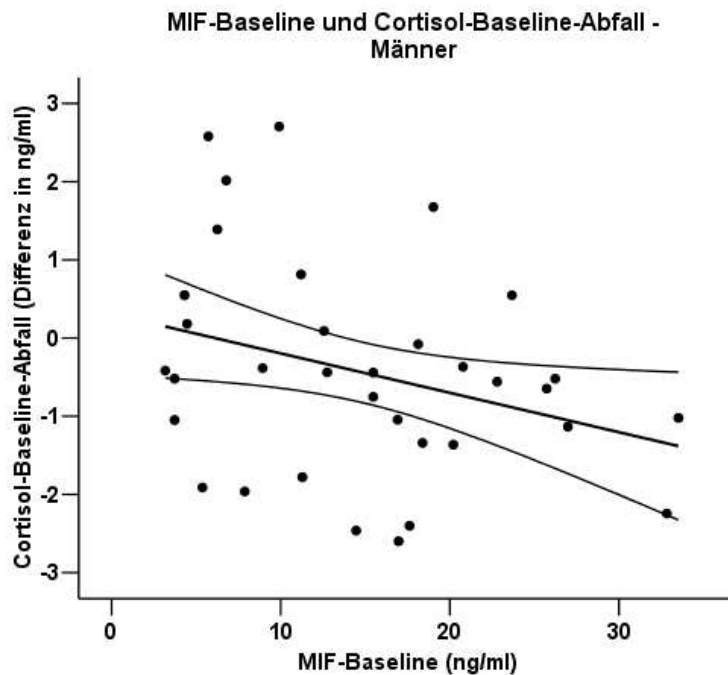


Abbildung 22: Tendenziell negative Korrelation zwischen dem Abfall der Cortisol-Baseline und der MIF-Baseline-Konzentration bei den Männern ($r = -0,311$; $p=0,073$).

3.2 Chronisches Stress-Paradigma bei depressiven Patienten

3.2.1 Studienteilnehmer

Von den Patienten fielen drei aus der Auswertung heraus – einer hatte die Studie nach zwei Wochen abgebrochen, bei einem konnten überhaupt nur zu einem einmaligen Zeitpunkt Daten erhoben werden, ein dritter Patient wurde, wie auch eine Kontrollperson, aufgrund stark erhöhter Cortisolwerte aus den Berechnungen herausgenommen (explorative Datenanalyse, Extreme nach stem-and-leaf). Es blieben somit 22 Patienten übrig sowie 11 Kontrollpersonen. Die Geschlechter waren in beiden Gruppen ausgewogen verteilt (keine Signifikanz im Chi-Quadrat-Test), Patienten und Kontrollpersonen unterschieden sich nicht bezüglich des Alters (Student's t-Test), in der Patientengruppe waren die Punktescores aller drei psychopathometrischen Tests deutlich höher als bei den Kontrollpersonen (Tabelle 8).

	Patienten (N=22)	Kontrollpersonen (N=11)	Student's t-Test
Geschlecht	9w / 13m	6w / 5m	n.s. (Chi-Quadrat)
Alter	55,59 (SD: 13,97)	52,82 (SD: 14,28)	n.s.
HAMD Beginn	20,77 (SD: 5,26)	0,55 (SD: 0,69)	p<0,001
MADRS Beginn	25,27 (SD: 7,49)	0,64 (SD: 1,21)	p<0,001
BDI Beginn	22,70 (SD: 13,74)	3,73 (SD: 3,74)	p<0,001

Tabelle 8: Eingangsdaten der in die Auswertung eingeschlossenen Studienteilnehmer.

Die Dauer des Untersuchungszeitraumes der Patienten reichte von drei bis sechs Wochen (Mittel: 5,41; SD: 1,10). 16 Patienten wurden über 6 Wochen, 2 über 5, 1 über 4 und 3 über einen Zeitraum von 3 Wochen untersucht. Bei zwölf Patienten wurde exploratorisch eine zirkadiane Speichelmessung durchgeführt, bei den übrigen zehn fand nur eine morgendliche Speichelentnahme statt. Außerdem wurde bei allen Kontrollpersonen zirkadian Speichel gewonnen.

In der vorliegenden Arbeit wurden jedoch nur die 8:00 Uhr-Speichelmessungen zu Beginn und Abschluß der Untersuchung berücksichtigt.

Als „Beginn“ bzw. „Anfangszeitpunkt“ wurde die erste Untersuchung der Patienten in Woche 1 bezeichnet, die letzte Datenerhebung bei den Patienten nach 6 Wochen bzw. bei Remission wurde mit „Abschluß“ oder „Abschlusszeitpunkt“ benannt. Bei Vergleich zwischen Patienten und Kontrollpersonen sind die Werte der Kontrollpersonen zum Anfangs- und Abschlusszeitpunkt dieselben.

3.2.2 Psychopathometrie

Zu Beginn der Untersuchung zeigten die depressiven Patienten deutlich höhere Punktescores in allen drei psychometrischen Tests (Tabelle 1, wobei einige Patienten nicht in der Lage waren, den BDI-Test selbst zu bearbeiten, so dass hier nur die Daten von 20 Patienten mit einbezogen werden konnten).

Als Remission wurde ein Rückgang des psychometrischen Punktescores zum Abschlusszeitpunkt um mindestens 50% des Ausgangswertes definiert. Demnach

galten am Ende der Untersuchung 13 Patienten als remittiert (4w/9m), bei 9 Patienten kam es zu keiner Remission (5w/4m).

Remittierte und nicht remittierte Patienten unterschieden sich zu Beginn der Untersuchung nicht bezüglich der Punktescores in allen drei psychopathometrischen Tests. Die remittierten Patienten wiesen zum Abschluß signifikant niedrigere Punktescores in allen Tests auf als zu Beginn und lagen auch signifikant unter den Punktescores der nicht remittierten Patienten (Tabelle 9).

		Beginn	Abschluß	Student's t-Test
<u>HAMD</u>	remittiert (N=13)	18,92 (SD: 3,20)	6,85 (SD: 2,61)	p<0,001
	nicht remittiert (N=9)	23,44 (SD: 6,62)	19,56 (SD: 5,92)	n.s.
	Student's t-Test	n.s.	p<0,001	
<u>MADRS</u>	remittiert (N=13)	23,31 (SD: 5,56)	6,31 (SD: 4,52)	p<0,001
	nicht remittiert (N=9)	28,11 (SD: 9,25)	24,44 (SD: 9,26)	n.s.
	Student's t-Test	n.s.	p<0,001	
<u>BDI</u>	remittiert (N=12)	22,08 (SD: 10,97)	6,33 (SD: 4,81)	p<0,01
	nicht remittiert (N=8)	23,63 (SD: 17,93)	17,50 (SD: 12,25)	n.s.
	Student's t-Test	n.s.	p<0,05	

Tabelle 9: Psychometrische Punktescores bei Patienten im Verlauf.

Es ist zu erwähnen, dass bei den remittierten Patienten bei Abschluß der Untersuchung die Punktescores in den Fremdbeurteilungsskalen noch signifikant höher waren als in der Kontrollgruppe (HAMD rem.: 6,85 (SD: 2,61), Kontr.: 0,55 (SD: 0,69), p<0,001; MADRS rem.: 6,31 (SD: 4,52), Kontr.: 0,64 (SD: 1,21), p<0,001).

3.2.3 Cortisol im Verlauf

Sowohl Cortisol- als auch MIF-Werte stellten sich im Kolmogorov-Smirnov-Anpassungstest als normalverteilt dar.

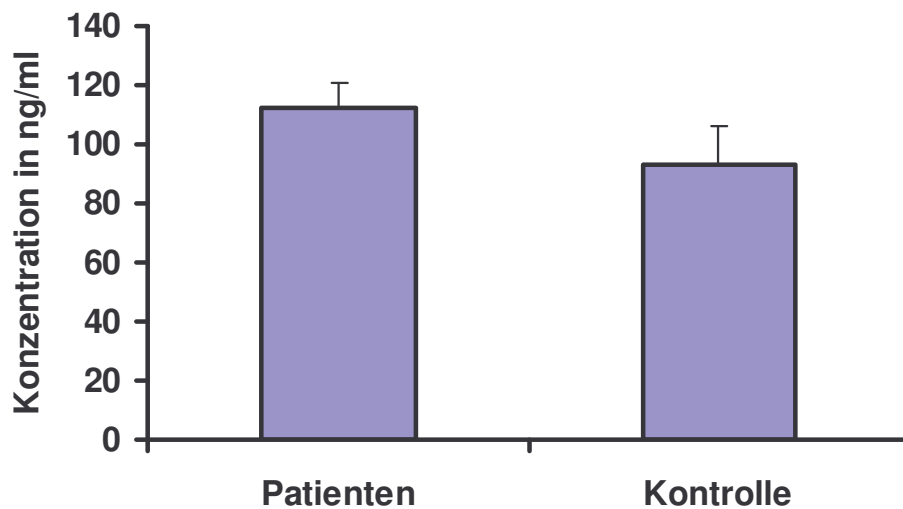
3.2.3.1 Cortisol im Serum

Im Student's t-Test zeigte sich kein signifikanter Unterschied des Serum-Cortisols zwischen Patienten und Kontrollpersonen zu Beginn der Untersuchung – wenn auch deskriptiv die Patienten im Mittel etwas höher lagen als die Kontrollgruppe ($p=0,204$; Abbildung 23A).

Die einfaktorielle Varianzanalyse (ANOVA) ergab keinen signifikanten Unterschied zwischen remittierten und nicht remittierten Patienten und Kontrollpersonen sowohl zu Beginn als auch zum Abschluß der Untersuchung (Beginn: $p=0,394$; Abschluß: $p=0,492$; Abbildung 23B).

Im Verlauf zeigte sich sowohl bei den remittierten als auch bei den nicht remittierten Patienten keine signifikante Veränderung des Serum-Cortisols (t-Test für abhängige Stichproben: remittierte Patienten: $p=0,780$; nicht remittierte Patienten: $p=0,972$; Abbildung 23B).

A Cortisol im Serum zu Beginn der Untersuchung



B Serum-Cortisol im Verlauf

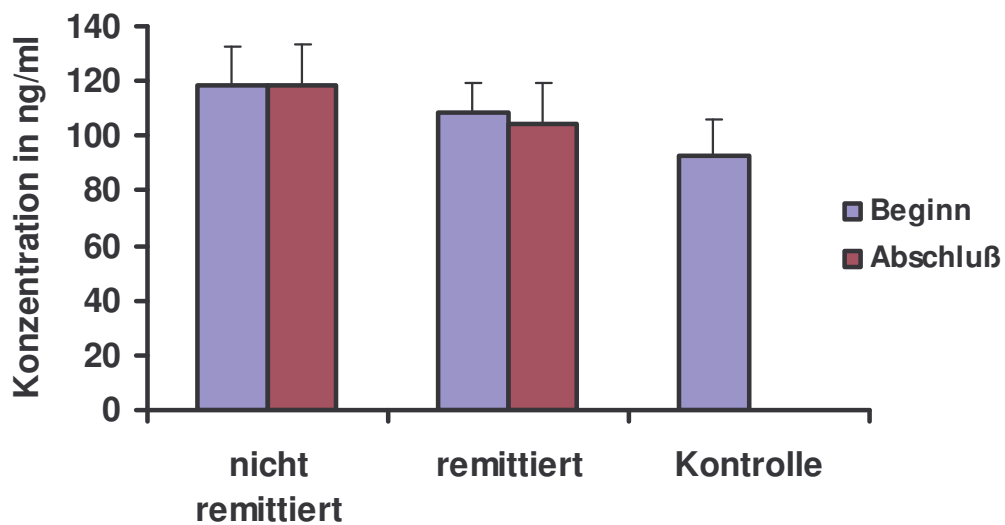


Abbildung 23: Cortisol im Serum:

A: Die Cortisol-Konzentration im Serum unterschied sich nicht zwischen Patienten und Kontrollpersonen zu Beginn der Untersuchung (t-Test: $p=0,204$).

B: Nicht remittierte, remittierte Patienten und Kontrollpersonen zeigten auch im Verlauf keine unterschiedlichen Serum-Cortisolwerte (einfaktorielle ANOVA: Beginn. $p=0,394$; Abschluß: $p=0,492$).

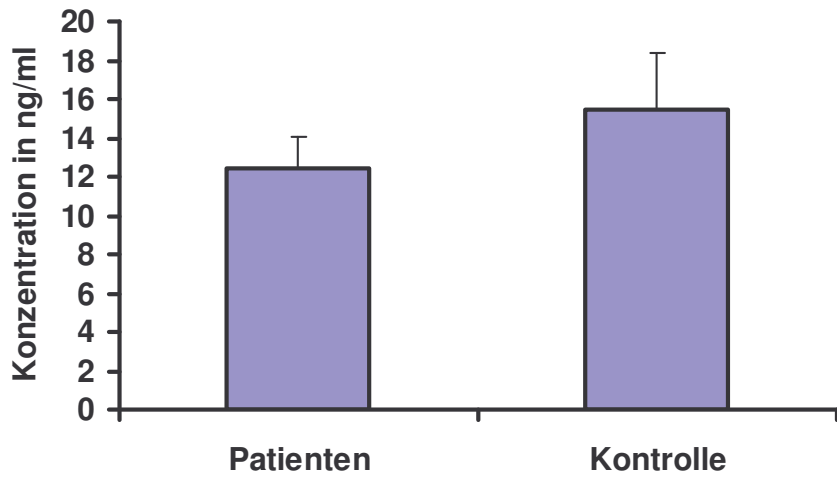
3.2.3.2 Cortisol im Speichel

Bezüglich der Speichel-Cortisol-Konzentrationen konnte man keinen Unterschied zwischen Patienten und Kontrollpersonen zum Anfangszeitpunkt beobachten – hier lagen die Kontrollen allerdings deskriptiv etwas höher als die Patienten (t-Test: $p=0,335$; Abbildung 24A).

Auch in der einfaktoriellen ANOVA zeigte sich keine Signifikanz zwischen remittierten, nicht remittierten Patienten und Kontrollgruppe zu beiden Zeitpunkten (Beginn: $p=0,581$; Abschluß: $p=0,492$; Abbildung 24B).

Bei Betrachtung der remittierten und nicht remittierten Patienten im Verlauf fand man keine signifikante Änderung des Cortisols im Speichel (t-Test für abhängige Stichproben: remittierte Patienten: $p=0,763$; nicht remittierte Patienten: $p=0,631$; Abbildung 24B).

A Cortisol im Speichel zu Beginn der Untersuchung



B Speichel-Cortisol im Verlauf

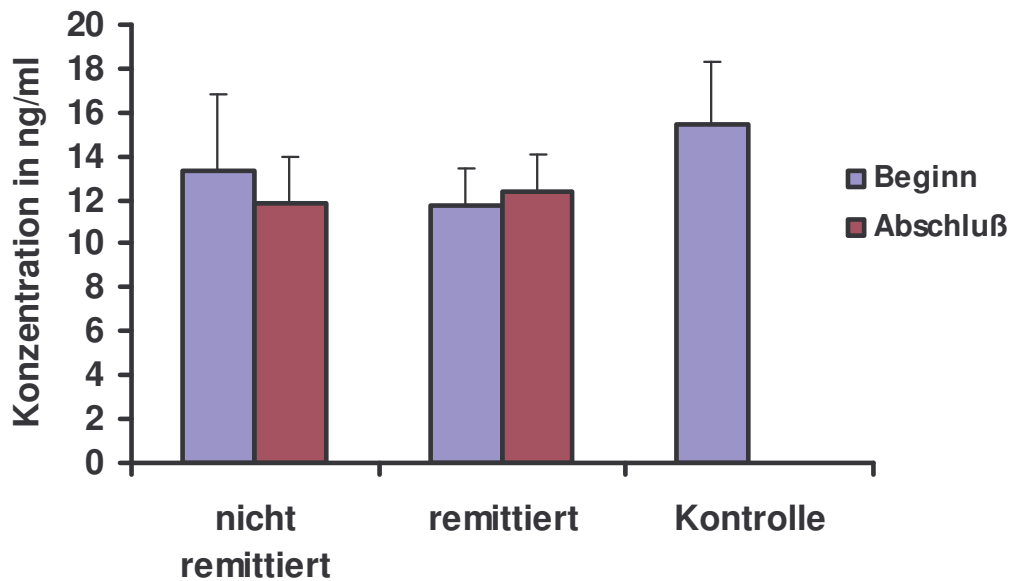


Abbildung 24: Cortisol im Speichel:

A: Patienten und Kontrollpersonen zu Beginn der Untersuchung: n.s. (t-Test: $p=0,335$).

B: Nicht remittierte, remittierte Patienten und Kontrollen im Verlauf: n.s. (einfaktorielle ANOVA: Beginn. $p=0,581$; Abschluß: $p=0,492$).

3.2.4 MIF im Verlauf

3.2.4.1 MIF im Serum

Zwischen Patienten und Kontrollpersonen zeigte sich kein signifikanter Unterschied bezüglich der MIF-Konzentration im Serum zu Beginn der Untersuchung, deskriptiv lagen die Kontrollpersonen etwas höher als die Patienten (t-Test für unabhängige Stichproben: $p=0,202$; Abbildung 25A).

Bei Betrachtung der drei Gruppen – remittierte, nicht remittierte Patienten und Kontrollpersonen – fand man zum Anfangszeitpunkt keinen signifikanten Unterschied zwischen den Gruppen, jedoch konnte man zum Abschluß der Untersuchung einen deutlichen Trend bezüglich unterschiedlicher Serum-MIF-Konzentrationen beobachten (einfaktorielle ANOVA: Beginn: $p=0,403$; Abschluß: $p=0,077$). Dieser beruhte auf signifikant niedrigeren MIF-Konzentrationen im Serum von remittierten Patienten zum Abschlusszeitpunkt im Vergleich zu den Kontrollpersonen (post-hoc Kontrastberechnung: $p<0,05$; Abbildung 25B).

Im Verlauf der beiden Patientengruppen – remittiert, nicht remittiert – ergab sich keine signifikante Änderung der MIF-Konzentration im Serum (t-Test für abhängige Stichproben: remittierte Patienten: $p=0,398$; nicht remittierte Patienten: $p=0,126$; Abbildung 25B).

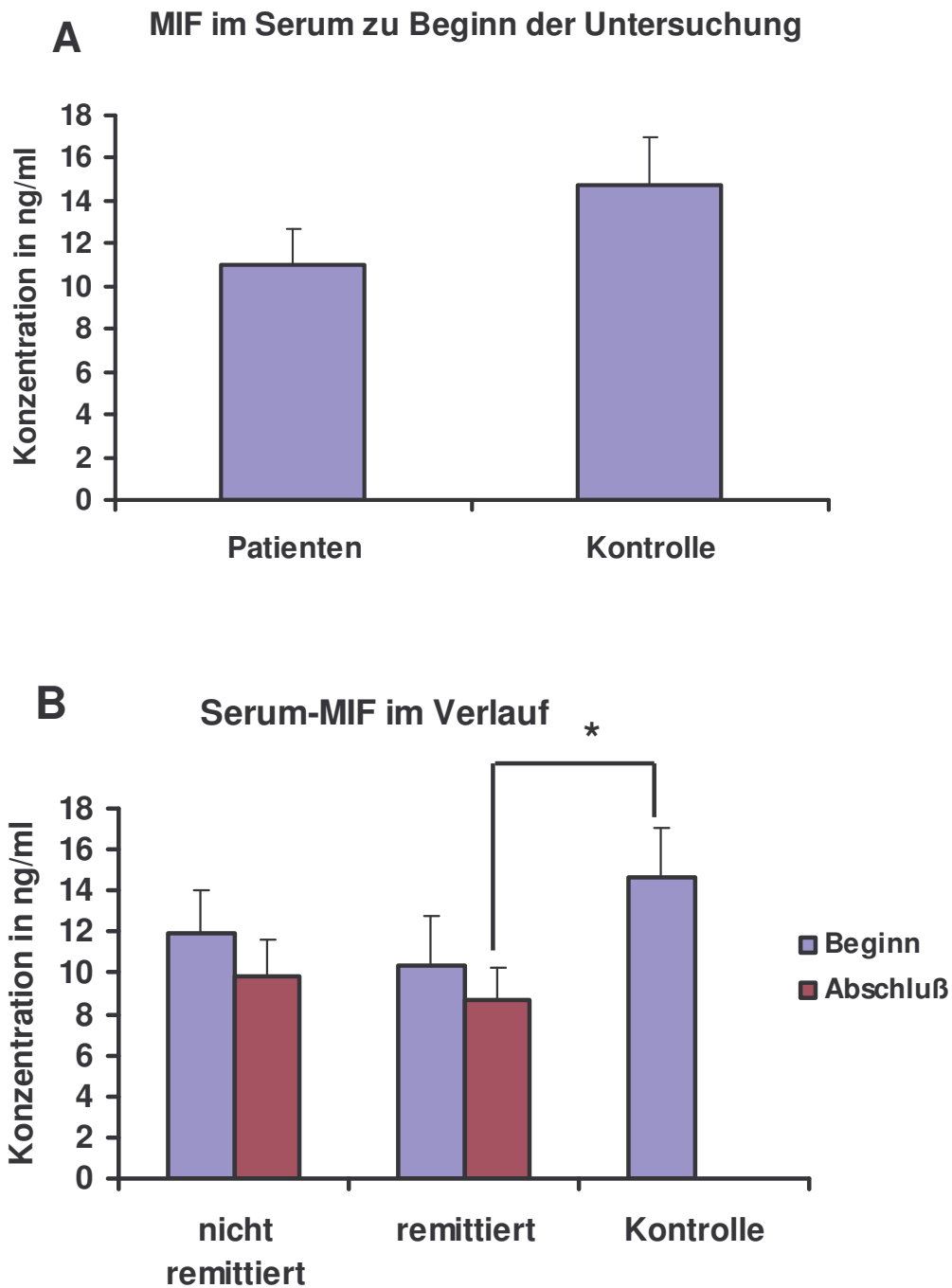


Abbildung 25: MIF im Serum:

A: Patienten und Kontrollen zu Beginn der Untersuchung: n.s. (t-Test: $p=0,202$).

B: Nicht remittierte, remittierte Patienten und Kontrollen im Verlauf: Patienten nach Remission deutlich niedrigeres MIF als Kontrollen: (einfaktorielle ANOVA: Abschluß: $p=0,077$, post-hoc Kontrastberechnung: $p<0,05$).

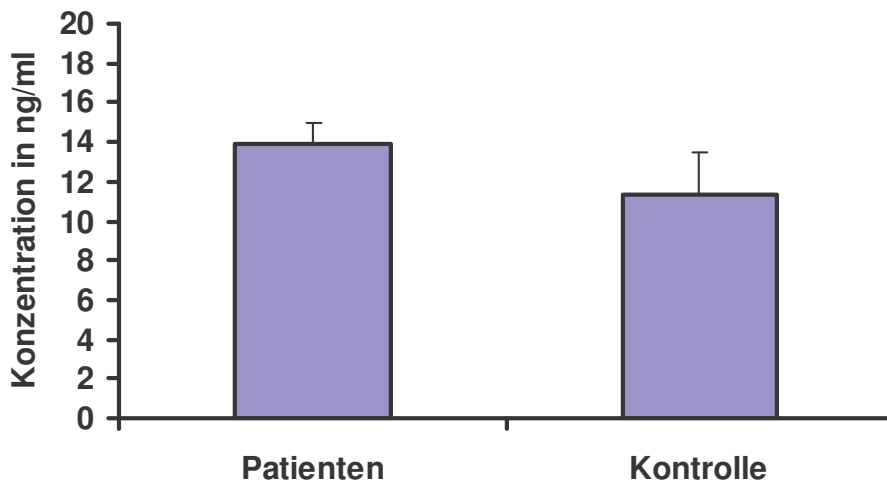
3.2.4.2 MIF im Speichel

Im Speichel zeigte sich kein Unterschied zwischen Patienten und Kontrollpersonen bezüglich der MIF-Konzentration, hier lagen die Patienten deskriptiv etwas höher als die Kontrollen ($p=0,288$; Abbildung 26A).

Die einfaktorielle ANOVA erbrachte zu beiden Untersuchungszeitpunkten keine Unterschiede zwischen den drei Gruppen (Beginn: $p=0,484$; Abschluß: $p=0,540$; Abbildung 26B).

Auch im Verlauf bei remittierten und nicht remittierten Patienten waren keine Veränderungen der MIF-Konzentrationen im Speichel zu erkennen (t-Test für abhängige Stichproben: remittierte Patienten: $p=0,398$; nicht remittierte Patienten: $p=0,724$; Abbildung 26B).

A MIF im Speichel zu Beginn der Untersuchung



B Speichel-MIF im Verlauf

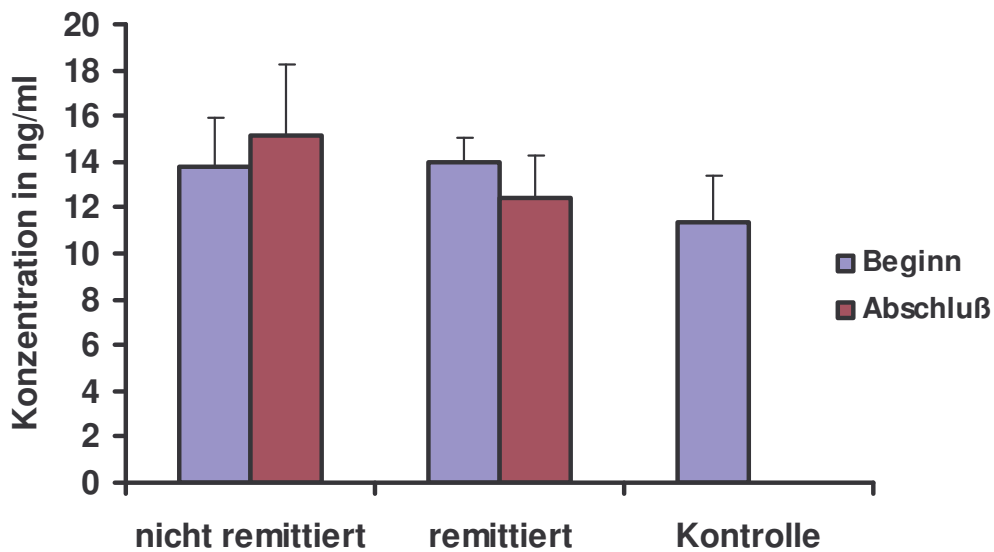


Abbildung 26: MIF im Speichel:

A: Patienten und Kontrollen zu Beginn der Untersuchung: n.s. ($p=0,288$).

B: Nicht remittierte, remittierte Patienten und Kontrollen im Verlauf: n.s. (einfaktorielle ANOVA: Beginn: $p=0,484$; Abschluß: $p=0,540$).

3.2.5 Dichotomisierung nach Serum-MIF

Da sich keine signifikante Veränderung der Serum-MIF-Konzentration im Verlauf bei remittierten und nicht remittierten Patienten zeigte, wurde die MIF-Baseline definiert als Mittelwert zwischen der MIF-Konzentration zu Beginn und zum Abschluß der Untersuchung – bei den Kontrollpersonen wurde die einmalig bestimmte MIF-Konzentration zugrunde gelegt. Die Dichotomisierung in „high-“ und „low-MIF-secretors“ erfolgte am Median der Serum-MIF-Baseline jeweils für die Gesamtgruppe, Patientengruppe und Kontrollgruppe.

Der Median lag in der Gesamtgruppe bei 9,18 ng/ml, in der Kontrollgruppe mit 15,65 ng/ml fast doppelt so hoch wie bei den Patienten mit 8,63 ng/ml (siehe Tabelle 10).

	Gesamtgruppe	Patienten	Kontrollen
N	33	22	11
Median der MIF-Baseline in ng/ml	9,18	8,36	15,65
N nach Einteilung am Median (low/high)	17/16	11/11	6/5

Tabelle 10: Median der MIF-Baseline und jeweilige Gruppengröße vor und nach Dichotomisierung.

Im Mittelwertsvergleich (Student's t-Test) der Serum-MIF-Baseline zwischen Patienten und Kontrollpersonen zeigte sich ein deutlicher Trend ($p=0,066$), nach dem Patienten tendenziell niedrigere MIF-Konzentrationen im Serum aufwiesen als Kontrollpersonen (Abbildung 27).

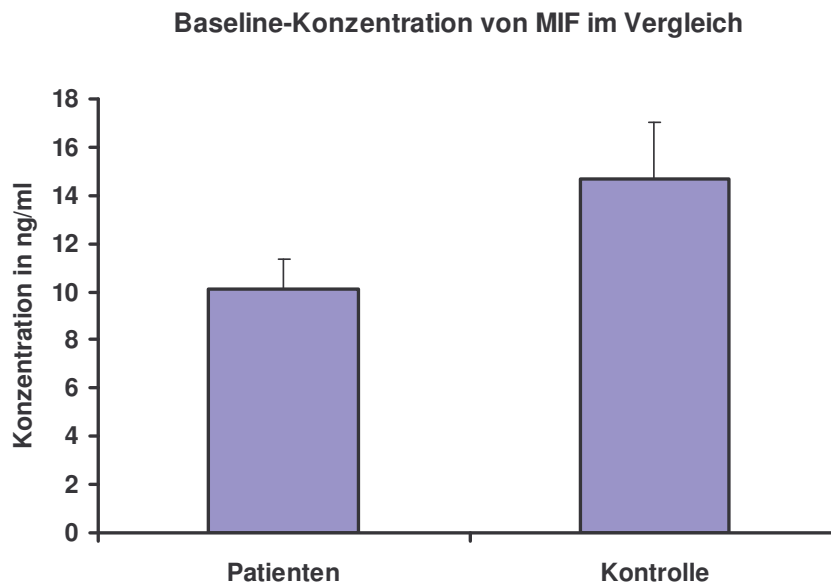


Abbildung 27: Die MIF-Baseline lag in der Kontrollgruppe auffallend höher als bei den Patienten (Trend im t-Test: $p=0,066$).

3.2.5.1 MIF im Serum bei „low-“, „high-Serum-MIF“

Sowohl in der Gesamtgruppe als auch bei Patienten und Kontrollen getrennt zeigte sich ein deutlicher Unterschied zwischen „low-“ und „high-MIF-secretors“ im Mittelwertsvergleich. Die „low-MIF-secretors“ hatten zu beiden Zeitpunkten deutlich niedrigere MIF-Konzentrationen im Serum als die „high-MIF-secretors“ (t-Test: $p<0,01$; Abbildung 28A-C).

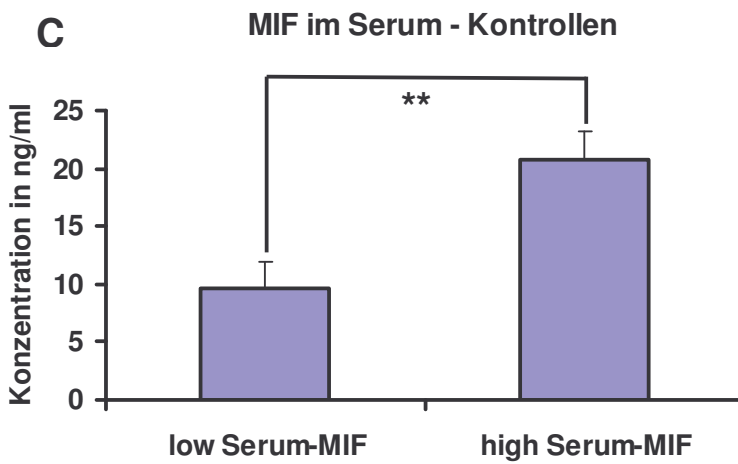
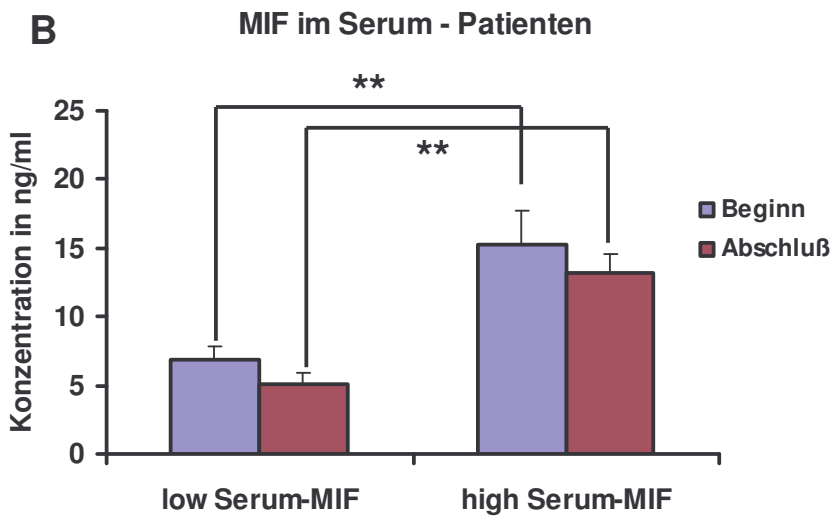
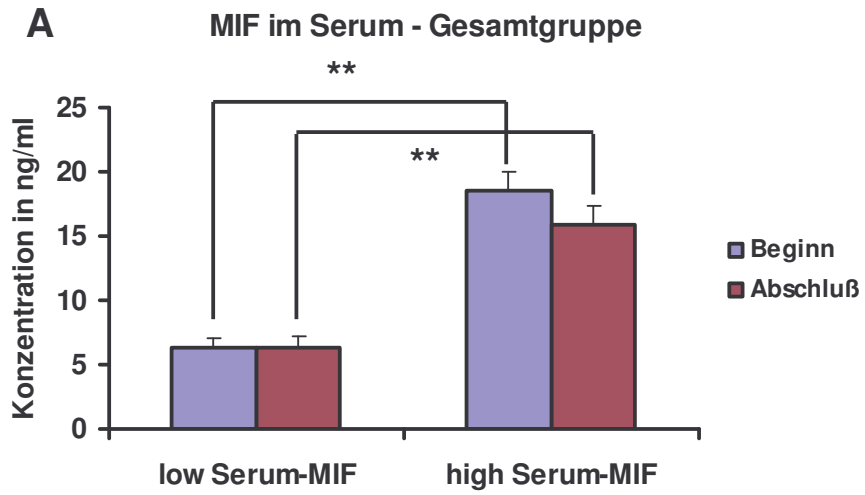


Abbildung 28: MIF im Serum bei „low-“/„high-Serum-MIF“:

A: Gesamtgruppe: höheres MIF bei „high-Serum-MIF“ und umgekehrt zu beiden Zeitpunkten (t-Test: $p < 0,01$).

B: Patienten: höheres MIF bei „high-Serum-MIF“ und umgekehrt zu beiden Zeitpunkten (t-Test: $p < 0,01$).

C: Kontrollen: höheres MIF bei „high-Serum-MIF“ und umgekehrt (t-Test: $p < 0,01$).

3.2.5.2 MIF im Speichel bei „low-“/„high-Serum-MIF“

In der Gesamtgruppe, sowie bei den Kontrollpersonen fand sich kein signifikanter Unterschied zwischen „low-“ und „high-MIF-secretors“ bezüglich der Konzentration von MIF im Speichel (Abbildung 29A+C). Bei den Patienten zeigte sich jedoch, dass Patienten mit niedrigem Serum-MIF deutlich höheres MIF im Speichel aufwiesen und umgekehrt (Anfangszeitpunkt: Trend: $p = 0,082$; Abschluß: $p < 0,05$, Abbildung 29B).

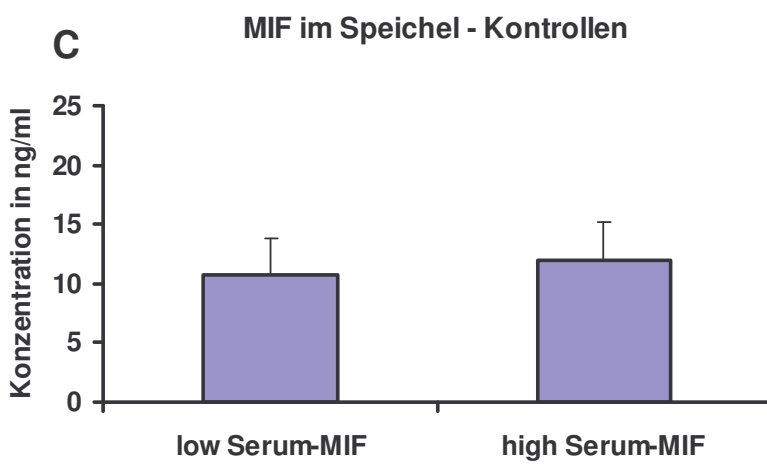
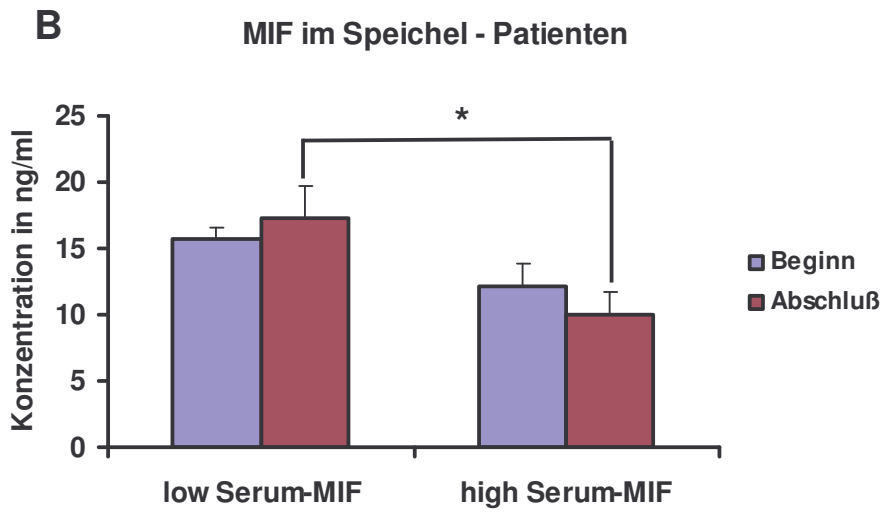
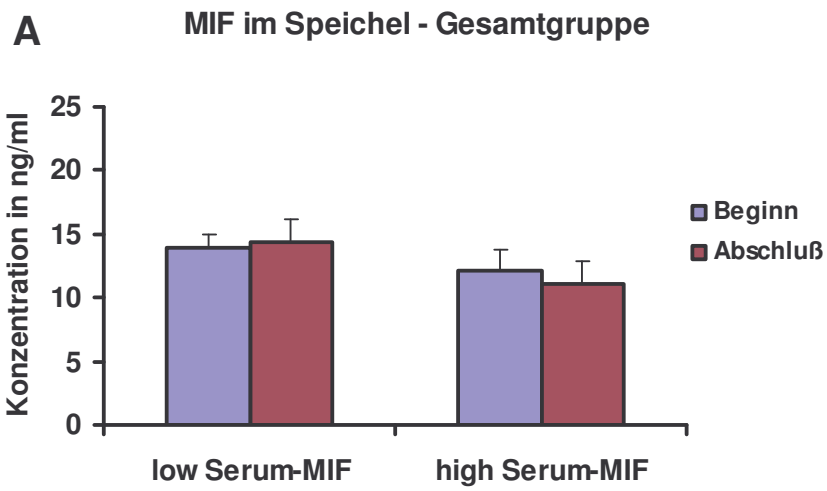


Abbildung 29: MIF im Speichel bei „low-“/„high-Serum-MIF“:

A: Gesamtgruppe: n.s..

B: Patienten: höheres MIF im Speichel bei niedrigem Serum-MIF zum Abschlusszeitpunkt ($p < 0,05$).

C: Kontrollen: n.s..

In der Patientengruppe fand sich eine negative Korrelation zwischen Speichel-MIF-Baseline und Serum-MIF zum Abschlusszeitpunkt ($r = -0,430$; $p < 0,05$; Abbildung 30A) und tendenziell zwischen Speichel-MIF-Baseline und Serum-MIF-Baseline ($r = -0,382$; $p = 0,080$; Abbildung 30B). Je höher die Konzentration von MIF im Serum ist, desto niedrigere Konzentrationen findet man im Speichel und umgekehrt. Dieser Zusammenhang war in der Kontrollgruppe und der Gesamtgruppe nicht zu beobachten.

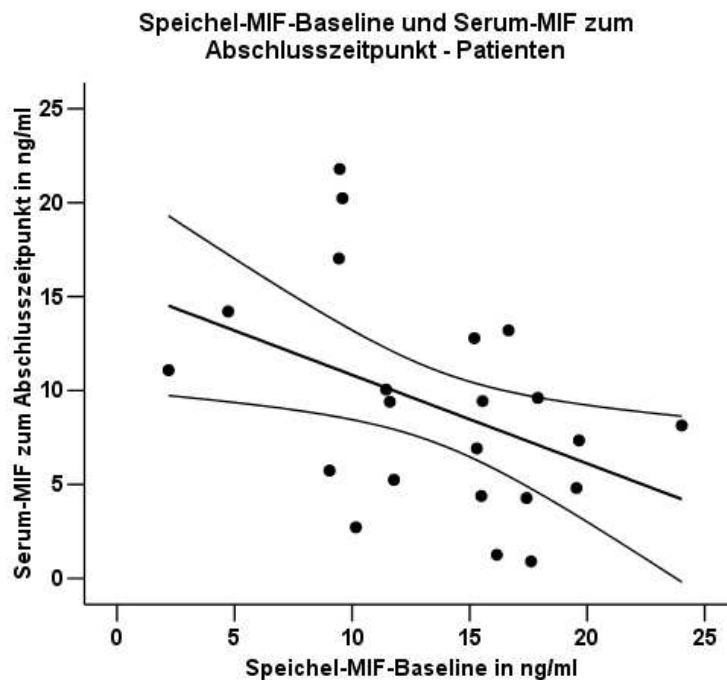


Abbildung 30A: Negative Korrelation zwischen Serum MIF zum Abschlusszeitpunkt und Speichel-MIF-Baseline bei Patienten ($r = -0,430$; $p < 0,05$).

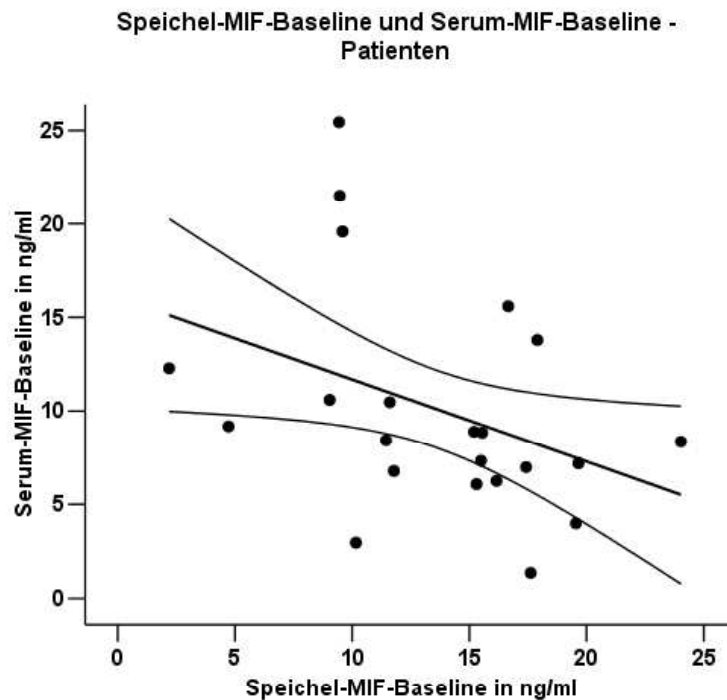


Abbildung 30B: Tendenziell negative Korrelation zwischen MIF-Baseline in Serum und Speichel bei Patienten ($r = -0,382$; $p=0,080$).

3.2.5.3 Cortisol im Serum bei „low-“ und „high-Serum-MIF“

Bezüglich des Serum-Cortisols ergaben sich sowohl in der Gesamtgruppe als auch bei den Patienten signifikante Unterschiede zwischen „low-“ und „high-MIF-secretors“ zu beiden Untersuchungszeitpunkten. Studienteilnehmer mit hohem MIF im Serum hatten signifikant niedrigere Serum-Cortisol-Konzentrationen und umgekehrt (Gesamtgruppe und Patienten zeigten im t-Test zu beiden Zeitpunkten eine Signifikanz von $p < 0,05$; Abbildung 31A+B). In der Kontrollgruppe ließ sich diesbezüglich keine Signifikanz feststellen, es ist jedoch deskriptiv eine Tendenz in diese Richtung zu erkennen (Abbildung 31C).

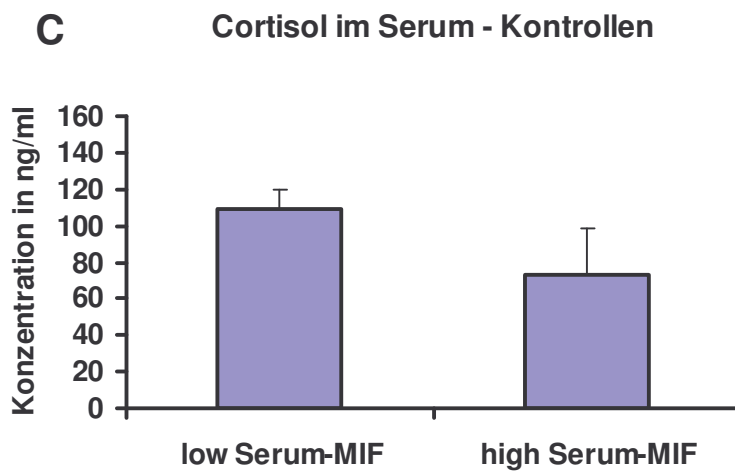
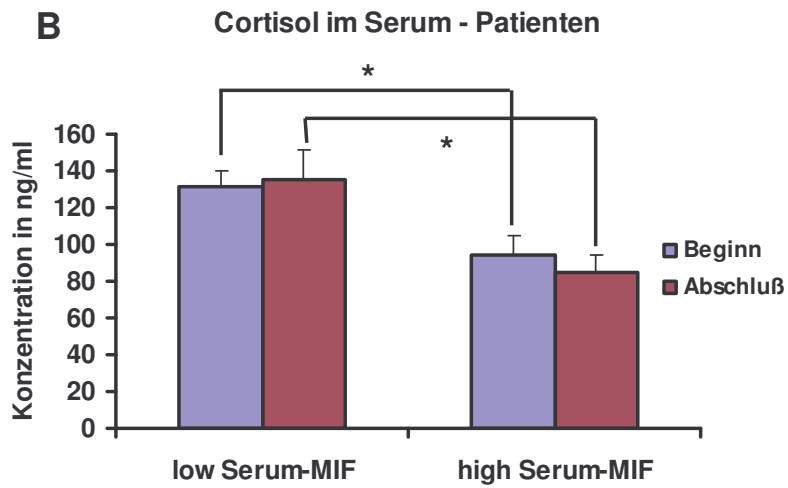
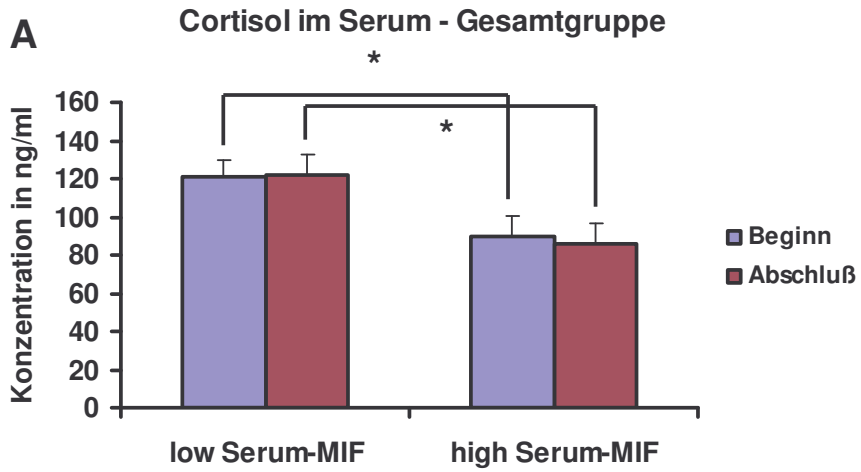


Abbildung 31: Cortisol im Serum bei „low-“, „high-Serum-MIF“:

A: Gesamtgruppe: höheres Cortisol bei „low-Serum-MIF“ und umgekehrt zu beiden Zeitpunkten ($p < 0,05$).

B: Patienten: höheres Cortisol bei „low-Serum-MIF“ und umgekehrt zu beiden Zeitpunkten ($p < 0,05$).

C: Kontrollen: n.s..

In der Gesamtgruppe konnte man eine signifikante negative Korrelation zwischen Cortisol und MIF im Serum beobachten und zwar zwischen Cortisol- und MIF-Baseline ($r = -0,374$; $p < 0,05$; Abbildung 32A), zwischen MIF und Cortisol zum Abschlusszeitpunkt ($r = -0,410$; $p < 0,05$; Abbildung 32B), zwischen MIF zum Abschluß und Cortisol-Baseline ($r = -0,404$; $p < 0,05$) und zwischen Cortisol zum Abschluß und MIF-Baseline ($r = -0,376$; $p < 0,05$). Zwischen MIF zu Beginn der Untersuchung und Cortisol-Baseline und Cortisol zu Beginn und MIF-Baseline zeigte sich ein deutlicher Trend zur negativen Korrelation ($r = -0,306$; $p = 0,083$ bzw. $r = -0,302$; $p = 0,088$). Je höher demnach der MIF im Serum ist, desto niedriger ist das Cortisol im Serum.

Dieser Zusammenhang fand sich bei getrennter Betrachtung von Patienten und Kontrollpersonen nicht.

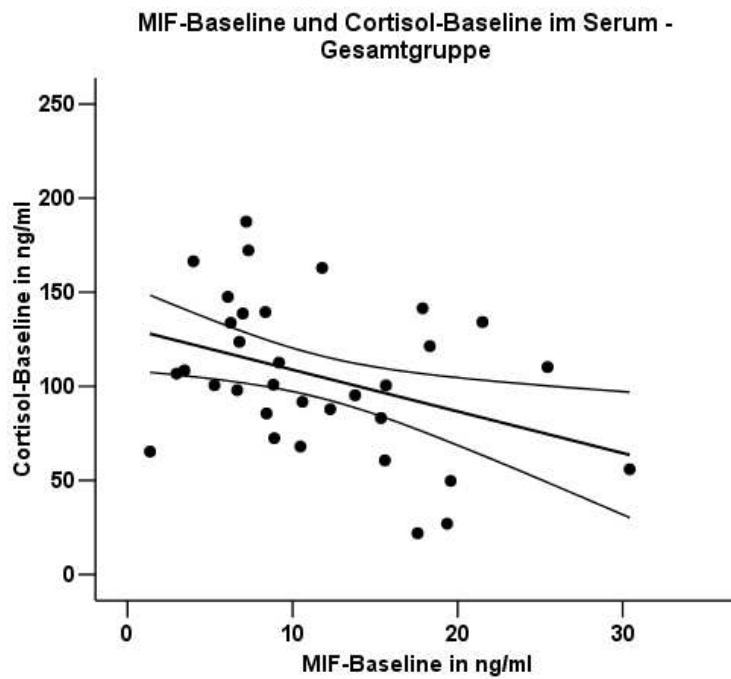


Abbildung 32A: Negative Korrelation zwischen MIF- und Cortisol-Baseline im Serum in der Gesamtgruppe ($r = -0,374$; $p < 0,05$).

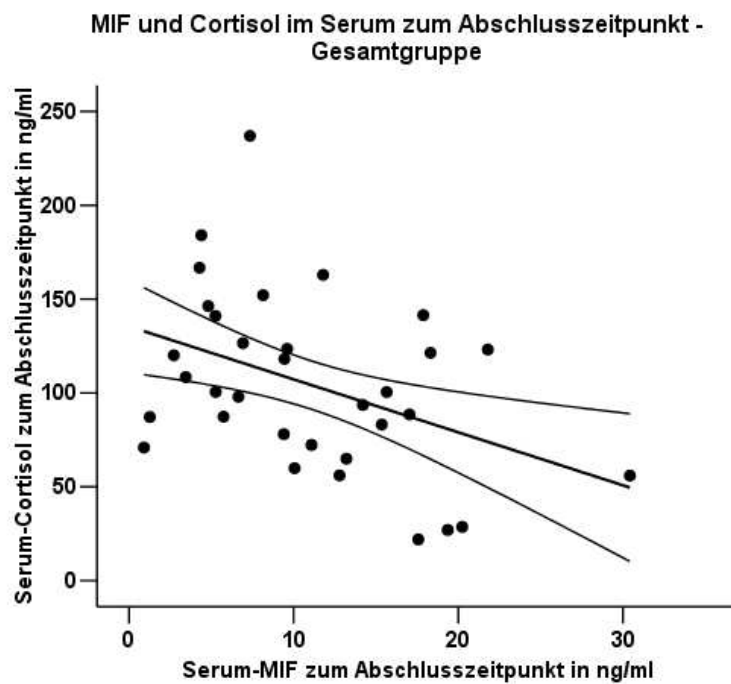
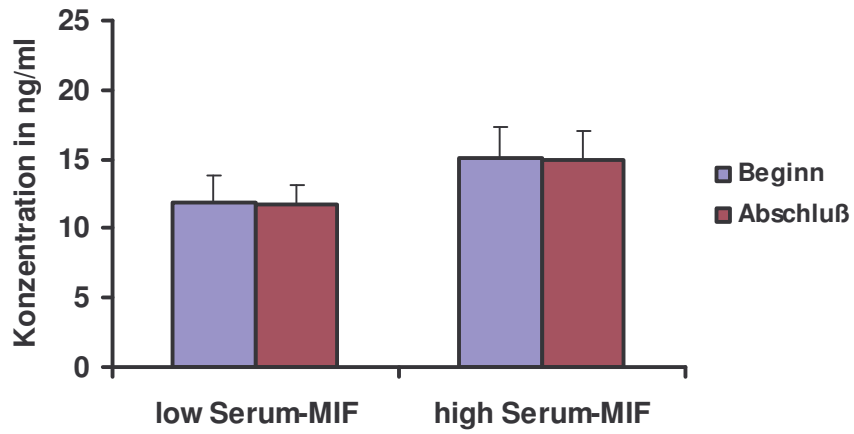


Abbildung 32B: Negative Korrelation zwischen MIF und Cortisol im Serum zum Abschlusszeitpunkt in der Gesamtgruppe ($r = -0,410$; $p < 0,05$).

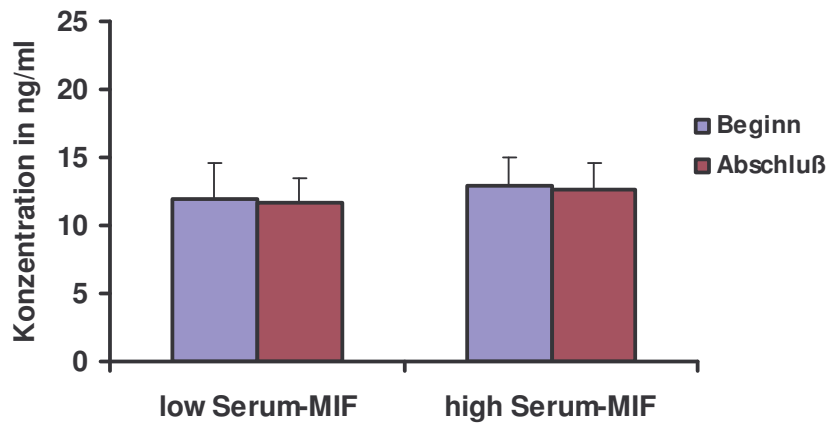
3.2.5.4 Cortisol im Speichel bei „low-“/„high-Serum-MIF“

In allen drei Gruppen – Gesamtgruppe, Patienten, Kontrollgruppe – zeigte sich kein signifikanter Unterschied zwischen „low-“ und „high-MIF-secretors“ bezüglich der Speichel-Cortisol-Konzentration. Deskriptiv fiel auf, dass in der Gesamtgruppe bei den „high-MIF-secretors“ etwas höhere Speichel-Cortisol-Konzentrationen vorlagen, bei den Kontrollen verhielt es sich eher umgekehrt (Abbildung 33A-C).

A Cortisol im Speichel - Gesamtgruppe



B Cortisol im Speichel - Patienten



C Cortisol im Speichel - Kontrollen

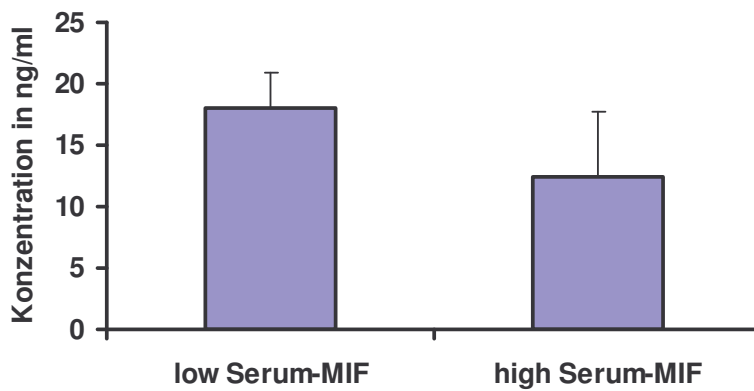


Abbildung 33: Cortisol im Speichel bei „low-“/„high-Serum-MIF“:

A: Gesamtgruppe: n.s..

B: Patienten: n.s..

C: Kontrollen: n.s..

3.2.6 Dichotomisierung nach Speichel-MIF

Die Speichel-MIF-Baseline wurde analog der Serum-MIF-Baseline bestimmt. Es wurde am Median dichotomisiert. Für die Gesamtgruppe lag der Median bei 13,12 ng/ml, für die Kontrollgruppe bei 12,15 ng/ml für die Patienten bei 15,25 ng/ml.

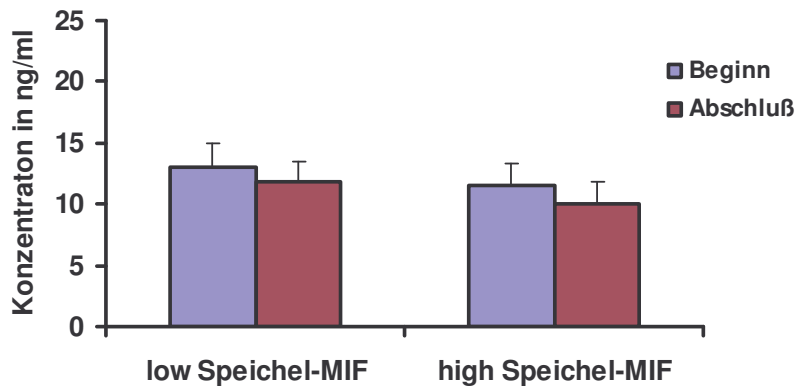
3.2.6.1 MIF im Speichel bei „low-“/„high-Speichel-MIF“

Sowohl in der Gesamtgruppe als auch bei Kontrollen und Patienten getrennt fand sich ein hoch signifikanter Unterschied zwischen low- und high-Speichel-MIF-secretors zu beiden Zeitpunkten ($p < 0,01$).

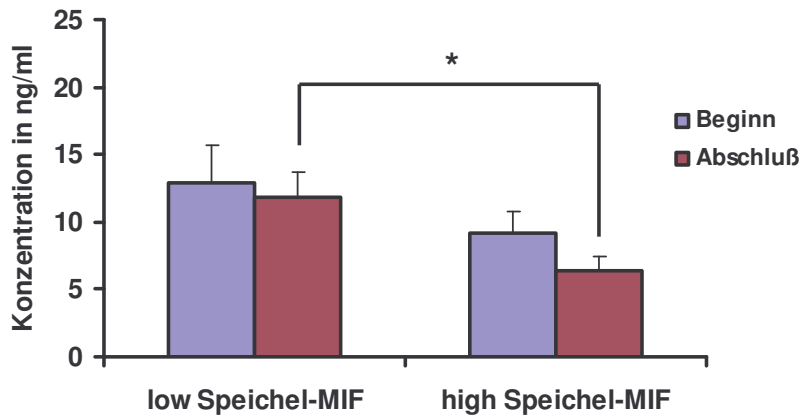
3.2.6.2 MIF im Serum bei „low-“/„high-Speichel-MIF“

In der Gesamtgruppe fand sich kein Unterschied in der Konzentration von MIF im Serum zwischen „low-“ und „high-Speichel-MIF-secretors“ zu beiden Zeitpunkten (Abbildung 34A). Die Kontrollpersonen zeigten einen Trend dahingehend, dass Personen mit niedrigem MIF im Speichel auch niedrige MIF-Konzentrationen im Serum aufwiesen (t-Test für unabhängige Stichproben: $p = 0,080$; Abbildung 34C). Bei den Patienten konnte man den gegenläufigen Zusammenhang beobachten. Hier hatten die „low-Speichel-MIF-secretors“ zum Abschlusszeitpunkt signifikant höhere Konzentrationen von MIF im Serum als die „high-Speichel-MIF-secretors“ (t-Test für unabhängige Stichproben: $p < 0,05$; Abbildung 34B).

A MIF im Serum - Gesamtgruppe



B MIF im Serum - Patienten



C MIF im Serum - Kontrollen

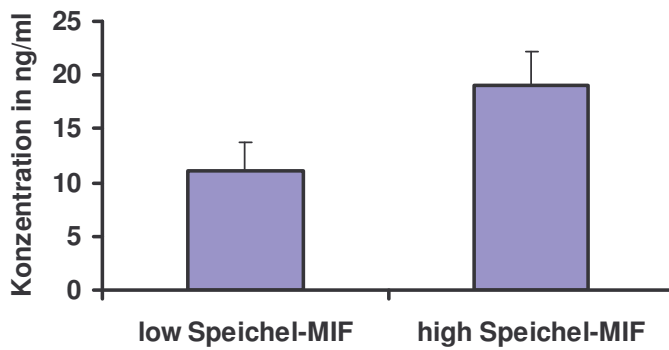


Abbildung 34: MIF im Serum bei „low-“/„high-Speichel-MIF“:

A: Gesamtgruppe: n.s..

B: Patienten: Höheres MIF im Serum bei niedrigem Speichel-MIF zum Abschlusszeitpunkt ($p < 0,05$).

C: Kontrollen: n.s. (Trend: $p = 0,08$).

3.2.6.3 Cortisol im Serum bei „low-“/„high-Speichel-MIF“

In der Gesamtgruppe und bei den Kontrollen fand sich kein signifikanter Unterschied zwischen „low-“ und „high-Speichel-MIF-secretors“. Bei den Patienten ergaben sich jedoch zum Abschlusszeitpunkt signifikant höhere Cortisol-Konzentrationen im Serum bei Patienten mit hohem Speichel-MIF und umgekehrt (t-Test für unabhängige Stichproben: $p < 0,05$; Abbildung 35).

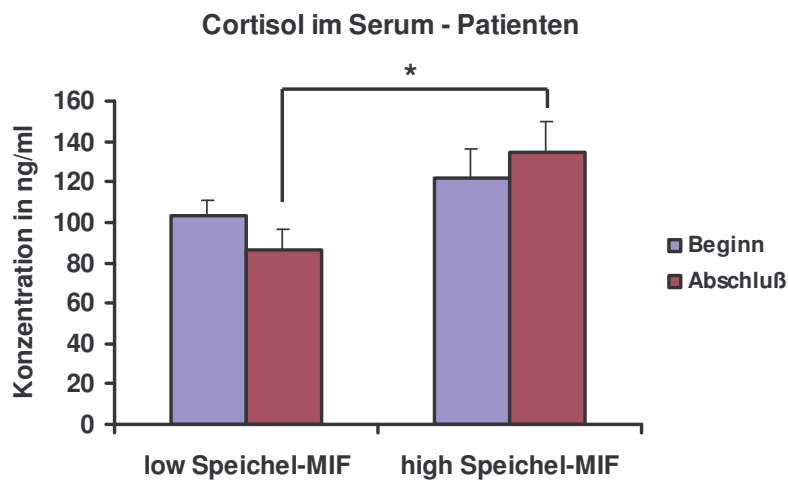


Abbildung 35: Patienten mit hohen MIF-Konzentrationen im Speichel zeigten höhere Serum-Cortisol-Werte zum Abschlusszeitpunkt ($p < 0,05$).

3.2.6.4 Cortisol im Speichel bei „low-“/„high-Speichel-MIF“

Bezüglich des Speichel-Cortisols zeigte sich kein Unterschied zwischen low- und high-Speichel-MIF-secretors in allen drei Gruppen zu beiden Zeitpunkten.

3.2.7 Dichotomisierung nach Serum-Cortisol

Die Dichotomisierung erfolgte am Median der Serum-Cortisol-Baseline. Der Median für Serum-Cortisol lag in der Gesamtgruppe bei 100,87 ng/ml, bei den Kontrollen bei 100,48 ng/ml und bei den Patienten bei 108,51 ng/ml.

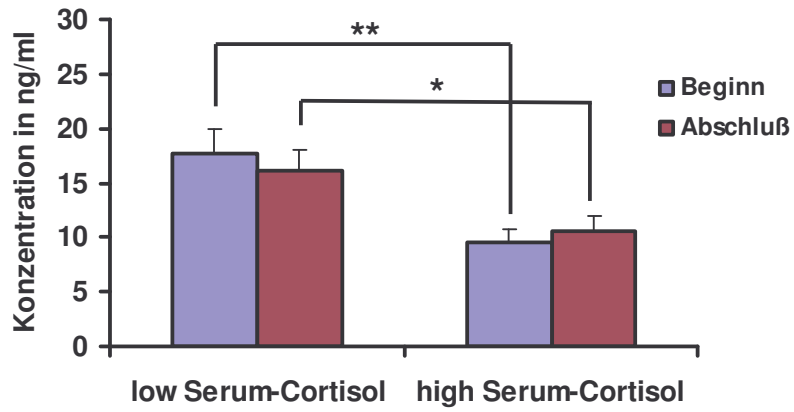
3.2.7.1 Cortisol im Serum bei „low-“/„high-Serum-Cortisol“

In allen drei Gruppen (Gesamtgruppe, Patienten, Kontrollen) lag die Serum-Cortisol-Konzentration bei „low-Serum-Cortisol-secretors“ zu beiden Zeitpunkten hochsignifikant niedriger als bei „high-Serum-Cortisol-secretors“ (t-Test für unabhängige Stichproben: $p < 0,01$).

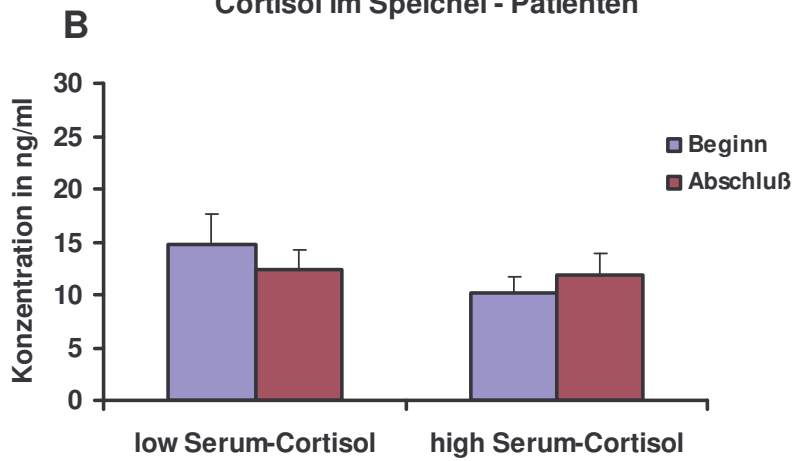
3.2.7.2 Cortisol im Speichel bei „low-“/„high-Serum-Cortisol“

In der Gesamtgruppe fanden sich zu beiden Zeitpunkten signifikant höhere Cortisol-Konzentrationen im Speichel bei „low-Serum-Cortisol-secretors“ und umgekehrt (t-Test für unabhängige Stichproben: $p < 0,05$). Dieser Zusammenhang zeigte sich auch in der Kontrollgruppe ($p < 0,05$), nicht jedoch bei den Patienten (Abbildung 36A-C).

A Cortisol im Speichel - Gesamtgruppe



B Cortisol im Speichel - Patienten



C Cortisol im Speichel - Kontrollen

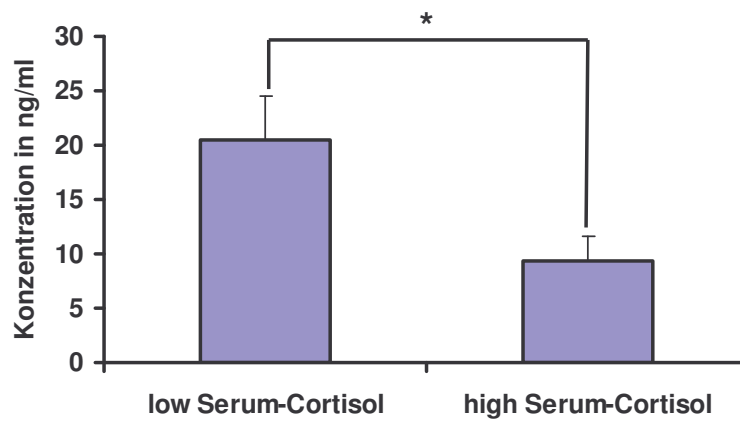


Abbildung 36: Cortisol im Speichel bei „low-“ / „high-Serum-Cortisol“:

A: Gesamtgruppe: Höheres Cortisol im Speichel bei niedrigem Serum-Cortisol zu beiden Zeitpunkten (Beginn: $p < 0,01$; Abschluß $p < 0,05$).

B: Patienten: n.s..

C: Kontrollen: Höheres Cortisol im Speichel bei niedrigem Serum-Cortisol ($p < 0,05$).

Korrelativ fand sich jedoch kein signifikanter Zusammenhang zwischen Serum- und Speichel-Cortisol-Konzentrationen in allen drei Gruppen.

Bezüglich MIF in Serum und Speichel zeigten sich keine signifikanten Unterschiede zwischen „low-“ und „high-Serum-Cortisol-secretors“.

3.2.8 Dichotomisierung nach Speichel-Cortisol

Der Median für Speichel-Cortisol lag in der Gesamtgruppe bei 13,38 ng/ml, bei den Kontrollen mit 13,46 ng/ml ungefähr auf der Höhe von den Patienten mit 13,29 ng/ml.

Die Konzentration für Speichel-Cortisol lag in allen drei Gruppen bei den „high-Speichel-Cortisol-secretors“ hochsignifikant höher als bei den „low-speichel-cortisol-secretors“ ($p < 0,01$).

Es ergaben sich keine signifikanten Unterschiede zwischen „low-“ und „high-Speichel-Cortisol-secretors“ bezüglich Cortisol im Serum und MIF in Serum und Speichel in allen drei Gruppen.

4 Diskussion

Seit Anfang der 90er Jahre wurden Zusammenhänge zwischen Glukokortikoiden / HHNA und MIF in Untersuchungen zunehmend deutlicher (Bernhagen et al. 1993, Calandra et al. 1995; Nishino et al. 1995). Hierzu findet man bisher hauptsächlich in-vitro-Untersuchungen oder Experimente am Tiermodell, es sind diesbezüglich bislang kaum Studien an Menschen publiziert.

In der hier vorliegenden Arbeit wurde der Zusammenhang von MIF und Cortisol beim Menschen im akuten und chronischen Stress untersucht.

4.1 MIF und Cortisol im akuten Stress

Junge gesunde Probanden wurden in einem Studiendesign einem akuten Schmerzstressor ausgesetzt. Cortisol- und MIF-Konzentrationen wurden im Verlauf im Speichel gemessen.

4.1.1 Cortisol im Verlauf

In der Gesamtgruppe ließ sich ein signifikanter Anstieg der Cortisolkonzentration im Speichel nach Zufügen des Stressors beobachten. Dies zeigt, dass der Schmerzstressor „Plunge-Test“ in dieser Studie zu einer Aktivierung der Stressachse / HHNA führt und somit die Grundvoraussetzung der Untersuchung erfüllt ist.

4.1.2 MIF im Verlauf

Nach Reizung mit einem proinflammatorischen Stimulus (z.B. LPS) wird MIF nach wenigen Stunden aus peripheren Makrophagen freigesetzt. Hypophysäres MIF erscheint erst ca. 8-20 Stunden nach auslösendem Reiz im Serum (Bernhagen et al. 1993, 1998; Calandra et al. 1994). Ratten, die exogenem Stress ausgesetzt werden, zeigen einen Anstieg des Serum-MIFs ca. 3-4 Stunden nach Stressreiz (Calandra et al. 1995).

Die vorliegenden Ergebnisse zeigten in der Gesamtgruppe im Verlauf einen MIF-Peak zum Zeitpunkt 4 auf, also bereits vor dem Stressereignis. Nach Dichotomisierung in

„high-MIF-secretors“ und „low-MIF-secretors“ ließ sich dieser Peak jedoch nur bei den „low-MIF-secretors“ nachweisen, also bei Probanden mit niedrigen basalen MIF-Konzentrationen.

Diese Beobachtung wirft zwei Fragen auf:

1. Warum steigt das MIF bereits vor dem Stressereignis an?

Eine mögliche Überlegung wäre, dass es bei den Probanden im Wissen um den Ablauf der Studie zu einer Art Erwartungsangst / Erwartungsanspannung kommt, wodurch bereits vor Durchführung des Plunge-Tests eine körperliche Reaktion in Form eines Anstiegs der MIF-Konzentration im Speichel auftritt. Da MIF zum Teil in denselben Granula wie ACTH in der Hypophyse lokalisiert ist und sogar sensibler auf CRH reagiert (Nishino et al. 1995), könnte es schneller oder zumindest zeitgleich mit ACTH freigesetzt werden. Da das ACTH im Regelkreis der HHNA vor dem Cortisol steht, würde dies auch die Latenz zwischen MIF- und Cortisol-Anstieg erklären. Um festzustellen, ob es tatsächlich bereits vor dem Stressereignis zu einer Aktivierung der HHNA kommt, müsste parallel das ACTH im Speichel bestimmt werden, was hier nicht erfolgt ist.

Es ist hier natürlich auch nicht auszuschließen, dass der prästressorische Anstieg der MIF-Konzentration mit der Schmerzschwellenbestimmung zusammenhängt, die zwischen 10 und 30 Minuten nach Untersuchungsbeginn durchgeführt wurde. Auch hierzu würde die in der Literatur beschriebene sensiblere Reaktion von MIF auf CRH passen (Nishino et al. 1995).

Bei der Untersuchung von Rattenhypophysen nach Endotoxin-Gabe findet sich eine Abnahme der MIF enthaltenden Granula (MIF steigt nach Endotoxingabe im Blut an), für ACTH-Granula oder Granula, die beide Stoffe enthalten, ergibt sich keine signifikante Verminderung (Nishino et al. 1995). Nach Stimulation mit CRH müsste die Anzahl aller drei Granula-Arten (MIF, ACTH, MIF und ACTH) abnehmen, MIF und ACTH würden vermehrt ausgeschüttet, was wiederum die HHNA anregte. Diesbezüglich jedoch liegen noch keine Untersuchungen vor.

Nach exogenem Stressreiz steigt das MIF im Serum von Ratten erst nach 3-4 Stunden an, Untersuchungen zur MIF-Konzentration im Speichel bei Stress gibt es bisher nicht.

2. Warum reagieren Menschen mit einer niedrigen basalen MIF-Konzentration im Speichel mit einem signifikanten MIF-Anstieg vor dem Stressereignis, Menschen mit hohen basalen MIF-Werten hingegen nicht?

Diese Beobachtung legt die Hypothese nahe, dass die MIF-Ausschüttung, wie der Cortisol-Regelkreis, ebenfalls durch eine Art Feedback-Regulation gesteuert wird. Hohe MIF-Konzentrationen verhindern demnach die MIF-Reaktion auf Stress (negatives Feedback), MIF kann so auf einen Reiz nicht mehr differenziert reagieren. Vorstellbar wäre auch hier ein Zusammenhang der MIF- und ACTH-Ausschüttung. Durch die teilweise Lokalisation in denselben hypophysären Granula würde eine Mehrausschüttung von ACTH und konsekutiv Cortisol über eine negative Feedback-Reaktion die übergeordnete CRH-Ausschüttung hemmen, was sich wiederum inhibierend auf die ACTH- und ggf. auch die MIF-Sekretion auswirken könnte. Bei hohen MIF-Baseline-Werten zeigte sich auch die Cortisolreaktion auf den Schmerzstressor unterdrückt, was den Zusammenhang zwischen dem Cortisolregelkreis über die HHNA und der MIF-Ausschüttung nochmals unterstreicht. Um die Zusammenhänge zwischen Stressachse / HHNA und MIF-Sekretion transparenter zu machen, wären hier zusätzliche Untersuchungen der CRH- und ACTH-Konzentrationen im Verlauf interessant.

4.1.3 MIF und Cortisol

MIF wird in der Literatur als ein Gegenspieler der (antiinflammatorischen) Cortisol-Reaktion beschrieben (Calandra et al. 1995). In Untersuchungen fand sich eine Induktion der MIF-Sekretion durch eher niedrigere Glukokortikoiddosen, während hohe Konzentrationen von Glukokortikoiden keine Induktion von MIF bewirken.

Eine neuere Studie zeigte jedoch keine Veränderung der MIF-Konzentration nach CRH-, ACTH- oder Dexamethason-Gabe (Isidori et al. 2002).

Frühere Untersuchungen zeigen, dass Menschen sehr unterschiedlich bezüglich der HHNA auf Stress reagieren. Unabhängig vom subjektiven Schmerzempfinden kann man sogenannte „high responders“ und „low responders“ bezüglich der Cortisolantwort auf einen Stressor unterscheiden (Berger et al. 1987; Singh et al. 1999).

Auch in der vorliegenden Studie kann man klar zwischen „high“- und „low-cortisol-responders“ unterscheiden. Bezüglich der MIF-Konzentration zeigt sich hier jedoch kein signifikanter Unterschied im Verlauf.

Nach Dichotomisierung der Probanden nach basaler MIF-Konzentration in „high-MIF-secretors“ und „low-MIF-secretors“ fanden sich jedoch signifikante Unterschiede im Verlauf der Cortisol-Konzentration. So konnte man bei Probanden mit niedrigen MIF-Werten eine signifikante Reaktion der Cortisol-Ausschüttung nach Stressreiz beobachten, während bei „high-MIF-secretors“ diese Reaktion eher unterdrückt schien. Außerdem fiel ein signifikanter Abfall der Cortisol-Baseline-Werte vor Stressreiz bei Probanden mit hohen MIF-Konzentrationen auf.

Auch hier kann man sich einen Zusammenhang zwischen Cortisol-Regelkreislauf und MIF-Ausschüttung vorstellen. Somit könnten die hohen MIF-Konzentrationen im Sinne einer negativen Feedback-Regulation auf die HHNA die Cortisol-Reaktion auf Stress unterdrücken, es kommt zu keiner vermehrten Ausschüttung von Cortisol nach Stressreiz. Auch der Abfall der Cortisol-Baseline bei den „high-MIF-secretors“ könnte so durch die hemmende Feedback-Regulation mittels der hohen MIF-Konzentrationen erklärt werden. Somit agiert auch hier MIF als Gegenspieler der Cortisol-Reaktion.

„Low-MIF-secretors“ zeigten demgegenüber einen signifikanten prästressorischen MIF-Peak sowie eine signifikante Reaktion der Cortisol-Sekretion nach Schmerzstressor. Man könnte hier annehmen, dass der prästressorische MIF-Anstieg konsekutiv eine stärkere Cortisol-Antwort nach sich zieht. Vorstellbar wäre eine vermehrte Freisetzung von MIF aus hypophysären Granula; gleichzeitig wird durch die teilweise gemeinsame Lokalisation in denselben Granula auch vermehrt ACTH ausgeschüttet, was wiederum stimulierend auf die Cortisol-Sekretion wirkt.

In früheren Studien wurde bei Menschen, die starke Cortisol-Reaktionen auf Stress zeigen, ein insgesamt höheres metabolisches Risiko beobachtet, als bei sogenannten „low responders“ (Roy et al. 2001; Cacioppo et al 1995). In Zusammenhang mit den vorliegenden Ergebnissen müsste sich demnach bei den „low-MIF-secretors“ ein insgesamt erhöhtes kardiovaskuläres Risiko in Form von erhöhten Blutfetten und einer erhöhten kardialen sympathischen Reaktivität darstellen. Dies wiederum würde zu der Hypothese führen, dass höhere basale MIF-Konzentrationen sich positiv hinsichtlich

metabolischer Zusammenhänge auswirken. Andere Untersuchungen zeigen jedoch gegenteilige Ergebnisse. So weisen Menschen mit Übergewicht, erhöhten Fettsäure-Werten oder Typ 2 Diabetes – also metabolischen Risikokonstellationen - insgesamt höhere MIF-Konzentrationen im Blut als Kontrollpersonen auf (Dandona et al. 2004, Yabunaka et al. 2000; Herder et al. 2006). Umgekehrt könnte man aus der Literatur auch rückfolgern, dass Menschen mit einer starken Cortisol-Reaktion auf Stress insgesamt auch höhere basale MIF-Konzentrationen aufweisen, was sich in der vorliegenden Studie nicht bestätigt. Allerdings wurde hier MIF nur im Speichel gemessen, in den früheren Studien MIF im Blut bestimmt.

Über MIF im Speichel ist insgesamt sehr wenig bekannt. In der zweiten hier durchgeführten Studie zeigte sich, zumindest in der Gruppe der depressiven Patienten, eine negative Korrelation zwischen MIF-Konzentrationen im Serum und im Speichel, niedrigere basale Speichel-MIF-Konzentrationen gingen mit höheren MIF-Werten im Serum einher. Bei gesunden Kontrollpersonen konnte man hier deskriptiv eher das Gegenteil beobachten. Übertragen auf die erste Studie müssten sich demnach die Konzentrationen für MIF in Serum und Speichel bei den Probanden hier tendenziell gleichsinnig verhalten, was nicht ganz mit den bisherigen Beobachtungen zusammenpasst. Aufgrund der kleinen Teilnehmerzahl und der eindeutigeren Korrelation zwischen MIF in Serum und Speichel in der Patientengruppe könnte man jedoch auch vermuten, dass dieser Zusammenhang unabhängig von einer depressiven Erkrankung besteht und sich bei einer stärkeren Gruppengröße bei allen Probanden zeigen würde. Somit bestünden bei „low-Speichel-MIF-secretors“ höhere MIF-Konzentrationen im Serum und umgekehrt, was wiederum bedeuten würde, dass Menschen mit starken Cortisol-Reaktionen auf Stress (sog. „high responders“) und niedrigerem basalen Speichel-MIF höhere MIF-Konzentrationen im Serum zeigen. Dies würde die bisher vorliegenden Beobachtungen wiederum bestätigen.

4.1.4 Männer und Frauen

In früheren Untersuchungen fanden sich Unterschiede zwischen Männern und Frauen in der Cortisol-Antwort, insbesondere des freien Cortisols, auf Stress. Männer reagieren demnach mit einem deutlicheren Anstieg des Cortisols nach Stress als Frauen. Je nach

hormonellem Status im Menstruationszyklus kann man wiederum bei Frauen unterschiedlich starke Cortisolreaktionen beobachten (Kirschbaum et al. 1992 und 1999).

Auch in der hier durchgeführten Studie lassen sich Unterschiede zwischen Männern und Frauen bezüglich MIF und Cortisol im Verlauf feststellen, wobei die Frauen hier nicht nach Zyklusphasen unterteilt waren.

Während bei Männern der steilste Anstieg der Cortisol-Reaktion bereits zwischen Zeitpunkt 4 und 5 lag – also unmittelbar nach dem Plunge-Test – kam es bei Frauen zu einem langsameren Anstieg des Cortisols bereits prästressorisch vom Zeitpunkt 3 an bis zum Maximum zu Zeitpunkt 6. Das Maximum des Cortisolanstiegs lag bei Frauen insgesamt etwas höher als bei Männern (nur deskriptiv).

Dies passt zur in früheren Studien beobachteten stärkeren Cortisol-Reaktion bei Männern.

Betrachtet man die beiden Gruppen bezüglich der MIF-Konzentration, wird dieser Unterschied noch deutlicher. So zeigten Frauen keinen signifikanten Unterschied im Cortisol-Verlauf zwischen „low-MIF-secretors“ und „high-MIF-secretors“ und eine insgesamt weniger klare Reaktion auf Stress. Bei Männern hingegen ließ sich derselbe Zusammenhang wie in der Gesamtgruppe beobachten. Männer mit niedrigen MIF-Konzentrationen im Speichel zeigten eine signifikante Cortisolreaktion auf den Schmerzstressor, während bei Männern mit hohen MIF-Werten keine deutliche Cortisolantwort nachweisbar war. Die signifikante Cortisolreaktion in der „low-MIF-secretor“-Gruppe von allen Probanden kommt demnach im Wesentlichen von den Männern.

Setzt man die MIF-Baseline und die Stärke der Cortisol-Reaktion in Beziehung zueinander, so zeigte sich eine signifikante negative Korrelation in der Gesamtgruppe aller Probanden und bei den Männern, die Cortisolreaktion fällt umso stärker aus, je niedriger die MIF-Baseline-Werte sind. In der Gruppe der Frauen ließ sich diesbezüglich kein signifikanter Zusammenhang nachweisen.

Betrachtet man den Abfall der Cortisol-Baseline bei den Probanden mit hohen MIF-Konzentrationen, so konnte man diese Beobachtung auch bei Frauen und Männern machen. Hier fiel lediglich auf, dass Frauen bereits zwischen den Zeitpunkten 2 und 3 mit den Cortisol-Werten abfielen, Männer wie in der Gesamtgruppe erst etwas später.

Bei „low-MIF-secretors“ fand sich in keiner Gruppe eine Veränderung der Cortisol-Baseline.

Setzt man hier die MIF-Baseline und die Stärke des Cortisol-Baseline-Abfalles in Beziehung zueinander, so findet sich allenfalls bei den Männern eine tendenziell negative Korrelation ($p=0,073$), demnach kommt es zu einem stärkeren Abfall der Cortisol-Baseline, je höher die MIF-Baseline-Werte sind. In der Gesamtgruppe und der Gruppe der Frauen zeigte sich diesbezüglich kein Trend.

Die vorliegenden Beobachtungen sprechen für einen Zusammenhang zwischen Cortisolreaktion und MIF bei akutem Stress. Hohe basale MIF-Konzentrationen scheinen sich hemmend auf eine Cortisolantwort auszuwirken. Anzunehmen ist, dass dies über ein Eingreifen in den Cortisol-Regelkreislauf geschieht, wobei der Angriffspunkt letztlich nicht geklärt ist. Vorstellbar wäre hier ein Zusammenhang zwischen hypophysärem MIF und ACTH.

Isidori et al. konnten in Untersuchungen am Menschen keinen Zusammenhang zwischen Aktivierung der HHNA und der MIF-Ausschüttung feststellen (Isidori et al. 2002) - allerdings wurde hier MIF lediglich im Serum gemessen, über das Verhalten von MIF im Speichel ist noch wenig bekannt. Es wurde außerdem keine Änderung der MIF-Konzentration in hypophysennahen Gefäßen nach Stimulation mit CRH gefunden, was zu der Hypothese führte, dass die Hypophyse nicht an der zirkulierenden MIF-Konzentration hauptbeteiligt ist (Isidori et al. 2002).

Dies spräche gegen eine Beeinflussung der Cortisolreaktion auf Stress über das Eingreifen von hypophysärem MIF in den Cortisol-Regelkreis.

Wäre es vorstellbar, dass das auf Stress freigesetzte MIF hauptsächlich aus nichthyophysären Quellen stammt (Makrophagen / Immunzellen, andere Gewebe)? Wie könnte man sich diesen Aktivierungs-Mechanismus vorstellen?

Werden z.B. bei einer entzündlichen Reaktion Zytokine freigesetzt, wird im Hypothalamus die CRH-Freisetzung angeregt und konsekutiv die HHNA aktiviert (Angeli et al. 1999; Chikanza et al. 2000). Dies wurde für Zytokine / Akutphaseproteine wie z.B. IL-6 und TNF- α nachgewiesen, für MIF gibt es dazu noch keine Untersuchungen. Würde MIF ebenfalls über CRH aktivierend auf die HHNA einwirken, müsste bei Menschen mit hohen MIF-Konzentrationen das Cortisol jedoch eher ansteigen, was den Ergebnissen der vorliegenden Untersuchung widerspräche.

Bei Betrachtung der basalen Cortisol-Konzentration im Speichel – also der Cortisol-Baseline – ließ sich in der vorliegenden Untersuchung kein Zusammenhang zur basalen Speichel-MIF-Konzentration feststellen, und umgekehrt. Aufgrund der augenscheinlich hemmenden Wirkung von MIF auf die „dynamische“ Cortisol-Reaktion / bzw. den „dynamischen“ Abfall der Cortisol-Baseline könnte man vermuten, dass sich auch bezüglich des basalen / „statischen“ Systems ein Zusammenhang zwischen MIF und Cortisol im Speichel beobachten ließe (z.B. hohes basales MIF - niedriges basales Cortisol und umgekehrt). Dies war hier jedoch nicht der Fall. Auch nach Dichotomisieren nach der Cortisol-Baseline zeigten sich keine Unterschiede bezüglich der MIF-Konzentrationen und des MIF-Verlaufs.

4.2 MIF und Cortisol bei chronischem Stress

Unter der Prämisse, dass bei Menschen mit depressiver Erkrankung eine chronische Aktivierung des Stresssystems vorliegt, wurden depressive Patienten im Verlauf und im Vergleich mit gesunden Kontrollpersonen bezüglich Cortisol- und MIF-Konzentrationen in Serum und Speichel untersucht.

4.2.1 Cortisol im Verlauf

Bei Menschen mit einer depressiven Erkrankung findet man häufig erhöhte Cortisolspiegel in Blut und Speichel, was auf eine chronische Aktivierung der Stressachse hindeutet. Hier gehen die Angaben in der Literatur auseinander. So finden sich Untersuchungen, bei denen nur 20-30% der Patienten mit depressiver Episode erhöhte Cortisolspiegel zeigen (Halbreich et al. 1985; Young et al. 2001), andere fanden bei 40-60% der Depressiven das Cortisol erhöht (Parker et al. 2003).

Es zeigte sich relativ früh, dass sich die Veränderung der Reaktivität der HHNA bei depressiven Patienten im Sinne von einer Aktivierung der Stressachse eindeutiger in dynamischen Tests – wie DST und Dex/CRH-Test – ausdrückt als in „statischen“ Parametern – wie die basale Cortisol-Konzentration in Blut und Speichel (Holsboer et al. 1982; Barden et al. 1995). Insbesondere der Dex/CRH-Test hat sich als zuverlässiges Messinstrument auch bezüglich des Rezidivrisikos erwiesen (Zobel et al.

2001). So lässt sich bei 60-80% der depressiven Patienten eine Regulationsstörung im Dex/CRH-Test nachweisen, erhöhte basale Cortisol-Konzentrationen findet man dagegen seltener.

In der hier durchgeführten Studie zeigte sich kein signifikanter Unterschied der Cortisolspiegel im Serum zwischen depressiven Patienten und gesunden Kontrollpersonen zu Beginn der Untersuchung. Deskriptiv konnte man eine leichte Erhöhung des Serum-Cortisols in der Patientengruppe erkennen, es zeigte sich hier jedoch keine Signifikanz. Auch bezüglich des Speichel-Cortisols fand sich kein signifikanter Unterschied zwischen Patienten und Kontrollpersonen. Es zeigten sich deskriptiv sogar eher niedrigere Cortisol-Werte bei den Patienten, jedoch auch hier ohne Signifikanz.

Eine chronische Aktivierung der Stressachse drückt sich unter anderem durch eine Erhöhung der Cortisol-Konzentration in Blut und/oder Speichel aus. Das Fehlen erhöhter Cortisol-Konzentrationen bei den depressiven Patienten der vorliegenden Studie deutet demnach auf ein Ausbleiben der chronischen Aktivierung der Stressachse hin. Damit ist die Prämisse der Studie, bei Menschen mit depressiver Erkrankung läge eine chronische Aktivierung des Stresssystems vor, hier nicht erfüllt, und die Gruppe der depressiven Patienten kann - zumindest in der Studie hier - nicht als ein Modell für chronischen Stress mit Aktivierung der HHNA gesehen werden.

Dem Ausbleiben signifikant erhöhter Cortisol-Konzentrationen bei den Patienten könnte natürlich auch eine erhöhte Aktivierung der Stressachse in der Kontrollgruppe zugrunde liegen, was eventuell erhöhte Cortisol-Spiegel in der Patientengruppe nicht zu Tage treten ließe.

Auch im Verlauf konnte man weder bei den remittierten noch den nicht remittierten Patienten Unterschiede in Serum- und Speichel-Cortisol-Konzentrationen feststellen. Signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen und zur Kontrollgruppe fanden sich weder zu Beginn noch zum Abschluss der Untersuchung.

Die Angaben in der Literatur bezüglich des Anteils an depressiven Patienten mit erhöhten Cortisolwerten liegen im Mittel um die 50%, was die vorliegenden negativen Ergebnisse erklären kann. Demnach muss man bei nicht allzu großer Anzahl an untersuchten Patienten und einer Wahrscheinlichkeit erhöhter Cortisol-Werte bei

depressiven Patienten von 50% damit rechnen, dass es in der Gruppe der depressiven Patienten zu keiner signifikanten Cortisol-Erhöpfung kommen könnte.

In vergangenen Studien wurden Unterschiede bezüglich des Geschlechts und der Cortisol-Ausschüttung bei Depression gefunden. So zeigte sich das 24h-Cortisol im Plasma bei Männern mit depressiver Erkrankung im Vergleich zu männlichen Kontrollpersonen deutlich erhöht (Deuschle et al. 1997). In einer Untersuchung mit depressiven und gesunden Frauen war jedoch kein Unterschied in der Cortisol-Sekretion über 24h zu beobachten (Young et al. 2001). Dies spräche für eine geschlechtsspezifische Reaktion der HHNA bei Depressiven.

Die Cortisolkonzentration korreliert auch mit dem Alter, ältere Menschen sezernieren mehr Cortisol als Jüngere. Frauen haben generell höhere Cortisol-Werte als Männer (Halbreich et al. 1984; Heuser et al. 1994).

Bei depressiven Patienten im Alter zeigt sich jedoch eine U-förmige Beziehung zwischen Cortisol-Konzentration und dem Vorliegen einer Depression, d.h. es finden sich sowohl Patienten mit erhöhten als auch mit erniedrigten Cortisol-Werten (Bremmer et al. 2007).

Bei Betrachtung unterschiedlicher Subgruppen unter den depressiven Patienten erkennt man Unterschiede in der Aktivierung der HHNA. So haben Patienten mit psychotischer Depression erhöhte basale Cortisol-Konzentrationen am Abend sowie häufiger eine fehlende Unterdrückung der Cortisol-Sekretion nach Dexamethason-Gabe im Vergleich zu nicht-psychotisch Depressiven und gesunden Kontrollen (Keller et al. 2006; Nelson and Davis 1997). Auch bei Patienten mit melancholischer Depression zeigen sich signifikant höhere Cortisol-Konzentrationen im Vergleich zu nicht melancholischen Patienten und gesunden Kontrollen (Kaestner et al. 2005).

In der vorliegenden Studie wurde innerhalb der Studienteilnehmer keine Differenzierung nach Geschlecht, Alter oder Form der Depression vorgenommen. Es scheint somit wahrscheinlich, dass die oben genannten Faktoren sich auf die durchschnittliche Cortisol-Konzentration der Patienten- bzw. Kontrollgruppe auswirken.

Der Anteil an älteren depressiven Patienten könnte hier durch den U-förmigen Zusammenhang zwischen Cortisol-Konzentration und dem Vorliegen einer Depression in dieser Gruppe das Gesamt-Cortisol unverändert lassen wenn nicht sogar senken. In

der Kontrollgruppe könnte die Mehrsekretion von Cortisol im Alter durch den Anteil an älteren Menschen zu höheren mittleren Cortisol-Konzentrationen führen.

Dass sich eine Erhöhung der Cortisol-Konzentration vor allem bei bestimmten Formen der Depression zeigt, könnte in der hier untersuchten gemischten Gruppe der depressiven Patienten ebenfalls eine Rolle für die sich im Mittel zeigende fehlende Aktivierung der HHNA bei den depressiven Patienten spielen.

Um Faktoren wie Geschlecht, Alter und Form der Depression zu berücksichtigen, müsste man die Studienpopulation in Untergruppen unterteilen, was hier – auch aufgrund der kleinen Gruppenstärke – nicht geschehen ist.

Speichel-Cortisol korreliert mit Serum-Cortisol zumindest in dynamischen Tests der HHNA hoch, d.h. bei hohen Cortisol-Werten im Serum findet man das Speichel-Cortisol ebenfalls erhöht (Baghai et al. 2002; Galard et al. 2002). Es lässt sich sogar ein stärkerer Anstieg des Speichel-Cortisols nach Aktivierung der HHNA feststellen (Aardal-Eriksson et al. 1998). In der hier durchgeführten Studie ließ sich diesbezüglich kein Zusammenhang feststellen.

Teilt man jedoch die Patienten- und die Kontrollgruppe am Median der Serum-Cortisol-Konzentration in „high-Serum-Cortisol-secretors“ und „low-Serum-Cortisol-secretors“ so fällt ein gegenläufiges Verhältnis des Cortisols auf, das sich insbesondere in der Kontrollgruppe wiederfindet. Nicht depressive Menschen mit niedrigem Serum-Cortisol zeigten signifikant höhere Cortisol-Konzentrationen im Speichel und umgekehrt.

Diese Beobachtung widerspricht den Angaben in der Literatur, die einen deutlichen positiven Zusammenhang zwischen Serum und Speichel-Cortisol beschreiben.

Da es in der vorliegenden Untersuchung keinen signifikanten korrelativen Zusammenhang gab, und auch bei Dichotomisierung nach der Speichel-Cortisol-Konzentration kein umgekehrter Zusammenhang beobachtet werden konnte, könnte man bei dieser Beobachtung auch von einer Zufallserscheinung ausgehen.

4.2.2 MIF im Verlauf

Das Verhalten von MIF bei Menschen mit einer depressiven Erkrankung bzw. bei chronischem Stress ist noch kaum untersucht. Für die Zytokine TNF- α und IL-6 finden sich in früheren Untersuchungen häufig erhöhte Konzentrationen bei depressiven Patienten im Vergleich zu gesunden Kontrollpersonen (Maes et al. 1997; Lanquillon et al. 2000; Mikova et al. 2001; Sutcgil et al. 2007). Es wurde sogar eine positive Korrelation zwischen Cortisol und IL-6 im Plasma bei depressiven Patienten beschrieben (Maes et al. 1995). Andere Untersuchungen zeigten hier jedoch keinen Zusammenhang (Haak et al. 1999; Kronfol et al. 2000 rev.).

Geht man von diesen Beobachtungen aus, so würde man eher eine erhöhte MIF-Konzentration bei depressiven Patienten erwarten.

Bei Betrachtung der MIF-Konzentrationen im Serum konnte hier jedoch kein Unterschied zwischen depressiven Patienten und gesunden Probanden zu Beginn der Untersuchung nachgewiesen werden. Auch bei Unterscheidung von remittierten und nicht remittierten Patienten fand man keinen Unterschied der Serum-MIF-Werte im Verlauf und beim Vergleich der Gruppen. Deskriptiv fielen jedoch insgesamt niedrigere MIF-Werte im Serum in der Patientengruppe auf, und bei Abschluss der Untersuchung waren die MIF-Konzentrationen im Serum der remittierten Patienten sogar signifikant niedriger als bei den Kontrollpersonen.

Bezüglich der MIF-Konzentrationen im Speichel konnte man keine Unterschiede zwischen den Gruppen und im Verlauf feststellen. Hier fanden sich deskriptiv bei den Patienten eher leicht höhere MIF-Konzentrationen im Speichel als bei den Kontrollen.

Bei Dichotomisierung der Patientengruppe, der Kontrollgruppe und der Gesamtgruppe aller Studienteilnehmer in Menschen mit hohen bzw. niedrigen MIF-Konzentrationen im Serum fiel ein deutlich höherer Median in der Kontrollgruppe im Vergleich zu der Patientengruppe auf ($p=0,066$).

Die MIF-Konzentrationen im Speichel zeigten hingegen auch nach Dichotomisierung keine Auffälligkeiten.

Im Serum zeigte sich der Unterschied zwischen Patienten und Kontrollpersonen bezüglich der MIF-Konzentration deutlicher als im Speichel. Im Serum liegen die

Patienten mit dem MIF deutlich niedriger bzw. sind mehr unter den „low-MIF-secretors“ als die Kontrollen, während sie bezüglich des Speichel-MIF eher gleich verteilt sind.

Eine mögliche Erklärung liegt in der Hypothese von Parker, die davon ausgeht, dass bei chronischer Depression die ACTH-Konzentration bei gleichzeitig erhöhter Cortisol-Konzentration erniedrigt ist, also eine Hyperreagibilität der Nebenniere vorliegt (Parker et al. 2003). Wenn man nun davon ausgeht, dass das in denselben Granula wie ACTH in der Hypophyse gespeicherte MIF zusammen mit ACTH freigesetzt wird, könnte man bei Patienten mit erniedrigtem ACTH auch niedrigere MIF-Konzentrationen finden. ACTH ist in dieser Studie jedoch nicht gemessen worden. Auch würde diese Erklärung insbesondere für chronisch depressive Patienten zutreffen, welche jedoch in der hiesigen Population nicht erfasst wurden.

Setzt man nun MIF in Serum und Speichel zueinander in Beziehung, so fand sich in der Gruppe der Patienten eine teilweise signifikante negative Korrelation. Patienten mit niedrigem MIF im Serum zeigten höhere MIF-Konzentrationen im Speichel und umgekehrt. Kontrollpersonen zeigten diesbezüglich keine Korrelation, bei Dichotomisierung nach Speichel-MIF zeigte sich bei den Kontrollpersonen jedoch ein positiver Zusammenhang.

Nimmt man eine „Imbalance“ im neuroimmunoendokrinen System bei depressiven Patienten an, könnte sich diese im negativen Zusammenhang zwischen MIF in Speichel und Serum widerspiegeln. Der Trend zur positiven Korrelation bei den Kontrollpersonen drückte dementsprechend das System in Balance aus.

Über MIF im Speichel sind noch keine Untersuchungen bekannt, weshalb die Beobachtungen hier mit keinen anderen Untersuchungen verglichen werden können und somit für sich selbst stehen. Es bedürfte weiterer Untersuchungen, um das Verhalten von MIF im Speichel bzw. den Zusammenhang zu Serum-MIF besser verstehen zu können.

4.2.3 MIF und Cortisol

In der vorliegenden Untersuchung ließ sich ein Zusammenhang zwischen MIF und Cortisol insbesondere im Serum bei Dichotomisierung nach Serum-MIF nachweisen. So zeigten sich in der Gesamtgruppe bei Menschen mit niedrigem MIF im Serum signifikant höhere Serum-Cortisol-Konzentrationen und umgekehrt. Diese Beobachtung ließ sich in der Patientengruppe machen, bei den Kontrollen ergab sich lediglich ein Trend. Auch in Korrelationsuntersuchungen fand man diesen Effekt in der Gesamtgruppe, hier deutlicher ausgeprägt zum Abschlusszeitpunkt der Untersuchung. Bei Dichotomisierung nach Serum-Cortisol zeigte sich der umgekehrte Zusammenhang jedoch nicht.

Dass sich der negative Zusammenhang zwischen MIF und Cortisol im Serum lediglich bei Dichotomisierung von MIF und nicht von Cortisol zeigte, passt zu der Beobachtung in Studie 1. Auch dort fand man eine unterschiedlich starke Cortisol-Reaktion auf Stress nach Dichotomisierung von MIF; teilte man die Probanden nach der Stärke der Cortisol-Reaktion auf, zeigte sich kein Unterschied im MIF-Verlauf.

Fasst man diese beiden Beobachtungen zusammen, ergäbe sich die These, dass die MIF-Konzentration die Konzentration von Cortisol beeinflusst – die Menge an Cortisol also von der Menge an MIF abhängig ist – und nicht umgekehrt.

Die Sekretion von MIF wird durch niedrige Cortisol-Dosen induziert (Calandra et al. 1995). Dies könnte eine Erklärung dafür sein, dass bei niedrigen Cortisol-Konzentrationen im Serum eher hohe MIF-Konzentrationen vorliegen (hier wäre die MIF-Konzentration von der Cortisol-Konzentration abhängig). Vorstellbar wäre auch, dass hohe MIF-Konzentrationen mittels negativem Feedback die Cortisolausschüttung hemmen – z.B. über die HHNA (Cortisol-Konzentration abhängig von MIF-Konzentration).

Geht man nun von der Annahme aus – „high-MIF-secretors“ haben niedrigere Cortisol-Werte im Serum – und verbindet sie mit der Beobachtung, dass mehr Kontrollpersonen in der „high-MIF-secretors“-Gruppe und mehr depressive Patienten in der Gruppe mit niedrigen MIF-Werten im Serum sind, so könnte man annehmen, dass in der Kontrollgruppe die Cortisol-Werte niedriger sein müssten als bei den Patienten. Dass

bei depressiven Patienten häufig erhöhte Cortisol-Konzentrationen gemessen werden, ist bekannt.

In dieser Untersuchung fanden sich zwar diesbezüglich keine signifikanten Unterschiede, jedoch könnte man aufgrund der vorliegenden Ergebnisse annehmen, dass MIF eventuell sensibler / deutlicher reagiert als Cortisol und daher deutlichere Unterschiede zwischen den Gruppen bezüglich der MIF-Konzentrationen zu beobachten sind.

4.3 Zusammenführung

Verbindet man die Ergebnisse beider Untersuchungen nun miteinander, so findet man sowohl bei akuter Aktivierung des Stresssystems als auch im Ruhezustand einen Zusammenhang zwischen MIF- und Cortisol-Konzentrationen. Während in der ersten Untersuchung das Paradigma des akuten Stresses erfüllt ist, kann man in der zweiten Studie aufgrund fehlender erhöhter Cortisolkonzentrationen in der Patientengruppe nicht eindeutig von einem Modell für chronischen Stress mit HHNA-Aktivierung sprechen. Um die Ergebnisse der beiden Untersuchungen zusammenzuführen, soll im Folgenden das Setting des akuten Stresses als Betrachtung des „dynamischen Systems“, das Modell der zweiten Studie als Untersuchung des „basalen Systems“ bezeichnet werden.

Bezüglich der Interaktion von Cortisol und MIF in Serum und Speichel ließe sich aus den hier durchgeführten Untersuchungen somit folgendes ableiten: (Tabelle 10)

Im basalen System sind Cortisol und MIF im Serum miteinander negativ korreliert. Je höher die MIF-Konzentration im Serum, desto niedriger das Serum-Cortisol.

Im Speichel besteht kein korrelativer Zusammenhang zwischen MIF und Cortisol im Basalzustand, dies war in beiden Untersuchungen nicht zu beobachten.

Betrachtet man jedoch das Verhalten von MIF und Cortisol im Speichel im dynamischen System, so scheint die Konzentration von MIF die Stärke der Cortisol-Antwort auf Stress zu beeinflussen. Hohe MIF-Konzentrationen schwächen die Reagibilität der HHNA und somit die Cortisol-Sekretion ab.

Ob und inwiefern MIF und Cortisol im Serum im dynamischen System interagieren, wurde in der vorliegenden Arbeit nicht untersucht und kann daher nur spekuliert werden.

	basales System	dynamisches System
Serum	negative Korrelation zwischen MIF und Cortisol – je höher MIF desto niedriger Cortisol	nicht untersucht
Speichel	kein Zusammenhang zwischen MIF und Cortisol erkennbar	hohes MIF scheint die Stärke der Cortisol-Antwort auf Stress abzuschwächen

Tabelle 11: Interaktion von Cortisol und MIF in Serum und Speichel.

4.4 Stellungnahme zu den Hypothesen

Im Folgenden soll zu den eingangs aufgestellten Hypothesen Stellung genommen werden.

Hypothese 1: Nach akutem Stress steigen sowohl die Cortisol-, als auch die MIF-Konzentration im Speichel an.

In der vorliegenden Untersuchung konnte man bei den Probanden nach Zufügen eines akuten Stressreizes einen deutlichen Konzentrationsanstieg des Cortisol im Speichel beobachten. Bezüglich der MIF-Konzentration zeigte sich ein Anstieg jedoch bereits vor dem akuten Stressereignis.

Hypothese 2: Bei den Probanden, die einem akuten Stressreiz ausgesetzt werden, kann man sog. „high responders“ und „low responders“ bezüglich der Stärke der Cortisol-Reaktion unterscheiden. Die MIF-Konzentrationen differieren in beiden Gruppen.

Es fand sich ein signifikanter Unterschied zwischen „low-“ und „high-responders“ bezüglich der Cortisol-Reaktion in der Gesamtgruppe, sowie bei Männern und Frauen separat. Es ließ sich jedoch kein Unterschied im MIF-Verlauf zwischen „low-“ und „high-cortisol-responders“ beobachten.

Hypothese 3: Bei depressiven Patienten ist die MIF-Konzentration, sowie auch die Cortisol-Konzentration, in Blut und Speichel zu Beginn der Behandlung erhöht und fällt mit Remission auf eine vergleichbare Konzentration wie bei den Kontrollpersonen ab.

Bei Patienten mit einer depressiven Erkrankung zeigten sich die Konzentrationen von MIF und Cortisol in Blut und Speichel zu Beginn der Untersuchung nicht signifikant verändert im Vergleich zu den Kontrollpersonen. Auch kam es zu keiner signifikanten Veränderung der im Verlauf. Deskriptiv zeigten die Patienten zu Beginn der Untersuchung tendenziell höhere Cortisol-Konzentrationen, jedoch eher niedrigere MIF-Konzentrationen im Serum und höhere MIF-Konzentrationen im Speichel als die Kontrollpersonen.

5 Zusammenfassung

Bei akutem und chronischem Stress kommt es zu einer Reihe physiologischer Reaktionen im Körper. Die wohl wichtigste Rolle auf neuroendokriner Ebene spielt die Hypothalamus-Hypophysen-Nebennierenrinden-Achse (HHNA), deren Aktivierung zu einer vermehrten Freisetzung von Cortisol führt. Auch das Immunsystem reagiert, insbesondere durch Übermittlung mittels Zytokine, wie z.B. IL-6 und TNF- α , auf Stress.

Makrophagen Migrationsinhibierender Faktor (MIF) wurde in den 60er Jahren als ein Zytokin entdeckt, das bei Entzündung ausgeschüttet wird und migrationshemmend auf Makrophagen wirkt. Mittlerweile konnte MIF in zahlreichen Systemen im Organismus nachgewiesen werden. Erstaunlich ist vor allem die Beobachtung, dass MIF einerseits als Gegenspieler der antiinflammatorischen und immunsuppressiven Wirkung von Glukokortikoiden wirkt und deren immunsupprimierende Wirkung sogar „übereunden“ kann, gleichzeitig jedoch durch niedrigere Glukokortikoiddosen induziert wird, womöglich um bei entzündlichen Erkrankungen ein gewisses Gleichgewicht in der Immunantwort herzustellen. Hohe Glukokortikoiddosen induzieren MIF nicht mehr. MIF ist außerdem in der Hypophyse teilweise in den gleichen Granula wie ACTH lokalisiert und wird durch CRH-Stimulation vermehrt ausgeschüttet.

Aufgrund dieses Wechselspiels zwischen Glukokortikoidsystem und MIF, schien es interessant zu untersuchen, wie sich MIF im Zusammenhang mit Cortisol unter akutem und chronischem Stress verhält. Zu diesem Zweck wurde bei jungen gesunden Probanden, die in einem Studiendesign einem akuten Schmerzstressor ausgesetzt waren, über diesen Zeitraum Cortisol und MIF im Speichel bestimmt. Bei depressiv erkrankten Menschen geht man von einer chronischen Stresssituation aus, die häufig mit einer Aktivierung bzw. Veränderung der Reagibilität der HHNA einhergeht. MIF und Cortisol wurden in Speichel und Blut bei depressiven Patienten im Verlauf und im Vergleich mit gesunden Kontrollpersonen untersucht.

Nach akutem Stressreiz kam es zu einem deutlichen Anstieg der Cortisol-Konzentration im Speichel, die MIF Konzentration zeigte jedoch keine deutliche Reaktion, allenfalls bei Menschen mit insgesamt niedrigeren MIF-Konzentrationen ließ

sich ein prästressorischer MIF-Anstieg beobachten. Bei Betrachtung von Probanden mit starker Cortisolreaktion auf Stress und Probanden ohne Cortisolreaktion, sog. „high-“ und „low-Cortisol-reactors“, fand man keinen Unterschied im Verlauf der MIF-Konzentration. Unterteilte man jedoch die Probanden nach basaler MIF-Konzentration, so zeigte sich bei Probanden mit durchgängig niedriger MIF-Konzentration im Speichel eine deutlich stärkere Cortisol-Reaktion auf Stressreiz, während die Probanden mit durchgängig hohen MIF-Konzentrationen eine deutliche schwächere Cortisolreaktion zeigten. Dieser Effekt war insbesondere in der Gruppe der Männer zu beobachten. Hier zeigte sich auch ein korrelativer Zusammenhang (je höher die basale MIF-Konzentration desto schwächer die Cortisol-Reaktion auf einen akuten Stressreiz).

Die depressiven Patienten zeigten keine deutlich erhöhten Cortisol-Konzentrationen in Speichel und Blut im Vergleich zu den Kontrollpersonen, auch das MIF unterschied sich nicht. Auch im Verlauf ließ sich keine wesentliche signifikante Veränderung der Cortisol- oder MIF-Konzentrationen in Blut und Speichel beobachten. Es fiel jedoch ein deutlicher negativer Zusammenhang zwischen Cortisol und MIF im Serum auf. Bei hohen MIF-Konzentrationen fanden sich niedrige Cortisol-Konzentrationen und umgekehrt.

MIF in Serum und Speichel fanden sich bei Patienten negativ korreliert, Patienten mit hohem Serum-MIF hatten niedriges MIF im Speichel und umgekehrt.

Bezüglich der Interaktion von MIF und Cortisol ließe sich aus den Ergebnissen dieser Arbeit folgendes ableiten: Es besteht ein negativer Zusammenhang der basalen MIF- und Cortisol-Konzentrationen im Serum. Im Speichel findet sich dieser Zusammenhang nicht. Hohe MIF-Konzentrationen im Speichel hemmen den Cortisol-Anstieg nach einem akuten Stressereignis. Dies wurde im Serum hier nicht untersucht.

Hier wären weitere Untersuchungen interessant: Hemmt MIF die Cortisol-Reaktion auch im Serum? Kann durch Inkubation mit MIF die zelluläre Cortisolausschüttung verringert werden? Kann MIF die HHNA beeinflussen und wenn ja, wie? Könnte man dieses Zusammenspiel genauer durchleuchten, wäre es eventuell möglich, sich dieses Wissen bei der Behandlung von z.B. stressrelatierten Erkrankungen zunutze zu machen.

6 Literaturverzeichnis

Aardal, E., Holm, A.C. (1995). Cortisol in saliva--reference ranges and relation to cortisol in serum. *Eur. J. Clin. Chem. Clin. Biochem.* 33, 927-32.

Aardal-Eriksson, E., Karlberg, B.E., Holm, A.-C. (1998). Salivary Cortisol – an Alternative to Serum Cortisol Determinations in Dynamic Function Tests. *Clin. Chem. Lab. Med.* 36, 215-222.

Aeberli, D., Leech, M., Morand, E.F. (2006). Macrophage migration inhibitory factor and glucocorticoid sensitivity. *Rheumatology (Oxford)* 45, 937-43.

American Psych. Association (1996). Diagnostic and statistical manual of mental disorders. 4., Washington DC, Hogrefe-Verlag für Psychologie.

Amsterdam, J.D., Maislin, G., Abelman, E., Berwisch, N., Winokur, A. (1986). Adrenocortical responsiveness to the ACTH stimulation test in depressed patients and healthy volunteers. *J. Affect. Disord.* 11, 265–274.

Amsterdam, J.D., Marinelli, D.L., Arger, P., Winokur, A. (1987). Assessment of adrenal gland volume by computed tomography in depressed patients and healthy volunteers: a pilot study. *Psychiatry Res* 21, 189-197.

Angeli, A., Masera, R.G., Sartori, M.L., Fortunati, N., Racca, S., Dovio, A., Staurenghi, A., Frairia, R. (1999). Modulation by cytokines of glucocorticoid action. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 876, 210-20.

Bacher, M.; Meinhardt, A.; Lan, H. Y.; Dhabhar, F. S.; Mu, W.; Metz, C. N.; Chesney, J. A.; Gemsa, D.; Donnelly, T.; Atkins, R. C.; Bucala, R. (1998). MIF expression in the rat brain: implications for neuronal function. *Mol. Med.* 4. 217-230.

Bacher, M.; Meinhardt, A.; Lan, H. Y.; Mu, W.; Metz, C. N.; Chesney, J. A.; Calandra, T.; Gemsa, D.; Donnelly, T.; Atkins, R. C.; Bucala, R. (1997). Migration inhibitory factor expression in experimentally induced endotoxemia. *Am. J. Pathol.* 150. 235-246.

Bacher, M.; Metz, C. N.; Calandra, T.; Mayer, K.; Chesney, J.; Lohoff, M.; Gemsa, D.; Donnelly, T.; Bucala, R. (1996). An essential regulatory role for macrophage migration inhibitory factor in T-cell activation. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 93, 7849-7854.

Baghai, T.C., Schule, C., Zwanzger, P., Minov, C., Holme, C., Padberg, F., Bidlingmaier, M., Strasburger, C.J., Rupprecht, R. (2002). Evaluation of a salivary based combined dexamethasone/CRH test in patients with major depression. *Psychoneuroendocrinology* 27, 385-99.

von Bardeleben, U., Stalla, G.K., Müller, O.A., Holsboer, F. (1988). Blunting of ACTH response to human CRH in depressed patients is avoided by metyrapone pretreatment. *Biol. Psychiatry* 24, 782-6.

Barden, N., Reul, J.M.H.M., Holsboer, F. (1995). Do antidepressants stabilize mood through actions on the hypothalamic-pituitary-adrenocortical system? *Trends Neurosci.* 18, 6-11.

Benigni, F., Atsumi, T., Calandra, T., Metz, C., Echtenacher, B., Peng, T., Bucala, R. (2000). The proinflammatory mediator macrophage migration inhibitory factor induces glucose catabolism in muscle. *J. Clin. Invest.* 106, 1291-300.

Berger, M., Bossert, S., Krieg, J.C., Dirlich, G., Ettmeier, W., Schreiber, W., von Zerssen, D. (1987). Interindividual differences in susceptibility of the cortisol system: an important factor for the degree of hypercortisolism in stress situations? *Biol. Psychiatrie* 22, 1327-39.

Bernhagen, J., Bacher, M., Calandra, T., Metz, C.N., Doty, S.B., Donnelly, T., Bucala, R. (1996). An essential role for macrophage migration inhibitory factor (MIF) in the tuberculin delayed-type hypersensitivity reaction. *J. Exp. Med.* 183, 277-282.

Bernhagen, J., Calandra, T., Bucala, R. (1998). Regulation of the immune response by macrophage migration inhibitory factor: biological and structural features. *J. Mol. Med.* 76, 151-161.

Bernhagen, J., Calandra, T., Mitchell, R.A., Martin, S.B., Tracey, K.J., Voelter, W., Manogue, K.R., Cerami, A., Bucala, R. (1993). MIF is a pituitary-derived cytokine that potentiates lethal endotoxaemia. *Nature (Lond.)* 365, 756-759.

Bhagwagar, Z., Hafizi, S., Cowen, P.J. (2005). Increased salivary cortisol after waking in depression. *Psychopharmacology* 182, 54-57.

Bloom, B.R., Bennett, B. (1966). Mechanism of a reaction in vitro associated with delayed-type hypersensitivity. *Science (Wash. DC)* 153, 80-82.

Bremmer, M.A., Deeg, D.J., Beekman, A.T., Penninx, B.W., Lips, P., Hoogendijk, W.J. (2007). Major depression in late life is associated with both hypo- and hypercortisolemia. *Biol. Psychiatry* 62, 479-486.

Brouwer, J.P., Appelhof, B.C., Hoogendijk, W.J., Huyser, J., Endert, E., Zuketto, C., Schene, A.H., Tijssen, J.G., Van Dyck, R., Wiersinga, W.M., Fliers, E. (2005). Thyroid and adrenal axis in major depression: a controlled study in outpatients. *Eur. J. Endocrinol.* 152, 185-191.

Bucala, R. (1996). MIF rediscovered: cytokine, pituitary hormone, and glucocorticoid-induced regulator of the immune response. *FASEB J.* 10. 1607-1613.

Bozza, F.A., Gomes, R.N., Japiassú, A.M., Soares, M., Castro-Faria-Neto, H.C., Bozza, P.T., Bozza, M.T. (2004). Macrophage migration inhibitory factor levels correlate with fatal outcome in sepsis. *Shock* 22, 309-313.

Bozza, M., Satoskar, A.R., Lin, G., Lu, B., Humbles, A.A., Gerard, C., David, J.R. (1999). Targeted disruption of migration inhibitory factor gene reveals its critical role in sepsis. *J. Exp. Med.* 189, 341-346.

Cacioppo, J.T., Malarkey, W.B., Kiecolt-Glaser J.K., Uchino, B.N., Sgoutas-Emch, S.A., Sheridan J.F., Berntson, G.G., Glaser, R. (1995). Heterogeneity in neuroendocrine and immune responses to brief psychological stressors as a function of autonomic cardiac activation. *Psychosom. Med.* 57, 154-64.

Calandra, T.; Bernhagen, J.; Metz, C. N.; Spiegel, L. A.; Bacher, M.; Donnelly, T.; Cerami, A.; Bucala, R. (1995). MIF as a glucocorticoid-induced modulator of cytokine production. *Nature* 377. 68-71.

Calandra, T.; Bernhagen, J.; Mitchell, R. A.; Bucala, R. (1994). The macrophage is an important and previously unrecognized source of macrophage migration inhibitory factor. *J. Exp. Med.* 179. 1895-1902.

Calandra, T., Echtenacher, B., Le Roy, D., Pugin, J., Metz, C.N., Hültner, L., Heumann, D., Männel, D., Bucala, R., Glauser, M.P. (2000). Protection from septic shock by neutralization of macrophage migration inhibitory factor. *Nat. Med.* 6, 164-170.

Calandra, T., Spiegel, L.A., Metz, C.N., Bucala, R. (1998). Macrophage migration inhibitory factor is a critical mediator of the activation of immune cells by exotoxins of Gram-positive bacteria. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 95, 11383-11388.

Carroll, B.J. (1982). The dexamethason suppression test for melancholia. *Br. J. Psychiatry* 140, 292-304.

Chesney, J., Metz, C., Bacher, M., Peng, T., Meinhardt, A., Bucala, R. (1999). An essential role for macrophage migration inhibitory factor (MIF) in angiogenesis and the growth of a murine lymphoma. *Mol. Med.* 5, 181-91.

Chikanza, I.C., Petrou, P., Chrousos, G. (2000). Perturbations of arginin vasopressin secretion during inflammatory stress. Pathophysiologic implications. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 917, 825-34.

Chuang, C.C., Wang, S.T., Chen, W.C., Chen, C.C., Hor, L.I., Chuang, A.Y. (2007). Increases in serum macrophage migration inhibitory factor in patients with severe sepsis predict early mortality. *Shock* 27, 503-506.

Dandona, P., Aljada, A., Ghanim, H., Mohanty, P., Tripathy, C., Hofmeyer, D., Chaudhuri, A. (2004). Increased plasma concentration of macrophage migration inhibitory factor (MIF) and MIF mRNA in mononuclear cells in the obese and the suppressive action of metformin. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 89, 5043-5047.

David, J.R: (1966). Delayed hypersensitivity in vitro: its mediation by cell-free substances formed by lymphoid cell-antigen interaction. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 56, 72-77.

Deuschle, M., Schweiger, U., Weber, B., Gotthardt, U., Körner, A., Schmider, J., Standhardt, H., Lammers, C.H., Heuser, I. (1997). Diurnal activity and pulsatility of the hypothalamus-pituitary-adrenal system in male depressed patients and healthy controls. *Clin. Endocrinol. Metab.* 82, 234-8.

Dhabhar, F.S., McEwen, B.S. (1997). Acute stress enhances while chronic stress suppresses cell-mediated immunity in vivo: a potential role for leukocyte trafficking. *Brain Behav. Immun.* 11, 286-306.

Dhabhar, F.S., McEwen, B.S. (1999). Enhancing versus suppressive effects of stress hormones on skin immune function. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 96, 1059-1064.

Donnelly, S. C.; Bucala, R. (1997). Macrophage migration inhibitory factor: a regulator of glucocorticoid activity with a critical role in inflammatory disease. *Mol. Med. Today* 3. 502-507.

Donnelly, S.C., Haslett, C., Reid, P.T., Grant, I.S., Wallace, W.A., Metz, C.N., Bruce, L.J., Bucala, R. (1997). Regulatory role for macrophage migration inhibitory factor in acute respiratory distress syndrome. *Nat. Med.* 3, 320-323.

Elhwuegi, A.S. (2004). Central monoamines and their role in major depression. *Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry* 28, 435-51.

Emonts, M., Sweep, F.C., Grebenchtchikov, N., Geurts-Moespot, A., Knaup, M., Chanson, A.L., Erard, V., Renner, P., Hermans, P.W., Hazelzet, J.A., Calandra, T. (2007). Association between high levels of blood macrophage migration inhibitory factor, inappropriate adrenal response, and early death in patients with severe sepsis. *Clin. Infect. Dis.* 44, 1321-1328.

Galard, R., Catalan, R., Castellanos, J.M., Gallart, J.M. (2002). Plasma corticotropin-releasing factor in depressed patients before and after the dexamethasone suppression test. *Biol. Psychiatrie* 51, 463-8.

Gemsa, D.; Kalden, J. R.; Resch, K. (Hrsg.). *Immunologie. Grundlagen – Klinik – Praxis.* Stuttgart, New York. 1997, 4. Aufl. S.63.

Gerken, A., Holsboer, F. (1986). Cortisol and corticosterone response after syn-corticotropin in relationship to dexamethasone suppressability of cortisol. *Psychoneuroendocrinology* 11, 185–194.

Gerra, G., Zaimovic, A., Mascetti, G.G., Gardini, S., Zambelli, U., Timpano, M., Raggi, M.A., Brambilla, F. (2001). Neuroendocrine responses to experimentally-induced psychological stress in healthy humans. *Psychoneuroendocrinology* 26, 91-107.

Haak, M., Hinze-Selch, D., Fenzel, T., Kraus, T., Kuhn, M., Schuld, A., Pollmächer, T. (1999). Plasma levels of cytokines and soluble cytokine receptors in psychiatric patients upon hospital admission: effects of confounding factors and diagnosis. *J. Psychiatr. Res.* 33, 407-18.

Halbreich, U., Asnis, G.M., Shindlecker, R., Zumoff, B., Nathan, R.S. (1985). Cortisol secretion in endogenous depression. I. Basal plasma levels. *Arch. Gen. Psychiatry* 42, 904-8.

Halbreich, U., Asnis, G.M., Zumoff, B., Nathan, R.S., Shindlecker, R. (1984). Effect of age and sex on cortisol secretion in depressives and normals. *Psychiatrie Res.* 13, 221-9.

Herder, C., Kolb, H., Koenig, W., Haastert, B., Müller-Scholze, S., Rathmann, W., Holle, R., Thorand, B., Wichmann, H.E. (2006). Association of systemic concentrations of macrophage migration inhibitory factor with impaired glucose tolerance and type 2 diabetes: results from the Cooperative Health Research in the Region of Augsburg, Survey 4 (KORA S4). *Diabetes Care* 29, 368-371.

Heninger, G.R., Delgado, P.I., Charney, D.S. (1996). The revised monoamine theory of depression: a modulatory role for monoamines, based on new findings from monoamine depletion experiments in humans. *Pharmacopsychiatry* 29, 2-11.

Heuser, I.J., Gotthardt, U., Schweiger, U., Schmider, J., Lammers, C.H., Dettling, M., Holsboer, F. (1994). Age-related changes of pituitary-adrenocortical hormone regulation in humans; importance of gender. *Neurobiol. Aging* 15, 227-31.

Holsboer, F. (1999). The rationale for corticotropin-releasing hormone receptor (CRH-R) antagonists to treat depression and anxiety. *J. Psychiatr. Res.* 33, 181-214.

Holsboer, F.A., Von Bardeleben, U., Gerken, A., Stalla, G.K., Muller, O.A. (1984). Blunted corticotropin and normal cortisol response to human corticotropin-releasing factor in depression. *N. Engl. J. Med.* 311, 1127–1128.

Holsboer, F.A., Gerken, A., Stalla, G.K., Muller, O.A. (1987). Blunted aldosterone and corticotropin release after human corticotropin releasing hormone in depression. *Am. J. Psychiatry* 144, 229–231.

Holsboer, F., Lauer, C.J., Schreiber, W., Krieg, J.C. (1995). Altered hypothalamic-pituitary-adrenocortical regulation in healthy subjects at high familial risk for affective disorders. *Neuroendocrinology* 62, 340-7.

Holsboer, F., Liebl, R., Hofschuster, E. (1982). Repeated dexamethasone suppression test during depressive illness. Normalisation of test result compared with clinical improvement. *J. Affect. Disord.* 4, 93-101.

Holsboer-Trachsler, E., Stohler, R., Hatzinger, M. (1991). Repeated administration of the combined dexamethasone-human corticotropin releasing hormone stimulation test during treatment of depression. *Psychiatry Res.* 38, 163-71.

Isidori, A.M., Kaltsas, G.A., Korbonits, M., Pyle, M., Guerguiev, M., Meinhardt, A., Metz, C., Petrovsky, N., Popovic, V., Bucala, R., Grossman, A.B. (2002). Response of serum macrophage migration inhibitory factor levels to stimulation or suppression of the hypothalamo-pituitary-adrenal axis in normal subjects and patients with Cushing's disease. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 87, 1834-40.

Kaestner, F., Hettich, M., Peters, M., Sibrowski, W., Hetzel, G., Ponath, G., Arolt, V., Cassens, U., Rothermundt, M. (2005). Different activation patterns of proinflammatory cytokines in melancholic and non-melancholic major depression are associated with HPA axis activity. *J. Affect. Disord.* 87, 305-311.

von Känel, R., Kudielka, B.M., Preckel, D., Hanebuth, D., Fischer, J.E. (2006). Delayed response and lack of habituation in plasma interleukin-6 to acute mental stress in men. *Brain Behav. Immun.* 20, 40-48.

Keller, J., Flores, B., Gomez, R.G., Solvason, H.B., Kenna, H., Williams, G.H., Schatzberg, A.F. (2006). Cortisol circadian rhythm alterations in psychotic major depression. *Biol. Psychiatry* 60, 275-81.

Kirschbaum, C., Kudielka, B.M., Gaab, J., Schommer, N.C., Hellhammer, D.H. (1999). Impact of gender, menstrual cycle phase, and oral contraceptives on the activity of the hypothalamus-pituitary-adrenal axis. *Psychosom. Med.* 61, 154-162.

Kirschbaum, C., Prussner, J.C., Stone, A.A., Federenko, I., Gaab, J., Lintz, D., Schommer, N., Hellhammer, D.H. (1995). Persistent high cortisol responses to repeated psychological stress in a subpopulation of healthy men. *Psychosom. Med.* 57, 468-74.

Kirschbaum, C., Wüst, S., Hellhammer, D. (1992). Consistent sex differences in cortisol responses to psychological stress. *Psychosom. Med.* 54, 648-57.

Kitaichi, N., Kotake, S., Mizue, Y., Sasamoto, Y., Goda, C., Iwabuchi, K., Onoe, K., Matsuda, H., Nishihira, J. (2000). High-dose corticosteroid administration induces increase of serum macrophage migration inhibitory factor in patients with Vogt-Koyanagi-Harada's disease. *Microbiol. Immunol.* 44, 1075-1077.

Kleemann, R., Kapurniotu, A., Frank, R.W., Gessner, A., Mischke, R., Flieger, O., Juttner, S., Brunner, H., Bernhagen, J. (1998). Disulfide analysis reveals a role for macrophage migration inhibitory factor (MIF) as thiol-protein oxidoreductase. *J. Mol. Biol.* 280, 85-102.

Klinke, R., Silbernagl, S. (Hrsg.) (1994). *Lehrbuch der Physiologie*. Thieme, Stuttgart, New York, 1994, 440-472.

Kraepelin, E. (1913). *Psychiatrie*. Band 3. 8. Leipzig, Barth.

Kronfol, Z., Remick, D.G. (2000). Cytokines and the brain: Implications for clinical psychiatry. *Am. J. Psychiatry* 157, 683-694.

Lai, K.N., Leung, J.C., Metz, C.N., Lai, F.M., Bucala, R., Lan, H.Y. (2003). Role for macrophage migration inhibitory factor in acute respiratory distress syndrome. *J. Pathol.* 199, 496-508.

Lan, H.Y., Yang, N., Nikolic-Paterson, D.J., Yu, X.Q., Mu, W., Isbel, N.M., Metz, C.N., Bucala, R., Atkins, R.C. (2000). Expression of macrophage migration inhibitory factor in human glomerulonephritis. *Kidney Int.* 57, 499-509.

Lanquillon, S., Krieg, J.C., Bening-Abu-Shach, U., Vedder, H. (2000). Cytokine production and treatment response in major depressive disorder. *Neuropsychopharmacology* 22, 370-9.

Leech, M., Metz, C., Hall, P., Hutchinson, P., Gianis, K., Smith, M., Weedon, H., Holdsworth, S.R., Bucala, R., Morand, E.F. (1999). Macrophage migration inhibitory factor in rheumatoid arthritis: evidence of proinflammatory function and regulation by glucocorticoids. *Arthritis Rheum.* 42, 1601-1608.

Leech, M., Metz, C., Santos, L., Peng, T., Holdsworth, S.R., Bucala, R., Morand, E.F. (1998). Involvement of macrophage migration inhibitory factor in the evolution of rat adjuvant arthritis. *Arthritis Rheum.* 41, 910-917.

Lue, H., Kleemann, R., Calandra, T., Roger, T., Bernhagen, J. (2002). Macrophage migration inhibitory factor (MIF): mechanisms of action and role in disease. *Microbes Infect.* 4, 449-460.

Maes, M., Bosmans, E., De Jong, R., Kenis, G., Vandoolaeghe, E., Neels, H. (1997). Increased serum IL-6 and IL-1 receptor antagonist concentrations in major depression and treatment resistant depression. *Cytokine* 9, 853-8.

Maes, M., Bosmans, E., Meltzer, H.Y. (1995). Immunoendocrine aspects of major depression. Relationships between plasma interleukin-6 and soluble interleukin-2 receptor, prolactin and cortisol. *Eur. Arch. Psychiatry Clin. Neurosci.* 245, 172-8.

Maes, M., Meltzer, H.Y., Cosyns, P., Suy, E., Schotte, C. (1993). An evaluation of basal hypothalamic-pituitary-thyroid axis function in depression: results of a large-scaled and controlled study. *Psychoneuroendocrinology* 18,607-20.

Maxime, V., Fitting, C., Annane, D., Cavaillon, J.M. (2005). Corticoids normalize leukocyte production of macrophage migration inhibitory factor in septic shock. *J. Infect. Dis.* 191, 138-144.

McEwen, B.S. (2000). The neurobiology of stress: from serendipity to clinical relevance. *Brain Res.* 886, 172-189.

Metz, C. N.; Bucala, R. (1997). Role of macrophage migration inhibitory factor in the regulation of the immune response. *Adv. Immunol.* 66. 197-223.

Mikova, O., Yakimova, R., Bosmans, E., Kenis, G., Maes, M. (2001). Increased tumor necrosis factor alpha concentrations in major depression and multiple sclerosis. *Eur. Neuropsychopharmacol.* 11, 203-8.

Mizoguchi, K., Yuzurihara, M., Ishige, A., Sasaki, H., Chui, D.H., Tabira, T. (2001). Chronic stress differentially regulates glucocorticoid negative feedback response in rats. *Psychoneuroendocrinology* 26, 443-459.

Mizue, Y., Ghani, S., Leng, L., McDonald, C., Kong, P., Baugh, J., Lane, S.J., Craft, J., Nishihira, J., Donnelly, S.C., Zhu, Z., Bucala, R. (2005). Role for macrophage migration inhibitory factor in asthma. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 102, 14410-14415.

Mizue, Y., Nishihira, J., Miyazaki, T., Fujiwara, S., Chida, M., Nakamura, K., Kikuchi, K., Mukai, M. (2000). Quantitation of macrophage migration inhibitory factor (MIF) using the one-step sandwich enzyme immunosorbent assay: elevated serum MIF concentration in patients with autoimmune diseases and identification of MIF in erythrocytes. *Int. J. Mol. Med.* 5, 397-403.

Möller, H.-J., Laux, G., Deister, A. (1995). *Psychiatrie*. Stuttgart, Hippokrates-Verlag.

Modell, S., Lauer, C.J., 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, 253-62.

Morand, E.F., Bucala, R., Leech, M. (2003). Macrophage migration inhibitory factor: an emerging therapeutic target in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum.* 48, 291-299.

Morand, E.F., Leech, M., Weedon, H., Metz, C., Bucala, R., Smith, M.D. (2002). Macrophage migration inhibitory factor in rheumatoid arthritis: clinical correlations. *Rheumatology* 41, 558-562.

Nelson, J.C., Davis, J.M. (1997). DST studies in psychotic depression: a meta-analysis. *Am. J. Psychiatry* 154, 1497-1503.

Nemeroff, C.B., Krishnan, K.R., Reed, D., Leder, R., Beam, C., Dunnick, N.R. (1992). Adrenal gland enlargement in major depression. A computed tomographic study. *Arch Gen Psychiatry* 49, 384-387.

Nishino, T., Bernhagen, J., Shiiki, H., Calandra, T., Dohi, K., Bucala, R. (1995). Lokalization of macrophage migration inhibitory factor (MIF) to secretory granules within the corticotrophic and thyrotrophic cells of the pituitary gland. *Mol. Med.* 1, 781-788.

Ogawa, H., Nishihira, J., Sato, Y., Kondo, M., Takahashi, N., Oshima, T., Todo, S. (2000). An antibody for macrophage migration inhibitory factor suppresses tumour growth and inhibits tumor-associated angiogenesis. *Cytokine* 12, 309-314.

Pariante, C.M. (2006). The glucocorticoid receptor: part of the solution or part of the problem? *J. Psychopharmacol.* 20 Suppl. 4, 79-84.

Pariante, C.M., Miller, A.H. (2001). Glucocorticoid receptors in major depression: relevance to pathophysiology and treatment. *Biol. Psychiatry*, 49, 391-404.

Parker, K.J., Schatzberg, A.F., Lyons, D.M. (2003). Neuroendocrine aspects of hypercortisolism in major depression. *Horm. Behav.* 43, 60-66.

Petrovsky, N., Socha, L., Silva, D., Grossman, A.B., Metz, C., Bucala, R. (2003). Macrophage migration inhibitory factor exhibits a pronounced circadian rhythm relevant to its role as a glucocorticoid-counter-regulator. *Immunol. Cell. Biol.* 81, 137-43.

Plaisance, V., Thompson, N., Niederhauser, G., Haeflinger, J.A., Nicod, P., Waeber, G., Abderrahmani, A. (2002). The mif gene is transcriptionally regulated by glucose in insulin-secreting cells. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 295, 174-181.

Pruessner, M., Hellhammer, D.H., Pruessner, J.C., Lupien, S.J. (2003). Self-reported depressive symptoms and stress levels in healthy young men: associations with the cortisol response to awakening. *Psychosom. Med.* 65, 92-99.

Radstake, T.R., Sweep, F.C., Welsing, P., Franke, B., Vermeulen, S.H., Geurts-Moespot, A., Calandra, T., Donn, R., van Riel, P.L. (2005). Correlation of rheumatoid arthritis severity with the genetic functional variants and circulating levels of macrophage migration inhibitory factor. *Arthritis Rheum.* 52, 3020-2029.

Reid, J.D., Intrieri, R.C., Susman, E.J., John, L.B. (1992). The relationship of serum and salivary cortisol in a sample of healthy elderly. *J. Gerontol.* 47, 176-179.

Renner, P., Roger, T., Calandra, T. (2005). Macrophage migration inhibitory factor: gene polymorphisms and susceptibility to inflammatory diseases. *Clin. Infect. Dis.* 41 Suppl 7, 513-519.

Rosengren, E., Bucala, R., Åman, P., Jacobsson, L., Odh, G., Metz, C.N., Rorsman, H. (1996). The immunoregulatory mediator macrophage migration inhibitory factor (MIF) catalyzes a tautomerization reaction. *Mol. Med.* 2, 143-149.

Rossi, A.G., Haslett, C., Hirani, N., Greening, A.P., Rahman, I., Metz, C.N., Bucala, R., Donnelly, S.C. (1998). Human circulating eosinophils secrete macrophage migration inhibitory factor (MIF). Potential role in asthma. *J. Clin. Invest.* 101, 2869-74.

Roy, M.P., Kirschbaum, C., Steptoe, A. (2001). Psychological, cardiovascular, and metabolic correlates of individual differences in cortisol stress recovery in young men. *Psychoneuroendocrinology* 26, 375-91.

Rubin, R.T. (1989). Pharmacoendocrinology of major depression. *Eur. Arch. Psychiatry Neurol. Sci.* 238, 259-67.

Rubin, R.T., Miller, T.H., Rhodes, M.E., Czambel, R.K. (2006). Adrenal cortical responses to low- and high-dose ACTH(1-24) administration in major depressives vs. matched controls. *Psychiatry Res* 2006 143, 43-50.

Rubin, R.T., Phillips, J.J., McCracken, J.T., Sadow, T.F. (1996). Adrenal gland volume in major depression: relationship to basal and stimulated pituitary-adrenal cortical axis function. *Biol. Psychiatry* 40, 89-97.

Rubin, R.T., Phillips, J.J., Sadow, T.F., McCracken, J.T. (1995). Adrenal gland volume in major depression. Increase during the depressive episode and decrease with successful treatment. *Arch. Gen. Psychiatry* 52, 213-8.

Santos, L., Morand, E.F. (2006). The role of macrophage migration inhibitory factor in the inflammatory immune response and rheumatoid arthritis. *Wien. Med. Wochenschr.* 156, 11-18.

Singh, A., Petrides, J.S., Gold, P.W., Chrousos, G.P., Deuster, P.A. (1999). Differential hypothalamic-pituitary-adrenal axis reactivity to psychological and physical stress. *J. Clin. Endocrinol. Metabol.* 84, 1944-8.

Stephoe, A., Wardle, J., Marmot, M. (2005). Positive affect and health-related neuroendocrine, cardiovascular, and inflammatory processes. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 102, 6508-6512.

Ströhle, A. (2003). Die Neuroendokrinologie von Stress und die Pathophysiologie und Therapie von Depression und Angst. *Nervenarzt* 74, 279-292.

Sutçigil, L., Oktenli, C., Musabak, U., Bozkurt, A., Cansever, A., Uzun, O., Sanisoglu, S.Y., Yesilova, Z., Ozmenler, N., Ozsahin, A. Sengul, A. (2007). Pro- and anti-inflammatory cytokine balance in major depression: effect of sertraline therapy. *Clin. Dev. Immunol.* 2007:76396.

Tierney, T., Patel, R., Stead, C.A., Leng, L., Bucala, R., Buckingham, J.C. (2005). Macrophage migration inhibitory factor is released from pituitary folliculo-stellate-like cells by endotoxin and dexamethasone and attenuates the steroid-induced inhibition of interleukin 6 release. *Endocrinology* 146, 35-43.

Turnbull, A.V., Rivier, C.L. (1999). Regulation of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis by cytokines: actions and mechanisms of action. *Physiol. Rev.* 79, 1-71.

van Eck, M., Berkhof, H., Nicolson, N., Sulon, J. (1996b). The effects of perceived stress, traits, mood states, and stressful daily events on salivary cortisol. *Psychosom. Med.* 58, 447-458.

van Eck, M.M., Nicolson, N.A., Berkhof, H., Sulon, J. (1996a). Individual differences in cortisol responses to a laboratory speech task and their relationship to responses to stressful daily events. *Biol. Psychol.* 43, 69-84.

Vedder, H.; Krieg, J-C.; Gerlach, B.; Gemsa, D.; Bacher, M. (2000). Expression and glucocorticoid regulation of macrophage migration inhibitory factor (MIF) in hippocampal and neocortical rat brain cells in culture. *Brain Research* 869. 25-30.

Waeber, G., Calandra, T., Roduit, R., Haefliger, J.A., Bonny, C., Thompson, N., Thorens, B., Temler, E., Meinhardt, A., Bacher, M., Metz, C.N., Nicod, P., Bucala, R. (1997). Insulin secretion is regulated by the glucose-dependent production of islet beta cell macrophage migration inhibitory factor. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 94, 4782-7.

Weiser, W.Y., Temple, P.A., Witek-Giannotti, J.S., Remold, H.G., Clark, S.C., David, J.R. (1989). Molecular cloning of a cDNA encoding a human macrophage migration inhibitory factor. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 86, 7522-6.

Weltgesundheitsorganisation / Dilling, H., Mombour, W., Schmidt, M.H. 8Übers. u. Hrsg.) (1999). Internationale Klassifikation psychischer Störungen / ICD-10 Kapitel V (F) / Klinisch-diagnostische Leitlinien. Bern, Göttingen, Toronto, Seattle, Verlag Hans Huber, 3. Aufl.

Yabunaka, N. Nishihira, J., Mizue, Y., Tsuji, M., Kumagai, M., Ohtsuka, Y., Imamura, M., Asaka, M. (2000). Elevated serum content of macrophage migration inhibitory factor in patients with type 2 diabetes. *Diabetes Care* 23, 256-8.

Yamaguchi, E., Nishihira, J., Shimizu, T., Takahashi, T., Kitashiro, N., Hizawa, N., Kamishima, K., Kawakami, Y. (2000). Macrophage migration inhibitory factor (MIF) in bronchial asthma. *Clin. Exp. Allergy* 30, 1244-1249.

Yasasever, V., Camlica, H., Duranyildiz, D., Oguz, H., Tas, F., Dalay, N. (2007). Macrophage migration inhibitory factor in cancer. *Cancer Invest.* 25, 715-719.

Young, E.A., Carlson, N.E., Brown, M.B. (2001). Twenty-four-hour ACTH and cortisol pulsatility in depressed women. *Neuropsychopharmacology* 25, 267-76.

Zimmer-Albert, C. (2000). Subjektive, endokrine und vegetative Reaktionen auf akuten Schmerz: Möglichkeiten der kognitiven Beeinflussung. Dissertation, Marburg 2000.

Zobel, A.W., Nickel, T., Sonntag, A., Uhr, M., Holsboer, F., Ising, M. (2001). Cortisol response in the combined dexamethasone/CRH test as predictor of relapse in patients with remitted depression. a prospective study. *J. Psychiatr. Res.* 35, 83-94.

7 Anhang

7.1 Abkürzungen

ACTH	Adrenocorticotropes H ormon
AK	Antikörper
ALM	Allgemeines L ineares M odell
ANOVA	„ A nalysis of V ariance“
ARDS	„ A cute R espiratory D istress S ndrome“
AUC	„ A rea u nder the c urve“
BDI	B ecksches D epressions I nventar
BMI	„ B ody M ass I ndex“
bzw.	B eziehungsweise
CBG	C ortisol b indendes G lobulin
CRH	„ C orticotropin R eleasing H ormone“
Dex	D examethason
d.h.	d as h eißt
DSM-IV-R	D iagnostisches und s tatistisches M anual psychischer Störungen, I V., revidierte Auflage
DST	D examethason- S uppressions- T est
DTH	„ d elayed- t ype h ypersensitivity“
ELISA	„ E nzyme- l inked I mmunosorbent A ssay“
et al.	e t a l i ter
GC	„ G luco c orticoids“
ggf.	g egebenenfalls
GR	G lukokortikoid- R ezeptor
h	Stunde
HAMD	„ H amilton D epression S cale“
HDL	„ h igh- d ensity- l ipoprotein“
HHNA	H ypothalamus H ypophysen N ebennierenrinden A chse
HHSA	H ypothalamus H ypophysen S childdrüsen A chse
HPA Axis	„ H ypothalamic- p ituitary- a drenal a xis“
HR	„ h igh r esponders“
Hrsg.	H erausgeber

HVL	H ypophysenvorderlappen
ICD-10	„ I nternational C lassification of D iseases“, 10. Auflage
IFN- γ	I nterferon- g amma
IL-6	I nterleukin- 6
l	L iter
LC	locus c oeruleus
LDL	„ l ow- d ensity- l ipoprotein“
LPS	L ipopolysaccharid
LR	„ l ow r esponders“
m	m ännlich
MADRS	„ M ontgomery A sberg D epression S cale“
mg	M illigramm
MIF	M akrophagen M igrationsinhibierender F aktor
min	M inuten
ml	M illiliter
μ l	M ikroliter
MR	M ineralkortikoid- R ezeptor
mRNA	„ m essenger r ibonucleotid a cid“
MRT	M agnetresonanztomographie
MW	M ittelwert
ng	N anogramm
nm	N anometer
nmol	N anomol
NNR	N ebennierenrinde
n.s.	n icht s ignifikant
p	statistische Irrtumswahrscheinlichkeit
PBS	„ P hosphate- b uffered s aline“
s	S ekunde
SD	Standardabweichung („ s tandard d esease“)
SEM	Standardfehler („ s tandard e rror of the m ean“)
sog.	s ogenannte
SPSS	„ S tatistical P ackage for S ocial S ciences“
T3	Trijodthyronin
T4	Thyroxin

TBS	„Tris- b uffered saline”
TF	T ranskriptions F aktor
TNF- α	T umornekrosefaktor- alpha
TRH	„Thyreotropin R eleasing H ormone”
TSH	„Thyroideastimulierendes H ormon”
U	„Units“
vs	v ersus
w	w eiblich
WHO	„ W orld H ealth O rganization“
z.B.	zum B eispiel
ZNS	z entrales Nervensystem
Zp	Z eitpunkt

7.2 Danksagung

Zunächst möchte ich mich bei Prof. Dr. Jürgen-Christian Krieg und Prof. Dr. Helmut Vedder für die freundliche Überlassung des Themas, sowie die kontinuierliche Bereitschaft zu Beratung, Diskussion und Ermunterung bedanken. PD Dr. Ulrich Hemmeter danke ich für die hilfreiche Unterstützung in statistischen Fragen. Ganz besonderer Dank geht an die Mitarbeiterinnen des Neurobiologischen Labors, Cornelia Würz, Sabine Fischer und Annette Tittmar, ohne deren Hilfe diese Arbeit nicht möglich gewesen wäre. Herzlich bedanken möchte ich mich auch bei meiner Familie und meinen Freunden, die mir mit Rat und Tat zur Seite gestanden haben, ganz besonderen Dank hier an meine Freundin Majvi Kvint.

7.3 Verzeichnis akademischer Lehrer

Meine akademischen Lehrer an der Philipps-Universität Marburg waren die Damen und Herren:

Arnold; Aumüller; Barth; Basler; Baum; Beato; Bertalanffy; Beyer; Bien; Christiansen; Daut; Engel; Eschenbach; Feuser; Fruhstorfer; Fuhrmann; Fuhs; Ganz; Gemsa; Geus; Gotzen; Gressner; Griss; Gröne; Grzeschik; Habermehl; Happle; Hesse; Joseph; Kälble; Kern; Kleine; Klenk; Klose; Koolman; Kraus; Krause; Kretschmer; Krieg; Kroll; Kummer; Lange; Lemberg; Lennartz; Maisch; Mennel; Mittag; Moll; Moosdorf; Mutters; Neubauer; Oertel; Petermann; Pfab; Renschmidt; Renz; Rothmund; Röhm; Schachtschabel; Schäfer, H.; Schnabel; Schreiber; Schüffel; Schulz; Seifart; Seitz; Seyberth; Slenczka; Steiniger; Stinner; Stempel; Thomas; Vedder; Vohland; Voigt; Werner; von Wichert; Zielke.