

Aus dem Lehrstuhl
für Psychiatrie und Psychotherapie
Prof. Dr. med. Rainer Rupprecht
der Fakultät für Medizin
der Universität Regensburg

Die Rolle von Translokator Protein 18 kDa (TSPO) assoziiertem Metabolismus
für die Stressregulation beim Menschen

Inaugural – Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin

der
Fakultät für Medizin
der Universität Regensburg

vorgelegt von
Franziska Maria Maurer

2023

Aus dem Lehrstuhl
für Psychiatrie und Psychotherapie
Prof. Dr. med. Rainer Rupprecht
der Fakultät für Medizin
der Universität Regensburg

Die Rolle von Translokator Protein 18 kDa (TSPO) assoziiertem Metabolismus
für die Stressregulation beim Menschen

Inaugural – Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin

der
Fakultät für Medizin
der Universität Regensburg

vorgelegt von
Franziska Maria Maurer

2023

Dekan: Prof. Dr. Dirk Hellwig

1. Berichterstatterin: Prof. Dr. Caroline Nothdurfter

2. Berichterstatter: Prof. Dr. Jens Werner

Tag der mündlichen Prüfung: 26.10.2023

Inhaltsverzeichnis

1 Einleitung	6
1.1 Psychiatrische Erkrankungen.....	6
1.2 Das Translokator Protein 18 kDa (TSPO)	8
1.3 Etifoxin	11
1.4 Cortisol.....	14
1.5 Zytokine	19
1.6 Fragestellung.....	23
2 Material und Methoden	24
2.1 Studiendesign.....	24
2.2 Probandenkohorte	25
2.3 Studienmedikation	28
2.3.1 Etifoxin	29
2.3.2 Alprazolam.....	30
2.3.3 Placebo	32
2.4 Studienablauf	32
2.4.1 Telefonscreening.....	32
2.4.2 Aufklärungsgespräch	32
2.4.3 Voruntersuchung.....	33
2.4.4 Ablauf der Studienteilnahme	34
2.4.5 Tag 1	34
2.4.6 Tag 2 und Tag 3	35
2.4.7 Tag 4	36
2.4.8 Tag 5	36
2.4.9 Telefonvisite	38
2.5 Durchgeführte Erhebungen und Untersuchungen.....	38
2.5.1 Körperliche Untersuchung	38
2.5.2 Blutentnahme	39
2.5.3 Erhebung ausgewählter Vitalparameter	40
2.5.4 Drogenscreening	40
2.5.5 Fragebögen.....	41
2.5.6 Mini International Neuropsychiatric Interview (MINI).....	45
2.5.7 Continuous Performance Test, AX-Version (AX-CPT).....	46
2.5.8 NPU Threat Test (NPU).....	46
2.5.9 Magnetresonanztomographie (MRT).....	47

2.5.10 Trier Social Stress Test in virtueller Realität (VR-TSST)	48
2.6 Vorverarbeitung von Studienblut und Saliva.....	50
2.6.1 Steroide, Zytokine und neuroinflammatorische Marker.....	50
2.6.2 Vollblut für die Bestimmung des Einzelnukleotid-Polymorphismus (SNP) von TSPO	51
2.7 Analyse des Cortisols.....	51
2.8 Weiterverarbeitung der Zytokine.....	52
2.8.1 Proinflammatory Panel 1 (human).....	54
2.8.2 Chemokine Panel 1 (human).....	55
2.8.3 Angiogenesis Panel 1 (human)	56
2.8.4 Cytokine Panel 1 (human)	57
2.9 Statistische Auswertung.....	58
3 Ergebnisse	61
3.1 Statistische Auswertung von Cortisol.....	61
3.1.1 Statistische Auswertung der Konzentrationsveränderungen des Morgencortisols in Abhängigkeit der Medikamentengruppe	61
3.1.2 Statistische Auswertung der Cortisol-Konzentrationsveränderung in Abhängigkeit des VR-TSST...	62
3.2 Statistische Auswertung der Zytokine	64
3.2.1 Proinflammatory Panel	64
3.2.1.1 IL-6	64
3.2.1.2 IL-8	65
3.2.1.3 IL-10	65
3.2.1.4 TNF- α	66
3.2.2 Chemokine Panel	67
3.2.2.1 Eotaxin	67
3.2.2.2 Eotaxin-3.....	68
3.2.2.3 IP-10.....	69
3.2.2.4 MCP-1.....	70
3.2.2.5 MCP-4.....	71
3.2.2.6 MDC	72
3.2.2.7 MIP-1 α	73
3.2.2.8 MIP-1 β	74
3.2.2.9 TARC	75
3.2.3 Angiogenesis Panel.....	76
3.2.3.1 bFGF	76
3.2.3.2 Flt-1	77
3.2.3.3 PlGF	78
3.2.3.4 Tie-2	79

3.2.3.5 VEGF-C	80
3.2.3.6 VEGF-D	81
3.2.4 Cytokine Panel	82
3.2.4.1 IL-7	82
3.2.4.2 IL-12/IL-23p40	83
3.2.4.3 IL-15	84
3.2.4.4 IL-16	85
3.2.4.5 VEGF	86
3.3 Statistische Auswertung der SUDS	87
4 Diskussion	89
4.1 Einflussnahme von akutem Stress und anxiolytischer Medikation auf die Serum-Konzentration von Cortisol.....	89
4.2 Einflussnahme von akutem Stress und anxiolytischer Medikation auf die Serum-Konzentrationen der Zytokine	99
4.2.1 Modulation der proinflammatorischen Zytokin-Konzentrationen im Serum durch akute Stressexposition und anxiolytische Medikation.....	99
4.2.2 Modulation der Chemokin-Konzentrationen im Serum durch akute Stressexposition und anxiolytische Medikation.....	104
4.2.3 Modulation der Angiogenesefaktor-Konzentrationen im Serum durch akute Stressexposition und anxiolytische Medikation.....	108
4.2.4 Modulation der inflammationsmodulierenden Zytokin-Konzentrationen im Serum durch akute Stressexposition und anxiolytische Medikation.....	112
5 Zusammenfassung.....	117
6 Anhang	120
6.1 Abkürzungsverzeichnis.....	120
6.2 Tabellenverzeichnis	124
6.3 Abbildungsverzeichnis.....	124
7 Literaturverzeichnis.....	129
8 Eidesstattliche Versicherung	
9 Danksagung	
10 Lebenslauf	

1 Einleitung

1.1 Psychiatrische Erkrankungen

Psychiatrische Erkrankungen zeigen weltweit eine hohe Prävalenz (1): So wurde beispielsweise im Jahr 2010 ermittelt, dass jährlich 38,2 % der Einwohner*innen der europäischen Union von einer psychiatrischen Erkrankung betroffen waren (2).

Psychiatrische Erkrankungen erweisen sich hierbei sowohl im Berufs- als auch im Privatleben als beträchtliche Belastung: Im Jahr 2020 wurde in Deutschland bei 41,5 % der Personen, welchen aufgrund einer verminderten Erwerbsfähigkeit der gesetzliche Rentenzugang genehmigt wurde, eine psychische Erkrankung als Ursache geführt. Dadurch lassen sich die psychischen Erkrankungen als häufigste Ursache einer Frühberentung identifizieren (3). Psychisch Erkrankte beschrieben zudem deutlich mehr Einschränkungstage im Vergleich zu ihren psychisch gesunden Kolleg*innen (4) und gaben insgesamt eine erhebliche Beeinträchtigung ihrer Lebensqualität an (2). Dies wird insbesondere bei Betrachtung der qualitätsbereinigten Lebensjahre (quality-adjusted life-years) deutlich, wobei hier der größte Verlust qualitätsbereinigter Lebensjahre bei der Dysthymie sowie diversen Angsterkrankungen wie der sozialen Phobie oder der generalisierten Angststörung zu verzeichnen waren (5). Außerdem zeigte auch die Depression signifikante Einschränkungen der Lebensqualität sowie den Verlust von qualitätsbereinigten Lebensjahren (5).

In einer 2014 durchgeführten Evaluation stellten in Deutschland die Angststörungen (hier im engeren Sinne ohne posttraumatische Belastungsstörungen und Zwangsstörungen) mit einer Jahresprävalenz in der erwachsenen Allgemeinbevölkerung von rund 15 % die größte psychische Erkrankungsgruppe dar, gefolgt von der unipolaren Depression mit einer Jahresprävalenz von rund 8 % (4), (6). Von den psychisch Erkrankten hatten etwa 45 % zwei oder mehr psychiatrische Diagnosen, wobei sich als häufigste Diagnosekombinationen die Angststörung mit affektiven Störungen sowie die Kombination multipler Angststörungen herausarbeiten ließen (4), (7).

Die Ursachen für die Entstehung von psychischen Erkrankungen sind vielfältig und intraindividuell verschieden. Hierfür werden jedoch zahlreiche Risikofaktoren beschrieben:

Bei der Entstehung von Erkrankungen wie einer Depressionen oder einer Angsterkrankung kann zwischen nicht beeinflussbaren Faktoren wie beispielsweise Alter, Geschlecht, Genetik, bisheriger Biographie und Erkrankungen (2), (4), (8), (9), (10) sowie variierbaren Aspekten

(4) wie dem Lebensraum, Resilienz, Bewältigungsstrategien, sozialem Netzwerk und dem Umgang mit Stress und belastenden Situationen unterschieden werden (1), (4), (10), (11), (12), (13).

Die wiederholte Exposition gegenüber Stress scheint hierbei als bedeutender Risikofaktor für die Entstehung von psychischen Erkrankungen, insbesondere von Angsterkrankungen und affektiven Störungen: So konnte nachgewiesen werden, dass die Belastung durch psychischen Stress und stressige Lebensereignisse sowohl die Entstehung von Angsterkrankungen (10) als auch die Entstehung von Depressionen (12) begünstigt.

Ein weiterer Aspekt, der die These der stressassoziierten Entstehung psychischer Erkrankungen stützt, ist die Heritabilität von Depressionen und Angsterkrankungen: Diese liegt je nach Art bei Angsterkrankungen zwischen 30 – 67 % (9), bei Zwillingsstudien zur Entwicklung einer Depressionen zwischen 31 – 42 % (14), (15). Der nicht-anlagebedingte Anteil könnte, neben den obig dargelegten Risikofaktoren, durch negative Kindheitserlebnisse, Erziehung und belastende bzw. stressige Lebensereignisse und Lebenssituationen erklärt werden (9), (10), (16), (17).

Die Relevanz von einem verbesserten Umgang mit Stress und stressigen Lebenssituationen als ein potentieller Ansatz zur Prävention und verbesserten Therapie von psychischen Erkrankungen wird somit abermals verdeutlicht.

Die medikamentöse und therapeutische Behandlung stressassoziiertes, psychischer Erkrankungen wie Depressionen und Angststörungen sind klar festgelegt:

So umfassen die aktuellen S3-Behandlungsleitlinien für unipolare Depressionen und Angsterkrankungen in erster Linie eine Empfehlung zur Psychotherapie oder pharmakologischen Intervention, je nach Schweregrad und Form der Erkrankung gegebenenfalls eine Kombination aus beidem (18), (19), (20).

Die potentielle, medikamentöse Behandlung bei Depressionen und Angsterkrankungen besteht beispielsweise aus selektiven Serotonin-Wiederaufnahmehemmern wie Escitalopram oder Serotonin-Noradrenalin-Wiederaufnahmehemmern wie Venlafaxin (18), (19), (20).

Diese Therapieansätze auf akut stressige Situationen und psychische Ausnahmesituationen zu übertragen, erweist sich allerdings als schwierig und macht das Fehlen einer adäquaten und effizienten Akutbehandlung deutlich:

Bei einer verhaltenstherapeutischen Intervention, wie sie bei Depressionen und Angsterkrankungen empfohlen wird, ist die benötigte Therapiedauer intraindividuell verschieden (19), (20). Somit kann in der Akutsituation eine Entlastung durch eine

Verhaltenstherapie, auch in Anbetracht der langen Wartezeiten von über drei Wochen auf einen Therapieplatz für eine Akutbehandlung (21), nicht als allgemein gewährleistet angesehen werden.

Die medikamentöse Therapie mit Antidepressiva wie selektiven Serotonin-Wiederaufnahmehemmern und Serotonin-Noradrenalin-Wiederaufnahmehemmern in akuten Stresssituationen birgt durch eine individuell unterschiedlich lange Wirklatenz sowie unerwünschten Nebenwirkungen, wie einem zunehmenden Gefühl von Unruhe, Nervosität, Schlaflosigkeit und Angstzuständen zu Beginn der Behandlung, gravierende Nachteile (7), (18), (19), (20), (22).

Benzodiazepine können insbesondere im klinischen Alltag wegen ihrer rasch einsetzenden, anxiolytischen und beruhigenden Wirkung temporär unterstützend eingesetzt werden (19), (23), (24). Sie bringen allerdings als Nebenwirkungen häufig Sedierung oder psychomotorische Einschränkungen sowie, bei längerer Einnahme, ein Abhängigkeitspotential mit sich (19), (20) und sind folglich nicht für den längerfristigen Gebrauch oder Alltags-Einsatz geeignet.

Eine adäquate, pharmakologische Intervention zur Reduktion von Belastungen durch psychosozialen Stress scheint also noch nicht gefunden, obwohl sie gerade im Hinblick auf die hohe Stressbelastung wie beispielsweise durch den beruflichen Alltag dringend erforderlich ist (25), (26).

Eine interessante Wirkungs- und Bindestelle für potentielle neue Medikamente zur pharmakologischen Behandlung von stressbedingten, psychischen Symptomen stellt das Translokator Protein 18 kDa (TSPO) dar (27).

1.2 Das Translokator Protein 18 kDa (TSPO)

Das Translokator Protein 18 kDa wurde erstmals 1977 als periphere Bindestelle für Diazepam in Rattennieren beschrieben (28). Es wurde folglich als „Peripherer Benzodiazepin-Rezeptor (PBR)“ vorgestellt, wobei auch Namen wie „mitochondrialer Benzodiazepin-Rezeptor“, „mitochondrialer Diazepam-bindender Inhibitor Rezeptorkomplex“, oder „PK11195 Bindestelle“ geläufig waren (29), (30). Um seine ubiquitäre Verteilung, die Ligandenbindekazität und verschiedenen Funktionen treffender zu beschreiben, wurde es

2006, dem Vorschlag von Papadopoulos et al (29) folgend, in seine aktuelle Nomenklatur umbenannt (30): Das Translokator Protein 18 kDa, kurz TSPO.

Das TSPO ist omnipräsent in den meisten peripheren Organen wie beispielsweise der Leber, Niere, Herz, oder den Lungen exprimiert und auch zentral in Gliazellen, Mikroglia und reaktiven Astrozyten zu finden (28), (31), (32), (33), (34), (35).

Die höchsten Konzentrationen des TSPO sind allerdings in den Zellen des Steroidhormonproduzierenden Gewebes zu finden (31), (33), (36), (37).

Das TSPO ist ein Transmembranprotein der äußeren Mitochondrienmembran (38), (39), (40). Es ist aus fünf transmembranen α -Helices (TM, TM1 – 5) aufgebaut, die, wie von Jaremko et al beschrieben, vom Zytosol aus gesehen im Uhrzeigersinn (TM1 – TM2 – TM5 – TM4 – TM3) angeordnet und durch Loops verbunden sind (38), (39).

Der Amino-Terminus (N-Terminus) und der Carboxy-Terminus (C-Terminus) des TSPO sind beweglich (38), wobei sich der kurze N-Terminus intramitochondrial und der lange, stark positiv geladene C-Terminus extramitochondrial im Zytoplasma befindet (38), (39), (41).

Am C-Terminus von TM5 liegt die Cholesterol Recognition Sequence (CRAC), die Cholesterol bindende Sequenz des TSPO, welche eine hohe Affinität für Cholesterol und Cholesterol-ähnliche Liganden aufweist (38), (42), (43).

Die fünf α -Helices bilden im oberen Bereich der Zytosol-zugewandten Seite eine Bindetasche, welche durch den Loop zwischen TM1 und TM2 verschlossen werden kann (38), (44).

Mit diesen fünf α -Helices kann das TSPO potentiell einen Kanal von mindestens 3 – 4 Å Innenradius formen (39), welcher den Transport von Cholesterol durch die äußere zur inneren Mitochondrienmembran ermöglichen kann (39).

Das TSPO existiert wegen des Einzelnukleotidpolymorphismus (SNP) rs6971 in zwei Formen: Der SNP rs6971 befindet sich auf Chromosom 22 des TSPO-Genes und bewirkt auf Position 147 einen Austausch von Alanin (GCG) zu Threonin (ACG) (45), (46).

Dem SNP wurde eine große Bedeutung hinsichtlich der Bindeaffinität des TSPO für diverse Liganden nachgewiesen, sodass anhand dieses Polymorphismus homozygote High-Affinity Binder, homozygote Low-Affinity Binder oder heterozygote Mixed-Affinity Binder unterschieden werden können (47), (48), (49). Während der SNP die Bindeaffinität für die endogenen Liganden DBI (Diazepam binding inhibitor) und PPIX (Protoporphyrin IX) nicht zu beeinflussen schien (49), zeigte sich die Bindeaffinität für exogene Liganden wie

beispielsweise PBR28 (45) oder dem Disulfiram-verwandten Cu-DDC (49) stark von dem TSPO-Genotypen abhängig.

Zudem konnte bei Träger*innen des Polymorphismus von Alanin zu Threonin eine signifikant verringerte Pregnenolon-Produktion von peripheren Lymphomonozyten gezeigt werden (50), sowie eine Assoziation des Polymorphismus mit psychische Erkrankungen wie einer bipolaren Störung (51) oder der Trennungsangst bei Erwachsenen mit einer Depression (52) hergestellt werden. Die Stabilität und Halbwertszeit des TSPO zeigten sich durch den SNP ebenfalls verringert (53).

Dem mit einer Vielzahl endogener und exogener Liganden interagierenden TSPO werden wegen seiner Lokalisation in der Mitochondrienmembran viele Funktionen zugeschrieben, unter anderem die Beeinflussung und Kontrolle der mitochondrialen Atmung oder die Regulation von Apoptose und Zellproliferation (37), (54), (55), (56).

Eine der am besten nachgewiesenen Aufgaben des durch Ligandeninteraktion aktivierten TSPO ist der Transport von Cholesterol als Vorläufer der (Neuro-)Steroide durch in die Mitochondrienmembran, wodurch das TSPO die Konzentrationen von Steroidhormonen und Neurosteroiden erhöht (36), (37), (57), (58).

Als einer der ersten Schritte der Steroidhormon-Synthese folgt dem Import von Cholesterol die enzymatische Abspaltung der Cholesterol-Seitenkette mittels der Cholesterin-Monooxygenase (P450_{scc}) CYP11A1 zu Pregnenolon (59).

Im Gehirn gilt Pregnenolon als Vorläufer der Neurosteroidhormone (60). Durch enzymatische Reaktionen wird es unter anderem in Progesteron und seine 5 α - und 3 α -reduzierten Metaboliten wie Allopregnanolon umgewandelt (60).

Diese neu gebildeten Neurosteroide können im zentralen Nervensystem hemmend oder verstärkend wirken (61), (62), wobei Neurosteroide wie Allopregnanolon oder Pregnenolon als potente, endogene Modulatoren des GABA_A-Rezeptors (γ -Aminobuttersäure-A-Rezeptor) gelten (63), (64), (65), (66).

Der GABA_A-Rezeptor ist ein aus fünf Untereinheiten bestehendes, transmembranes Protein mit einer zentralen, als Chloridkanal fungierenden Öffnung (67). Durch die Bindung von GABA (γ -Aminobuttersäure) oder Liganden wie Benzodiazepinen oder Neurosteroiden kann dieser Kanal geöffnet oder in seiner Funktion moduliert werden und somit zu einer Inhibition im zentralen Nervensystem (ZNS) führen (68). Je nach Zusammensetzung der Untereinheiten

kann die Aktivierung des GABA_A-Rezeptors beispielsweise sedierend oder anxiolytisch wirken (69).

Durch die Beteiligung an der (Neuro-) Steroidhormon-Synthese sowie daraus resultierender Beeinflussung des zentralen Nervensystems wird dem TSPO durch seine Modulation mittels TSPO-Liganden bereits eine große Bedeutung in der Behandlung von Angststörungen und stressbedingten psychischen Erkrankungen zugeschrieben (33), (60). So konnte einigen TSPO-Liganden eine anxiolytische Wirkung nachgewiesen werden (33), (70), (71), wobei in diesem Kontext speziell das Medikament Etifoxin hervorzuheben ist.

1.3 Etifoxin

Etifoxin ist als Benzoxazin-Derivat ein TSPO-Ligand, welcher 1982 in Frankreich zur pharmakologischen Behandlung diverser Angsterkrankungen zugelassen wurde (33), (72).

Für Etifoxin wurden in Tiermodellen bisher vielversprechende, positive Auswirkungen auf eine Vielzahl von Erkrankungen aufgezeigt:

In einem Maus-Modell der Multiplen Sklerose konnte die Behandlung mit Etifoxin den Krankheitsverlauf abmildern (73). Zudem zeigt Etifoxin anti-inflammatorische Eigenschaften in einem Rattenmodellen von traumatischen Hirnverletzungen (74) und führte zu Analgesie in Modellen von Mononeuropathie und neuropathischen Schmerzen (75), (76). Auch wird Etifoxin eine effektive antikonvulsive Wirkung zugeschrieben (77).

Wie oben dargelegt, bietet Etifoxin ein breites Spektrum an potentiellen Einsatzmöglichkeiten, wobei für die Anwendung in der Psychiatrie allerdings dessen anxiolytischen Eigenschaften von besonders hervorzuhebender Bedeutung sind:

Diese anxiolytischen Eigenschaften konnte über die Jahre in zahlreichen Tiermodellen nachgewiesen (78), (79), (80), (81) und in Studien an menschlichen Proband*innen und Patient*innen (70), (71), (82) bestätigt werden.

Etifoxin erwies sich hierbei als potentes Anxiolytikum bei der Behandlung von Patient*innen, welche an einer Anpassungsstörungen mit Angsterkrankungen leiden, insbesondere im Vergleich zur Monotherapie mit Benzodiazepinen wie Lorazepam (70) oder Alprazolam (82): Obwohl die anxiolytischen Eigenschaften von Alprazolam in den ersten vier

Behandlungswochen denen von Etifoxin überlegen schienen, zeigte sich nach Beendigung der Behandlung mit Etifoxin eine bessere Entwicklung der Ergebnisse in den Angststörungsbeurteilenden Fragebögen (82). Insgesamt waren die Behandlungserfolge vergleichbar (82).

Die anxiolytische Wirkung setzte bei Etifoxin-einnehmenden Erkrankten ähnlich schnell ein wie bei denen der Lorazepam-Gruppe, wobei sich die anxiolytische Wirkung von Etifoxin gegenüber Lorazepam als ebenbürtig erwies (70). Zudem sprachen mehr Patient*innen auf die Behandlung mit Etifoxin an, als auf die mit Lorazepam (70).

Bezüglich der anxiolytischen Wirksamkeit von Etifoxin konnten ähnliche Resultate auch bei Vergleichen von Etifoxin mit Buspiron bei Patient*innen mit einer Anpassungsstörung mit Angsterkrankung (71) oder mit Phenazepam bei Patient*innen mit Anpassungsstörungen (83) erzielt werden.

Durch diese Studienergebnisse kann geschlussfolgert werden, dass die Behandlung von diversen Anpassungs- und Angsterkrankungen mit Etifoxin ähnlich effektiv, wenn nicht sogar effektiver als eine Behandlung mit Benzodiazepinen oder vergleichbaren Anxiolytika sein kann.

Ein naheliegender Vorteil von Etifoxin gegenüber der Behandlung von akuten psychischen Erregungszuständen mit Benzodiazepinen ist das reduzierte Auftreten von Nebenwirkungen: Gesunde Teilnehmende, welche eine einmalige Dosis von 50 mg bzw. 100 mg Etifoxin einnahmen, zeigten in einer Studie von Micallef et al im Gegensatz zu denen, die Lorazepam erhielten, keine signifikanten Veränderungen in Vigilanz, Erinnerungsvermögen, oder psychomotorischer Leistung (84). Außerdem waren die mit Etifoxin behandelten Proband*innen einem geringeren Risiko für Absetzerscheinungen ausgesetzt (82). In mehreren Studien wurde jedoch nach Einnahme von Etifoxin von einer vermehrten Sedierung oder Schläfrigkeit berichtet (70), (82).

Etifoxin bewirkt seine anxiolytischen Eigenschaften über einen dualen Wirkmechanismus (32), (81), (85): Direkt über eine Modifikation am $GABA_A$ -Rezeptor (81), (85), (86), (87) und indirekt durch seine Bindung an das Translokator Protein 18 kDa (32), (78), (81).

Etifoxin interagiert direkt mit dem $GABA_A$ -Rezeptor als $GABA_A$ -Rezeptor Modulator (81) durch seine Bindung an eine andere Bindestelle als die der Benzodiazepine oder Neurosteroiden (81), (85), (86).

Etifoxin bindet bevorzugt an $GABA_A$ -Rezeptoren, welche die Untereinheiten β_2 oder β_3 exprimieren und zeigt eine verstärkte, allosterische Interaktion an $GABA_A$ -Rezeptoren mit den Untereinheiten $\alpha_{2/3}$, wobei sich dieser Effekt für α_3 größer als für α_2 erwies (85), (88).

Die Etifoxin-Bindestelle am GABA_A-Rezeptor wird somit zwischen der α - und β -Untereinheit vermutet (88).

Durch seine direkte, allosterische Wirkung potenziert Etifoxin die Funktion des GABA_A-Rezeptors (81), (88), wodurch es die GABAerge Neurotransmission und Inhibition fördert (81).

Darüber hinaus interagiert Etifoxin mit dem TSPO: Etifoxin bindet mit mikromolarer Affinität und langer Residence Time, der Zeit, die das Molekül an der Bindestelle verbringt, an die Ro5-4864 Bindestelle des TSPO und niedriger Affinität und Residence Time an dessen [³H]PK1195 Bindestelle (89).

Obwohl Etifoxin eine, im Vergleich zu anderen TSPO-Liganden wie beispielsweise XBD 173 oder auch Benzodiazepinen wie Diazepam, geringere Affinität für TSPO aufweist, erzielt es einen deutlich potenteren Effekt (32):

Nach der Bindung von Etifoxin an seine Bindestelle kommt es zu einer Steigerung der Neurosteroid-Biosynthese und der neuroaktiven Steroidhormonsynthese (27), (32), (80), (89) und somit unter anderem zu einer Erhöhung von Pregnenolon, Progesteron, Allopregnanolon und weiteren 3 α - und 5 α -reduzierten Neurosteroiden (32), (78), (90).

Durch die positive, allosterische Bindung der Neurosteroiden an den GABA_A-Rezeptor resultiert hieraus wiederum eine Potenzierung der neuronal-inhibitorischen und anxiolytischen GABA_A-Rezeptor-Funktion (27), (63), (91).

Eine Übersicht des Etifoxin-induzierten bzw. potenzierten Neurosteroidogenese und deren Auswirkungen wird in Abbildung 1 gewährleistet:

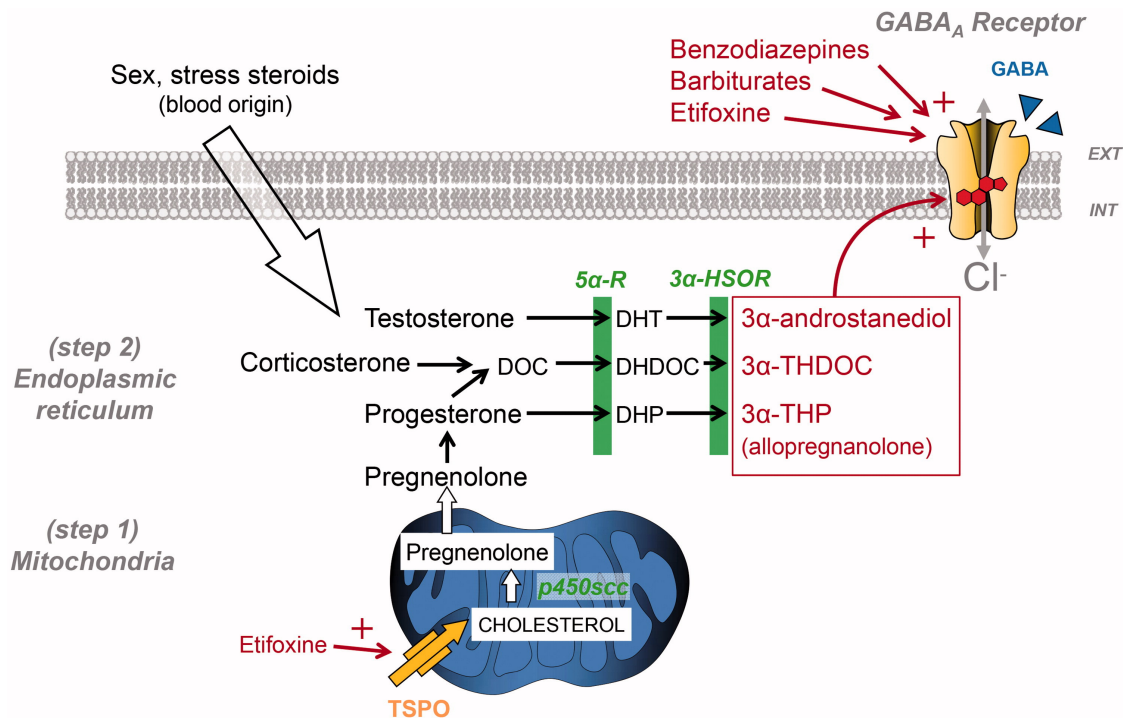


Abbildung 1: Darstellung der durch Etifoxin potenzierten Neurosteroidogenese und die Interaktion der entstandenen Neurosteroiden wie Allopregnanolon mit dem GABA_A-Rezeptor; übernommen aus „Anxiolytics targeting GABA_A receptors: Insights on etifoxine“, von Poisbeau P., Gazzo G., Cavel L. in: The World Journal of Biological Psychiatry, 19 (S1) (92), 2018; © den Autoren.

Somit stellt Etifoxin durch seine obig dargelegte, rasch einsetzende, anxiolytische Wirkung, der nur geringfügig beeinträchtigenden Nebenwirkungen und dem verminderten Risiko einer Abhängigkeit ein Medikament dar, welches als Alternative zur Akutintervention bei Angst, aber auch Stress und stressigen Situationen genutzt werden könnte (27).

Nach Identifizierung des Etifoxin als einen potentiellen, medikamentösen Therapieansatz im Rahmen der Stressprävention soll im Folgenden ein Augenmerk auf die Objektivierbarkeit der Stressexposition im Sinne eines zellulären Markers der Stressreaktion gelegt werden.

1.4 Cortisol

Als Reaktion auf Stress werden diverse neuronale, neuroendokrine und endokrine Regelkreisläufe aktiviert (93). Ein wichtiger Bestandteil hiervon ist das Hormon Cortisol als Teil der Hypothalamus-Hypophysen-Nebennierenrinden-Achse, der HPA-Achse (93). Die Ausschüttung des Corticotropin-Releasing-Hormone CRH aus dem Nucleus paraventricularis des Hypothalamus reguliert, unterstützt von Oxytocin und Vasopressin, die Synthese von

Proopiomelanocortin in der Hypophyse, welches unter anderem zu Corticotropin (ACTH) gespalten wird (93), (94). ACTH bewirkt die Sekretion von Cortisol in der Zona Fasciculata der Nebennierenrinde, welches wiederum rückkoppelnd inhibierend an der HPA-Achse wirkt (93), (94). Die Halbwertszeit des Cortisols beträgt etwas mehr als eine Stunde (95).

Zur Entfaltung seiner biologischen Aktivität bindet Cortisol nach Ausschüttung intrazellulär entweder an Glucocorticoid- oder Mineralocorticoid-Rezeptoren, welche als Transkriptionsregler diverser Gene wirken (93), (96), (97). Hierdurch hat Cortisol eine Vielzahl an Funktionen: Eine wichtige Aufgabe ist die Erhaltung bzw. Wiederherstellung der physiologischen Homöostase unter Stress im Rahmen der Kampf- oder Flucht-Reaktion (97). So verstärkt und reguliert Cortisol die Energiebereitstellung durch Einflussnahme auf den Metabolismus (98). Cortisol unterstützt und steigert die durch Adrenalin oder Glukagon stimulierte Erhöhung der Blutglucose-Konzentrationen durch Anregung von Glykogenolyse und Gluconeogenese sowie Lipolyse und verlängert diesen kurzfristigen Trigger auf mehrere Stunden (98). Auch wird der Einfluss des Sympathikus auf das kardiovaskuläre System verstärkt, wodurch es in Stresssituationen unter anderem zu einer erhöhten Herzfrequenz sowie einem Blutdruckanstieg kommt (98). Cortisol besitzt sowohl pro- als auch antiinflammatorische Eigenschaften auf zellulärer Ebene wie auf Transkriptionsebene, wobei insbesondere die Regulation der Transkription für proinflammatorische Zytokine hervorzuheben ist (99).

Unter basalen Bedingungen liegen weniger als 6 % des körpereigenen Cortisols als freies und somit biologisch aktives Cortisol vor (100). Das übrige Cortisol ist proteingebunden, wobei bis zu 90 % des Cortisols mit hoher Affinität an das Corticosteroid-Binding Globulin Transcortin (CBG) und der Rest an Albumin gebunden ist (97), (100).

Die Cortisol-Konzentration im Serum wird von diversen Faktoren beeinflusst:

Die Ausschüttung von Cortisol unterliegt einem fluktuierenden, Tagesverlauf-abhängigen Sekretionsrhythmus (95). Während im Zeitraum von vier Stunden vor bis einer Stunde nach dem Einschlafen kaum zirkulierendes Cortisol messbar ist, kann die höchste Cortisol-Sekretion zwischen der sechsten bis achten Stunde Schlaf sowie eine Stunde nach dem Aufwachen gemessen werden (95). Im weiteren Tagesverlauf besteht eine starke Variabilität der Cortisol-Sekretion (95). Bei tageszeitunabhängig etwa gleichbleibender Cortisol-Sekretionsrate pro Minute werden die Cortisol-Konzentrationsschwankungen am ehesten der Anzahl und Dauer der jeweiligen sekretorischen Schübe zugeschrieben (95).

Auch das CBG zeigt, ähnlich wie Cortisol, eine tageszeitabhängige Konzentrationsschwankung mit einem signifikanten Konzentrationsanstieg um etwa 13:00 Uhr im Vergleich zu den morgendliche gemessenen CBG-Konzentrationen, wodurch je nach Tageszeit mehr oder weniger Cortisol gebunden und somit die tageszeitabhängigen Konzentrationen des biologisch aktiven Cortisols beeinflusst werden kann (97), (101), (102). Bei dem zirkadianen Peak des Cortisols am Morgen kann deshalb nicht nur eine erhöhte Gesamt-Cortisol-Konzentration, sondern bei geringerer CBG-Konzentration auch ein erhöhter Anteil an freiem Cortisol beobachtet werden (97), (102).

Zudem unterliegt die Cortisol-Konzentration bzw. -sekretion einer ultradianen Rhythmik mit pulsatilem Muster (97), (103). Dies stellte sich sich in einer Studie von Kalafatakis et al als besonders relevant in Bezug auf die Gedächtnisleistung, Schlafqualität und emotionale Reaktionsfähigkeit, wie beispielsweise das Identifizieren und Bewerten emotionaler Gesichtsausdrücke, heraus (104).

Ein weiter hervorzuhebender, insbesondere klinisch relevanter Einflussfaktor auf die Cortisol-Konzentrationen ist die akute und chronische Stressexposition (97).

Nach Exposition gegenüber akutem Stress konnten maximale Glucocorticoid-Level-Peaks bis zu 30 Minuten nach Stressor gemessen werden, gefolgt von einem Konzentrationsabfall in den nachfolgenden 90 Minuten (93), (97).

Als akuter Stressor kann unter anderem ein operativer Eingriff am Herzen aufgeführt werden, wobei bei Personen nach einem koronaren Bypass ein starker, postoperativer Anstieg von Cortisol und ACTH beobachtet werden konnte (105). Obwohl die ACTH-Konzentrationen zeitnah wieder absanken, blieben die Cortisol-Konzentrationen über mehrere Stunden hinweg erhöht (105). Durch die veränderte Cortisol-ACTH-Relation bei gleichbleibend erhöhter Cortisol-Ausschüttung wurde der Verdacht auf eine, durch die erhöhten Cortisolwerte ausgelöste, verstärkte Sensibilität gegenüber ACTH formuliert (105).

Auch akute psychische Stressoren wie öffentliches Sprechen oder die Absolvierung eines psychologischen Stresstests wie dem Trier Social Stress Test (TSST) können mit einer Erhöhung der Cortisol-Konzentrationen in Speichel und Blut einhergehen (106), (107). Erhöhte Cortisol-Spiegel zeigten sich hierbei auch mit einem erhöhten subjektiven Stresslevel verbunden (107).

Die Absolvierung des TSST führte bei den Teilnehmenden zu einer signifikanten Erhöhung der Cortisol-Spiegel im Speichel im Vergleich zum Ausgangswert, wobei sich jedoch Unterschiede zwischen verschiedenen Gruppen der Proband*innen abzeichneten (107), (108),

(109). So zeichneten sich Unterschiede zwischen normal- und übergewichtigen Personen ab, wobei übergewichtige Proband*innen zum Zeitpunkt der Baseline-Erhebung und nach Stressexposition geringere Cortisol-Konzentrationen aufwiesen, zudem ließen sich geschlechtsspezifische Unterschiede mit höheren Peak-Konzentrationen bei Männern nachweisen (107), (108), (109).

Chronische Stressoren wie chronische Erkrankungen und den damit verbundenen psychischen und physischen Belastungen können ebenfalls Einfluss auf die Cortisol-Spiegel nehmen (97): Patient*innen mit einer Schlafapnoe als chronischem Stressor zeigten bei unbehandeltem Erkrankungsverlauf eine Erhöhung der ACTH- und Cortisol-Produktion sowie eine Erhöhung der Cortisol-Ausschüttung pro sekretorischem Schub im Vergleich zum Zustand nach Therapieeinleitung (97), (110). Bei Personen mit mildem Alzheimer konnten ebenfalls erhöhte Cortisol-Konzentrationen im Speichel nachgewiesen werden (111). Auch Menschen, die chronischer, psychophysischer Belastung ausgesetzt waren, wie beispielsweise durch die Pflege von Personen mit einer Demenzerkrankung, zeigten erhöhte Cortisol-Konzentrationen, welche insbesondere in Veränderungen und Erhöhungen des morgendlichen sowie nächtlichen Cortisolspiegels im Speichel auftraten (111), (112).

Bei fehlender Bewältigungsfähigkeit bestimmter Lebensereignisse wurde ebenfalls eine Hypersekretion von Cortisol aufgezeigt (93).

Chronisch erhöhte Cortisol-Level wurden bereits mit einer Vielzahl an gesundheitlichen Problemen und Erkrankungen in Verbindung gebracht: So besteht das Risiko für eine begünstigte Entwicklung von Osteoporose, Bluthochdruck, abdomineller Fettleibigkeit, oder Diabetes Mellitus, wie es auch bei Personen mit Hypercortisolismus bei Morbus Cushing berichtet werden konnte (93), (97), (113). Auch eine verminderte Immunantwort konnte bereits beschrieben werden (114).

Zudem kann die Entstehung psychischer Erkrankungen durch einen chronisch erhöhten Cortisol-Spiegel begünstigt werden, wie es am Beispiel der Depression demonstriert werden kann (93): Wie obig bereits dargelegt, unterliegt die Entstehung einer Erkrankung wie der Depression einer multifaktoriellen Genese (4), (11), (12). De Kloet et al führten als Entstehungshypothese der Depression eine Kombination aus dem „klinischen Phänotyp“ wie der Persönlichkeit, einer genetischen Komponente und der neuroendokrinen Reaktionsfähigkeit an (93).

Die veränderte Reaktionsfähigkeit des Cortisol-Metabolismus wurde bereits in diversen Studien verdeutlicht: Bei depressiven, männlichen Patienten waren die durchschnittlichen Cortisol- und ACTH-Konzentrationen über 24 Stunden signifikant erhöht, abends zeigten die erkrankten, männlichen Patienten im Vergleich zur gesunden Kontrollgruppe eine erhöhte Frequenz der sekretorischen Schübe von Cortisol und ACTH (115). Obwohl diese erhöhten 24 Stunden Cortisol-Konzentrationen scheinbar nicht auf alle depressiven Patient*innen zutreffen und Young et al nur bei etwa 24 % der untersuchten, rein weiblichen depressiven Probandinnen eine Hypercortisolämie nachweisen konnte, zeigte sich auch hier ein Trend zu einer erhöhten Cortisol-Sekretion (116).

Einige Patient*innen mit einer akuten, depressiven Episode zeichneten sich bereits während des Dexamethason-Suppressionstests im Vergleich zur gesunden Kontrollgruppe als nicht supprimierbar ab (117). Im kombinierten Dexamethason-CRH-Suppressionstest zeigten depressive Personen nach Administration von Dexamethason und CRH eine deutlich höhere Cortisol- und ACTH-Ausschüttung als die gesunde Vergleichsgruppe, also eine Resistenz der endogenen Cortisol-Ausschüttung auf Suppressionsversuche durch Dexamethason und CRH (118). Daraus ergab sich ein Hinweis auf eine gestörte Glucocorticoid-Regulation sowie Feedback-Regulation bei depressiven Patient*innen (118). Diese vermehrte Cortisol-Sekretion erwies sich bei von Bardeleben et al von Alter und Schwere der Depression abhängig (117). Unter Berücksichtigung der Schlussfolgerung, dass eine adäquate medikamentöse Therapie der Depression mit Antidepressiva eine Normalisierung des Dexamethason-CRH-Suppressionstests zur Folge hätte, wurde dieser Test bereits als möglicher Marker auf das Ansprechen bzw. Nicht-Ansprechen auf die medikamentöse Behandlung hypothetisiert (119), (120).

Während ein Wiederauftreten der Depression nach erfolgter Behandlung beispielsweise häufiger bei Erkrankten mit bereits mehr als einer depressiven Episode, schwerer Symptomatik oder komorbider Angststörung zu verzeichnen war, konnte auch eine Verbindung zur Cortisol-Sekretion hergestellt werden (121): Personen mit einer höheren Cortisol-Sekretion beim Erwachen zeigten eine erhöhte Anfälligkeit bezüglich eines Rückfalls der depressiven Episode, wobei die erhöhte morgendliche Cortisol-Sekretion mit der Zeit bis zum Wiederauftreten der depressiven Episode verbunden war (121).

Eine Veränderung des Cortisol-Haushaltes ist jedoch nicht nur bei bereits depressiven Personen zu beobachten: Im Vergleich zur gesunden Kontrollgruppe zeigten gesunde

Proband*innen, welche im Voraus als depressionsgefährdet identifiziert wurden, ebenfalls eine signifikant höhere Cortisol-Sekretion beim Erwachen auf (122).

Auch der genetische Aspekt der Entstehungshypothese der Depression kann mit Cortisol in Verbindung gebracht werden: Träger*innen eines Polymorphismus oder einer genetischen Veränderung am Glucocorticoid-Rezeptor zeigten, abhängig von der Mutation, unter anderem eine bessere oder schlechtere Reaktion auf psychosozialen Stress und somit eine veränderte, individuelle Anfälligkeit bezüglich der Entwicklung einer affektiven Störung nach Stressoren (93).

Hierdurch zeigt sich die Bedeutung des Cortisol-Metabolismus nicht nur im klinisch-therapeutischen Alltag durch seine potentielle Eigenschaft als Prognoseparameter auf das Ansprechen der antidepressiven Reaktion oder auf die Rückfallwahrscheinlichkeit (120), (121), sondern auch im präventiven Rahmen: Wie obig dargelegt, gehen eine akute und chronische Exposition gegenüber psychischem und physischen Stress mit einem erhöhten Cortisol-Spiegel einher, welcher wiederum bei längerfristiger Exposition zu einer HPA-Achsen-Dysregulation beitragen kann (93), (97), (105), (106), (107), (110). Dies scheint ein potentieller Faktor in der Entstehung von stressassoziierten Erkrankungen wie einer Depression zu sein, weshalb insbesondere die Prävention von psychosozialen Stress zur Prävention einer stress-assoziierten Erkrankung beitragen kann (93).

Im Rahmen einer Evaluation des potentiell präventiven Nutzens einer medikamentösen Behandlung mit Etifoxin bei akut stressigen Ereignissen zur Stressreduktion (27) kann aufgrund der bereits hinreichend belegten Beeinflussung der Cortisol-Spiegel durch akute wie chronische Stressexposition (93), (97), (106), (107) die Messung des Serum-Cortisols als objektiver Marker der systemischen Stressreaktion auf molekularer Ebene durch medikamentöse Intervention herangezogen werden.

1.5 Zytokine

Unter dem Oberbegriff der Zytokine werden diverse, pleiotrope Proteine zusammengefasst, die unter anderem von Leukozyten, Makrophagen und Monozyten, aber auch von T-Zellen produziert und sezerniert werden (123), (124), (125).

Durch ihre Vielzahl an Funktionen üben die Zytokine einen modulierenden Einfluss auf die physiologische Reaktion des Körpers auf Umweltbelastungen wie Verletzungen oder Entzündungen aus, indem sie durch ihre Bindung an spezifische Rezeptoren über Signalkaskaden die Entzündungsreaktion modifizieren, die Angiogenese beeinflussen oder auch die Gewebeorganisation steuern (123), (124), (125), (126), (127). Dies geschieht beispielsweise über die Aktivierung von neutrophilen Granulozyten und die Suppression des apoptotischen Zelltods der neutrophilen Granulozyten durch Zytokine wie die Interleukine (IL) IL-1 und IL-6 oder Interferon- γ (128), aber auch durch die Aktivierung von Akute-Phase-Proteinen und deren Gegenspielern in der Leber (127).

Zu den Zytokinen zählen Mediatoren wie Chemokine, Interferone (IFN), Interleukine, Kolonie-Stimulierende Faktoren, Tumornekrosefaktoren (TNF) oder Wachstumsfaktoren (123), (129). Diese können wiederum in pro- und antiinflammatorische Zytokine unterteilt werden: Proinflammatorische Zytokine wie IL-1 β , IL-6 oder TNF- α können die zelluläre Entzündungsreaktion verstärken, während antiinflammatorische Zytokine wie IL-4, IL-10 oder IL-13 die proinflammatorische Antwort modulieren (129).

Den Zytokinen wurde bereits eine bedeutende Rolle in der Entstehung oder Aufrechterhaltung diverser somatischer Erkrankungen nachgewiesen, wie beispielsweise Asthma (130), chronisch entzündlichen Darmerkrankungen (131), dem Verlauf von Tumorerkrankungen (132) oder auch malignen hämatologischen Erkrankungen (127).

Auch im Fachbereich der Psychiatrie erscheinen die Einflüsse der Zytokine hinsichtlich der Pathogenese und Therapie diverser Erkrankungen von großer Relevanz:

Im Rahmen der Inflammationshypothese wurde ein Zusammenhang zwischen Inflammation und Depression festgestellt, welcher bereits in zahlreichen Studien durch die signifikante Erhöhung proinflammatorischer Proteine und Zytokine wie dem C-reaktiven Protein (CRP), IL-6 oder TNF- α bei Personen mit einer Depression im Vergleich zu gesunden Kontrollpersonen bestätigt werden konnte (133), (134), (135). Während dies als Hinweis auf den Einfluss der Inflammation auf die Pathogenese und Pathophysiologie der Depression gewertet werden kann, muss jedoch auch eine gewisse Inkonsistenz in der vorliegenden Datenlage bedacht werden (136).

Die These der inflammationsbedingten Pathogenese der Depression scheinen jedoch Studien über Hepatitis-C erkrankte Personen zu stützen, welche sich einer Langzeit-Behandlung mit dem potenten, proinflammatorischen Zytokin Interferon- α unterzogen (136), (137), (138):

Binnen drei Monaten nach Beginn der IFN- α Behandlung zeigten etwa 40 % der Teilnehmenden in der standardisierten psychologischen Testung eine IFN- α induzierte, depressive Symptomatik mit signifikanter Erhöhung von Symptomen wie Traurigkeit, Reizbarkeit oder Insomnie (137). Bezüglich der signifikanten Veränderungen in den Depressions-, aber auch den Angst-Scores wurde die Interferon- α induzierte Stimulation diverser Zytokine als potentieller Auslöser identifiziert, da eine signifikante Beziehung zwischen den IFN- α induzierten, signifikanten Veränderungen der Serum-Level von insbesondere IL-6 sowie teils IL-8 und den Depressions- und Angst-Scores hergestellt werden konnte (138).

Nicht nur im Bereich der Pathogenese, sondern auch im Bereich der Behandlung einer Depression scheinen Zytokine eine große Rolle zu spielen, da die zeitliche Veränderung der Konzentration von IL-17A als potentielle Marker für das Ansprechen bzw. fehlende Ansprechen der Erkrankten auf eine antidepressive Medikation identifiziert werden konnten (139).

Die Relevanz der Inflammationshypothese lässt sich jedoch nicht nur in der Depressions-, sondern auch in der Stressforschung wiederfinden: Es konnte nachgewiesen werden, dass sich sowohl akuter als auch chronischer Stress auf die Zytokin-Konzentrationen von Proband*innen und Patient*innen auswirkte (140), (141).

Studierende unter akutem Stress durch die Absolvierung einer akademischen Prüfung zeigten eine signifikant höhere Produktion proinflammatorischer Zytokine wie TNF- α , IL-6 und IFN- γ , sowie geringere Level an inflammationsregulierenden Zytokinen wie IL-4 und IL-10, wenn sie die Prüfungszeit als hohen Stress wahrnahmen, als Studierende, die diese Zeit als weniger stressig einschätzten (142). Aber auch durch artifiziellen, akuten Stress im Rahmen der Absolvierung eines psychologischen Stresstests wie dem TSST konnte eine signifikante Erhöhung proinflammatorischer Zytokine wie IL-1 β , IL-6 oder TNF- α verzeichnet werden (141), (143).

Chronischem psychosozialen Stress wurde ebenfalls durch den Nachweis des Anstiegs von Inflammationsmarkern in Form von Zytokinen eine chronische, geringgradige Entzündung nachgewiesen (140). Chronische Stressoren wie Burnout, ein geringer sozioökonomischer Status oder auch die Pflege von nahestehenden Personen gingen mit erhöhten, inflammatorischen Markern wie IL-6, CRP oder TNF- α einher (140). Auch die posttraumatische Belastungsstörung als chronischer Stressor zeigte sich bei Erkrankten in

signifikant erhöhten Werten proinflammatorischer Marker wie IL-6, TNF- α und IFN- γ (144). Der daraus resultierende, systemische niedrige Entzündungszustand wurde hierbei als kausale Verbindung zwischen der posttraumatischen Belastungsstörung und dem erhöhten Risiko für chronische Erkrankungen wie Herz-Kreislauf-Erkrankungen oder auch Autoimmunerkrankungen interpretiert (144).

Hinsichtlich der psychosozialen Induktion der Inflammationskaskade mit daraus resultierender Erhöhung inflammatorischer Zytokine scheint, insbesondere in Bezug auf die daraus resultierenden Folgen für den Organismus, eines der wohl am besten erforschten Zytokine das Interleukin-6 zu sein (145): IL-6 interagiert nicht nur, wie ursprünglich vermutet, mit B-Zellen als Trigger zur B-Zell-Differenzierung, sondern nimmt auch Einfluss auf diverse weitere Zellen wie T-Zellen, Hepatozyten oder Nervenzellen, um seine Hauptaufgabe als Modulator des Immunsystems als Reaktion auf physiologische und pathologische Umweltbelastungen zu erfüllen (127). Jedoch können nicht nur physische, sondern auch psychologische Stressoren wie die akute, psychosoziale Stressexposition zu einer Erhöhung von IL-6 führen (141), (143).

Langfristig oder wiederholt dysregulierte IL-6-Level wurden bereits mit gesundheitsschädlichen Folgen in Verbindung gebracht (127), (145): So wurden IL-6-Erhöhungen durch Stressexposition mit Symptomen wie Fatigue oder verminderter Schlafqualität assoziiert (145). Auch wurde eine Verbindung zwischen chronisch erhöhten Konzentrationen von IL-6 und Erkrankungen aus dem autoimmunen und inflammatorischen Formenkreis sowie dem Wachstum von malignen Zellen theorisiert (127).

Akuter wie chronischer Stress konnten somit hinreichend als wichtige Auslöser für dysregulierte Zytokin-Spiegel identifiziert und daraus resultierend mit gesundheitlichen Schäden assoziiert werden (127), (140), (141), (142), (143), (144), (145). Hierdurch wird die Relevanz zur Vermeidung von Stressoren zur Abwendung physischer und psychischer Folgeerkrankungen abermals hervorgehoben.

Dies ist auch für die weitere Forschung bezüglich Prävention und Therapie psychiatrischer Erkrankungen relevant: Während die Prävention stressbedingter Erkrankungen erneut in der Stressprävention und dem Umgang mit Stresssituationen selbst liegt, könnten die Konzentrationsverläufe diverser Zytokine einen weiteren, potentiell interessanten Biomarker für die menschliche Stressreaktion darstellen und bei Einsatz einer anxiolytischen Medikation das Ansprechen auf zellulärer Ebene widerspiegeln.

1.6 Fragestellung

Aufgrund der Bedeutung der Stressexposition in der Pathogenese diverser psychiatrischer Erkrankungen und dem potentiellen medikamentös-präventiven Therapieansatz durch TSPO-Liganden wie Etifoxin, soll in der vorliegenden Arbeit der Einfluss von Etifoxin auf die molekulare Stressreaktion psychisch und physisch gesunder, männlicher Probanden erforscht werden.

Hierfür sollen durch die Exposition der Probanden gegenüber testpsychologisch induziertem, psychosozialen Stress nach fünftägiger medikamentöser Behandlung mit dem Benzodiazepin Alprazolam, dem TSPO-Ligand Etifoxin oder einem Placebo untersucht werden, ob Etifoxin zur Reduktion von akutem, psychosozialen Stress und zur Beeinflussung und Hemmung der systemischen Stressreaktion auf molekularer Ebene geeignet ist.

Im Rahmen dessen soll ein besonderes Augenmerk auf die zeitliche Veränderungen der Cortisol- und Zytokin-Konzentrationen sowie die Konzentrationsveränderungen im Serum in Bezug zu den verabreichten Medikamentengruppen gelegt werden. Diese Veränderungen sollen anschließend in Zusammenhang mit der Exposition gegenüber Stress und dem Einfluss der Medikation auf die Stressreaktion gesetzt werden und dabei insbesondere die Unterschiede zwischen der Etifoxin- und der Benzodiazepin- bzw. Placebo-Gruppe herausgearbeitet werden.

2 Material und Methoden

2.1 Studiendesign

Bei der vorliegenden Studie handelte es sich um eine doppelt verblindete, randomisierte, dreiarmlige, durch ein Placebo und eine aktive Vergleichssubstanz kontrollierte, monozentrische, Prüfer-initiierte, nicht-kommerzielle, klinische Studie (Investigator initiated trial). Prüferin der Studie war Prof. Caroline Nothdurfter, Bezirksklinikum Regensburg. Stellvertretender Prüfer war Prof. Thomas Baghai, Bezirksklinikum Regensburg. Geleitet wurde die Studie von Studienleiterin Prof. Caroline Nothdurfter und Zweit-Studienleiter Prof. Andreas Mühlberger, Lehrstuhl für Klinische Psychologie und Psychotherapie Universität Regensburg. Das Studien-Monitoring übernahm Prof. Thomas Wetter, Bezirksklinikum Regensburg.

Die Studie umfasste eine Medikamentenstudie im Parallelgruppendesign mit insgesamt 60 Probanden, deren Studienteilnahme je Proband sieben Tage mit einer dreimal täglichen Medikamenteneinnahme über fünf Tage einschloss.

Die Genehmigung zur Ausführung der Studie erfolgte durch die Ethikkommission der Universität Regensburg (Votum 17-764-111) und der zuständigen Bundesoberbehörde, dem Bundesinstitut für Arzneimittel und Medizinprodukte BfArM (Votum 4042553). Durchgeführt wurde die Studie unter Berücksichtigung der Deklaration von Helsinki mit ihren Novellierungen (146), dem International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use sowie dessen Auflagen zur Guten Klinischen Praxis (GCP) (147) und dem deutschen Arzneimittelgesetz (AMG) (148).

Die Studie wurde im European Union Drug Regulating Authorities Clinical Trials (EudraCT)-Register der europäischen Arzneimittelagentur unter der Nummer 2016-004254-15 sowie in dem Deutschen Register Klinischer Studien (DRKS) unter der Nummer DRKS00023318 registriert.

Für die Studienteilnahme erhielten die Probanden nach vollständigem Durchlaufen der Studie 500 € Teilnahmevergütung, bei Ausschluss nach der Voruntersuchung eine finanzielle Aufwandsentschädigung von 20 €. Finanziell gefördert wurde die Studie im Rahmen des Graduiertenkollegs „Neurobiology of Emotion Dysfunction“ 2174, Projekt 8, durch die Deutsche Forschungsgemeinschaft DFG, sowie Lehrstuhlmittel des Lehrstuhls für Psychiatrie und Psychotherapie der Universität Regensburg, Bezirksklinikum Regensburg.

Die Dokumentation erfolgte, die Richtlinien der Europäischen Datenschutzgrundverordnung einhaltend, für jeden Probanden mittels Case Report Form (CRF).

Durchgeführt wurde die Studie im Zeitraum von Juli 2018 bis November 2019.

2.2 Probandenkohorte

Für die Durchführung der Studie wurden insgesamt 60 physisch und psychisch gesunde Männer im Alter zwischen 18 – 55 Jahren rekrutiert, je 20 Probanden pro Medikamentenarm. Die Berechnung der benötigten Teilnehmerzahl erfolgte anhand des primären Endpunktes der Studie, der Erforschung eines potentiellen Unterschiedes hinsichtlich subjektiver Parameter der Stressreaktion auf psychosozialen Stress zwischen den Prüfpräparaten und dem Placebo, vgl. Bahr, 2020 (149). Eine vergleichbare Studie von Fries et al bezüglich der Auswirkungen von Alprazolam im Vergleich zu einem Placebo auf das Erleben von psychosozialen Stress durch den TSST ergab eine Effektstärke von $\eta^2 = 0,17$ (150). Der α -Fehler wurde in der vorliegenden Studie auf 5 % ($\alpha = 0,05$) und der β -Fehler auf 20 % ($\beta = 0,20$) festgelegt (149). Unter der weiteren Einbeziehung der Gruppenanzahl und der geschätzten Effektstärke von $\eta^2 = 0,17$ erfolgte die Berechnung der Stichprobengröße mittels G*Power (149), (151). Pro Behandlungsarm ergab sich hierbei eine benötigte Mindestteilnehmerzahl von 17 Probanden und einer insgesamten Teilnehmerzahl von 51 Probanden. Unter Berücksichtigung einer potentiellen Drop-Out-Quote erfolgte letztlich die Rekrutierung von 20 Probanden pro Teilnehmerarm mit einer gesamten Teilnehmerzahl von 60 Probanden, vgl. Bahr, 2020 (149).

Die Probandenrekrutierung erfolgte über Aushänge an der Universität Regensburg, dem Universitätsklinikum Regensburg, der Ostbayerischen Technischen Hochschule Regensburg und in Studierendenwohnheimen, sowie über Flyer auf diversen sozialen Medien wie Facebook oder WhatsApp sowie Erwähnung in Vorlesungen.

Bisher konnten bereits relevante Einflüsse von Geschlecht und der Phase des weiblichen Menstruationszyklus auf die Aktivierung der HPA-Achse durch psychosozialen Stress sowie Unterschiede bezüglich der Glucocorticoid-Empfindlichkeit der proinflammatorischen Zytokine nachgewiesen werden (152), (153), (154). Zur Gewährleistung einer besseren Vergleichbarkeit der Teilnehmenden und der aus der Studie resultierenden Forschungsergebnissen wurden deshalb zum Ausschluss konfundierender Variablen hinsichtlich der Ergebnisse des TSST sowie der Neurosteroid- und Inflammationsmessung in dieser Studie ausschließlich Männer rekrutiert.

Die Einschlusskriterien gemäß CRF werden in Tabelle 1 dargestellt:

Durchgeführte Probandenaufklärung
Unterschiedene Einverständniserklärung laut Arzneimittelgesetz AMG § 40 (1) 3b
Männliches Geschlecht
Alter zwischen 18 bis 55 Jahren
Fähigkeit, Wesen, Bedeutung und Tragweite der Teilnahme an der klinischen Prüfung zu erfassen sowie die Erklärungen zur Studie und die Anweisungen des Prüfarztes zu verstehen bzw. umzusetzen
Angemessene persönliche Reife
Bereitschaft, während der Dauer der Studienteilnahme auf den Konsum von Alkohol zu verzichten
Bereitschaft, während der Dauer der Studienteilnahme auf das Führen eines Kraftfahrzeuges bzw. auf das Bedienen schwerer Maschinen zu verzichten
Bei Probanden mit Partnerinnen in fortpflanzungsfähigem Alter: Bereitschaft, für die Dauer der Studie angemessene Verhütungsmethoden anzuwenden (das heißt Verhütungsmethoden mit einem Pearl-Index < 1 %)
Bei bestehender Schwangerschaft der Partnerin der Probanden: Bereitschaft, beim Geschlechtsverkehr ein Kondom zu benutzen, da unklar ist, ob Wirkstoffe der Studienmedikation durch den Koitus auf den Fötus übertragen werden können

Tabelle 1: Einschlusskriterien für die Studienteilnahme, gemäß des CRF

Ausschlusskriterien gemäß CRF, die bei mindestens einem zutreffenden Punkt zur sofortigen Ablehnung des Probanden führten, werden in Tabelle 2 dargestellt:

Aktuelle Diagnose einer psychischen Störung gemäß ICD-10 (International Classification of Diseases and Health related Problems, 10. Revision)
Diagnose einer somatischen oder neurologischen Erkrankung
Gegenanzeigen der Studienmedikation: Myasthenia gravis, Schockzustand, schwere Ateminsuffizienz, Schlafapnoe-Syndrom, schwer gestörte Leber-/Nierenfunktion, akute Intoxikation durch Alkohol oder andere ZNS-aktive Substanzen
Herzfrequenz (HR) < 50 bzw. > 90 Schlägen pro Minute
Kardiale Funktionseinschränkungen im Elektrokardiogramm (ausgenommen: atrioventrikulärer Block 1. Grades, wenn HR im Normalbereich)
Blutdruck: systolisch < 90 bzw. > 140 mmHg, diastolisch < 50 bzw. > 90 mmHg

Körpertemperatur (oral) < 35°C bzw. > 37.5 °C
Abnormale Laborparameter von klinischer Relevanz vor Studieneinschluss
Unzureichende Deutschkenntnisse
Regelmäßige Einnahme von Medikamenten
Alkohol- oder Drogenmissbrauch in den letzten zwölf Monaten vor dem Einschlussscreening, erfasst mit dem MINI (Mini International Neuropsychiatric Interview)
Alkohol- oder Drogenabhängigkeit in der Anamnese, erfasst mit dem MINI
Nach Auffassung des Untersuchers ein erhöhtes Risiko für Suizidalität, bzw. Selbst- oder Fremdgefährdung
Bekannte Allergie oder Hypersensitivität gegenüber Etifoxin Hydrochlorid, Alprazolam oder einen der anderen Bestandteile (Talkum, Docusat-Natrium, Natriumbenzoat, Vorverkleisterte Stärke, Mikrokristalline Cellulose, Lactose-Monohydrat, Magnesiumstearat, Hochdisperses Siliciumdioxid, Titandioxid, Indigotin, Erythrosin)
Galactose-Intoleranz, Lactose-Mangel, Glucose-Galactose- Maladaption
Behandlung mit psychotroper Medikation in den letzten sechs Monaten
Kontraindikationen gegen die Durchführung einer funktionellen Bildgebung
Raucher (> 5 Zigaretten / Tag)
Positives Drogen-Screening bezüglich folgender Substanzen: Amphetamine, Benzodiazepine, Cannabis, Opiate, Cocain, Ethylglucuronid, Ethanol, Fentanyl, Pregabalin, Buprenorphin, Methadon
Bereits an einer TSST-Studie des Lehrstuhls für Klinische Psychologie und Psychotherapie teilgenommen
Gegenwärtige Teilnahme an einer anderen Studie nach dem AMG

Tabelle 2: Ausschlusskriterien für die Studienteilnahme, gemäß des CRF

Insgesamt nahmen 144 potentielle Probanden Kontakt zum Studienteam auf, von denen 86 an einem Aufklärungsgespräch und 82 an einer Voruntersuchung teilnahmen. Hiervon mussten 22 Bewerber wegen Nichterfüllung der Einschlusskriterien oder Erfüllung mindestens eines der Ausschlusskriterien nach der Voruntersuchung ausgeschlossen werden.

Die Studienkohorte bestand aus 60 Einschlusskriterien erfüllende Probanden, von denen alle Probanden die Studie vollständig durchliefen.

Das Alter der Teilnehmer reichte von 18 – 48 Jahren, wobei der Mittelwert (Mean) 27,77 Jahre mit einer Standardabweichung (SD) von 6,92 Jahren betrug.

Als Schulabschluss gaben 55 der Probanden (91,7 %) einen gymnasialen Abschluss an, zwei Probanden (3,3 %) einen Mittelschulabschluss, ein Proband (1,7 %) einen Hauptschulabschluss, zwei Probanden (3,3 %) wählten die Antwortoption „anderes“.

Zum Zeitpunkt der Studienteilnahme waren 38 der Probanden (63,3 %) Studierende, elf Probanden (18,3 %) in einem angestellten Arbeitsverhältnis, sieben Probanden (11,7 %) Studierende und Angestellte, zwei Probanden (3,3 %) in beruflicher Aus- oder Weiterbildung und zwei Probanden (3,3 %) wählten die Antwortoption „anderes“

Das Alter sowie die physiologischen Parameter Größe, Gewicht und BMI und deren gruppenspezifische, statistische Unterschiede werden in Tabelle 3 dargestellt, mit SD als Standardabweichung:

	Etifoxin	Alprazolam	Placebo		
	Mittelwert ± SD	Mittelwert ± SD	Mittelwert ± SD	F-Quotient	<i>p</i>
Alter (in Jahren)	29.70 ± 8.78	27.55 ± 6.51	26.05 ± 4.71	1.43	0.249
Größe (in cm)	179.0 ± 5.80	179.30 ± 7.66	180.55 ± 5.67	0.27	0.762
Gewicht (in kg)	77.41 ± 10.07	77.55 ± 16.17	77.50 ± 11.83	0.000	0.999
BMI (kg / m ²)	24.07 ± 2.65	23.96 ± 3.51	23.75 ± 3.13	0.05	0.949

Tabelle 3: Physiologische Parameter der Probanden, vgl. Bahr, 2020 (149)

Unter den Etifoxin-einnehmenden Probanden ergaben sich nach Testung auf den TSPO-SNP rs6971 zwölf homozygote High-Affinity Binder (60 %), fünf Mixed-Affinity Binder (25 %) und drei homozygote Low-Affinity Binder (15 %), vgl. Bahr, 2020 (149).

2.3 Studienmedikation

In der dreiarmligen Studie wurde Etifoxin gegen die aktive Vergleichssubstanz Alprazolam und gegen ein Placebo verglichen. Die 60 Probanden wurden randomisiert in drei Gruppen zu je 20 Probanden aufgeteilt. Je nach Gruppe erhielten die Probanden für fünf Tage entweder Etifoxin, Alprazolam oder ein Placebo.

Die Verabreichung der Studienmedikation erfolgte doppelt verblindet, eine in Notfällen erforderliche Entblindung wurde durch Notfallumschläge von der Apotheke des Universitätsklinikums Erlangen gewährleistet. Die Entscheidung zur Entblindung oblag dem

Studienarzt, nach Entblindung war eine weitere Einnahme der Studienmedikation ausgeschlossen.

Die orale Medikamenteneinnahme von dreimal täglich je einer Kapsel erfolgte um 08:00 Uhr, 12:00 Uhr und 18:00 Uhr, die exakten Einnahmezeiten wurden per Medikamentenlogbuch durch den teilnehmenden Probanden dokumentiert.

Eine Kapsel beinhaltete entweder 50 mg Etifoxin oder 0,5 mg Alprazolam oder keinen Wirkstoff bei dem Placebo.

Die Verblindung der Medikation wurde mittels der Software SAS 9.4 (SAS Institute Incorporated, Cary, North Carolina, USA) von einem nicht weiter an der Studie beteiligten Biometriker des Universitätsklinikums Regensburg durchgeführt, welcher diese Liste der Apotheke des Universitätsklinikums Erlangen zukommen ließ.

In dieser Apotheke erfolgte die Umfüllung der Medikation in identisch aussehende, rote Hartgelatine kapseln (Füllstoffmischung nach deutschem Arzneimittel-Codex; Bestandteile: 99,5 % Mannitol, 0,5 % Siliciumdioxid), sowie die Umverpackung gemäß Randomisierungsliste, die Erstellung des Dossiers zum Prüfpräparat, der Notfallumschläge und Etiketten der Medikamentendosen.

Die Kennzeichnung der Studienmedikation wurde entsprechend GCP-V § 5 durchgeführt.

Ausgabe und Erhalt der Medikation durch den Probanden wurden in einem Medikations-Logbuch protokolliert, welches bei der Medikation gelagert wurde.

2.3.1 Etifoxin

Etifoxin, vertrieben von Biocodex (Gentilly, Frankreich) unter dem Handelsnamen Stresam® mit dem anatomisch-therapeutisch-chemischen Klassifikationssystem (ATC) Code N05BX03, Zulassungsnummer 7560/2006/01-02, ist ein TSPO-Ligand der Benzoxazin-Familie (61), (155).

Die empfohlene orale Dosis beträgt durchschnittlich circa 150 – 200 mg pro Tag für einen begrenzten Zeitraum von bis zu zwölf Wochen (155), (156). Nach oraler Einnahme wird das Anxiolytikum im Gastrointestinaltrakt absorbiert und größtenteils in der Leber metabolisiert (156). Die Halbwertszeit beträgt bis zu sechs Stunden, die der Metaboliten bis zu 20 Stunden (156). Die Ausscheidung erfolgt in Form von Metaboliten im Urin, oder teilweise in der Galle, in kleinen Mengen auch unverändert (156). Etifoxin gilt als Medikament, bei dem in der Regel keine Abhängigkeitsentwicklung auftreten sollte (155).

Die häufigsten Nebenwirkungen gemäß der Zusammenfassung der Merkmale des Arzneimittels (SmPC) werden in Tabelle 4 dargestellt:

Selten ($\geq 1/10000$ bis $< 1/1000$)	Leichte Benommenheit zu Beginn der Behandlung, Hautreaktionen: makulopapulöser Ausschlag, Erythema multiforme, Gesichtssödem
Sehr selten ($< 1/10.000$)	Urtikaria, Quincke-Ödem
Nicht bekannt (aus den verfügbaren Daten nicht abschätzbar)	Anaphylaktischer Schock, DRESS (Drug Rash with Eosinophilia and Systemic Symptoms) Syndrom, Stevens-Johnson Syndrom, leukozytoplastische Vaskulitis, Hepatitis, hepatisches Zytolysesyndrom, Metrorrhagie bei Frauen unter Einnahme orale Kontrazeptiva, lymphozytäre Colitis

Tabelle 4: Darstellung der häufigsten Nebenwirkungen von Etifoxin, modifiziert gemäß der SmPC (157), vergleiche Bahr, 2020 (149)

Als Kontraindikationen werden in der SmPC ein Schockgeschehen, Myasthenia gravis, eine stark eingeschränkte Leber- oder Nierenfunktion, ein Alter unter 18 Jahren sowie eine Hypersensitivität gegen jegliche der Medikamentenkomponenten geführt (156), (157).

Zentral dämpfend wirkende Substanzen können mit den sedativen Eigenschaften von Etifoxin interagieren, weshalb insbesondere von Alkoholkonsum und der Einnahme zentral dämpfend wirkender Medikamente während des Zeitraums der Medikamenteneinnahme abgeraten wird (156), (157). Ebenfalls ist von einer erhöhten Gefährdung während des Autofahrens und dem Bedienen schwerer Maschinen auszugehen (157).

2.3.2 Alprazolam

Alprazolam, vertrieben von ratiopharm (Ulm, Deutschland), ist ein Triazolobenzodiazepin aus der Familie der Benzodiazepine, ATC-Code N05BA12, Zulassungsnummer 37734.00.00 (158), (159), (160).

In der Klinik wird Alprazolam unter anderem zur Behandlung einer Panikstörung oder generalisierten Angststörung, bei Depressionen oder akuten Erregungszuständen eingesetzt (158), (159), (160). Alprazolam bindet im Gehirn an den GABA_A-Rezeptor, wodurch die Bindung von GABA an den GABA_A-Rezeptor und somit dessen zentral dämpfende Wirkung erhöht wird (158). Die empfohlene orale Dosis beträgt bis zu 3 mg täglich für maximal acht bis zwölf Wochen (160). Nach oraler Einnahme werden circa 90 % des Alprazolam absorbiert

und zu etwa 70 % an Proteine gebunden, wobei die maximalen Plasmakonzentrationen nach etwa ein bis zwei Stunden detektiert werden können (158), (160). Die Halbwertszeit von Alprazolam beträgt zwölf bis 15 Stunden (160). Alprazolam wird in der Leber CYP3A4-abhängig metabolisiert, ausgeschieden wird Alprazolam zu 80 % unverändert im Urin (158), (160).

Bei längerfristiger Einnahme kann durch eine Toleranzentwicklung die Wirkung der Medikation abnehmen (160). Die geläufigen Nebenwirkungen werden in Tabelle 5 aufgeführt, wobei die mit einem Stern (*) markierten Nebenwirkung insbesondere bei Behandlungsbeginn oder erhöhten Dosierungen auftreten:

Sehr häufig ($\geq 1/10$)	Sedierung, Verschlafenheit*
Häufig ($\geq 1/100$ bis $< 1/10$)	Appetitmangel, Verwirrtheit*, Depression, Ataxie*, Koordinationsstörungen, eingeschränktes Erinnerungsvermögen, schleppende Sprache, Konzentrationsstörungen, Schwindelgefühl*, Kopfschmerz*, Schwindel, verschwommenes Sehen*, Obstipation, Übelkeit, Asthenie, Reizbarkeit
Gelegentlich (≥ 1.000 bis $< 1/100$)	Hyperprolaktinämie, Halluzinationen, Wutanfälle, aggressives Verhalten, Feindseligkeit, Angst, Agitiertheit, Änderungen der Libido, Schlaflosigkeit, anomales Denken, Nervosität, Stimulation, Amnesie, Dystonie*, Tremor, Erbrechen, Leberfunktionsstörungen, Ikterus, Dermatitis, muskuloskelettale Schwäche*, Inkontinenz, Harnretention, sexuelle Funktionsstörung, menstruelle Unregelmäßigkeit, Gewichtsveränderung, Anstieg des Augeninnendrucks
unbekannt	Appetitzunahme, Störungen des vegetativen Nervensystems, emotionale Stumpfheit*, verminderte Aufmerksamkeit*, Doppeltsehen*, Tachykardie, Hypotonie, verstopfte Nase, Diarrhoe, Mundtrockenheit, vermehrter Speichelfluss, Dysphagie, Hepatitis, Angioödem, Hautreaktionen, peripheres Ödem, Ermüdung*

Tabelle 5: Darstellung der häufigsten Nebenwirkungen, modifiziert gemäß der Fachinformation von Alprazolam (160), vergleiche Bahr, 2020 (149)

In den von ratiopharm bereitgestellten Fachinformationen werden als Kontraindikationen Myasthenia gravis, eine Überempfindlichkeit gegen jegliche der Medikamentenkomponenten, schwere Ateminsuffizienz, das Schlafapnoe-Syndrom, eine schwere Leberfunktionsstörung und akute Intoxikation durch Alkohol oder andere ZNS-aktive Substanzen gelistet (160).

Alprazolam kann eine psychophysische Abhängigkeit verursachen, sowie bei (zu raschem) Absetzen ein Entzugssyndrom oder ein Rebound Effekt mit Wiederkehr der mit Alprazolam behandelten Symptome hervorrufen (160).

Zentral dämpfend wirkende Substanzen erhöhen die Wirkung von Alprazolam, weshalb insbesondere Alkoholkonsum und die Einnahme zentral dämpfend wirkender Medikamente während des Zeitraums der Medikamenteneinnahme nicht empfohlen wird (160). Auch wird vom Autofahren und dem Bedienen schwerer Maschinen während Einnahme der Medikation abgeraten (160).

2.3.3 Placebo

Die Placebo-Medikation enthielt keinen Arzneistoff. Die Füllung der Kapsel bestand aus 99,5 % Mannitol und 0,5 % Silliciumdioxid. Das Präparat diente zur Bestimmung des Anteils eines Placeboeffektes an den berichteten Nebenwirkungen und Beschwerden sowie an der potentiell einsetzenden Anxiolyse.

2.4 Studienablauf

2.4.1 Telefonscreening

Die erste Kontaktaufnahme des Probanden mit dem Studienteam erfolgte telefonisch. Hierbei wurden der Aufbau und Ablauf der Studie erläutert und bei Interesse ein Termin für ein Aufklärungsgespräch vereinbart.

2.4.2 Aufklärungsgespräch

Die Durchführung des Aufklärungsgesprächs erfolgte am Bezirksklinikum Regensburg durch ein ärztliches Mitglied der Prüfgruppe, wobei die Interessenten bezüglich Ablauf, Zielsetzung, Studienmedikation und potentiellen Nebenwirkungen sowie der rechtlichen Lage aufgeklärt wurden. Nach Beantwortung der dabei aufgetretenen Fragen erhielten sie eine schriftliche Aufklärung, eine Datenschutz- sowie eine Einverständniserklärung. Nach einer

adäquaten Bedenkzeit konnte bei weiterhin bestehendem Interesse der Studienteilnahmezeitraum abgesprochen werden.

2.4.3 Voruntersuchung

Zur Gewährleistung der Aussagekraft und Aktualität der Laborwerte fand die Voruntersuchung maximal eine Woche vor geplantem Beginn der Studienteilnahme statt. Der Proband fand sich gegen 07:45 Uhr auf der Station 18D des Bezirksklinikums Regensburg ein. Nach der Kontrolle der Einverständniserklärung auf Vollständigkeit und Unterschrift sowie Aushändigung einer Kopie an den Probanden erfolgte in variabler Abfolge ab 08:00 Uhr die körperliche Untersuchung (siehe Kapitel 2.5.1 Körperliche Untersuchung), die erste Blutentnahme (siehe Kapitel 2.5.2 Blutentnahme), sowie die Erhebung der Vitalparameter mit einem Elektrokardiogramm (EKG) (siehe Kapitel 2.5.3 Erhebung ausgewählter Vitalparameter). Dem schloss sich die Abgabe einer Urinprobe für das Drogenscreening an (siehe Kapitel 2.5.4 Drogenscreening). Der Proband füllte die ausgegebenen Fragebögen zur Blutentnahme, Positive and Negative Affect Schedule (PANAS)-Trait und State, State-Trait Anxiety Inventory (STAI)-Trait und State, visuelle Analogskalen (VAS) und den demographischen Fragebogen aus (siehe Kapitel 2.5.5 Fragebögen), gefolgt von der Erhebung des Mini Neurointernational Psychiatric Interview (MINI, siehe Kapitel 2.5.6 Mini International Neuropsychiatric Interview (MINI)) mit einem hierfür qualifizierten Mitarbeiter der Studie.

Alle weiteren Testungen fanden am Lehrstuhl für klinische Psychologie an der Universität Regensburg statt. Hier erfolgte der Continuous Performance Test in der AX-Version (siehe Kapitel 2.5.7 Continuous Performance Test, AX-Version (AX-CPT)) und das Ausfüllen der Fragebögen Anxiety Sensitivity Index 3 (ASI-3), Intolerance of Uncertainty Scale 18 (IUS-18), Stressverarbeitungsfragebogen 120 (SVF 120) und Furcht vor negativer Evaluation - Kurzsкала (FNE-K), (siehe Kapitel 2.5.5 Fragebögen).

Nach Kontrolle der Ein- und Ausschlusskriterien durch ein Mitglied des ärztlichen Studienteams wurde der Proband über die Ergebnisse informiert und bei Erfüllung der Einschlusskriterien der weitere Studienverlauf besprochen. Bei Nichterfüllen der Einschlusskriterien erhielt der Proband 20 € Aufwandsentschädigung sowie auf Wunsch eine Kopie seiner Laborwerte. Der zeitliche Ablauf der Voruntersuchung wird in Tabelle 6 dargestellt:

07:45 Uhr	Kontrolle der Einverständniserklärung
08:00 Uhr	Körperliche Untersuchung
ab 08:30 Uhr	Blutentnahme, Erhebung der Vitalparameter, EKG, Abnahme der Urinprobe
ab 08:55 Uhr	Ausfüllen der Fragebögen zur Blutentnahme, PANAS Trait, PANAS State, STAI-Trait, STAI-State, VAS, demographischer Fragebogen
09:15 Uhr	MINI
ab 10:00 Uhr	AX-CPT, Ausfüllen von ASI-3, IUS-18, SVF-120, FNE-K

Tabelle 6: Zeitlicher Ablauf der Voruntersuchung

2.4.4 Ablauf der Studienteilnahme

Zur Gewährleistung der Übersichtlichkeit soll zunächst in Abbildung 2 eine graphische Darstellung des Studienablaufes gegeben werden:

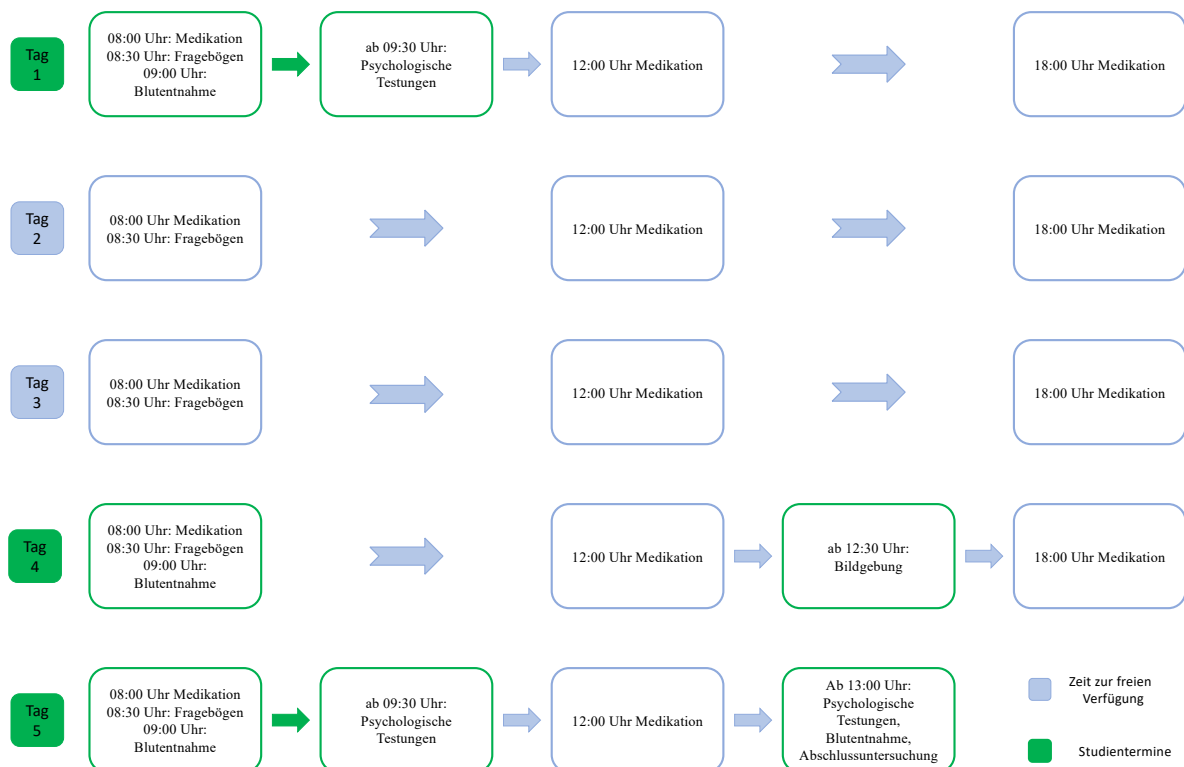


Abbildung 2: Ablauf der Studienteilnahme

2.4.5 Tag 1

Um 08:00 Uhr erfolgte die erste Medikamenteneinnahme auf der Station 18D unter ärztlicher Aufsicht, eine halbe Stunde später wurden die Fragebögen für Tag 1 PANAS State, VAS,

Tagebuch Befinden und der Fragebogen zu Nebenwirkungen vom Probanden ausgefüllt. Im Rahmen dessen erhielt der Proband ebenfalls das Medikamentenlogbuch und eine Kontaktkarte für Notfälle sowie die Fragebögen für Tag 2 und Tag 3. Nach der Blutentnahme um 09:00 Uhr, eine Stunde nach Einnahme der Studienmedikation, und dem Ausfüllen des Fragebogens zur Blutentnahme wurde der Proband für die weiteren Testungen an den Lehrstuhl für klinische Psychologie begleitet. Hier wurden der AX-CPT und der NPU Threat Test (siehe Kapitel 2.5.8 NPU Threat Test (NPU)) durchgeführt, sowie die dazugehörigen Fragebögen bearbeitet.

Der Proband erhielt die Studienmedikation für mittags, abends und den gesamten Tag 2 und Tag 3 und war für Tag 1 entlassen.

Der zeitliche Ablauf wird in Tabelle 7 dargestellt:

08:00 Uhr	Erste Ausgabe und Einnahme der Studienmedikation
08:30 Uhr	Ausgabe des Medikamentenlogbuches und der Notfallkarte; Ausfüllen von PANAS State, VAS, Tagebuch Befinden, Fragebogen zu Nebenwirkungen
09:00 Uhr	Blutentnahme, Ausfüllen des Fragebogens zur Blutentnahme
ab 09:30 Uhr	AX-CPT, NPU und Ausfüllen der NPU-Fragebögen
12:00 Uhr	Ausgabe der Studienmedikation und Einnahme der Studienmedikation
18:00 Uhr	Einnahme der Studienmedikation

Tabelle 7: Zeitlicher Ablauf von Tag 1 der Studienteilnahme

2.4.6 Tag 2 und Tag 3

An Tag 2 und Tag 3 der Studienteilnahme waren keine anwesenheitspflichtigen Termine vorgesehen. Die Medikamenteneinnahme erfolgte weiterhin zu den festgelegten Zeiten, 30 min nach Einnahme der Morgenmedikation füllte der Proband die ihm an Tag 1 ausgehändigten Fragebögen aus.

Der zeitliche Ablauf wird in Tabelle 8 dargestellt:

08:00 Uhr	Einnahme der Studienmedikation
08:30 Uhr	Ausfüllen von PANAS State, VAS, Tagebuch Befinden, Fragebogen zu Nebenwirkungen
12:00 Uhr	Einnahme der Studienmedikation
18:00 Uhr	Einnahme der Studienmedikation

Tabelle 8: Zeitlicher Ablauf von Tag 2 und Tag 3 der Studienteilnahme

2.4.7 Tag 4

Um 08:00 Uhr erfolgte die Medikamenteneinnahme auf Station 18D sowie die Ausgabe der Mittags- und Abendmedikation.

Eine halbe Stunde nach Einnahme der Studienmedikation folgte das Ausfüllen der ausgeteilten Fragebögen PANAS State, VAS, Tagebuch Befinden und des Fragebogens zu Nebenwirkungen. Um 09:00 Uhr, eine Stunde nach Medikamenteneinnahme, erfolgte die Abnahme des Studienblutes und das Ausfüllen des Fragebogens zur Blutentnahme. Bis zur Bildgebung war der Proband entlassen.

Um 12:30 Uhr erschien der Proband für eine Magnetresonanztomographie (MRT) am MRT 2 des Bezirksklinikums zur Sicherheitseinweisung und Ausfüllen eines Fragebogens (siehe Kapitel 2.5.9 Magnetresonanztomographie (MRT)) Der Scan startete um 13:00 Uhr, eine Stunde nach Einnahme der letzten Studienmedikation. Nach Abschluss der MRT-Untersuchung füllte der Proband einen weiteren Fragebogen aus und erhielt zur Vorbeugung eines nicht-aussagekräftigen TSST die Anweisungen, am folgenden Tag ab 09:00 Uhr keinen Kaffee mehr zu trinken, ab 11:00 Uhr nichts mehr zu essen und ab 12:00 Uhr auf Kaugummi und Zähne putzen zu verzichten. Hiernach war der Proband für Tag 4 entlassen. Der zeitliche Ablauf wird in Tabelle 9 dargestellt:

08:00 Uhr	Ausgabe der Studienmedikation
08:30 Uhr	Ausfüllen von PANAS State, VAS, Tagebuch Befinden, Fragebogen zu Nebenwirkungen
09:00 Uhr	Blutentnahme, Ausfüllen des Fragebogens zur Blutentnahme
12:00 Uhr	Einnahme der Studienmedikation
ab 12:30 Uhr	Ausfüllen von VAS-Bildgebung prä, Vorbereitung auf die Untersuchung
ab 13:00 Uhr	MRT, Ausfüllen von VAS-Bildgebung post
18:00 Uhr	Einnahme der Studienmedikation

Tabelle 9: Zeitlicher Ablauf von Tag 4 der Studienteilnahme

2.4.8 Tag 5

Um 08:00 Uhr erfolgte die Medikamenteneinnahme auf Station und die Ausgabe der Mittagsmedikation. Nach einer halben Stunde füllte der Proband die ausgeteilten Fragebögen PANAS State, VAS, Tagebuch Befinden, den Fragebogen zu Nebenwirkungen sowie das Probandenstammbblatt und die Vergütungsdokumentation aus. Auch wurden erneut die Vitalparameter erhoben und ein EKG geschrieben. Eine Stunde nach Medikamenteneinnahme

folgte die Blutentnahme mit Routinelabor und das Ausfüllen des Fragebogens zur Blutentnahme.

Daraufhin wurde der Proband an den Lehrstuhl für Psychologie der Universität Regensburg begleitet. Hier wurden der AX-CPT und der NPU durchgeführt und die dazugehörigen Fragebögen ausgefüllt.

Um 12:00 Uhr folgte die letzte Medikamenteneinnahme der Studie, ab 13:00 Uhr, eine Stunde nach Einnahme der Mittagsmedikation, fand der TSST in virtueller Realität (VR-TSST, siehe Kapitel 2.5.10 Trier Social Stress Test in virtueller Realität (VR-TSST)) mit Bearbeitung der Fragebögen STAI-State, VAS, Body Sensations Questionnaire and the Agoraphobic Cognitions Questionnaire (BSQ), Fragebogen zum Erleben in Computerwelten, Selbstbezogene Aussagen während öffentlichen Sprechens und Stressverarbeitungsfragebogen 42-aktuell (SVF 42-ak) (siehe Kapitel 2.5.5 Fragebögen) statt. Abschließend wurde der Proband für eine Blutentnahme und das Ausfüllen des Fragebogens zur Blutentnahme und zu Nebenwirkungen zurück auf Station 18D begleitet. Das vom Probanden geführte Medikamentenlogbuch mit den Einnahmezeiten der Medikation wurde abgeheftet.

Nach ärztlicher Kontrolle der Laborparameter und Vitalwerte wurde eine Abschlussvisite durch ein ärztliches Mitglied des Studienteams durchgeführt. Bei pathologischen Werten oder auffälligen Veränderungen der Blutwerte wurde der Proband von dem Untersuchenden eine Woche nach Beendigung der Studienteilnahme zu einer weiteren Folgeuntersuchung einbestellt.

Der zeitliche Ablauf wird in Tabelle 10 dargestellt:

08:00 Uhr	Ausgabe der Studienmedikation
08:30 Uhr	Ausfüllen von PANAS State, VAS, Tagebuch Befinden, Fragebogen zu Nebenwirkungen, Probandenstammbblatt und Vergütungsdokumentation, Erhebung der Vitalparameter, EKG
09:00 Uhr	Blutentnahme, Ausfüllen des Fragebogens zur Blutentnahme
ab 09:30 Uhr	AX-CPT, NPU und Ausfüllen der NPU-Fragebögen
12:00 Uhr	Einnahme der Studienmedikation
ab 13:00 Uhr	Cortisol-Messung T-minus 30, Ausfüllen von STAI-State, VAS Cortisol-Messungen T-minus 10, T-minus 1 Durchführung des VR-TSST Cortisol-Messung T-plus 1

	Ausfüllen von STAI-State, VAS, BSQ, Fragebogen zum Erleben in Computerwelten, Selbstbezogene Aussagen während öffentlichen Sprechens, SVF-42-ak
	Cortisol-Messungen T-plus 10, T-plus 20 , T-plus 30, T-plus 45
ca. 15:00 Uhr	Blutentnahme, Ausfüllen des Fragebogens zur Blutentnahme, Fragebogen zu Nebenwirkungen
ca. 15:15 Uhr	Kontrolle der Vitalparameter
	Abschlussvisite durch ein ärztliches Mitglied des Studienteams
	Entlassung des Probanden

Tabelle 10: Zeitlicher Ablauf von Tag 5 der Studienteilnahme

2.4.9 Telefonvisite

Der Proband erhielt sieben Tage nach Beendigung der Studie einen Telefonanruf durch ein Mitglied des Studienteams.

Hierbei wurde der Proband zu seinem allgemeinen Befinden und potentiell aufgetretenen Nebenwirkungen nach Beendigung der Medikamenteneinnahme befragt.

Mit unauffälliger Telefonvisite war die Studienteilnahme für den Probanden beendet.

2.5 Durchgeführte Erhebungen und Untersuchungen

2.5.1 Körperliche Untersuchung

Die körperliche Untersuchung wurde von einem ärztlichen Mitglied der Prüfgruppe am Tag der Voruntersuchung durchgeführt. Sie umfasste eine Untersuchung des Allgemeinzustandes, des Bewegungsapparates und der Haut, eine Untersuchung auf Ödeme, auffällige Lymphknoten, äußere Verletzungen oder Narben, die Untersuchung von Kopf und Hals, Thorax und Rücken, der Lunge, von Herz/Kreislauf, Abdomen, der Wirbelsäule, der Gliedmaße sowie einer orientierenden neurologischen Untersuchung. Darüber hinaus wurden chronische Begleiterkrankungen, Genussmittelmissbrauch und potentielle Begleitmedikation erfasst. Es erfolgte eine Begutachtung auf studien- und gesundheitsrelevante Auffälligkeiten, Anomalien und Pathologien.

2.5.2 Blutentnahme

Bei vollständiger Studienteilnahme erfolgten pro Proband fünf Blutentnahmen, die hierfür verwendeten Blutentnahmeröhrchen waren von Sarstedt (Nümbrecht, Deutschland). Die Blutentnahme der einzelnen Tage setzte sich wie in den folgenden Tabellen 11 – 15 zusammen:

Voruntersuchung, Zeitpunkt 0-1:

Screeninglabor	1 x 7,5 ml Serum, 1 x 3,0 ml Acid-Citrat, 1 x 2,7 ml EDTA
Studienblut	1 x 9 ml Serum, 1 x 10 ml Acid-Citrat, 2 x 9 ml EDTA

Tabelle 11: Blutentnahme zum Zeitpunkt 0-1

Tag 1, Zeitpunkt 1-1:

Studienblut	1 x 9 ml Serum, 1 x 10 ml Acid-Citrat, 2 x 9 ml EDTA
-------------	--

Tabelle 12: Blutentnahme zum Zeitpunkt 1-1

Tag 4, Zeitpunkt 4-1

Studienblut	1 x 9 ml Serum, 1 x 10 ml Acid-Citrat, 2 x 9 ml EDTA
-------------	--

Tabelle 13: Blutentnahme zum Zeitpunkt 4-1

Tag 5, Zeitpunkt 5-1

Abschlusslabor	1 x 7,5 ml Serum, 1 x 3,0 ml Acid-Citrat, 1 x 2,7 ml EDTA
Studienblut	1 x 9 ml Serum, 1 x 10 ml Acid-Citrat, 2 x 9 ml EDTA

Tabelle 14: Blutentnahme zum Zeitpunkt 5-1

Tag 5, Zeitpunkt 5-2

Studienblut	1 x 9 ml Serum, 1 x 10 ml Acid-Citrat, 2 x 9 ml EDTA
-------------	--

Tabelle 15: Blutentnahme zum Zeitpunkt 5-2

Wegen der Abnahme des Screeninglabors wurde der Proband gebeten, am Tag der Voruntersuchung nüchtern zu erscheinen. Am Tag der Voruntersuchung und am Morgen von Tag 5 wurden neben dem Studienblut auch Blut für die klinische Chemie des Bezirksklinikums Regensburg (Verantwortlicher: Georg Weinfurtner) abgenommen. Zum Zeitpunkt 0-1 diente das Screeninglabor zur Kontrolle, ob die Blutparameter die Ein- bzw.

Ausschlusskriterien erfüllen, an Tag 5 zur Kontrolle der potentiellen Auswirkungen der Studienmedikation auf die Blutparameter.

Für GPT galt bei der Voruntersuchung eine Überschreitung des Referenzbereiches um 10 % (10 – 55 U/l), für GOT und Bilirubin über 20 % (GOT 10 – 60 U/l, Bilirubin gesamt 0,1 – 1,2 mg/dl, Bilirubin direkt 0,10 – 0,3 mg/dl), für Kreatinin um > 0,1 mg/dl (0,10 – 1,3 mg/dl) und für alle anderen Parameter eine Überschreitung des Normbereichs um mehr als das Doppelte bzw. eine Unterschreitung des unteren Normwertes um mehr als 50 % als Ausschlusskriterium.

Bei starken Veränderungen der Blutwerte an Tag 5 im Vergleich zur Voruntersuchung wurde der Proband nach ärztlicher Einschätzung zu einer weiteren Laborkontrolle eine Woche nach Studienende an das Bezirksklinikum Regensburg gebeten.

2.5.3 Erhebung ausgewählter Vitalparameter

Für die Erhebung der Vitalparameter wurden ein EKG geschrieben, Puls, Blutdruck und Temperatur bestimmt und zudem Größe und Gewicht erfragt.

Das EKG wurde über drei Sekunden als 12-Kanal EKG abgeleitet. Die Durchführung erfolgte mit einem MAC400 EKG-Gerät von GE Healthcare (Chicago, Illinois, Vereinigte Staaten von Amerika). Blutdruck und Herzfrequenz wurden mit einem Carat Professional Messgerät von bosso (Jungingen, Deutschland) durch eine Messung im Liegen am rechten Oberarm bestimmt. Die Erfassung von Gewicht und Körpergröße erfolgte anamnestisch, die Temperatur wurde mittels digitalem Ohrthermometer Genius 2TM von Covidien (Dublin, Irland) erfasst.

2.5.4 Drogenscreening

Am Tag der Voruntersuchung wurden die Probanden aufgefordert, eine Urinprobe für ein Drogenscreening abzugeben. Dieses Drogenscreening umfasste Amphetamine, Benzodiazepine, Buprenorphin, Cannabis, Cocain, Ethanol, Ethylglucuronid, Fentanyl, Methadon, Opiate und Pregabalin im Urin sowie die Messung des Kreatinin zum Ausschluss einer Verdünnung. Ein positives Ergebnis eines oder mehrerer Analyten galt als Ausschlusskriterium für die Studienteilnahme.

2.5.5 Fragebögen

Während der Studienteilnahme wurden dem Probanden zu verschiedenen Zeitpunkten Fragebögen zur Selbstbeurteilung ausgeteilt, welche im Folgenden beschrieben werden sollen.

Fragebogen zur Blutentnahme

Der Fragebogen zur Blutentnahme erfasste die psychische und physische Verfassung des Probanden zum Zeitpunkt der Blutentnahme.

Der Fragebogen enthielt die Fragen, ob der Proband sich aktuell erkältet fühle, denke, Fieber oder erhöhte Temperatur zu haben und zudem eine visuelle Analogskala (Abstufungen von gar nicht bis sehr stark) für die Gefühle Traurigkeit und Ängstlichkeit sowie eine Bewertung der Qualität und Dauer des Schlafes der vergangenen Nacht. Auch wurde anhand des Fragebogens dokumentiert, wie lange der Proband zum Entnahmezeitpunkt der Blutentnahme bereits wach war und ob dieser bereits körperlich anstrengende Tätigkeiten ausgeführt, Medikamente genommen, etwas gegessen, geraucht oder Kaffee bzw. schwarzen Tee getrunken hatte.

Sollte der Proband Medikamenten-, Nikotin- oder Koffeinkonsum bejaht haben, wurde außerdem nach dem Namen des Medikamentes, der bisherigen Anzahl an Zigaretten / Zigarren / Pfeifen und der durchschnittlichen Anzahl pro Tag, dem Zeitpunkt des letzten Nikotinkonsums und der Anzahl an Tassen Kaffee oder schwarzen Tees pro Tag gefragt.

Dieser Fragebogen wurde nach jeder Blutentnahme zu den Zeitpunkten 0-1, 1-1, 4-1, 5-1 und 5-2 ausgeteilt.

Positive and Negative Affect Schedule (PANAS) State / Trait

Dieser Fragebogen erfasste den generellen (Trait) und aktuellen (State) Zustand der Emotionen (161). Bei 20 vorgegebenen Emotionen sollte angegeben werden, wie sehr die jeweilige Emotion auf einer Skala von 1 (gar nicht) bis 5 (äußerst) zutreffe.

Die in dieser Studie verwendeten Fragebögen waren der PANAS State und Trait, wobei der PANAS Trait am Tag der Voruntersuchung ausgeteilt wurde und der PANAS State am Tag der Voruntersuchung sowie am Morgen aller Tage der Medikamenteneinnahme, um eine Verlaufsentwicklung des emotionalen Zustandes während der Studienteilnahme zu erhalten.

Spielberger State-Trait-Angst-Inventar (STAI) Trait / State

Anhand des STAI wurde die allgemeine (Trait) und aktuelle (State) Ängstlichkeit ermittelt (162). Der STAI bestand aus 20 Aussagen mit vier abgestuften Antworten bezüglich des Ausmaßes, wie sehr die jeweilige Aussage auf den Ausfüllenden zutreffe (überhaupt nicht – ein wenig – ziemlich – sehr / fast nie – manchmal – oft – fast immer). Der STAI Trait wurde am Tag der Voruntersuchung ausgeteilt, der STAI State am Tag der Voruntersuchung und am Morgen aller Tage der Medikamenteneinnahme sowie vor und nach dem TSST, um eine Verlaufsentwicklung der Ängstlichkeit während der Studienteilnahme zu erhalten.

Visuelle Analogskala (VAS)

Bei der VAS wurde anhand einer Skala von 1 – 10 das momentane Empfinden des Probanden bezüglich Gemütszustand („sehr schlecht“ bis „sehr gut“), Aufregung („sehr aufgeregt“ bis „sehr ruhig“), Müdigkeit („sehr müde“ bis „sehr wach“), Gelassenheit („sehr gelassen“ bis „sehr ängstlich“) und Zufahrenheit („sehr zerfahren“ bis „sehr konzentriert“) erfragt. Die VAS wurde am Tag der Voruntersuchung und am Morgen aller Tage der Medikamenteneinnahme sowie vor und nach der MRT-Untersuchung und vor und nach dem TSST ausgeteilt, um eine Verlaufsentwicklung während der Studienteilnahme zu erhalten.

Demographischer Fragebogen

Anhand des demographischen Fragebogens wurden der Schulabschluss, Berufsabschluss, Familienstand, die Wohnsituation und Wohnumgebung des Probanden erfasst, sowie die aktuelle Tätigkeit, das monatlich zur Verfügung stehende Geld und der Beruf.

Der demographische Fragebogen wurde am Tag der Voruntersuchung ausgeteilt.

Angstsensitivitätsindex 3 (ASI-3)

Der ASI-3 erfasste 18 Aussagen auf einer fünfstufigen Antwortskala (stimme gar nicht zu – stimme ein wenig zu – stimme teils teils zu – stimme ziemlich zu – stimme völlig zu) bezüglich somatischer, sozialer und kognitiver Bedenken (163). Der Fragebogen wurde am Tag der Voruntersuchung ausgeteilt.

Intolerance of Uncertainty Scale 18 (IUS-18)

Die IUS zur Eruiierung der Unsicherheitsintoleranz bestand aus 18 Aussagen mit einer fünfstufigen Antwortskala bezüglich des Ausmaßes, wie sehr jede Aussage bezüglich der

eigenen Unsicherheit auf den Ausfüllenden zutreffen (stimme gar nicht zu – stimme ein wenig zu – stimme teils teils zu – stimme ziemlich zu – stimme völlig zu) (164).

Der Fragebogen wurde am Tag der Voruntersuchung ausgeteilt.

Stressverarbeitungsfragebogen (SVF) 120

Der SVF 120 umfasste 120 Bewältigungsreaktionen auf eine stressige, verärgende oder beeinträchtigende Situation mit einer fünfstufigen Antwortskala (0 – 4) (165).

Dieser Fragebogen wurde am Tag der Voruntersuchung ausgeteilt.

Furcht vor negativer Evaluation – Kurzskala (FNE-K)

Die FNE-K erfasste die Angst vor negativer sozialer Evaluation mittels zwölf Aussagen und der Einordnung auf einer fünfstufigen Antwortskala (1 – 5), wie sehr jede der Aussagen auf den Ausfüllenden zutreffen (166).

Dieser Fragebogen wurde am Tag der Voruntersuchung ausgeteilt.

Tagebuch Befinden

Das Tagebuch Befinden diente zur Dokumentation besonderer Ereignisse des vorangegangenen Tages. So wurde nach der Anzahl der Stunden Schlaf der vergangenen Nacht gefragt, sowie der Qualität des Schlafes auf einer visuellen Analogskala (1 = nicht erholsam bis 10 = sehr erholsam). Auch wurde eine potentielle sportliche Betätigung erfasst, die Dauer und Sportart, Alkoholkonsum des Vortages mit Angabe der konsumierten Menge, besonders stressige Ereignisse am vorangegangenen Tag wie beispielsweise Prüfungen und durch den Probanden frei anzugebende, sonstige Besonderheiten. Die Frage nach Alkoholkonsum am vorherigen Tag diente als Kontrolle der Einhaltung der für die Studienteilnahme vereinbarten und notwendigen Alkoholabstinenz.

Dieser Fragebogen wurde an allen Tagen der Medikamenteneinnahme ausgeteilt.

Fragebogen zu Nebenwirkungen

Im Fragebogen zu Nebenwirkungen wurde der Proband befragt, ob bzw. welche Symptome in den letzten 24 Stunden auftraten und in welcher Intensität (leicht – mittel – schwer) sich diese ausprägten. So wurde der Proband nach dem Auftreten von Benommenheit, Hautreaktionen, Appetitmangel, Appetitzunahme, Verwirrtheit, Halluzinationen, Wutanfällen, Schlaflosigkeit, Nervosität, Kopfschmerzen, Verstopfung, Übelkeit, Schwindel, innerer Unruhe,

Verschlafenheit, Konzentrationsschwierigkeiten, Änderungen der Libido und Müdigkeit befragt und konnte zudem noch weitere beobachtete, potentielle Nebenwirkungen angeben. Dieser Fragebogen wurde an allen Tagen der Medikamenteneinnahme ausgeteilt und bei der Telefonvisite sieben Tage nach Beendigung der Medikamenteneinnahme erfragt.

Fragebögen zum NPU Threat Test

Die Fragebögen zum NPU bezogen sich auf den vorherig durchgeführten NPU Threat Test (siehe Kapitel 2.5.8 NPU Threat Test (NPU)) und dessen verschiedene Bedingungen.

Sie bestanden aus einem Fragebogen mit sechs Fragen zur Ängstlichkeit während der jeweiligen Bedingungen mit einer zehnstufigen Antwortskala (1 = nicht ängstlich bis 10 = sehr ängstlich), einem Fragebogen mit sechs Fragen zur gefühlten Wahrscheinlichkeit, während der einzelnen Bedingungen einen Schock zu erhalten, einem Fragebogen, mit welcher Bedingung der Proband lieber fortfahren wolle und welche Bedingung als unangenehmer empfunden wurde, einem Fragebogen mit drei Fragen und einer zehnstufigen Antwortskala zum Erleben der elektrischen Stimulation und einem Fragebogen mit vier Fragen und einer zehnstufigen Antwortskala bezüglich des Erlebens des wahrgenommenen Geräusches (167).

Sie wurden jeweils während und nach Durchführung des NPU Threat Test an Tag 1 und Tag 5 ausgeteilt.

Subjective Units of Distress Scale (SUDS)

Mit Hilfe der SUDS wurde auf einer Skala von 0 – 100 (0 = gar nicht, 100 = extrem) der aktuelle Stresslevel erfragt.

Diese Frage wurde 30 min und 10 min vor Beginn des TSST, sowie unmittelbar vor und nach dem TSST sowie 10 min, 20 min, 30 min und 45 min nach dem TSST gestellt.

Body Sensations Questionnaire and the Agoraphobic Cognitions Questionnaire (BSQ)

Der BSQ erfasste das Auftreten von 18 bei Nervosität oder Angst auftretenden Körpersymptomen (168). Der Fragebogen bezog sich auf die letzten zehn Minuten und bestand aus einer fünfstufigen Antwortskala (gar nicht – selten – häufig – sehr häufig – immer).

Der Fragebogen wurde an Tag 5 nach Durchführung des TSST ausgeteilt.

Fragebogen zum Erleben in Computerwelten (Igroup Presence Questionnaire, IPQ)

Dieser Fragebogen enthielt 14 Aussagen mit einer siebenstufigen Antwortskala (-3 – +3) über die Wahrnehmungen und Eindrücke während dem Erleben von virtueller Realität (169).

Der Fragebogen wurde an Tag 5 nach dem TSST ausgeteilt.

Selbstbezogene Aussagen während öffentlichen Sprechens (SSPS)

Dieser Fragebogen bestand aus 10 Aussagen bezüglich der Gefühle und Gedanken während öffentlichen Sprechens mit einer sechsstufigen Antwortskala („stimme überhaupt nicht zu“ bis „stimme sehr zu“) (170), (171).

Der Fragebogen wurde an Tag 5 nach Durchführung des TSST ausgeteilt.

Stressverarbeitungsfragebogen 42-aktuell (SVF 42-ak)

Der SVF-42-ak umfasste als Kurzversion des SVF 120 insgesamt 42 Aussagen mit einer vierstufigen Antwortskala (0 – 3), die sich auf die Reaktionen und Gedanken in der vorangegangenen Stresssituation bezogen (165).

Der Fragebogen wurde an Tag 5 nach Durchführung des TSST ausgeteilt.

Postfragebogen

Durch eine Telefonvisite wurde sieben Tage nach Beendigung der Einnahme der Studienmedikation die Schlafdauer und Schlafqualität erfragt, sowie das Verlangen des Probanden, im Verlauf der vergangenen Woche die Studienmedikation erneut einzunehmen. Auch wurde nach körperlichen und psychischen Auffälligkeiten und dem Stresslevel am Abend der letzten Medikamenteneinnahme gefragt.

2.5.6 Mini International Neuropsychiatric Interview (MINI)

Das MINI ist ein neuropsychiatrischer Interview-Fragebogen zur anamnestischen Erfassung von neuropsychiatrischen Störungen (172). Die bei der Voruntersuchung verwendete German Version 5.0.0 wurde zum Screening auf aktuelle oder vergangene psychische Störungen eingesetzt, welche zum Ausschluss der Studie geführt hätten.

2.5.7 Continuous Performance Test, AX-Version (AX-CPT)

Der AX-CPT ist eine Modifikation des Continuous Performance Test (173), ein am Computer durchgeführter Aufmerksamkeitstest (174), welcher circa 25 Minuten dauerte und in vier Blöcke mit einer Dauer von je 378 s unterteilt war.

Die in der Studie verwendete Software des CPT in der AX-Version war die software presentation Version 19.0 von Neurobehavioral Systems Incorporated (Albany, Kalifornien, USA).

Auf einem Computerbildschirm wurde den Probanden für je 250 ms zentral auf einem schwarzen Hintergrund ein weißer Großbuchstabe in Helvetika, Schriftgrad 24 präsentiert, dem folgte eine Pause von 800 ms, in welcher der Proband eine bestimmte Maustaste drücken sollte. Unter den gezeigten Buchstaben sollte eine Zielsequenz erkannt werden: Folgte auf den Buchstaben A ein X (Zielsequenz: AX), sollte der Proband beim Aufleuchten des X die linke Maustaste drücken, bei A sowie allen anderen Buchstaben und Sequenzen die rechte Maustaste.

Insgesamt wurden dem Probanden pro Durchgang 360 Buchstaben (180 2er-Buchstabensequenzen) präsentiert, von denen 70 % AX-Zielsequenzen und 30 % keine Zielsequenzen (AY, BX, BY) waren.

Dieser Test wurde am Tag der Voruntersuchung sowie an Tag 1 und Tag 5 durchgeführt.

2.5.8 NPU Threat Test (NPU)

Der NPU Threat Test ist ein Testverfahren zur Erzeugung von lang andauernder Angst und kurz andauernder Furcht mittels neutraler, vorhersehbarer und unvorhersehbarer Stimuli (167). Die in der Studie verwendete Software des NPU Threat Test war die software presentation Version 19.0 von Neurobehavioral Systems Incorporated.

Der NPU bestand aus zwei Blöcken zu je 15 Minuten mit fünf Minuten Pause zwischen den Blöcken, in welcher der Proband sich bewegen, essen und trinken durfte.

Während der Durchführung des NPU war der Proband drei unterschiedlichen Bedingungen ausgesetzt, wobei eine kurze Beschreibung der jeweiligen Bedingungen während der gesamten Zeit auf dem Bildschirm eingeblendet war:

Die neutrale Bedingung (N-Bedingung) wurde durch einen grünen Kreis symbolisiert, währenddessen erhielt der Proband keine aversiven Stimuli. Während der vorhersehbaren (P-) Bedingung, angezeigt durch ein rotes Quadrat, erhielt der Proband ausschließlich bei Erscheinen des roten Quadrates eine im Vorfeld individuell festgelegte, unangenehme, aber nicht schmerzhaft elektrische Stimulation am Unterarm. Während der unvorhersehbaren (U-)

Bedingung, symbolisiert durch ein blaues Dreieck, konnte der Proband zu jeder Zeit, unabhängig von Erscheinen des blauen Dreiecks, eine elektrische Stimulation am Unterarm erhalten. Der Ablauf der Bedingungen während eines Blocks war festgelegt als Abfolge U – N – P – N – P – N – U oder P – N – U – N – U – N – P, wobei jede einzelne Bedingung 120 s dauerte und das entsprechende Symbol jeder Bedingung dreimal für je acht Sekunden angezeigt wurde. Insgesamt erhielt der Proband pro Durchlauf zwölf elektrische Stimulationen von je etwa 100 ms Dauer an der Oberseite des rechten Unterarmes, wobei die Stimulationen während der P-Bedingung nur während Präsentation des roten Quadrates und während der U-Bedingung nur während der Abwesenheit des blauen Dreiecks erschienen. Des Weiteren ertönte über die Kopfhörer 40 ms vor dem aversiven Stimulus ein Signalreiz von 103 dB, wobei die Probanden im Vorfeld darauf hingewiesen wurden, dass dieser Ton unabhängig der elektrischen Stimuli erfolge. Nach dem ersten Durchgang wurden die NPU-Fragebögen ausgefüllt und nach einer kurzen Pause von fünf Minuten der zweite Durchgang gestartet. Nach Beendigung des NPU füllte der Proband erneut die NPU-Fragebögen aus. Zur Gewährleistung der Übersichtlichkeit dieser Arbeit wurde aufgrund fehlender Relevanz für die hier vorliegende Fragestellung lediglich eine unvollständige Übersicht gewährleistet. Für eine detaillierte Ausarbeitung der Vorbereitungen, Bedingungen und Abläufe siehe Bahr, 2020 (149).

Dieser Test wurde an Tag 1 und Tag 5 durchgeführt.

2.5.9 Magnetresonanztomographie (MRT)

An Tag 4 der Studienteilnahme wurde eine MRT-Aufnahme vom Gehirn des Probanden angefertigt.

Durchgeführt wurde der Scan an dem 3 T MAGNETOM Prisma MRT von Siemens (Berlin / München, Deutschland) des Bezirksklinikums Regensburg, in Kooperation mit Prof. Jens Schwarzbach, biomedizinische Bildgebung, ebenfalls Bezirksklinikum Regensburg.

Die Scanzeit betrug insgesamt etwa 55 Minuten und wurde mit einer 20-channel Kopfspule von Siemens durchgeführt.

Zu Beginn der Messung wurde ein Übersichtsbild vom Gehirn des Probanden gefertigt, dem folgten die Sequenzen für den Resting State, den Magnetization Prepared-Rapid Gradient Echo (MPRage) und Messungen für die Diffusions-Tensor-Bildgebung (DTI).

Die anschließenden Messungen für die Magnetresonanztomographie erforderten einen weiteren Scout. Während der gesamten Aufnahmen musste der Proband wach bleiben und ruhig liegen, eine weitere Aufgabenstellung bestand nicht.

Zur Gewährleistung der Übersichtlichkeit dieser Arbeit wurde aufgrund fehlender Relevanz für die hier vorliegende Fragestellung auf die technischen Einzelheiten der Bildgebung nicht im Detail eingegangen. Für eine detaillierte Ausarbeitung der Vorbereitungen, Bedingungen und Abläufe siehe Bahr, 2020 (149).

2.5.10 Trier Social Stress Test in virtueller Realität (VR-TSST)

Der „Trier Social Stress Test“ ist ein Test zur Provokation einer Stressreaktion durch Exposition gegenüber psychosozialen Stressoren (175).

In der vorliegenden Studie wurde eine modifizierte Version des initial *in vivo* entwickelten TSST verwendet, in welcher der Proband diesen Test in virtueller Realität durchlief (176), (177). Die dadurch provozierte Stressreaktion wurde anhand von Fragebögen, Herzfrequenz, Hautleitfähigkeit, Stimme, Cortisol im Speichel sowie einer Blutentnahme nach Durchführung des TSST erfasst.

Die virtuelle Realität wurde mittels Steam Source game engine (Valve Corporation, Bellevue, Washington, USA) generiert und durch ein Cybersession-Skript der VTplus GmbH (Würzburg, Deutschland) gesteuert. Verwendet wurde ein head mounted display (HTC, Vive, Taoyuan, Taiwan) sowie Kopfhörer von Sennheiser (HD215, Sennheiser electronic GmbH & Co. KG, Wedemark-Wennebostel, Germany).

Die Herzfrequenz und Hautleitfähigkeit wurden mit einem Brain Vision Recorder (Brain Products GmbH, Gilching, Deutschland) dokumentiert, die Stimme über ein Mikrofon von MeteorMic (Samson, New York, USA) aufgezeichnet.

Die Speichelproben wurden mittels Salivetten-Röhrchen von Sarstedt abgenommen.

Am Vortag des VR-TSST wurde der Proband angehalten, vor Durchführung des Tests keine Speichelproben-verunreinigenden Lebensmittel und Getränke zu sich zu nehmen, genauer, ab 09:00 Uhr keinen Kaffee oder koffeinhaltige Getränke zu konsumieren, spätestens ab 11:00 Uhr keine Mahlzeiten mehr zu sich zu nehmen, sowie ab diesem Zeitpunkt nur noch Wasser zu trinken. Auch wurde der Proband instruiert, ab 12:00 Uhr keinen Kaugummi mehr zu kauen und auf Zähneputzen zu verzichten.

Eine halbe Stunde vor Beginn des VR-TSST wurde die erste Speichelprobe genommen, die SUDS erhoben und der Proband für 15 min ohne Handy in eine Ruhezone gesendet. Danach wurde unmittelbar vor dem VR-TSST der STAI-State und VAS ausgefüllt.

Zehn Minuten vor Beginn wurde eine weitere Speichelprobe entnommen und die SUDS erfragt. Die Materialien zur physiologischen Überwachung wurden angelegt.

Vor dem Start des VR-TSST wurde der Proband für die Erfassung einer Stimm-Baseline angewiesen, eine Minute ein auf die VR-Brille projiziertes Bild von einem Haus zu beschreiben. Abermals wurden eine Speichelprobe und SUDS erhoben.

Zur Eingewöhnung in die virtuelle Realität sollte sich der Proband zunächst mittels Joystick in einem virtuellen Raum umher bewegen und anschließend in eine virtuelle Halle gehen. Hier wurde er von einer weiblichen Studienmitarbeiterin empfangen, welche ihn auf die erste Aufgabe vorbereiten sollte: So sollte sich der Probanden auf ein etwa fünfminütiges Bewerbungsgespräch für seinen Traumberuf vorbereiten. Diese Rede sollte er dann vor einer psychologisch geschulten Jury halten, welche sich Notizen machen und sein Verhalten analysieren würden, weshalb dieser insbesondere auf seine Stärken und Schwächen und nicht auf seinen Lebenslauf eingehen solle. Anschließend würde eine zweite, zunächst nicht näher spezifizierte Aufgabe folgen.

Der Proband wurde für einen dem Probanden unbekanntem Zeitraum zur mentalen Vorbereitung allein gelassen, wobei nach exakt drei Minuten eine Lautsprecherdurchsage mit der Aufforderung ertönte, sich in den folgenden Raum zu begeben. Hier traf der Proband auf die ihn bewertende Jury, bestehend aus zwei Männern und einer Frau in Laborkitteln.

Der Proband stand mittig vor der Jury und wurden von einem männlichen Juror aufgefordert, einen Schritt zurückzutreten und sich aufrechter hinzustellen. Diese Aufforderung wurde mit einer Videoaufnahme begründet, welche allerdings nicht stattfand. Anschließend wurde er von der weiblichen Beurteilerin aufgefordert, seine Rede zu beginnen. Währenddessen stellte sie bei einer Pause von über 20 Sekunden vorgefertigte Zwischenfragen, der Proband bekam darüber hinaus kein weiteres Feedback.

Nach Ablauf der fünf Minuten wurde die erste Aufgabe beendet und die zweite Aufgabe erklärt: So sollte der Proband nun in 17er Schritten von 2023 rückwärts rechnen. Zwischendrin wurde der Proband bei Fehlern unterbrochen und zum erneuten Beginn aufgefordert oder angewiesen, schneller zurechnen.

Unmittelbar nach Beendigung des VR-TSST wurden eine Speichelprobe entnommen und die SUDS erfasst. Zudem gab der Proband ein Präsenzrating bezüglich der gefühlten Wirklichkeitsnähe der virtuellen Realität an. Es wurde der STAI-State und VAS ausgefüllt, sowie der BSQ, der Fragebogen zum Erleben in Computerwelten, Selbstbezogene Aussagen während öffentlichen Sprechens und der SVF 42-ak.

Weitere 10 min, 20 min, 30 min und 45 min nach Beendigung des TSST wurden Speichelproben entnommen und die SUDS erfasst.

Zur Gewährleistung der Übersichtlichkeit dieser Arbeit wurde aufgrund fehlender Relevanz für die hier vorliegende Fragestellung auf Einzelheiten der Erhebung der physiologischen Parameter nicht eingegangen. Für eine detaillierte Ausarbeitung der Materialien, Vorbereitungen und Abläufe siehe Bahr, 2020 (149).

2.6 Vorverarbeitung von Studienblut und Saliva

Im Verlauf der Studienteilnahme wurden jedem Probanden insgesamt fünf Blutproben entnommen, um Parameter der microRNA (miRNA), Steroide, Zytokine, Thrombozyten, der mononukleären Zellen des peripheren Blutes (PBMC) und den TSPO-SNP zu bestimmen.

Zunächst soll in Tabelle 16 eine Übersicht über die abgenommenen Parameter gegeben werden:

Zeitpunkt 0-1 (Vorunter- suchung)	Zeitpunkt 1-1	Zeitpunkt 4-1	Zeitpunkt 5-1	Zeitpunkt 5-2
miRNA Steroide, Zytokine, Thrombozyten PBMC TSPO- SNP	Steroide, Zytokine, Thrombozyten PBMC	Steroide, Zytokine, Thrombozyten PBMC	Steroide, Zytokine, Thrombozyten PBMC	miRNA Steroide, Zytokine, Thrombozyten PBMC

Tabelle 16: Übersicht der erhobenen Laborparameter

2.6.1 Steroide, Zytokine und neuroinflammatorische Marker

Hierfür wurden konische 1,5 ml Mikro-Schraubröhren sowie 0,5 ml Mikro-Schraubröhren von Sarstedt verwendet.

Die verwendete Zentrifuge war die Megafuge 2.0 R von Heraeus Instruments (Hanau, Deutschland).

Die 9 ml Serum-Monovette wurde unmittelbar nach Blutentnahme auf Eis gestellt und ebenfalls gekühlt transportiert.

Zur Vorbereitung der Steroide und Zytokine wurde die Serum-Monovette für 10 min bei einer relativen Zentrifugalkraft $RCF = 2877 \times g$ und $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ zentrifugiert.

Auf Eis wurden $5 \times 0,1\text{ ml}$ und $4 \times 0,5\text{ ml}$ Serum in $5 \times 0,5\text{ ml}$ und $4 \times 1,5\text{ ml}$ Mikroschraubröhren pipettiert und bis zur weiteren Verwendung bei $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ eingefroren.

2.6.2 Vollblut für die Bestimmung des Einzelnukleotid-Polymorphismus (SNP) von TSPO

Es wurden 4 ml Vollblut aus der Monovette (EDTA) in dieser bis zur weiteren Verwendung bei $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ eingefroren.

2.7 Analyse des Cortisols

Zur Verarbeitung und Analyse der Cortisol-Konzentrationen wurde das Cortisol-ELISA-Kit, Chargen-Nummer 40390, von Demeditec Diagnostics GmbH (Kiel, Germany) verwendet, wodurch die Bestimmung der Cortisol-Konzentration in menschlichem Plasma oder Serum ermöglicht wurde. Für die Analyse wurden die Serumproben (siehe Kapitel 2.6.1 Steroide, Zytokine und neuroinflammatorische Marker) der Zeitpunkte 0-1, 5-1 und 5-2 genutzt.

Sowohl die Proben als auch die Kontrollen und Kalibrierungs-Lösungen wurden jeweils in Doppelbestimmung zur Erhebung eines Mittelwertes gemessen, bei einer Konzentrationsabweichung der Doppelbestimmungen um mehr als 20 % erfolgte eine Messwiederholung.

Zum Pipettieren wurde abermals die automatische Pipette Eppendorf Reference[®] 2 von Eppendorf verwendet.

Die Durchmischung erfolgte durch den Eppendorf Thermomixer Comfort bei 650 rpm.

Die Auswertung wurde mittels Mikroplatten-Reader Spectra Classic der Tecan Group AG (Männedorf, Schweiz) durchgeführt, die weitere Datenverarbeitung mittels Magellan 3 der Tecan Group AG.

Die Serumproben wurden gemäß der dem Kit beiliegenden Arbeitsanweisung (178) verarbeitet: Für die Herstellung der Waschlösung wurden 50 ml der im Kit enthaltenen Waschlösung durch Zugabe von 450 ml deionisiertem Wasser auf 500 ml verdünnt.

An der Durchführung und maschinellen Auswertung der Cortisol-ELISAs war Frau Doris Melchner unterstützend beteiligt. Der Ablauf der Cortisol-Analyse wird in Tabelle 17 erläutert:

Zugabe der Proben	pro Well entweder 10 µl der Standards, Kontrollen oder Serumproben
Zugabe des Enzymkonjugats	200 µl Enzymkonjugat pro Well
Inkubation	für eine Stunde bei Raumtemperatur im Mikrotiterplatten-Schüttler (650 rpm)
Waschvorgang	viermal mit je 300 µl Waschlösung pro Well
Zugabe der Substratlösung	200 µl Substratlösung pro Well
Inkubation	mit Abdeckfolie für 30 min bei Raumtemperatur
Zugabe der Stopplösung	je 50 µl Stopplösung pro Well
Ausmessung	binnen 15 min auf dem Mikroplatten-Reader Spectra Classic

Tabelle 17: Durchführung des ELISA gemäß der beiliegenden Arbeitsanweisung (178)

2.8 Weiterverarbeitung der Zytokine

Für die Analyse wurde der Enzyme-linked Immunosorbent Assay (ELISA) genutzt.

Zur Verarbeitung und Analyse der Zytokine wurde das „V-PLEX Neuroinflammation Panel 1 Human Kit“ von Meso Scale Diagnostics (Rockville, Maryland, USA) verwendet. Dieses Kit ermöglicht die Analyse von bis zu 37 Zytokinen und neuroinflammatorischen Markern anhand der enthaltenen fünf ELISA-Panel: Angiogenesis Panel 1 (human), Chemokine Panel 1 (human), Cytokine Panel 1 (human) und Proinflammatory Panel 1 (human). Das ebenfalls enthaltene Vascular Injury Panel 2 (human) konnte bei Konzentrationsergebnissen unterhalb der Nachweisgrenzen nicht verwendet werden.

Das Proinflammatory Panel 1 (human) umfasste die Marker IFN- γ , IL-1 β , IL-2, IL-4, IL-6, IL-8, IL-10, IL-13 und TNF- α .

Das Chemokine Panel 1 (human) umfasste die Marker Eotaxin, Macrophage Inflammatory Protein 1 β (MIP-1 β), Eotaxin-3, Thymus and Activation-regulated Chemokine (TARC), Interferon- γ induced protein (IP-10), Macrophage Inflammatory Protein 1 α (MIP-1 α), Monocyte Chemoattractant Protein 1 (MCP-1), Macrophage-Derived Chemokine (MDC) und Monocyte Chemoattractant Protein 4 (MCP-4).

Das Angiogenesis-Panel 1 (human) umfasste die Marker Vascular Endothelial Growth Factor C (VEGF-C), Vascular Endothelial Growth Factor D (VEGF-D), Tyrosin-Kinase 2 (Tie-2); Fms-like Tyrosine Kinase (Flt-1), Placental Growth Factor (PlGF), und Basic Fibroblast Growth Factor (bFGF).

Das Cytokine Panel 1 (human) umfasste die Marker IL-1 α , IL-5, IL-7, IL-12/IL-23p40, IL-15, IL-16, IL-17A, TNF- β und Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF).

Bei Konzentrationen unterhalb der Nachweisgrenze konnten allerdings die Zytokine IL-1 α , IL-5, IL-17A, TNF- β , IFN- γ , IL-1 β , IL-2, IL-4 und IL-13 nicht ausgewertet werden.

Die verwendeten Chargen waren für das Proinflammatory Panel K0080897, für das Chemokine Panel K0080519 und K0080921, für das Angiogenesis Panel K0080871 und für das Cytokine Panel K0080902, K0080470.

Für die Analyse wurden die Serumproben (siehe Kapitel 2.6.1 Steroide, Zytokine und neuroinflammatorische Marker) der Zeitpunkte 0-1 und 5-2 genutzt.

Sowohl die Proben als auch die Kontrollen und Kalibrierungs-Lösungen wurden zur Erhebung eines Mittelwertes jeweils in Doppelbestimmung gemessen, bei einer Konzentrationsabweichung der Doppelbestimmungen um mehr als 20 % erfolgte eine Messwiederholung.

Der Waschpuffer sowie der Read Buffer T und Blocker A Lösung für die ELISAs wurden entsprechend der vom Hersteller bereitgestellten Arbeitsanweisung hergestellt (179), (180), (181), (182).

Die Kalibratoren wurden gemäß der beiliegenden Arbeitsanleitung pipettiert.

Zum Pipettieren wurde die automatische Pipette Eppendorf Reference[®] 2 von Eppendorf (Hamburg, Deutschland) verwendet.

Die Inkubation erfolgte unter kontinuierlichem Schütteln durch den Eppendorf Thermomixer Comfort, bei 650 Umdrehungen pro Minute (rpm). Der genutzte Vortexer war der Reax 2000 von Heidolph (Schwabach, Deutschland).

Die Analyse der Well-Platten erfolgte durch das MESO QuickPlex SQ120 von Meso Scale Diagnostics. Die Auswertung erfolgte mittels MSD Workbench 4.0, Version 4.0.13.0 von Meso Scale Diagnostics.

An der Durchführung und maschinellen Auswertung der Zytokin-ELISAs war Frau Doris Melchner unterstützend beteiligt.

2.8.1 Proinflammatory Panel 1 (human)

Die Serumproben wurden gemäß der dem Kit beiliegenden Arbeitsanweisung (179) verarbeitet. Die Abläufe der Vorbereitung zur Durchführung des Proinflammatory Panel 1 werden in Tabelle 18 erläutert:

Serumproben	zweifache Verdünnung mit Diluent 2
Kontrollen	Lösung der Kontrolle in 250 µl Diluent 2, 15-minütige Wartezeit, folgend zweifache Verdünnung mit Diluent 2 und Vortexen
Detection Antibody Lösung	Zugabe von je 60 µl SULFO-TAG Anti-hu IFN- γ Antibody, SULFO-TAG Anti-hu IL-1 β Antibody, SULFO-TAG Anti-hu IL-2 Antibody, SULFO-TAG Anti-hu IL-4 Antibody, SULFO-TAG Anti-hu IL-6 Antibody, SULFO-TAG Anti-hu IL-8 Antibody, SULFO-TAG Anti-hu IL-10 Antibody, SULFO-TAG Anti-hu IL-13 Antibody und SULFO-TAG Anti-hu TNF- α Antibody zu 2460 µl von Diluent 3 für ein Gesamtvolumen von 3000 µl

Tabelle 18: Vorbereitung der Serumproben, Kontrolle und Detection Antibody Lösung gemäß der beiliegenden Arbeitsanweisung (179)

Die Durchführung des Proinflammatory Panel 1 wird in Tabelle 19 erläutert:

Waschvorgang	dreimal mit je 150 µl Waschpuffer pro Well
Zugabe der Proben	entweder 50 µl der vorbereiteten Kalibrierungslösungen, Kontrolle oder Serumproben pro Well
Inkubation	mit Abdeckfolie für zwei Stunden bei Raumtemperatur im Mikrotiterplatten-Schüttler (650 rpm)
Waschvorgang	dreimal mit je 150 µl Waschpuffer pro Well
Zugabe der Detection Antibody Lösung	25 µl Detection Antibody Lösung pro Well
Inkubation	mit Abdeckfolie für zwei Stunden bei Raumtemperatur im Mikrotiterplatten-Schüttler (650 rpm)
Waschvorgang	dreimal mit je 150 µl Waschpuffer pro Well
Zugabe des 2X Read Buffer T	je 150 µl 2X Read Buffer T pro Well

Ausmessung	auf der MESO QuickPlex SQ120
------------	------------------------------

Tabelle 19: Durchführung des ELISA gemäß der beiliegenden Arbeitsanweisung (179)

2.8.2 Chemokine Panel 1 (human)

Die Serumproben wurden gemäß der dem Kit beiliegenden Arbeitsanweisung (180) verarbeitet.

Die Abläufe der Vorbereitung zur Durchführung des Chemokine Panel 1 werden in Tabelle 20 erläutert:

Serumproben	vierfache Verdünnung mit Diluent 43
Kontrollen	Lösung der Kontrollen in 250 µl Diluent 43, 30-minütige Wartezeit, vierfache Verdünnung mit Diluent 43 und Vortexen
Detection Antibody Lösung	Zugabe von je 60 µl SULFO-TAG Anti-hu Eotaxin Antibody, SULFO-TAG Anti-hu MIP-1β Antibody, SULFO-TAG Anti-hu Eotaxin-3 Antibody, SULFO-TAG Anti-hu TARC Antibody, SULFO-TAG Anti-hu IP-10 Antibody, SULFO-TAG Anti-hu MIP-1α Antibody, SULFO-TAG Anti-hu MCP-1 Antibody, SULFO-TAG Anti-hu MDC Antibody und SULFO-TAG Anti-hu MCP-4 zu 2460 µl von Diluent 3 für ein Gesamtvolumen von 3000 µl

Tabelle 20: Vorbereitung der Serumproben, Kontrolle und Detection Antibody Lösung gemäß der beiliegenden Arbeitsanweisung (180)

Die Durchführung des Chemokine Panel 1 wird in Tabelle 21 erläutert:

Waschvorgang	dreimal mit je 150 µl Waschpuffer pro Well
Zugabe der Proben	entweder 50 µl der vorbereiteten Kalibrierungslösungen, Kontrolle oder Serumproben pro Well
Inkubation	mit Abdeckfolie für zwei Stunden bei Raumtemperatur im Mikrotiterplatten-Schüttler (650 rpm)
Waschvorgang	dreimal mit je 150 µl Waschpuffer pro Well
Zugabe der Detection Antibody Lösung	25 µl Detection Antibody Lösung pro Well
Inkubation	mit Abdeckfolie für zwei Stunden bei Raumtemperatur im Mikrotiterplatten-Schüttler (650 rpm)

Waschvorgang	dreimal mit je 150 µl Waschpuffer pro Well
Zugabe des 2X Read Buffer T	je 150 µl 2X Read Buffer T pro Well
Inkubation	bei Raumtemperatur für 10 Minuten
Ausmessung	auf der MESO QuickPlex SQ120

Tabelle 21: Durchführung des ELISA gemäß der beiliegenden Arbeitsanweisung (180)

2.8.3 Angiogenesis Panel 1 (human)

Die Serumproben wurden gemäß der dem Kit beiliegenden Arbeitsanweisung (181) verarbeitet.

Die Abläufe der Vorbereitung zur Durchführung des Angiogenesis Panel 1 werden in Tabelle 22 erläutert:

Serumproben	zweifache Verdünnung mit Diluent 7
Kontrollen	nach Antauen der Kontrollen auf Eis folgt die zweifache Verdünnung mit Diluent 7
Detection Antibody Lösung	Zugabe von je 60 µl SULFO-TAG Anti-hu VEGF-C Antibody, SULFO-TAG Anti-hu VEGF-D Antibody, SULFO-TAG Anti-hu Tie-2 Antibody, SULFO-TAG Anti-hu Flt-1 Antibody, SULFO-TAG Anti-hu PIGF Antibody und SULFO-TAG Anti-hu bFGF Antibody zu 2640 µl von Diluent 11 für ein Gesamtvolumen von 3000 µl

Tabelle 22: Vorbereitung der Serumproben, Kontrolle und Detection Antibody Lösung gemäß der beiliegenden Arbeitsanweisung (181)

Die Durchführung des Angiogenesis Panel 1 wird in Tabelle 23 erläutert:

Zugabe von Blocker A	150 µl Blocker A pro Well
Inkubation	mit Abdeckfolie bei Raumtemperatur für eine Stunde im Mikrotiterplatten-Schüttler (650 rpm)
Waschvorgang	dreimal mit je 150 µl Waschpuffer pro Well
Zugabe der Proben	entweder 50 µl der vorbereiteten Kalibrierungslösungen, Kontrolle oder Serumproben pro Well
Inkubation	mit Abdeckfolie für zwei Stunden bei Raumtemperatur im Mikrotiterplatten-Schüttler (650 rpm)

Waschvorgang	dreimal mit je 150 µl Waschpuffer pro Well
Zugabe der Detection Antibody Lösung	25 µl Detection Antibody Lösung pro Well
Inkubation	mit Abdeckfolie für zwei Stunden bei Raumtemperatur im Mikrotiterplatten-Schüttler (650 rpm)
Waschvorgang	dreimal mit je 150 µl Waschpuffer pro Well
Zugabe des 2X Read Buffer T	je 150 µl 2X Read Buffer T pro Well
Ausmessung	auf der MESO QuickPlex SQ120

Tabelle 23: Durchführung des ELISA gemäß der beiliegenden Arbeitsanweisung (181)

2.8.4 Cytokine Panel 1 (human)

Die Serumproben wurden gemäß der dem Kit beiliegenden Arbeitsanweisung (182) verarbeitet.

Die Abläufe der Vorbereitung zur Durchführung des Cytokine Panel 1 werden in Tabelle 24 erläutert:

Serumproben	zweifache Verdünnung mit Diluent 43
Kontrollen	Lösung der Kontrolle in 250 µl Diluent 43, 30-minütige Wartezeit, folgend zweifache Verdünnung mit Diluent 43 und Vortexen
Detection Antibody Lösung	Zugabe von je 60 µl SULFO-TAG Anti-hu IL-1 α Antibody, SULFO-TAG Anti-hu IL-5 Antibody, SULFO-TAG Anti-hu IL-7 Antibody, SULFO-TAG Anti-hu IL-12/IL-23p40 Antibody, SULFO-TAG Anti-hu IL-15 Antibody, SULFO-TAG Anti-hu IL-16 Antibody, SULFO-TAG Anti-hu IL-17A Antibody, SULFO-TAG Anti-hu TNF- β Antibody und SULFO-TAG Anti-hu VEGF-A Antibody zu 2460 µl von Diluent 3 auf ein Gesamtvolumen von 3000 µl

Tabelle 24: Vorbereitung der Serumproben, Kontrolle und Detection Antibody Lösung gemäß der beiliegenden Arbeitsanweisung (182)

Die Durchführung des Cytokine Panel 1 werden in Tabelle 25 erläutert:

Waschvorgang Platte	dreimal mit je 150 µl Waschpuffer pro Well
Zugabe der Proben	entweder 50 µl der vorbereiteten Kalibrierungslösungen, Kontrolle oder Serumproben pro Well
Inkubation	mit Abdeckfolie für zwei Stunden bei Raumtemperatur im Mikrotiterplatten-Schüttler (650 rpm)
Waschvorgang	dreimal mit je 150 µl Waschpuffer pro Well
Zugabe der Detection Antibody Lösung	25 µl Detection Antibody Lösung pro Well
Inkubation	mit Abdeckfolie für zwei Stunden bei Raumtemperatur im Mikrotiterplatten-Schüttler (650 rpm)
Waschvorgang	dreimal mit je 150 µl Waschpuffer pro Well
Zugabe des 2X Read Buffer T	je 150 µl 2X Read Buffer T pro Well
Ausmessung	auf der MESO QuickPlex SQ120

Tabelle 25: Durchführung des ELISA gemäß der beiliegenden Arbeitsanweisung (182)

2.9 Statistische Auswertung

Die statistischen Analysen der erhobenen Daten erfolgten anhand der Statistik-Software SPSS (*IBM® SPSS® Statistics*, Version 25).

Im Vorfeld wurden die Daten von drei Probanden von den Berechnungen ausgeschlossen, da aufgrund technischer Probleme ein Proband den TSST nicht und zwei Probanden den TSST nur nach großer zeitlicher Verzögerung oder unter verzerrter Sicht durchführen konnten. Somit ergab sich eine initiale Probandenzahl von $n = 18$ für die Etifoxin-Gruppe, $n = 19$ für die Alprazolam-Gruppe und $n = 20$ für die Placebo-Gruppe, vgl. Bahr, 2020 (149)

Für die statistische Analyse des Cortisols im Serum erfolgten zwei Messungen: Zum Vergleich der Cortisol-Konzentrationen vor Medikamenteneinnahme am Tag der Baseline-Erhebung und nach fünftägiger Medikamenteneinnahme wurden die Messzeitpunkte 0-1 und 5-1 mittels allgemeinem, linearem Modell mit zweistufiger Messwiederholung verglichen, mit dem Faktor Zeit (Messzeitpunkte 0-1 und 5-1) als Innersubjektfaktor und der Medikationsgruppe (Alprazolam, Etifoxin, Placebo) als Zwischengruppenfaktor. Für die

Analyse der Auswirkung des Stresstests in Form des VR-TSST auf die Cortisol-Konzentration im Serum erfolgte ein Vergleich der Messzeitpunkte 5-1 und 5-2 mittels allgemeinem, linearem Modell mit zweistufiger Messwiederholung mit dem Faktor Zeit (Messzeitpunkte 5-1 und 5-2) als Innersubjektfaktor und der Medikationsgruppe (Alprazolam, Etifoxin, Placebo) als Zwischengruppenfaktor.

Anschließend erfolgte bei beiden Analysen eine explorative Prüfung auf Gleichheit der Mittelwerte mittels Welch-Test.

Das Signifikanzniveau wurde für die Testungen auf $\alpha = 0.05$ festgelegt. Die Signifikanz des Box-Tests wurde gemäß Verma, J. P. auf ein Signifikanzlevel von $p < 0.001$ festgelegt (183). Bei signifikantem Mauchly-Test mit $p < 0.05$ wurden bei Verletzung der Sphärizität die Greenhouse-Geisser-korrigierten Werte angegeben. Die Post-Hoc Analyse erfolgte mittels Bonferroni.

Für die statistische Analyse der Zytokine wurden jeweils die Messzeitpunkte 0-1 und 5-2 mittels allgemeinem, linearem Modell mit zweistufiger Messwiederholung verglichen, mit dem Faktor Zeit (Messzeitpunkte 0-1 und 5-2) als Innersubjektfaktor und der Medikationsgruppe (Alprazolam, Etifoxin, Placebo) als Zwischengruppenfaktor.

Werte, welche mehr als zwei Standardabweichungen von den jeweiligen Gruppenmittelwerten abwichen, wurden zum Ausschluss der Ergebnisverfälschung durch Messausreißer nicht in die Berechnungen einbezogen.

Das Signifikanzniveau wurde mittels Bonferroni-Korrekturfaktor mit $k = 24$ Zytokine von $p < 0.05$ auf $p < 0.002$ gesenkt. Bei signifikantem Levene-Test war eine Interpretation der entsprechenden Zytokine nicht möglich. Die Signifikanz des Box-Tests wurde abermals gemäß Verma, J. P. auf ein Signifikanzlevel von $p < 0.001$ festgelegt (183). Aufgrund des zweistufigen Innersubjektfaktors konnte der Mauchly-Test auf Sphärizität bei stets vorliegender Sphärizität vernachlässigt werden. Die Post-Hoc Analyse erfolgte mittels Bonferroni.

Für die statistische Analyse der SUDS wurden die Antwortzeitpunkte 30 min und 10 min vor (T-minus 30 bzw. T-minus 10), sowie unmittelbar vor und nach (T-minus 1 bzw. T-plus 0) sowie 10 min, 20 min, 30 min und 45 min nach dem TSST (T-plus 10, T-plus 20, T-plus 30 bzw. T-plus 45) mittels allgemeinem, linearem Modell mit dreistufiger Messwiederholung verglichen, mit dem Faktor Zeit (Messzeitpunkte T-minus 30, T-minus 10, T-minus 1, T-

plus 0, T-plus 10, T-plus 20, T-plus 30 sowie T-plus 45) als Innersubjektfaktor und der Medikationsgruppe (Alprazolam, Etifoxin, Placebo) als Zwischengruppenfaktor.

Das Signifikanzniveau wurde erneut auf $\alpha = 0.05$ festgelegt. Die Signifikanz des Box-Tests wurde abermals gemäß Verma, J. P. auf ein Signifikanzlevel von $p < 0.001$ festgelegt (183). Bei signifikantem Mauchly-Test mit $p < 0.05$ wurden bei Verletzung der Sphärizität die Greenhouse-Geisser-korrigierten Werte angegeben. Die Post-Hoc Analyse erfolgte mittels Bonferroni.

3 Ergebnisse

3.1 Statistische Auswertung von Cortisol

3.1.1 Statistische Auswertung der Konzentrationsveränderungen des Morgencortisols in Abhängigkeit der Medikamentengruppe

Anhand des Box-Tests mit $p = 0.557$ wurde die Homogenität der Kovarianzen-Matrizen als gegeben angenommen.

Für den Vergleich der Cortisol-Konzentrationen vor und nach Medikamenteneinnahme zu den Zeitpunkten 0-1 und 5-1 ergab sich keine statistisch signifikante Interaktion zwischen der Zeit und den Untersuchungsgruppen, mit $F(2, 50) = 1.644$, $p = 0.203$, $\eta_p^2 = 0.061$.

Es trat ein statistisch signifikanter Haupteffekt für den Faktor Zeit auf, $F(1, 51) = 63.984$, $p < 0.001$, $\eta_p^2 = 0.556$.

Es gab keinen statistisch signifikanten Haupteffekt für den Faktor Gruppe, $F(2, 51) = 1.588$, $p = 0.214$, $\eta_p^2 = 0.059$.

Im Anschluss wurde eine explorative Prüfung auf Gleichheit der Mittelwerte mittels Welch-Test durchgeführt, wobei ein statistisch signifikanter Gruppeneffekt bei 5-1 mit $p = 0.007$ festgestellt werden konnte.

Mittels Bonferroni-Post-Hoc-Analysen konnte bei den Mehrfach-Vergleichen ein statistisch signifikanter Unterschied zwischen den Cortisol-Konzentrationen der Alprazolam- und Placebo-Interventionsgruppe an Zeitpunkt 5-1 (-37.043750, 95 %-CI[-66.34286, -7.74464], $p = 0.009$) herausgearbeitet werden.

In Abbildung 3 wird der Konzentrationsverlauf von Cortisol im Serum zwischen den Messzeitpunkten 0-1 und 5-1 in Abhängigkeit der Medikamentengruppe graphisch dargestellt mit * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p \leq 0.001$:

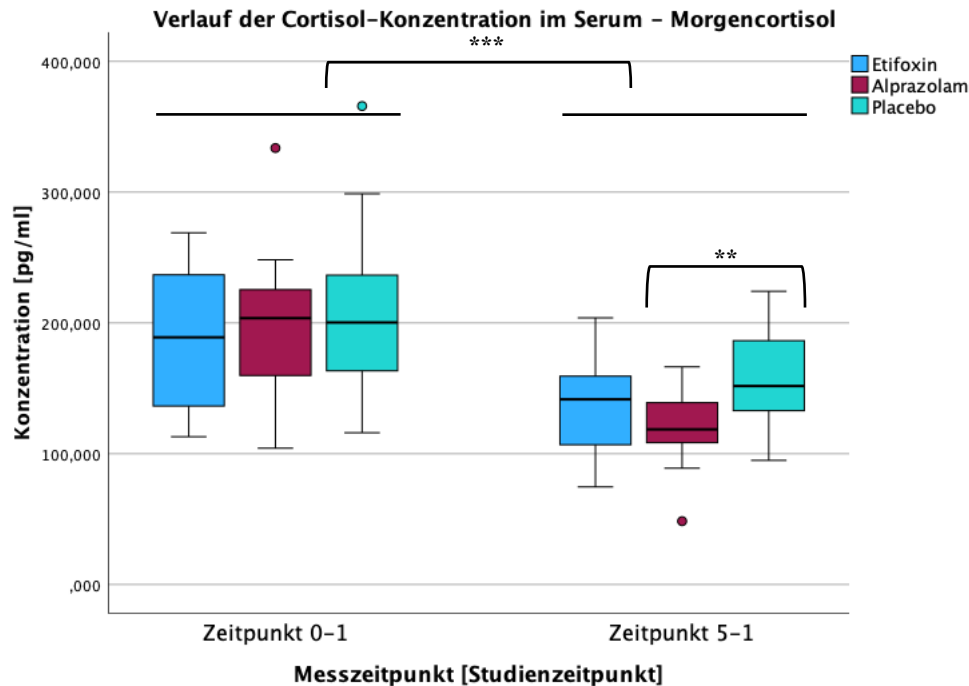


Abbildung 3: Graphische Darstellung des Verlaufs der Cortisol-Konzentration im Serum in Abhängigkeit der Medikamentengruppe zwischen den Messzeitpunkten 0-1 und 5-1 als Boxplot mit Kennzeichnung des Median, des ersten und dritten Quartils sowie des Maximal- und Minimalwerts innerhalb des 1,5fachen Interquartilsabstands mittels Whisker und der aufgetretenen Messausreißer. Markierung des statistisch signifikanten Haupteffektes für den Faktor Zeit sowie der signifikanten Konzentrationsunterschiede zwischen Alprazolam und Placebo zum Messzeitpunkt 5-1 mit $*p < 0.05$, $**p < 0.01$, $***p \leq 0.001$

3.1.2 Statistische Auswertung der Cortisol-Konzentrationsveränderung in Abhängigkeit des VR-TSST

Anhand des Box-Tests mit $p = 0.059$ wurde die Homogenität der Kovarianzen-Matrizen als gegeben angenommen.

Für den Vergleich der Cortisol-Konzentration vor und nach dem Stresstest in Form des VR-TSST zu den Zeitpunkten 5-1 und 5-2 ergab sich keine statistisch signifikante Interaktion zwischen der Zeit und den Untersuchungsgruppen, mit $F(2, 50) = 0.412$, $p = 0.664$, $\eta_p^2 = 0.016$.

Es trat ein statistisch signifikanter Haupteffekt für den Faktor Zeit auf, $F(1, 50) = 61.552$, $p < 0.001$, $\eta_p^2 = 0.556$.

Es gab einen statistisch signifikanten Haupteffekt für den Faktor Gruppe, $F(2, 50) = 7.598$, $p = 0.001$, $\eta_p^2 = 0.223$.

Der Post-Hoc-Test ergab einen statistisch signifikanten Unterschied zwischen den Cortisol-Konzentrationen der Alprazolam- und Placebo-Interventionsgruppe (-37.37693, 95 %-CI[-57-61.26552, -13.488835], $p < 0.001$).

Im Anschluss wurde eine explorative Prüfung auf Gleichheit der Mittelwerte mittels Welch-Test durchgeführt, wobei neben dem bereits zuvor beschriebenen, statistisch signifikanten Gruppeneffekt zum Zeitpunkt 5-1 ein statistisch signifikanter Gruppeneffekt zum Zeitpunkt 5-2 mit $p = 0.002$ festgestellt werden konnte

Mittels Bonferroni-Post-Hoc-Analysen konnte bei den Mehrfach-Vergleichen ein statistisch signifikanter Unterschied zwischen den Cortisol-Konzentrationen der Alprazolam- und Placebo-Interventionsgruppe an Zeitpunkt 5-2 (-39.919217, 95 %-CI-6643989, -13.38054], $p = 0.001$) herausgearbeitet werden.

In Abbildung 4 wird der Konzentrationsverlauf von Cortisol im Serum zwischen den Messzeitpunkten 5-1 und 5-2 in Abhängigkeit der Medikamentengruppe graphisch dargestellt mit * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p \leq 0.001$:

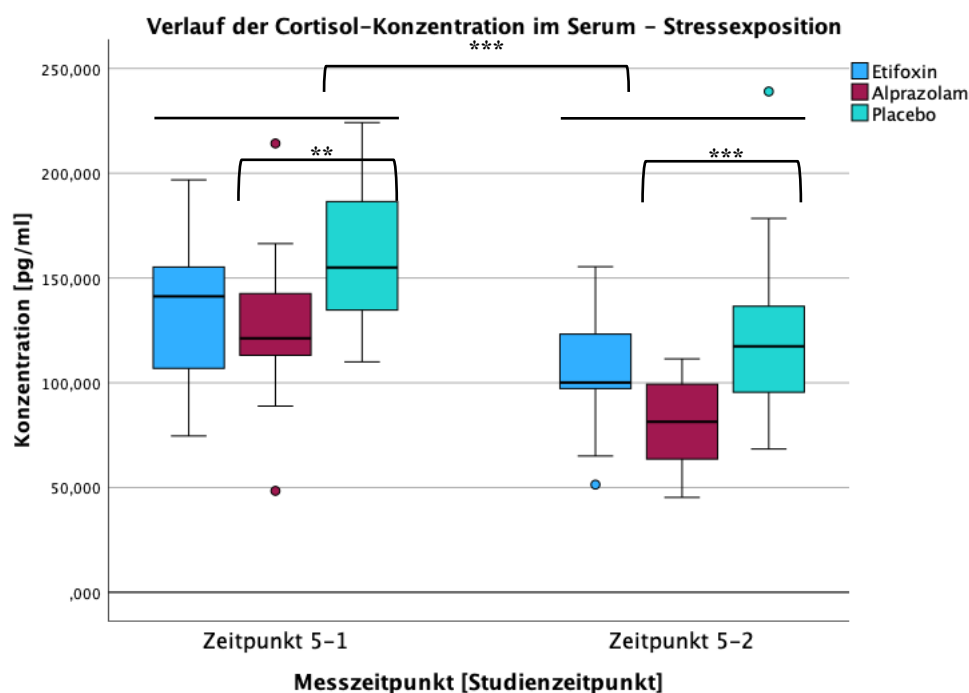


Abbildung 4: Graphische Darstellung des Verlaufs der Cortisol-Konzentration im Serum in Abhängigkeit der Medikamentengruppe zwischen den Messzeitpunkten 5-1 und 5-2 als Boxplot mit Kennzeichnung des Median, des ersten und dritten Quartils sowie des Maximal- und Minimalwerts innerhalb des 1,5fachen Interquartilsabstands mittels Whisker und der aufgetretenen Messausreißer. Markierung des statistisch signifikanten Haupteffektes für den Faktor Zeit sowie der signifikanten Konzentrationsunterschiede zwischen Alprazolam und Placebo zu den Messzeitpunkten 5-1 und 5-2 mit * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p \leq 0.001$

3.2 Statistische Auswertung der Zytokine

3.2.1 Proinflammatorischer Panel

3.2.1.1 IL-6

Anhand des Box-Tests mit $p = 0.051$ wurde die Homogenität der Kovarianzen-Matrizen als gegeben angenommen.

Für IL-6 ergab sich keine statistisch signifikante Interaktion zwischen der Zeit und den Untersuchungsgruppen, mit $F(2, 50) = 0.663$, $p = 0.520$, $\eta_p^2 = 0.026$.

Es trat kein statistisch signifikanter Haupteffekt für den Faktor Zeit auf, $F(1, 50) = 4.653$, $p = 0.036$, $\eta_p^2 = 0.085$.

Es gab keinen statistisch signifikanten Haupteffekt für den Faktor Gruppe, $F(2, 50) = 0.321$, $p = 0.727$, $\eta_p^2 = 0.013$.

In Abbildung 5 wird der Konzentrationsverlauf von IL-6 im Serum zwischen den Messzeitpunkten 0-1 und 5-2 in Abhängigkeit der Medikamentengruppe graphisch dargestellt:

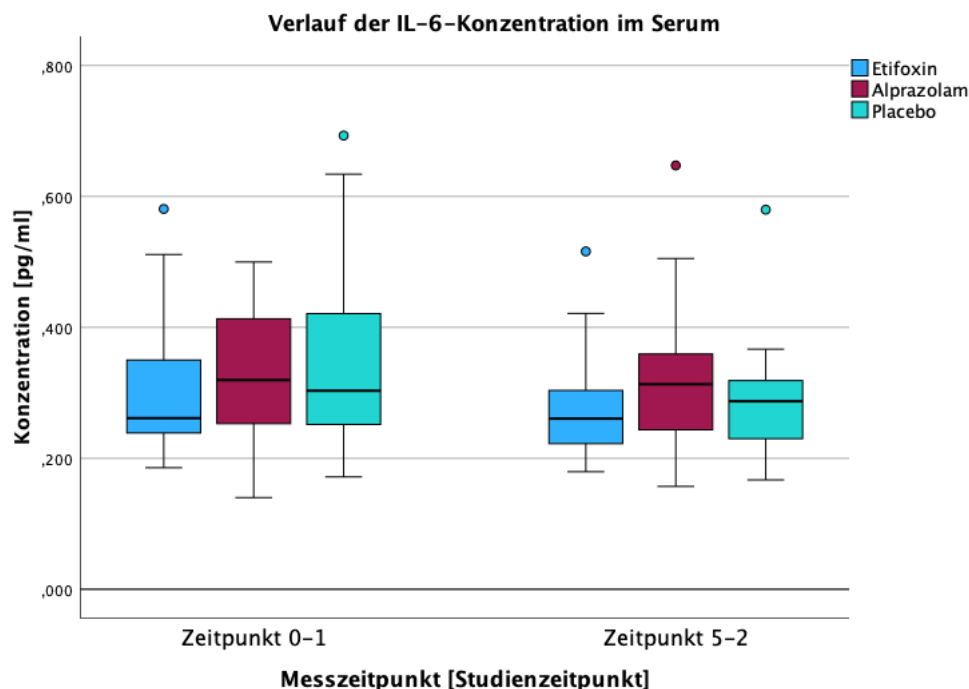


Abbildung 5: Graphische Darstellung des Verlaufs der IL-6-Konzentration im Serum in Abhängigkeit der Medikamentengruppe zwischen den Messzeitpunkten 0-1 und 5-2 als Boxplot mit Kennzeichnung des Median, des ersten und dritten Quartils sowie des Maximal- und Minimalwerts innerhalb des 1,5fachen Interquartilsabstands mittels Whisker und der aufgetretenen Messausreißer.

3.2.1.2 IL-8

Anhand des Box-Tests mit $p < 0.001$ konnte die Homogenität der Kovarianzen-Matrizen nicht als gegeben angenommen werden.

Der Levene-Test auf Gleichheit der Fehlervarianzen zeigte sich zum Zeitpunkt 0-1 mit $p = 0.018$ ebenfalls signifikant, sodass eine weitere Interpretation der Ergebnisse nicht möglich war.

In Abbildung 6 wird der Konzentrationsverlauf von IL-8 im Serum zwischen den Messzeitpunkten 0-1 und 5-2 in Abhängigkeit der Medikamentengruppe graphisch dargestellt:

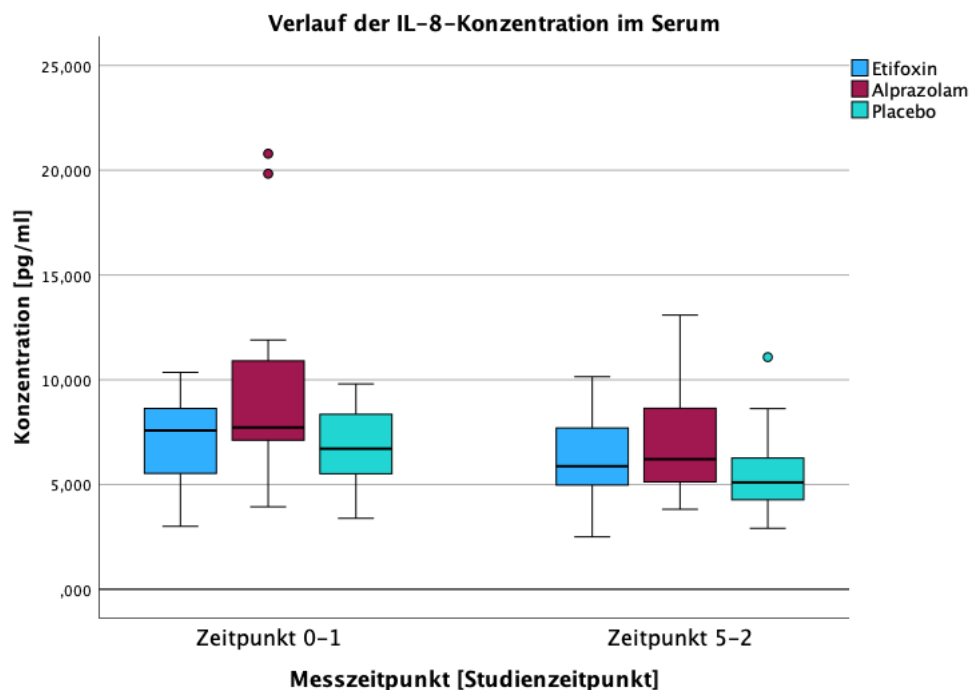


Abbildung 6: Graphische Darstellung des Verlaufs der IL-8-Konzentration im Serum in Abhängigkeit der Medikamentengruppe zwischen den Messzeitpunkten 0-1 und 5-2 als Boxplot mit Kennzeichnung des Median, des ersten und dritten Quartils sowie des Maximal- und Minimalwerts innerhalb des 1,5fachen Interquartilsabstands mittels Whisker und der aufgetretenen Messausreißer.

3.2.1.3 IL-10

Anhand des Box-Tests mit $p < 0.001$ konnte die Homogenität der Kovarianzen-Matrizen nicht als gegeben angenommen werden.

Der Levene-Test auf Gleichheit der Fehlervarianzen zeigte sich zum Zeitpunkt 0-1 mit $p = 0.005$ ebenfalls signifikant, sodass keine weitere Interpretation der Ergebnisse vorgenommen werden konnte.

In Abbildung 7 wird der Konzentrationsverlauf von IL-10 im Serum zwischen den Messzeitpunkten 0-1 und 5-2 in Abhängigkeit der Medikamentengruppe graphisch dargestellt:

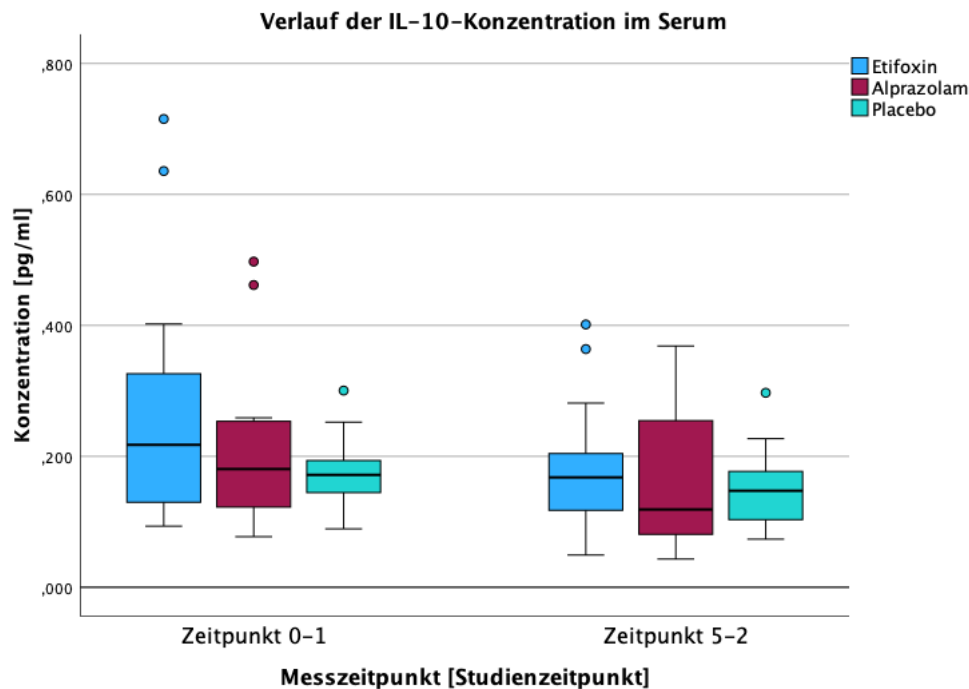


Abbildung 7: Graphische Darstellung des Verlaufs der IL-7-Konzentration im Serum in Abhängigkeit der Medikamentengruppe zwischen den Messzeitpunkten 0-1 und 5-2 als Boxplot mit Kennzeichnung des Median, des ersten und dritten Quartils sowie des Maximal- und Minimalwerts innerhalb des 1,5fachen Interquartilsabstands mittels Whisker und der aufgetretenen Messausreißer.

3.2.1.4 TNF- α

Anhand des Box-Tests mit $p = 0.420$ wurde die Homogenität der Kovarianzen-Matrizen als gegeben angenommen.

Für TNF- α ergab sich keine statistisch signifikante Interaktion zwischen der Zeit und den Untersuchungsgruppen, mit $F(2, 54) = 0.577$, $p = 0.565$, $\eta_p^2 = 0.021$.

Es trat ein statistisch signifikanter Haupteffekt für den Faktor Zeit auf, $F(1, 54) = 19.281$, $p < 0.001$, $\eta_p^2 = 0.263$.

Es gab keinen statistisch signifikanten Haupteffekt für den Faktor Gruppe, $F(2, 54) = 2.123$, $p = 0.130$, $\eta_p^2 = 0.073$.

In Abbildung 8 wird der Konzentrationsverlauf von TNF- α im Serum zwischen den Messzeitpunkten 0-1 und 5-2 in Abhängigkeit der Medikamentengruppe graphisch dargestellt mit * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p \leq 0.001$:

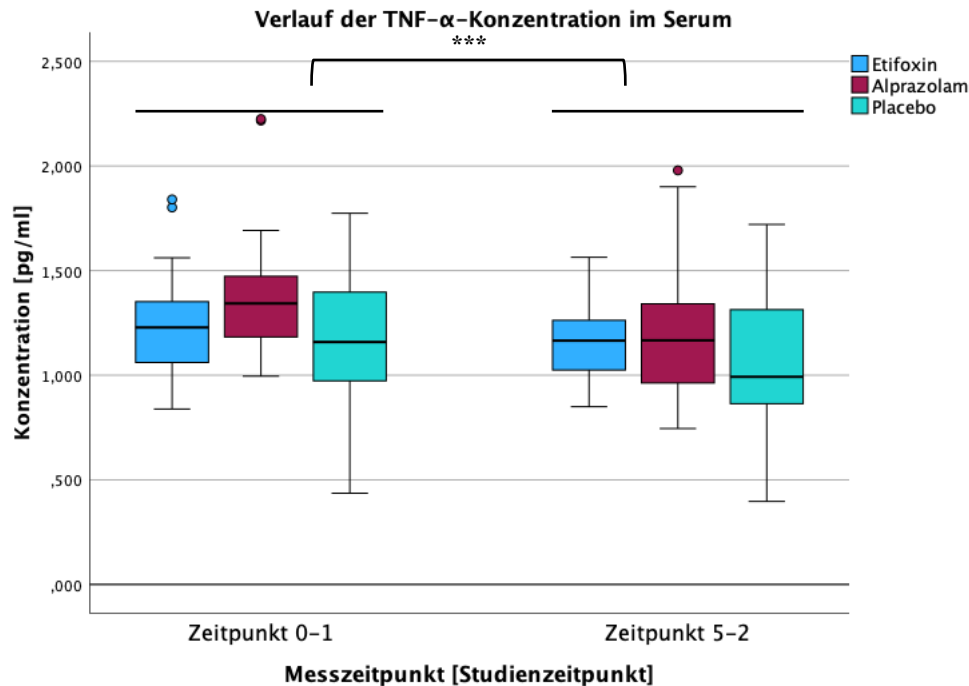


Abbildung 8: Graphische Darstellung des Verlaufs der TNF- α -Konzentration im Serum in Abhängigkeit der Medikamentengruppe zwischen den Messzeitpunkten 0-1 und 5-2 als Boxplot mit Kennzeichnung des Median, des ersten und dritten Quartils sowie des Maximal- und Minimalwerts innerhalb des 1,5fachen Interquartilsabstands mittels Whisker und der aufgetretenen Messausreißer. Markierung des statistisch signifikanten Haupteffektes für den Faktor Zeit mit *** $p \leq 0.001$

3.2.2 Chemokine Panel

3.2.2.1 Eotaxin

Anhand des Box-Tests mit $p = 0.473$ wurde die Homogenität der Kovarianzen-Matrizen als gegeben angenommen.

Für Eotaxin ergab sich keine statistisch signifikante Interaktion zwischen der Zeit und den Untersuchungsgruppen, mit $F(2, 52) = 2.199$, $p = 0.121$, partielles $\eta^2 = 0.078$.

Es trat kein statistisch signifikanter Haupteffekt für den Faktor Zeit auf, $F(1, 52) = 0.489$, $p = 0.487$, partielles $\eta^2 = 0.009$.

Es gab keinen statistisch signifikanten Haupteffekt für den Faktor Gruppe, $F(2, 52) = 0.372$, $p = 0.691$, partielles $\eta^2 = 0.014$.

In Abbildung 9 wird der Konzentrationsverlauf von Eotaxin im Serum zwischen den Messzeitpunkten 0-1 und 5-2 in Abhängigkeit der Medikamentengruppe graphisch dargestellt:

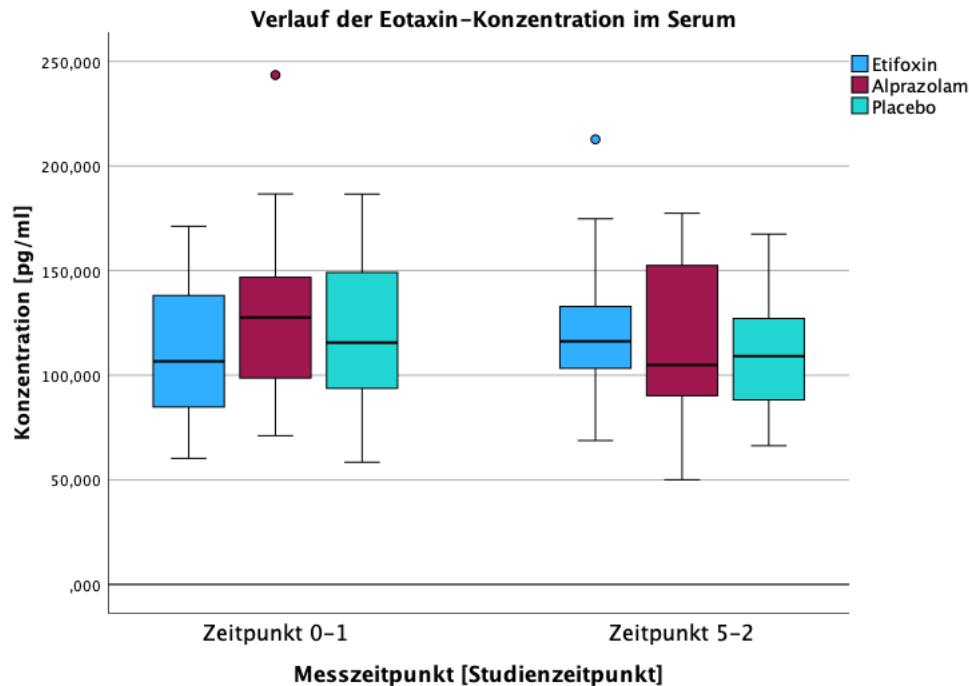


Abbildung 9: Graphische Darstellung des Verlaufs der Eotaxin-Konzentration im Serum in Abhängigkeit der Medikamentengruppe zwischen den Messzeitpunkten 0-1 und 5-2 als Boxplot mit Kennzeichnung des Median, des ersten und dritten Quartils sowie des Maximal- und Minimalwerts innerhalb des 1,5fachen Interquartilsabstands mittels Whisker und der aufgetretenen Messausreißer.

3.2.2.2 Eotaxin-3

Anhand des Box-Tests mit $p = 0.063$ konnte die Homogenität der Kovarianzen-Matrizen als gegeben angenommen werden.

Der Levene-Test auf Gleichheit der Fehlervarianzen zeigte sich zum Zeitpunkt 5-2 mit $p = 0.004$ jedoch signifikant, sodass keine weitere Interpretation der Ergebnisse durchgeführt werden konnte.

In Abbildung 10 wird der Konzentrationsverlauf von Eotaxin-3 im Serum zwischen den Messzeitpunkten 0-1 und 5-2 in Abhängigkeit der Medikamentengruppe graphisch dargestellt:

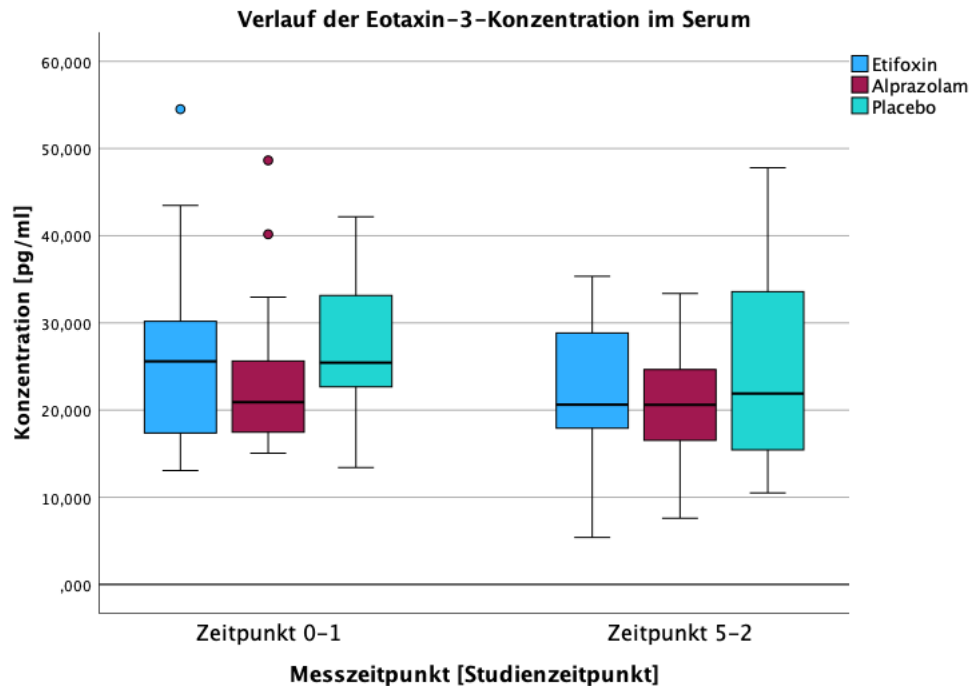


Abbildung 10: Graphische Darstellung des Verlaufs der Eotaxin-3-Konzentration im Serum in Abhängigkeit der Medikamentengruppe zwischen den Messzeitpunkten 0-1 und 5-2 als Boxplot mit Kennzeichnung des Median, des ersten und dritten Quartils sowie des Maximal- und Minimalwerts innerhalb des 1,5fachen Interquartilsabstands mittels Whisker und der aufgetretenen Messausreißer.

3.2.2.3 IP-10

Anhand des Box-Tests mit $p = 0.029$ konnte die Homogenität der Kovarianzen-Matrizen als gegeben angenommen werden.

Der Levene-Test auf Gleichheit der Fehlervarianzen zeigte sich zum Zeitpunkt 5-2 mit $p = 0.041$ jedoch signifikant, sodass keine weitere Interpretation der Ergebnisse durchgeführt werden konnte.

In Abbildung 11 wird der Konzentrationsverlauf von IP-10 im Serum zwischen den Messzeitpunkten 0-1 und 5-2 in Abhängigkeit der Medikamentengruppe graphisch dargestellt:

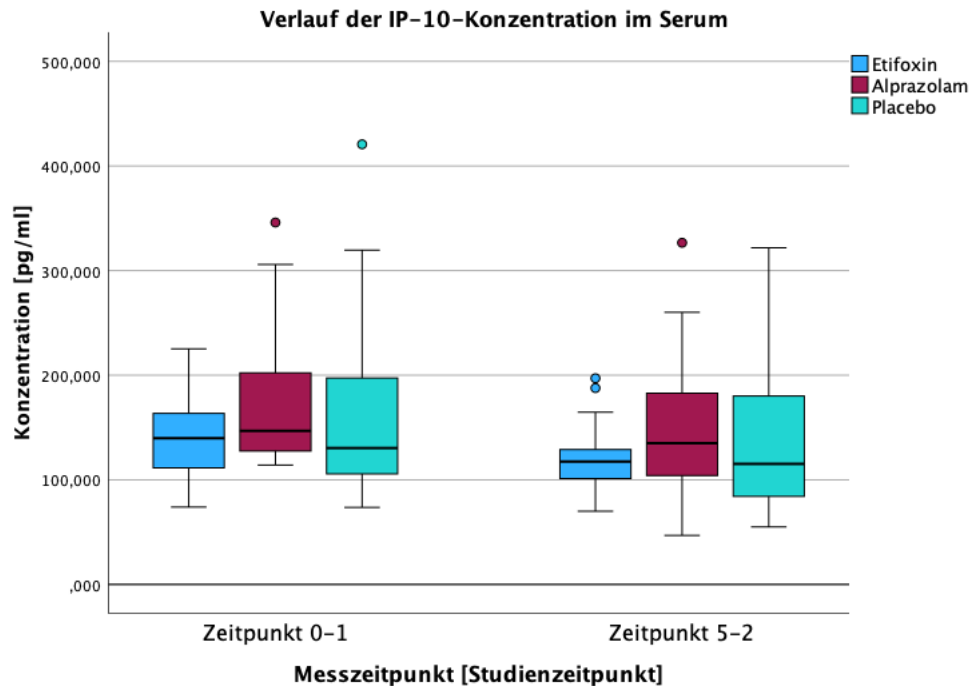


Abbildung 11: Graphische Darstellung des Verlaufs der IP-10-Konzentration im Serum in Abhängigkeit der Medikamentengruppe zwischen den Messzeitpunkten 0-1 und 5-2 als Boxplot mit Kennzeichnung des Median, des ersten und dritten Quartils sowie des Maximal- und Minimalwerts innerhalb des 1,5fachen Interquartilsabstands mittels Whisker und der aufgetretenen Messausreißer.

3.2.2.4 MCP-1

Anhand des Box-Tests mit $p = 0.743$ wurde die Homogenität der Kovarianzen-Matrizen als gegeben angenommen.

Für MCP-1 ergab sich keine statistisch signifikante Interaktion zwischen der Zeit und den Untersuchungsgruppen, mit $F(2, 54) = 0.205$, $p = 0.815$, $\eta_p^2 = 0.008$.

Es trat ein statistisch signifikanter Haupteffekt für den Faktor Zeit auf, $F(1, 54) = 52.336$, $p < 0.001$, $\eta_p^2 = 0.492$.

Es gab keinen statistisch signifikanten Haupteffekt für den Faktor Gruppe, $F(2, 54) = 2.774$, $p = 0.071$, $\eta_p^2 = 0.093$.

In Abbildung 12 wird der Konzentrationsverlauf von MCP-1 im Serum zwischen den Messzeitpunkten 0-1 und 5-2 in Abhängigkeit der Medikamentengruppe graphisch dargestellt mit * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p \leq 0.001$:

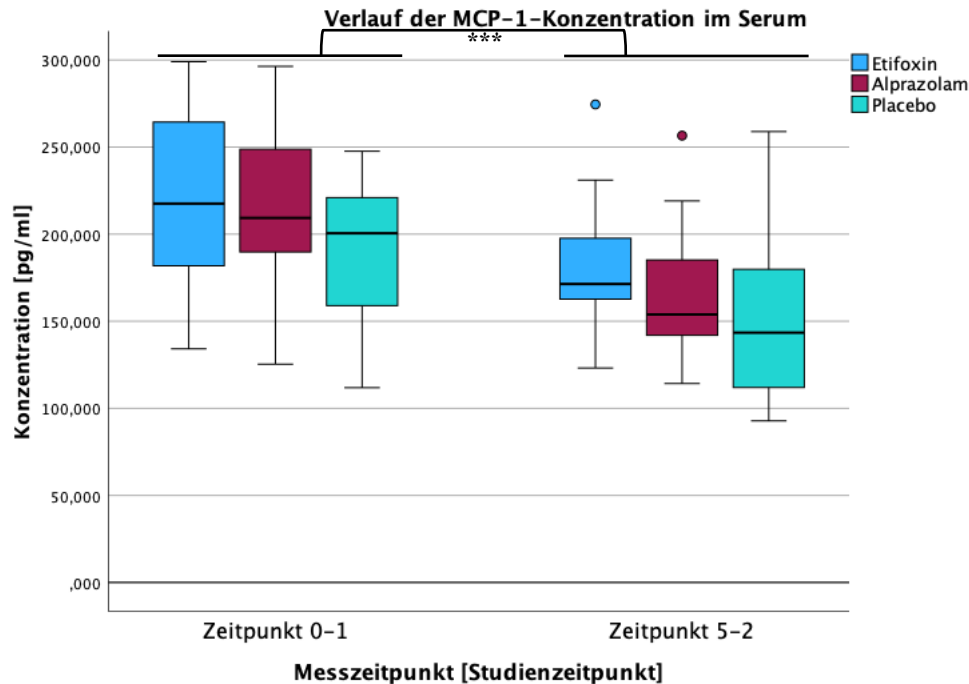


Abbildung 12: Graphische Darstellung des Verlaufs der MCP-1-Konzentration im Serum in Abhängigkeit der Medikamentengruppe zwischen den Messzeitpunkten 0-1 und 5-2 als Boxplot mit Kennzeichnung des Median, des ersten und dritten Quartils sowie des Maximal- und Minimalwerts innerhalb des 1,5fachen Interquartilsabstands mittels Whisker und der aufgetretenen Messausreißer. Markierung des statistisch signifikanten Haupteffektes für den Faktor Zeit mit *** $p \leq 0.001$.

3.2.2.5 MCP-4

Anhand des Box-Tests mit $p = 0.015$ wurde die Homogenität der Kovarianzen-Matrizen als gegeben angenommen.

Für MCP-4 ergab sich nach Bonferroni-Korrektur des Signifikanzniveaus keine statistisch signifikante Interaktion zwischen der Zeit und den Untersuchungsgruppen, mit $F(2, 54) = 3.717, p = 0.031, \eta_p^2 = 0.121$.

Es trat kein statistisch signifikanter Haupteffekt für den Faktor Zeit auf, $F(1, 54) = 9.040, p = 0.004, \eta_p^2 = 0.143$.

Es gab keinen statistisch signifikanten Haupteffekt für den Faktor Gruppe, $F(2, 54) = 0.428, p = 0.654, \eta_p^2 = 0.016$.

In Abbildung 13 wird der Konzentrationsverlauf von MCP-4 im Serum zwischen den Messzeitpunkten 0-1 und 5-2 in Abhängigkeit der Medikamentengruppe graphisch dargestellt:

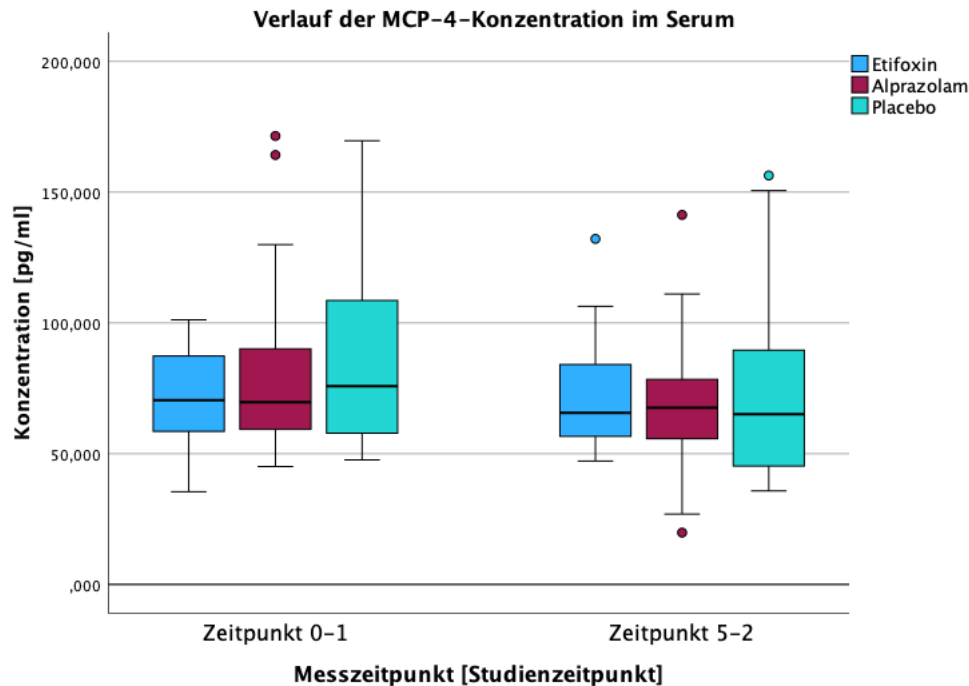


Abbildung 13: Graphische Darstellung des Verlaufs der MCP-4-Konzentration im Serum in Abhängigkeit der Medikamentengruppe zwischen den Messzeitpunkten 0-1 und 5-2 als Boxplot mit Kennzeichnung des Median, des ersten und dritten Quartils sowie des Maximal- und Minimalwerts innerhalb des 1,5fachen Interquartilsabstands mittels Whisker und der aufgetretenen Messausreißer.

3.2.2.6 MDC

Anhand des Box-Tests mit $p = 0.685$ wurde die Homogenität der Kovarianzen-Matrizen als gegeben angenommen.

Für MDC ergab sich keine statistisch signifikante Interaktion zwischen der Zeit und den Untersuchungsgruppen, mit $F(2, 54) = 0.347$, $p = 0.708$, $\eta_p^2 = 0.013$.

Es trat kein statistisch signifikanter Haupteffekt für den Faktor Zeit auf, $F(1, 54) = 2.070$, $p = 0.156$, $\eta_p^2 = 0.037$.

Es gab keinen statistisch signifikanten Haupteffekt für den Faktor Gruppe, $F(2, 54) = 1.621$, $p = 0.207$, $\eta_p^2 = 0.057$.

In Abbildung 14 wird der Konzentrationsverlauf von MDC im Serum zwischen den Messzeitpunkten 0-1 und 5-2 in Abhängigkeit der Medikamentengruppe graphisch dargestellt:

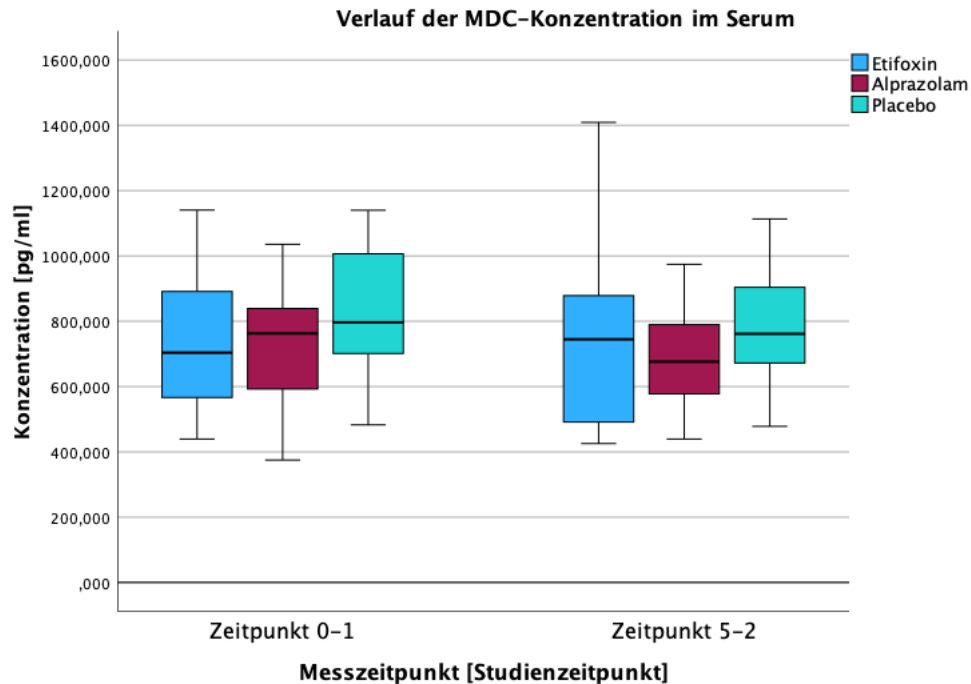


Abbildung 14: Graphische Darstellung des Verlaufs der MDC-Konzentration im Serum in Abhängigkeit der Medikamentengruppe zwischen den Messzeitpunkten 0-1 und 5-2 als Boxplot mit Kennzeichnung des Median, des ersten und dritten Quartils sowie des Maximal- und Minimalwerts innerhalb des 1,5fachen Interquartilsabstands mittels Whisker und der aufgetretenen Messausreißer

3.2.2.7 MIP-1 α

Anhand des Box-Tests mit $p = 0.056$ wurde die Homogenität der Kovarianzen-Matrizen als gegeben angenommen.

Für MIP-1 α ergab sich keine statistisch signifikante Interaktion zwischen der Zeit und den Untersuchungsgruppen, mit $F(2, 54) = 0.207$, $p = 0.814$, $\eta_p^2 = 0.008$.

Es trat kein statistisch signifikanter Haupteffekt für den Faktor Zeit auf, $F(1, 54) = 0.145$, $p = 0.705$, $\eta_p^2 = 0.003$.

Es gab keinen statistisch signifikanten Haupteffekt für den Faktor Gruppe, $F(2, 54) = 0.663$, $p = 0.520$, $\eta_p^2 = 0.024$.

In Abbildung 15 wird der Konzentrationsverlauf von MIP-1 α im Serum zwischen den Messzeitpunkten 0-1 und 5-2 in Abhängigkeit der Medikamentengruppe graphisch dargestellt:

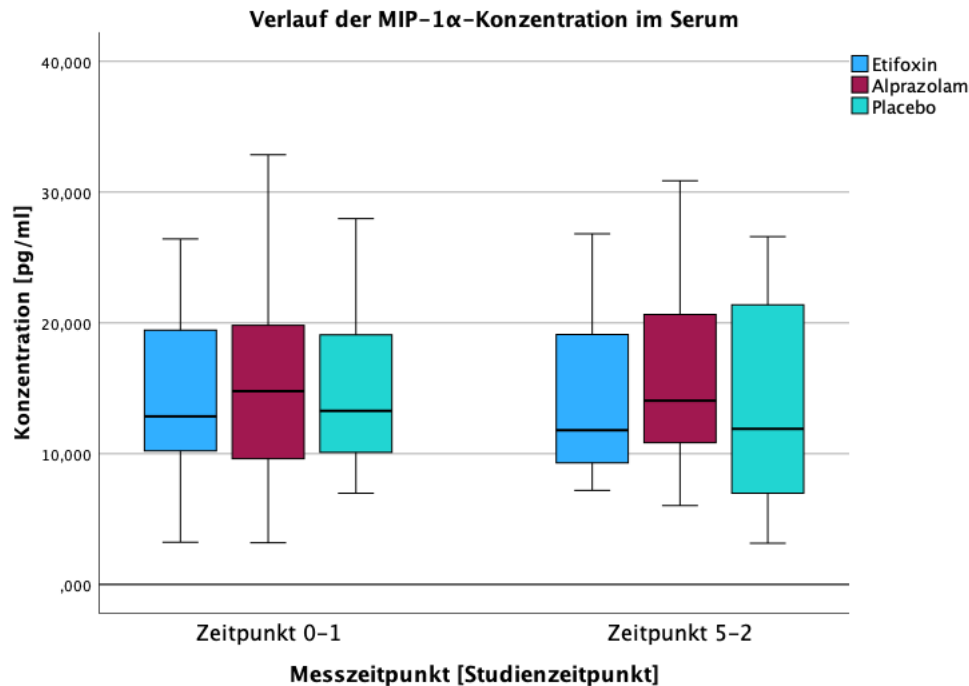


Abbildung 15: Graphische Darstellung des Verlaufs der MIP-1 α -Konzentration im Serum in Abhängigkeit der Medikamentengruppe zwischen den Messzeitpunkten 0-1 und 5-2 als Boxplot mit Kennzeichnung des Median, des ersten und dritten Quartils sowie des Maximal- und Minimalwerts innerhalb des 1,5fachen Interquartilsabstands mittels Whisker und der aufgetretenen Messausreißer.

3.2.2.8 MIP-1 β

Anhand des Box-Tests mit $p = 0.056$ wurde die Homogenität der Kovarianzen-Matrizen als gegeben angenommen.

Für MIP-1 β ergab sich keine statistisch signifikante Interaktion zwischen der Zeit und den Untersuchungsgruppen, mit $F(2, 54) = 0.226$, $p = 0.798$, $\eta_p^2 = 0.008$.

Es trat ein statistisch signifikanter Haupteffekt für den Faktor Zeit auf, $F(1, 54) = 11.446$, $p = 0.001$, $\eta_p^2 = 0.175$.

Es gab keinen statistisch signifikanten Haupteffekt für den Faktor Gruppe, $F(2, 54) = 0.623$, $p = 0.540$, $\eta_p^2 = 0.023$.

In Abbildung 16 wird der Konzentrationsverlauf von MIP-1 β im Serum zwischen den Messzeitpunkten 0-1 und 5-2 in Abhängigkeit der Medikamentengruppe graphisch dargestellt mit * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p \leq 0.001$:

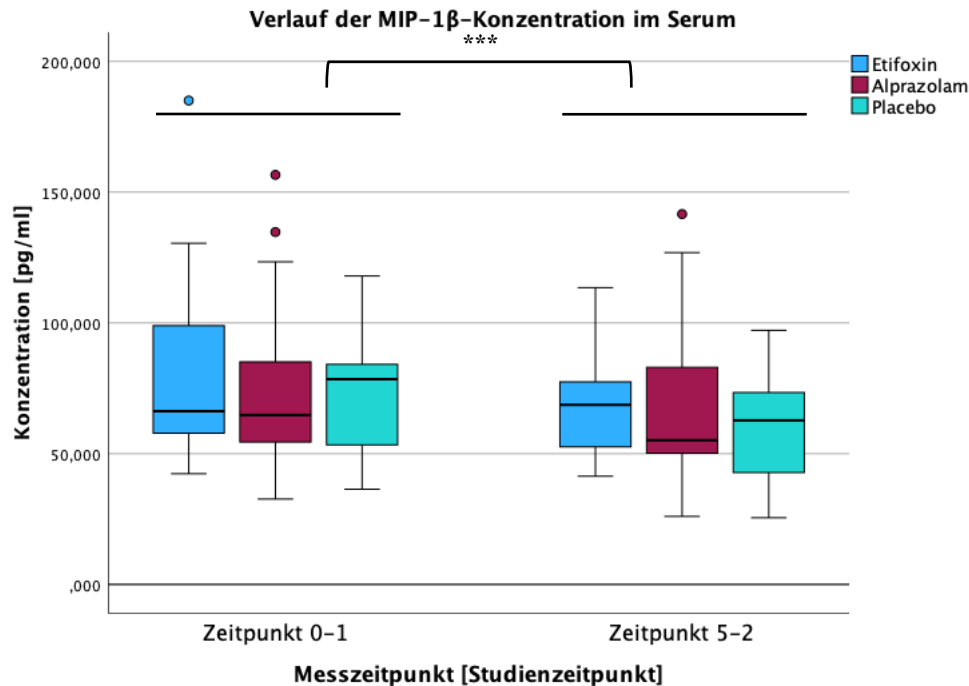


Abbildung 16: Graphische Darstellung des Verlaufs der MIP-1β-Konzentration im Serum in Abhängigkeit der Medikamentengruppe zwischen den Messzeitpunkten 0-1 und 5-2 als Boxplot mit Kennzeichnung des Median, des ersten und dritten Quartils sowie des Maximal- und Minimalwerts innerhalb des 1,5fachen Interquartilsabstands mittels Whisker und der aufgetretenen Messausreißer. Markierung des statistisch signifikanten Haupteffektes für den Faktor Zeit mit *** $p \leq 0.001$.

3.2.2.9 TARC

Anhand des Box-Tests mit $p = 0.118$ wurde die Homogenität der Kovarianzen-Matrizen als gegeben angenommen.

Für TARC ergab sich keine statistisch signifikante Interaktion zwischen der Zeit und den Untersuchungsgruppen, mit $F(2, 53) = 1.138$, $p = 0.328$, $\eta_p^2 = 0.041$.

Es trat kein statistisch signifikanter Haupteffekt für den Faktor Zeit auf, $F(1, 53) = 0.874$, $p = 0.354$, $\eta_p^2 = 0.016$.

Es gab keinen statistisch signifikanten Haupteffekt für den Faktor Gruppe, $F(2, 53) = 2.918$, $p = 0.063$, $\eta_p^2 = 0.099$.

In Abbildung 17 wird der Konzentrationsverlauf von TARC im Serum zwischen den Messzeitpunkten 0-1 und 5-2 in Abhängigkeit der Medikamentengruppe graphisch dargestellt:

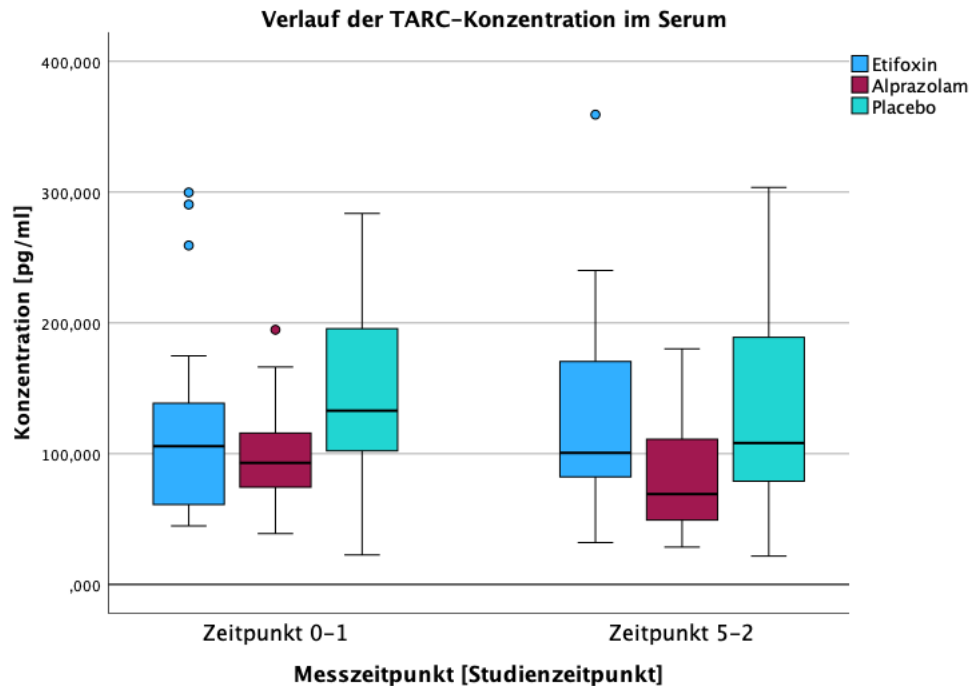


Abbildung 17: Graphische Darstellung des Verlaufs der TARC-Konzentration im Serum in Abhängigkeit der Medikamentengruppe zwischen den Messzeitpunkten 0-1 und 5-2 als Boxplot mit Kennzeichnung des Median, des ersten und dritten Quartils sowie des Maximal- und Minimalwerts innerhalb des 1,5fachen Interquartilsabstands mittels Whisker und der aufgetretenen Messausreißer.

3.2.3 Angiogenesis Panel

3.2.3.1 bFGF

Anhand des Box-Tests mit $p = 0.118$ wurde die Homogenität der Kovarianzen-Matrizen als gegeben angenommen.

Für bFGF ergab sich keine statistisch signifikante Interaktion zwischen der Zeit und den Untersuchungsgruppen, mit $F(2, 54) = 0.365$, $p = 0.696$, $\eta_p^2 = 0.013$.

Es trat kein statistisch signifikanter Haupteffekt für den Faktor Zeit auf, $F(1, 54) = 0.018$, $p = 0.895$, $\eta_p^2 = 0.000$.

Auch gab es keinen statistisch signifikanten Haupteffekt der Gruppe, $F(2, 54) = 0.188$, $p = 0.830$, $\eta_p^2 = 0.007$.

In Abbildung 18 wird der Konzentrationsverlauf von bFGF im Serum zwischen den Messzeitpunkten 0-1 und 5-2 in Abhängigkeit der Medikamentengruppe graphisch dargestellt:

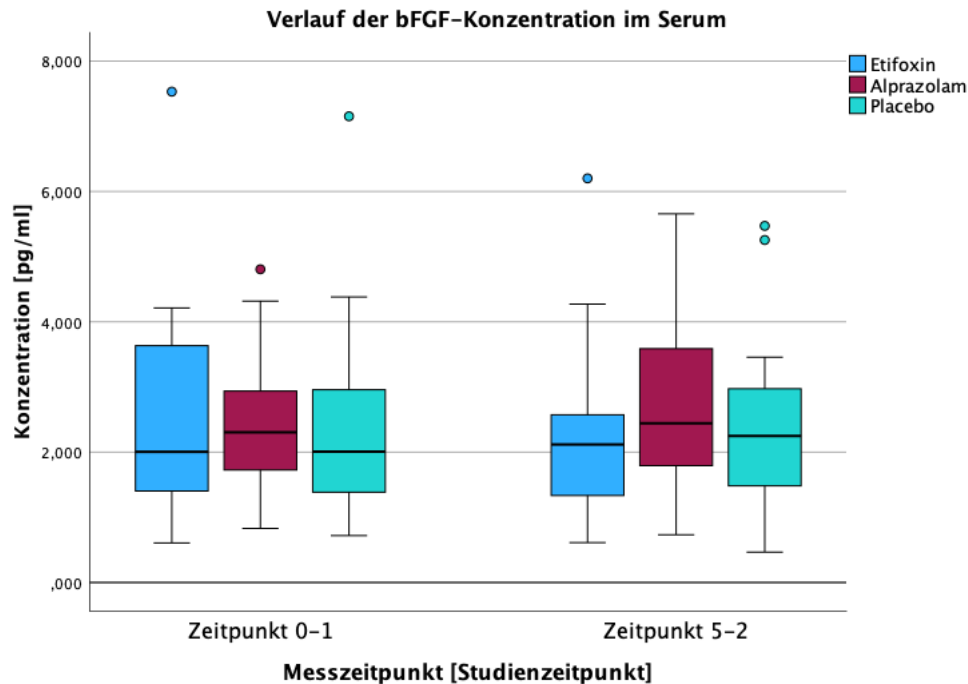


Abbildung 18: Graphische Darstellung des Verlaufs der bFGF-Konzentration im Serum in Abhängigkeit der Medikamentengruppe zwischen den Messzeitpunkten 0-1 und 5-2 als Boxplot mit Kennzeichnung des Median, des ersten und dritten Quartils sowie des Maximal- und Minimalwerts innerhalb des 1,5fachen Interquartilsabstands mittels Whisker und der aufgetretenen Messausreißer.

3.2.3.2 Flt-1

Anhand des Box-Tests mit $p = 0.089$ wurde die Homogenität der Kovarianzen-Matrizen als gegeben angenommen.

Für Flt-1 ergab sich keine statistisch signifikante Interaktion zwischen der Zeit und den Untersuchungsgruppen, mit $F(2, 54) = 1.492$, $p = 0.234$, $\eta_p^2 = 0.052$.

Es trat nach Korrektur des Signifikanzniveaus mittels Bonferroni-Korrekturfaktor kein statistisch signifikanter Haupteffekt für den Faktor Zeit auf, $F(1, 54) = 4.333$, $p = 0.042$, $\eta_p^2 = 0.074$.

Es gab keinen statistisch signifikanten Haupteffekt für den Faktor Gruppe, $F(2, 54) = 0.542$, $p = 0.585$, $\eta_p^2 = 0.020$.

In Abbildung 19 wird der Konzentrationsverlauf von Flt-1 im Serum zwischen den Messzeitpunkten 0-1 und 5-2 in Abhängigkeit der Medikamentengruppe graphisch dargestellt:

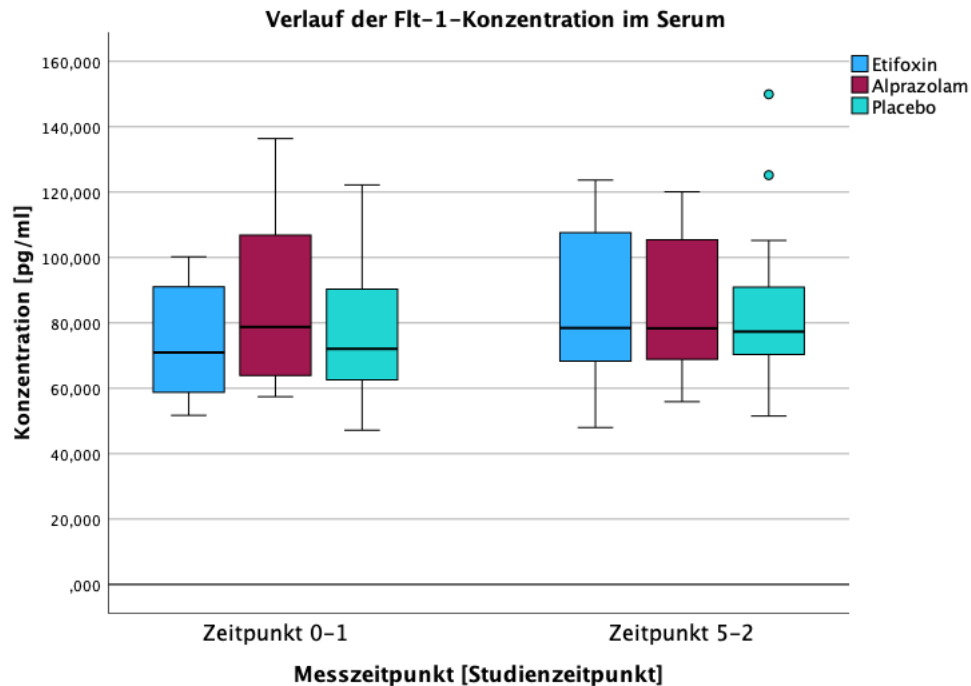


Abbildung 19: Graphische Darstellung des Verlaufs der Flt-1-Konzentration im Serum in Abhängigkeit der Medikamentengruppe zwischen den Messzeitpunkten 0-1 und 5-2 als Boxplot mit Kennzeichnung des Median, des ersten und dritten Quartils sowie des Maximal- und Minimalwerts innerhalb des 1,5fachen Interquartilsabstands mittels Whisker und der aufgetretenen Messausreißer.

3.2.3.3 PIGF

Anhand des Box-Tests mit $p = 0.012$ konnte die Homogenität der Kovarianzen-Matrizen als gegeben angenommen werden.

Der Levene-Test auf Gleichheit der Fehlervarianzen zeigte sich zum Zeitpunkt 0-1 jedoch mit $p = 0.016$ signifikant, sodass eine weitere Interpretation der Ergebnisse nicht möglich war.

In Abbildung 20 wird der Konzentrationsverlauf von PIGF im Serum zwischen den Messzeitpunkten 0-1 und 5-2 in Abhängigkeit der Medikamentengruppe graphisch dargestellt:

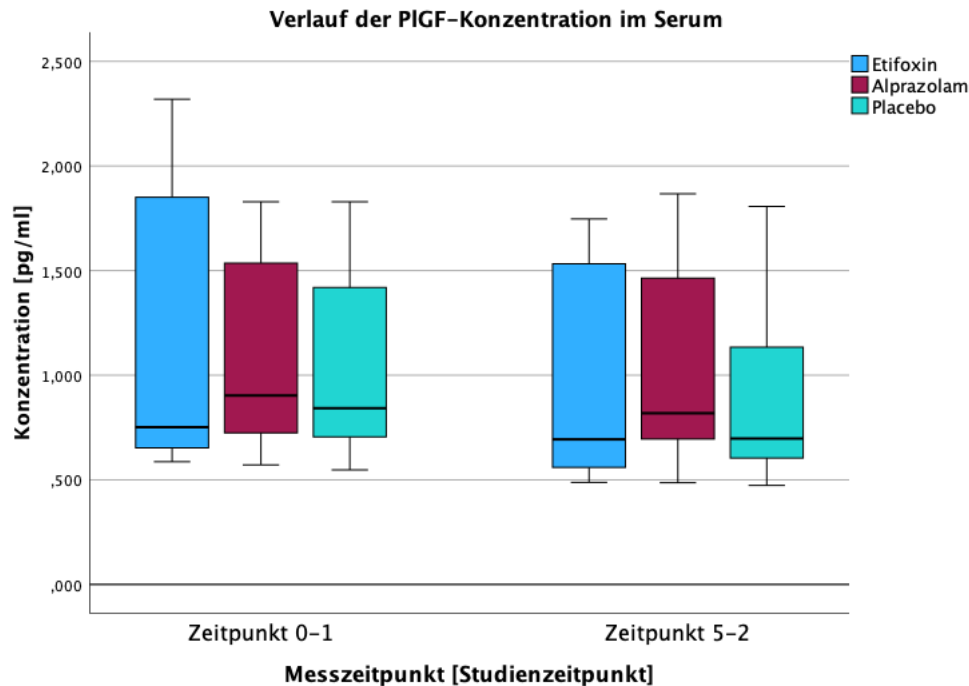


Abbildung 20: Graphische Darstellung des Verlaufs der PIGF-Konzentration im Serum in Abhängigkeit der Medikamentengruppe zwischen den Messzeitpunkten 0-1 und 5-2 als Boxplot mit Kennzeichnung des Median, des ersten und dritten Quartils sowie des Maximal- und Minimalwerts innerhalb des 1,5fachen Interquartilsabstands mittels Whisker und der aufgetretenen Messausreißer.

3.2.3.4 Tie-2

Anhand des Box-Tests mit $p = 0.569$ wurde die Homogenität der Kovarianzen-Matrizen als gegeben angenommen.

Für Tie-2 ergab sich keine statistisch signifikante Interaktion zwischen der Zeit und den Untersuchungsgruppen, mit $F(2, 54) = 0.305$, $p = 0.738$, $\eta_p^2 = 0.011$.

Es trat kein statistisch signifikanter Haupteffekt für den Faktor Zeit auf, $F(1, 54) = 1.173$, $p = 0.284$, $\eta_p^2 = 0.021$.

Es gab keinen statistisch signifikanten Haupteffekt für den Faktor Gruppe, $F(2, 54) = 1.080$, $p = 0.347$, $\eta_p^2 = 0.038$.

In Abbildung 21 wird der Konzentrationsverlauf von Tie-2 im Serum zwischen den Messzeitpunkten 0-1 und 5-2 in Abhängigkeit der Medikamentengruppe graphisch dargestellt:

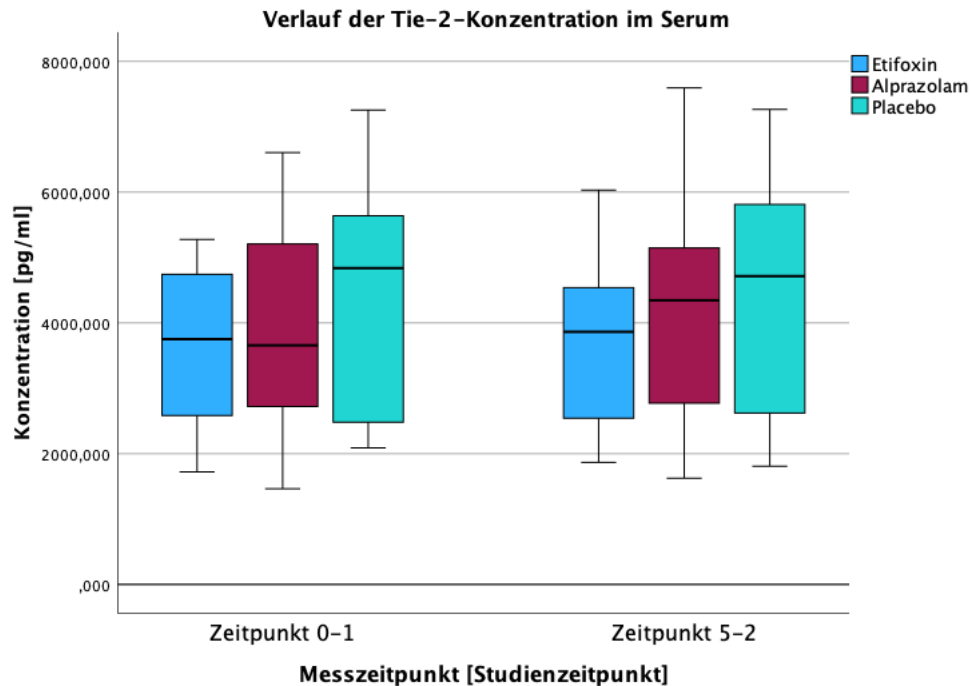


Abbildung 21: Graphische Darstellung des Verlaufs der Tie-2-Konzentration im Serum in Abhängigkeit der Medikamentengruppe zwischen den Messzeitpunkten 0-1 und 5-2 als Boxplot mit Kennzeichnung des Median, des ersten und dritten Quartils sowie des Maximal- und Minimalwerts innerhalb des 1,5fachen Interquartilsabstands mittels Whisker und aufgetretener Messausreißer.

3.2.3.5 VEGF-C

Anhand des Box-Tests mit $p = 0.398$ wurde die Homogenität der Kovarianzen-Matrizen als gegeben angenommen.

Für VEGF-C ergab sich keine statistisch signifikante Interaktion zwischen der Zeit und den Untersuchungsgruppen, mit $F(2, 54) = 0.899$, $p = 0.413$, $\eta_p^2 = 0.032$.

Es trat kein statistisch signifikanter Haupteffekt für den Faktor Zeit auf, $F(1, 54) = 3.877$, $p = 0.054$, $\eta_p^2 = 0.067$.

Es gab keinen statistisch signifikanten Haupteffekt für den Faktor Gruppe, $F(2, 54) = 2.765$, $p = 0.072$, $\eta_p^2 = 0.093$.

In Abbildung 22 wird der Konzentrationsverlauf von VEGF-C im Serum zwischen den Messzeitpunkten 0-1 und 5-2 in Abhängigkeit der Medikamentengruppe graphisch dargestellt:

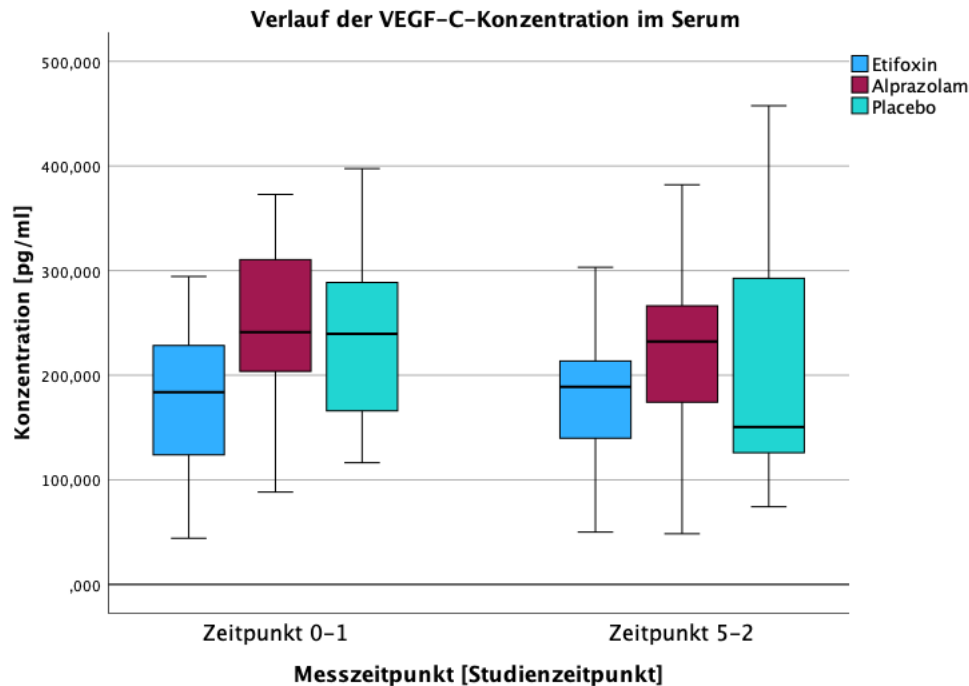


Abbildung 22: Graphische Darstellung des Verlaufs der VEGF-C-Konzentration im Serum in Abhängigkeit der Medikamentengruppe zwischen den Messzeitpunkten 0-1 und 5-2 als Boxplot mit Kennzeichnung des Median, des ersten und dritten Quartils sowie des Maximal- und Minimalwerts innerhalb des 1,5fachen Interquartilsabstands mittels Whisker und der aufgetretenen Messausreißer.

3.2.3.6 VEGF-D

Anhand des Box-Tests mit $p = 0.012$ konnte die Homogenität der Kovarianzen-Matrizen als gegeben angenommen werden.

Der Levene-Test auf Gleichheit der Fehlervarianzen zeigte sich zum Zeitpunkt 5-2 mit $p = 0.037$ allerdings signifikant, sodass eine weitere Interpretation der Ergebnisse nicht durchzuführen war.

In Abbildung 23 wird der Konzentrationsverlauf von VEGF-D im Serum zwischen den Messzeitpunkten 0-1 und 5-2 in Abhängigkeit der Medikamentengruppe graphisch dargestellt:

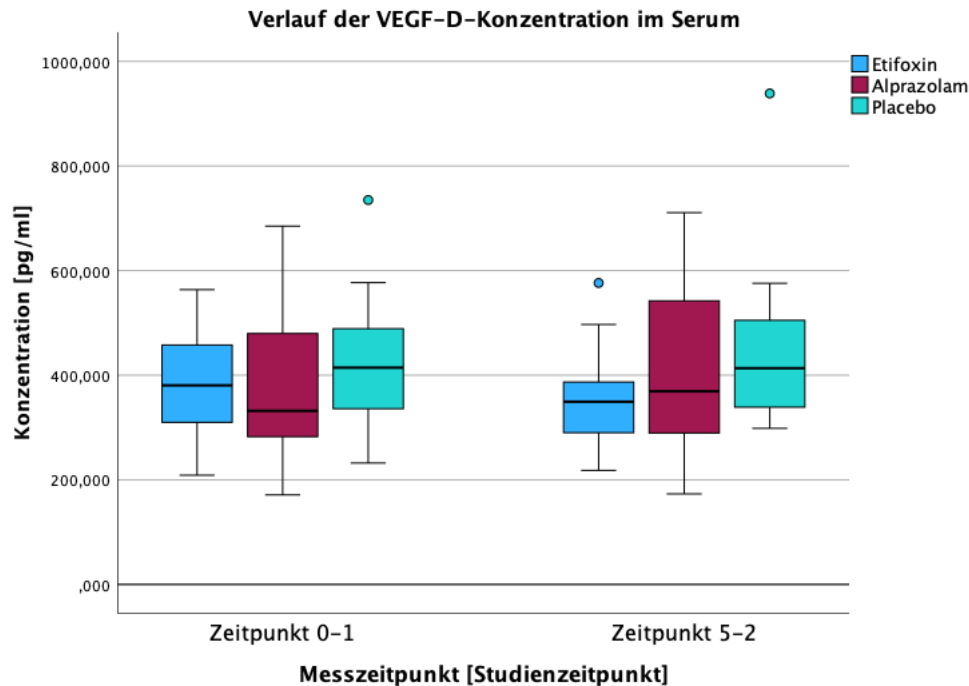


Abbildung 23: Graphische Darstellung des Verlaufs der VEGF-D-Konzentration im Serum in Abhängigkeit der Medikamentengruppe zwischen den Messzeitpunkten 0-1 und 5-2 als Boxplot mit Kennzeichnung des Median, des ersten und dritten Quartils sowie des Maximal- und Minimalwerts innerhalb des 1,5fachen Interquartilsabstands mittels Whisker und der aufgetretenen Messausreißer.

3.2.4 Cytokine Panel

3.2.4.1 IL-7

Anhand des Box-Tests mit $p = 0.836$ wurde die Homogenität der Kovarianzen-Matrizen als gegeben angenommen.

Für IL-7 ergab sich keine statistisch signifikante Interaktion zwischen der Zeit und den Untersuchungsgruppen, mit $F(2, 54) = 1.263$, $p = 0.291$, $\eta_p^2 = 0.045$.

Es trat kein statistisch signifikanter Haupteffekt für den Faktor Zeit auf, $F(1, 54) = 1.715$, $p = 0.196$, $\eta_p^2 = 0.031$.

Es gab keinen statistisch signifikanten Haupteffekt für den Faktor Gruppe, $F(2, 54) = 0.226$, $p = 0.799$, $\eta_p^2 = 0.008$.

In Abbildung 24 wird der Konzentrationsverlauf von IL-7 im Serum zwischen den Messzeitpunkten 0-1 und 5-2 in Abhängigkeit der Medikamentengruppe graphisch dargestellt:

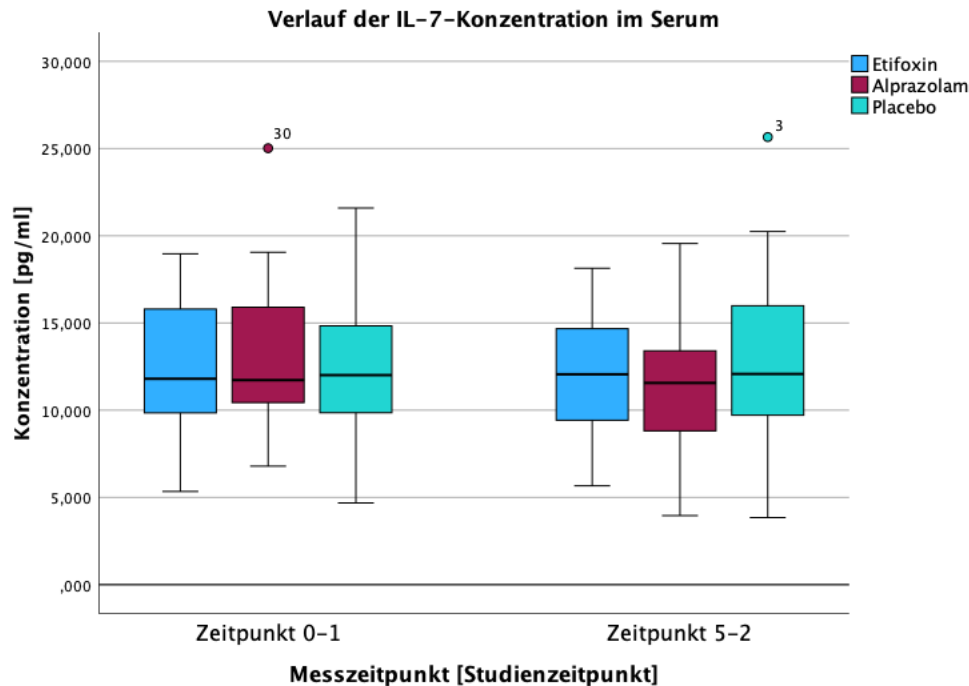


Abbildung 24: Graphische Darstellung des Verlaufs der IL-7-Konzentration im Serum in Abhängigkeit der Medikamentengruppe zwischen den Messzeitpunkten 0-1 und 5-2 als Boxplot mit Kennzeichnung des Median, des ersten und dritten Quartils sowie des Maximal- und Minimalwerts innerhalb des 1,5fachen Interquartilsabstands mittels Whisker und der aufgetretenen Messausreißer.

3.2.4.2 IL-12/IL-23p40

Anhand des Box-Tests mit $p = 0.284$ wurde die Homogenität der Kovarianzen-Matrizen als gegeben angenommen.

Für IL-12/IL-23p40 ergab sich keine statistisch signifikante Interaktion zwischen der Zeit und den Untersuchungsgruppen, mit $F(2, 54) = 0.642$, $p = 0.530$, $\eta_p^2 = 0.023$.

Es trat ein statistisch signifikanter Haupteffekt für den Faktor Zeit auf, $F(1, 54) = 16.072$, $p < 0.001$, $\eta_p^2 = 0.229$.

Es gab keinen statistisch signifikanten Haupteffekt für den Faktor Gruppe, $F(2, 54) = 0.492$, $p = 0.614$, $\eta_p^2 = 0.018$.

In Abbildung 25 wird der Konzentrationsverlauf von IL-12/IL-23p40 im Serum zwischen den Messzeitpunkten 0-1 und 5-2 in Abhängigkeit der Medikamentengruppe graphisch dargestellt

* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p \leq 0.001$:

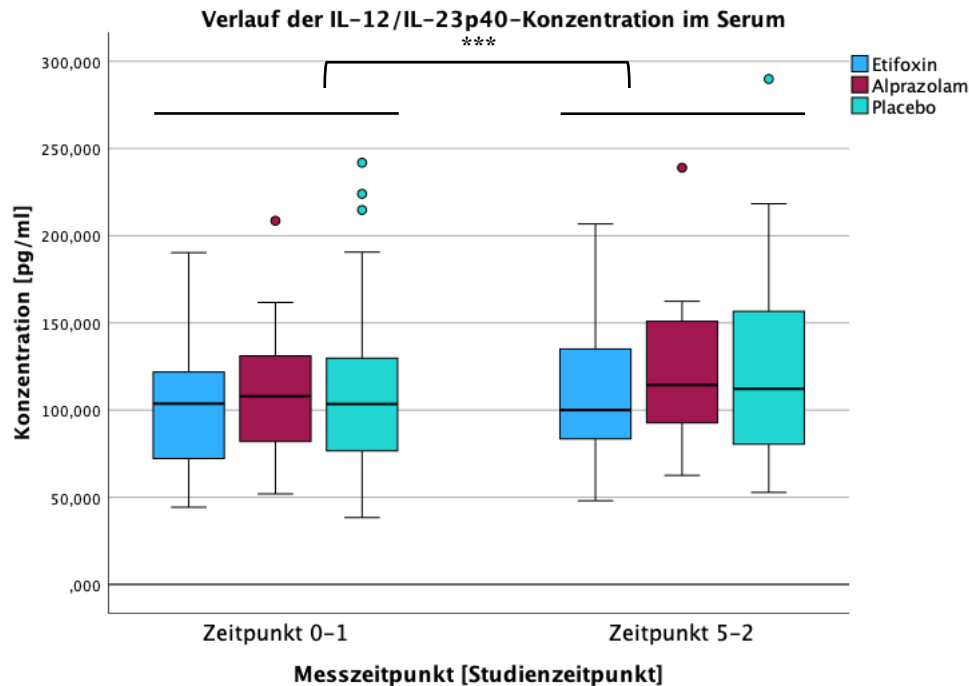


Abbildung 25: Graphische Darstellung des Verlaufs der IL-12/IL-23p40-Konzentration im Serum in Abhängigkeit der Medikamentengruppe zwischen den Messzeitpunkten 0-1 und 5-2 als Boxplot mit Kennzeichnung des Median, des ersten und dritten Quartils sowie des Maximal- und Minimalwerts innerhalb des 1,5fachen Interquartilsabstands mittels Whisker und der aufgetretenen Messausreißer. Markierung des statistisch signifikanten Haupteffektes für den Faktor Zeit mit *** $p \leq 0.001$.

3.2.4.3 IL-15

Anhand des Box-Tests mit $p = 0.002$ konnte die Homogenität der Kovarianzen-Matrizen als gegeben angenommen werden.

Der Levene-Test auf Gleichheit der Fehlervarianzen zeigte sich zum Zeitpunkt 0-1 mit $p = 0.029$ und zum Zeitpunkt 5-2 mit $p = 0.030$ signifikant, sodass eine weitere Interpretation der Ergebnisse nicht möglich war.

In Abbildung 26 wird der Konzentrationsverlauf von IL-15 im Serum zwischen den Messzeitpunkten 0-1 und 5-2 in Abhängigkeit der Medikamentengruppe graphisch dargestellt:

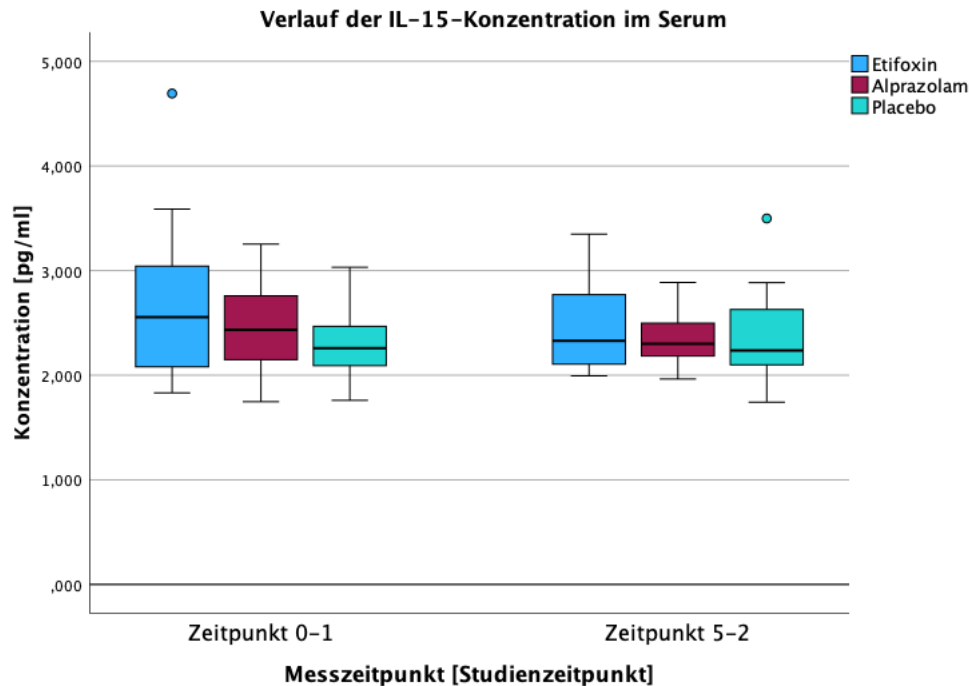


Abbildung 26: Graphische Darstellung des Verlaufs der IL-15-Konzentration im Serum in Abhängigkeit der Medikamentengruppe zwischen den Messzeitpunkten 0-1 und 5-2 als Boxplot mit Kennzeichnung des Median, des ersten und dritten Quartils sowie des Maximal- und Minimalwerts innerhalb des 1,5fachen Interquartilsabstands mittels Whisker und der aufgetretenen Messausreißer

3.2.4.4 IL-16

Anhand des Box-Tests mit $p = 0.334$ wurde die Homogenität der Kovarianzen-Matrizen als gegeben angenommen.

Für IL-16 ergab sich keine statistisch signifikante Interaktion zwischen der Zeit und den Untersuchungsgruppen, mit $F(2, 54) = 0.034$, $p = 0.967$, $\eta_p^2 = 0.001$.

Es trat kein statistisch signifikanter Haupteffekt für den Faktor Zeit auf, $F(1, 54) = 1.893$, $p = 0.174$, $\eta_p^2 = 0.034$.

Es gab keinen statistisch signifikanten Haupteffekt für den Faktor Gruppe, $F(2, 54) = 0.437$, $p = 0.649$, $\eta_p^2 = 0.016$.

In Abbildung 27 wird der Konzentrationsverlauf von IL-16 im Serum zwischen den Messzeitpunkten 0-1 und 5-2 in Abhängigkeit der Medikamentengruppe graphisch dargestellt:

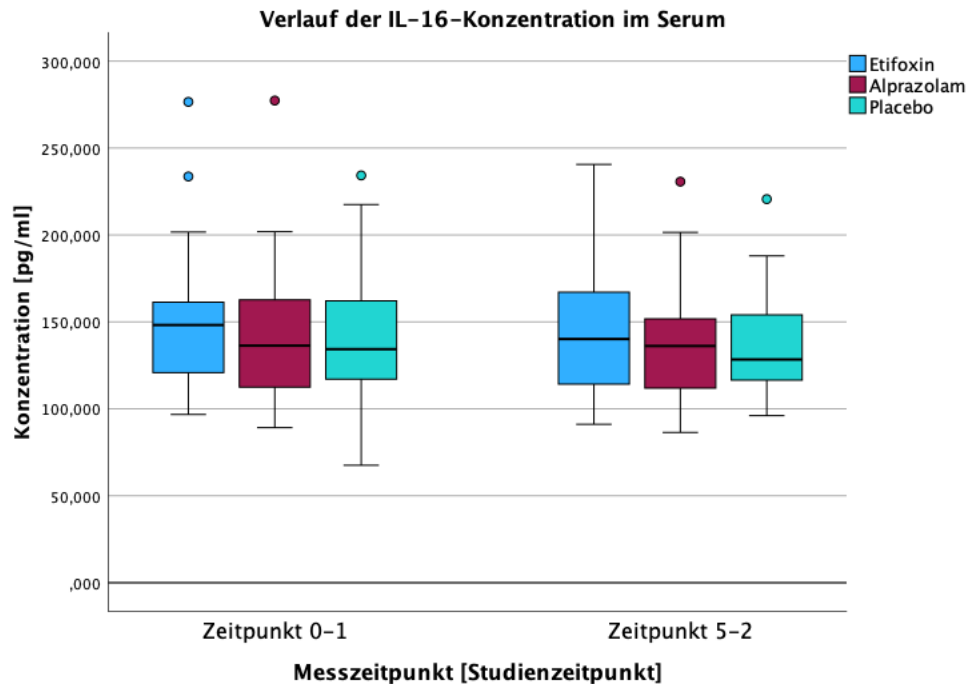


Abbildung 27: Graphische Darstellung des Verlaufs der IL-16-Konzentration im Serum in Abhängigkeit der Medikamentengruppe zwischen den Messzeitpunkten 0-1 und 5-2 als Boxplot mit Kennzeichnung des Median, des ersten und dritten Quartils sowie des Maximal- und Minimalwerts innerhalb des 1,5fachen Interquartilsabstands mittels Whisker und der aufgetretenen Messausreißer.

3.2.4.5 VEGF

Anhand des Box-Tests mit $p = 0.015$ wurde die Homogenität der Kovarianzen-Matrizen als gegeben angenommen.

Für VEGF ergab sich keine statistisch signifikante Interaktion zwischen der Zeit und den Untersuchungsgruppen, mit $F(2, 53) = 1.941$, $p = 0.154$, $\eta_p^2 = 0.068$.

Es trat kein statistisch signifikanter Haupteffekt für den Faktor Zeit auf, $F(1, 53) = 3.508$, $p = 0.067$, $\eta_p^2 = 0.062$.

Es gab keinen statistisch signifikanten Haupteffekt für den Faktor Gruppe, $F(2, 53) = 0.864$, $p = 0.427$, $\eta_p^2 = 0.032$.

In Abbildung 28 wird der Konzentrationsverlauf von VEGF im Serum zwischen den Messzeitpunkten 0-1 und 5-2 in Abhängigkeit der Medikamentengruppe graphisch dargestellt:

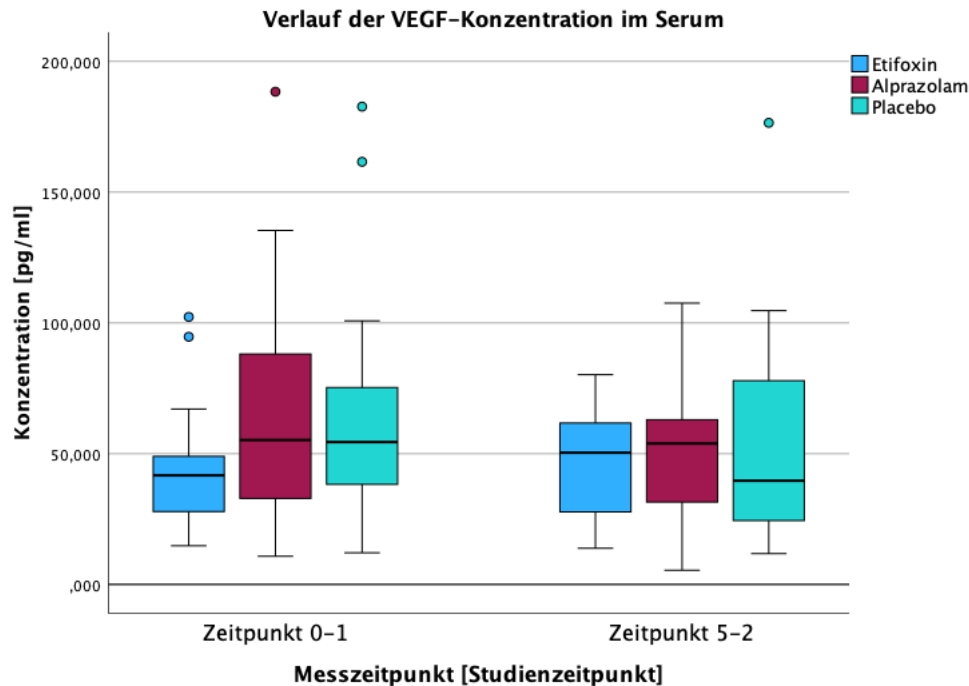


Abbildung 28: Graphische Darstellung des Verlaufs der VEGF-Konzentration im Serum in Abhängigkeit der Medikamentengruppe zwischen den Messzeitpunkten 0-1 und 5-2 als Boxplot mit Kennzeichnung des Median, des ersten und dritten Quartils sowie des Maximal- und Minimalwerts innerhalb des 1,5fachen Interquartilsabstands mittels Whisker und der aufgetretenen Messausreißer.

3.3 Statistische Auswertung der SUDS

Anhand des Box-Tests mit $p < 0.001$ ist die Homogenität der Kovarianzen-Matrizen nicht als gegeben anzunehmen, die Auswertungen sind folglich nur mit Vorsicht zu interpretieren.

Für die SUDS ergab sich keine statistisch signifikante Interaktion zwischen der Zeit und den Untersuchungsgruppen, mit $F(6.284, 169.678) = 0.349$, $p = 0.916$, $\eta_p^2 = 0.013$.

Es trat ein statistisch signifikanter Haupteffekt für den Faktor Zeit auf, $F(3.142, 169.678) = 172.208$, $p < 0.001$, $\eta_p^2 = 0.761$.

Es gab keinen statistisch signifikanten Haupteffekt für den Faktor Gruppe, $F(2, 54) = 0.921$, $p = 0.404$, $\eta_p^2 = 0.033$.

Es konnte in allen Gruppen ein initialer Anstieg des subjektiven Stresslevels beobachtet werden, mit dem Maximum zum Zeitpunkt T-plus 0, direkt nach Durchführung des TSST, und einem darauffolgenden steten Abfall des subjektiven Stresslevels.

Der Mittelwert von Zeitpunkt T-plus 0 lag ohne Berücksichtigung der Gruppen bei $\bar{x} \pm s = (59.719 \pm 20.019)$ ($n = 57$).

In der Etifoxin-Gruppe lag der Mittelwert zu diesem Zeitpunkt bei $\bar{x} \pm s = (62.778 \pm 20.950)$ ($n = 18$), in der Alprazolam-Gruppe bei $\bar{x} \pm s = (55.842 \pm 21.861)$ ($n = 19$) und in der Placebo-Gruppe bei $\bar{x} \pm s = (60.650 \pm 17.635)$ ($n = 20$).

In Abbildung 29 wird der Verlauf des Stresslevels in zeitlicher Relation zur Durchführung des VR-TSST in Abhängigkeit der Medikamentengruppe graphisch dargestellt mit * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p \leq 0.001$:

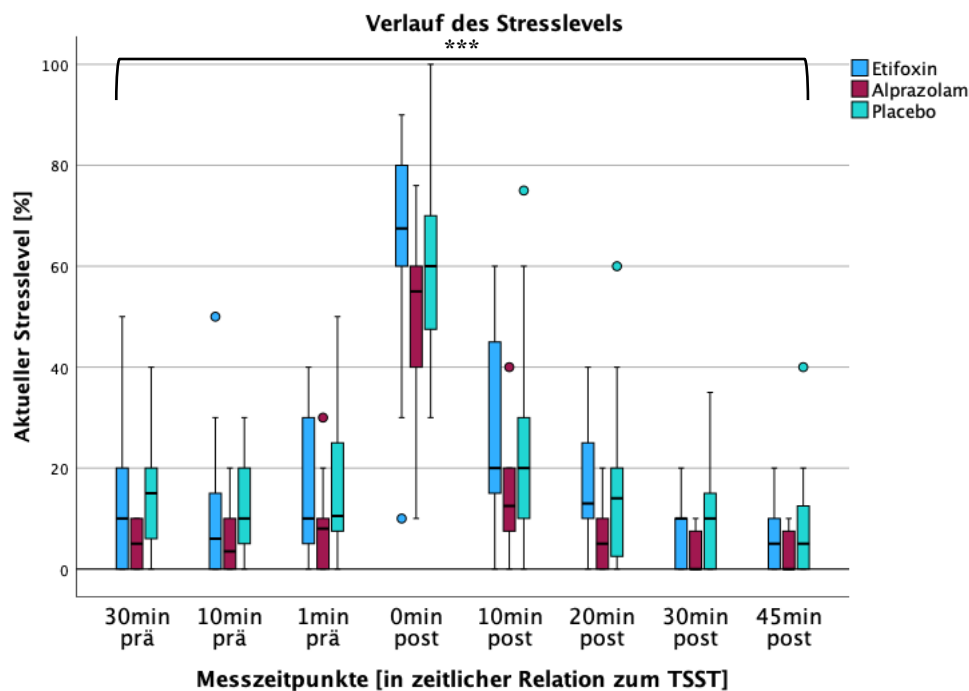


Abbildung 29: Graphische Darstellung des Verlaufs des Stresslevels in zeitlicher Relation zur Durchführung des VR-TSST sowie in Abhängigkeit der Medikamentengruppe als Boxplot mit Kennzeichnung des Median, des ersten und dritten Quartils sowie des Maximal- und Minimalwerts innerhalb des 1,5fachen Interquartilsabstands mittels Whisker und der aufgetretenen Messausreißer. Markierung des statistisch signifikanten Haupteffektes für den Faktor Zeit mit *** $p \leq 0.001$.

4 Diskussion

Zur Erforschung des Einflusses des TSPO-Liganden Etifoxin auf die menschliche Stressreaktion unter psychosozialen Stress wurden Blutparameter von 60 psychisch und physisch gesunden männlichen Probanden während einer fünftägigen medikamentösen Behandlung mit dem Benzodiazepin Alprazolam, dem TSPO-Ligand Etifoxin oder einem Placebo unter Aussetzung testpsychologisch induziertem, psychosozialen Stress untersucht.

Im Folgenden sollen nun die obig dargelegten, statistischen Ergebnisse in Zusammenhang mit aktuellen Forschungsdaten gebracht und diesbezüglich diskutiert werden.

4.1 Einflussnahme von akutem Stress und anxiolytischer Medikation auf die Serum-Konzentration von Cortisol

In der vorliegenden Arbeit wurde der Einfluss einer fünftägigen Alprazolam- oder Etifoxin-Einnahme im Vergleich zu einer Placebo-Administration auf die Serum-Cortisol-Level physisch und psychisch gesunder, männlicher Probanden im zeitlichen Verlauf sowie nach Absolvierung eines Stresstests untersucht.

Hierfür wurden die Serum-Cortisol-Konzentrationen zu drei Zeitpunkten bestimmt: Die erste Bestimmung erfolgte am Tag der Screening-Untersuchung, Zeitpunkt 0-1, welche als Baseline für die folgenden Messungen fungierte. Die zweite Messung erfolgte zum Zeitpunkt 5-1, nach fünf Tagen Medikamenteneinnahme, als Indikator, wie sich die Cortisol-Konzentration im Serum durch die Medikamenteneinnahme verändert hatte und als Baseline bezüglich potentieller Veränderung im Vergleich zur folgenden dritten Messung. Die dritte Messung erfolgte nach Durchführung des TSST zum Zeitpunkt 5-2.

Während keine statistisch signifikante Interaktion zwischen der Zeit und der Untersuchungsgruppe auftrat, war sowohl beim Vergleich der Zeitpunkt 0-1 mit 5-1 als auch 5-1 mit 5-2 ein statistisch signifikanter Haupteffekt für den Faktor Zeit zu verzeichnen. Zudem konnte ein signifikanter Unterschied zwischen den Cortisol-Konzentrationen der Alprazolam- und Placebo-Interventionsgruppe an den Zeitpunkten 5-1 und 5-2 herausgearbeitet werden.

Bei Betrachtung der Konzentrationsverläufe zwischen den Messzeitpunkten konnte gruppenunabhängig ein Abfall der Cortisol-Konzentration im Serum zwischen dem Screening (Zeitpunkt 0-1) und Zeitpunkt 5-1 sowie ein weiterer Abfall der Cortisol-Konzentration zwischen Zeitpunkt 5-1 und Zeitpunkt 5-2 verzeichnet werden.

Während die Cortisol-Konzentration zwischen den Zeitpunkten 0-1 und 5-1 bei etwa gleicher Uhrzeit der Blutentnahme in der Placebogruppe ohne medikamentöser oder Stresstest-Intervention keiner Schwankung unterliegen sollte, zeigte sich jedoch in der vorliegenden Studie ein Abfall der Cortisol-Konzentration im Serum zwischen den Zeitpunkten 0-1 und 5-1.

Ein potentielles Erklärungsmodell ist der Placebo-Effekt: Der Placebo-Effekt beschreibt das Auftreten einer therapeutischen Wirkung, ähnlich der Wirkung einer aktiven Wirksubstanz oder Intervention, lediglich durch Gabe einer Scheinsubstanz ohne Wirkstoff oder einer Scheinintervention (184). Der Aufbau der vorliegenden Studie entsprach einer doppelt verblindeten, randomisierten Interventionsstudie, sodass die teilnehmenden Probanden während der Studienteilnahme nicht wussten, ob sie eine aktive Vergleichssubstanz oder die Placebo-Medikation erhielten. Dadurch war die Möglichkeit für einen zu verzeichnenden Placebo-Effekt auf die gemessenen, physiologischen Parameter gegeben. So verglichen beispielsweise McCann et al (185) in ihrer Studie die Einflüsse eines Placebos sowie eines Placebos mit explizit angedeuteter, therapeutischer Wirkung mit dem Einfluss von Alprazolam auf kardiovaskuläre Reaktionen während eines Stresstests. Hierbei konnte bei mehr als der Hälfte der Probanden eine Placebo-induzierte Beeinflussung der physiologischen Parameter verzeichnet werden, welche sich jedoch unabhängig von der Andeutung bezüglich der therapeutischen Wirkung zeigte (185). Da in der vorliegenden Studie bei doppelter Verblindung nach anfänglicher Aufklärung über die Studienmedikation explizit auf Andeutungen bezüglich therapeutischer Effekte der Studienmedikationen verzichtet wurde, ist der obig untersuchte Faktor der angedeuteten therapeutischen Wirkung zu vernachlässigen. Als potentiell konfundierende Variable auf den Cortisol-Konzentrationsverlauf in der Placebogruppe kann hierbei jedoch die potentielle Anfälligkeit für den Placeboeffekt angeführt werden.

Eine weitere, potentielle Ursache des Konzentrationsabfalls von Cortisol zwischen den Zeitpunkten 0-1 und 5-1 ist die Nervosität bei Konfrontation mit dem Neuen als Erwartungsangst oder Antizipationsstress: Voraussichtliche, zu erwartende Stressfaktoren können per se einen Stressor darstellen und somit zu physiologischen Veränderungen, wie beispielsweise Veränderungen der Cortisol-Konzentrationen, führen (186), (187), (188), (189). Diese Stressfaktoren können vielfältig und intraindividuell verschieden sein, wie beispielsweise bei einer anstehenden Prüfung: Männer wiesen kurz vor der Prüfung signifikant höhere Cortisol-Konzentrationen im Urin auf als zum Zeitpunkt der Baseline-

Erhebung vor Beginn der Prüfungsphase (187). Diese Veränderung beschränkte sich jedoch lediglich auf Männer, die den Test als Herausforderung und nicht als Bedrohung sahen (187). Auch vor einem artifiziellen, studieninduzierten Stressor wie dem TSST konnte ein Erwartungsangst-bedingter Anstieg der Cortisol-Konzentrationen im Speichel detektiert werden (188). Zudem konnten Arztbesuche als Stressor für die Erwartungsangst identifiziert werden, wie z.B. bei Patienten mit Angst vor einer zahnärztlichen Untersuchung, welche ebenfalls erhöhte Cortisol-Konzentrationen im Speichel aufwiesen (189).

In der vorliegenden Studie sollten am Tag der Baseline-Erhebung zum Zeitpunkt 0-1 neben einer ausführlichen physischen und psychischen Evaluation, Fragebögen und einer Blutentnahme diverse psychologische Tests, wie unter anderem der Stresstest NPU, erfolgen. Wie dargelegt könnten diese Faktoren als konfundierende Variable die Cortisol-Spiegel im Serum beeinflussen und daraus resultierend die Baseline als falsch hoch definiert werden. Zum Zeitpunkt der nächsten Cortisol-Konzentrationsmessung, Zeitpunkt 5-1, waren Studienteam, Untersuchungen, Lokalisation und der Großteil der durchzuführenden Stresstests bereits bekannt, auch wurden bereits zwei der teils als Stressfaktor wahrgenommenen Blutentnahmen durchgeführt, weshalb der Effekt der Erwartungsangst zum Zeitpunkt 5-1 vernachlässigbar scheint. Hierbei muss allerdings wiederum angeführt werden, dass bereits die Erwartungsangst für den um die Mittagszeit dieses Tages geplanten Stresstests, den TSST, die Messung zum Zeitpunkt 5-1 hätte beeinflussen können. Abschließend kann das Ausmaß der Erwartungsangst auf die erhobenen Baseline-Cortisol-Level nicht exakt bestimmt werden, weshalb zur Vermeidung einer Verfälschung der Baseline durch Erwartungsangst die Abnahme des Baseline-Cortisols auf einen Tag nach Abschluss der Screeninguntersuchung gelegt werden sollte. An diesem Tag sollte dann lediglich die Blutentnahme ohne zusätzliche, potentiell konfundierende Stressoren durchgeführt werden.

Bei weiterer Betrachtung der Cortisol-Konzentrationen zeigte sich, wie oben bereits erwähnt, ein den Erwartungen nach Absolvierung eines Stresstests kontradiktierender, gruppenunabhängiger Abfall der Cortisol-Serumkonzentrationen zwischen den Messzeitpunkten 5-1 und 5-2.

Der TSST *in vivo* ist eine gängige und häufig in klinischen Studien genutzte Möglichkeit zur Applikation von psychosozialen Stress, weshalb bereits in zahlreichen Studien nach Durchführung des TSST eine stressinduzierte Erhöhung der Cortisol-Spiegel in Serum und Speichel nachgewiesen werden konnten (107), (108), (109), (149), (175).

Kritisch angemerkt sei an dieser Stelle jedoch der Unterschied zwischen dem in obigen Studien verwendeten TSST *in vivo* und dem in der vorliegenden Studie genutzten TSST in virtueller Realität: Initial wurden in virtueller Realität geringere Ansprechraten bezüglich der Cortisol-Veränderungen verzeichnet (177). Zwar konnte durch Optimierung des Testprotokolls letztlich auch ein signifikanter Anstieg der Cortisol-Konzentrationen in virtueller Realität erreicht werden, dieser zeigte sich jedoch weiterhin *in vivo* geringfügig stärker (190).

Die im Rahmen des vorliegenden Projektes durchgeführten Messungen nach Absolvierung des TSST konnten eine signifikante Veränderung der Cortisol-Konzentrationen im Speichel nachweisen, vgl. Bahr 2020 (149). Somit konnte aufgezeigt werden, dass auch bei Durchführung des TSST in virtueller Realität durchaus eine Beeinflussung des Cortisol-Haushaltes im Speichel zu verzeichnen war, vgl. Bahr, (149). Jedoch ist fraglich, inwieweit dies auf die Cortisol-Konzentrationen im Serum übertragbar ist.

In der vorliegenden Studie konnte mittels Erhebung der SUDS ein gruppenunabhängiger Anstieg des subjektiven Stresslevels mit einem Maximum direkt nach Beendigung des TSST nachgewiesen werden. Dadurch konnte die Auslösung von psychosozialen Stress bewiesen werden. Dies steht jedoch nicht im Einklang mit den vorliegenden Messergebnissen, wonach sich die Cortisol-Konzentrationen im Serum nach Durchführung des TSST zum Zeitpunkt 5-2 im Mittel niedriger zeigten als am Morgen des Durchführungstages.

Da bereits aufgezeigt werden konnte, dass die Durchführung des TSST in virtueller Realität im Vergleich zu der Version *in vivo* schwächere Cortisol-Veränderungen bewirkte (190), ist folglich zunächst nicht auszuschließen, dass der durch die virtuelle Realität applizierte, psychosoziale Stress zur signifikanten Beeinflussung des Cortisols im Serum nicht ausreichend war, um bedeutende Konzentrationsveränderungen im Serum hervorzurufen.

Weiterführend muss als potentieller Grund, unabhängig von Medikamenteneinnahme und Studienteilnahme, der Zeitpunkt der Blutentnahme angeführt werden:

Wie einleitend bereits dargelegt, unterliegt die Cortisol-Ausschüttung und -Konzentration einer tageszeitabhängigen Fluktuation (95). Die höchsten Cortisol-Konzentrationen können in den frühen Morgenstunden zwischen der sechsten bis achten Stunde Schlaf sowie eine Stunde nach dem Aufwachen gemessen werden, während der Nadir vier Stunden vor bis eine Stunde nach dem Einschlafen zu erwarten ist (95). Während auch die CBG-Sekretion einer tageszeitabhängigen Fluktuation unterliegt und daraus resultierend die Konzentration des

biologisch aktiven Cortisols moduliert (97), (100), (101), (102), scheint dies für die vorliegende Arbeit von geringer Relevanz. Da die Analyse des Cortisols in der vorliegenden Arbeit die Messung des Gesamt-Cortisols mit Bestimmung des freien und gebundenen Cortisols umfasste, kann der Einfluss der tageszeitabhängigen Fluktuationen der CBG-Konzentrationen somit am ehesten vernachlässigt und die tageszeitabhängigen Schwankungen lediglich auf die Cortisol-Sekretion per se zurückgeführt werden. Während die Blutentnahmen zu den Zeitpunkten 0-1 und 5-1 jeweils um 09:00 Uhr erfolgten, wenige Stunden nach dem Aufstehen und sich die Probanden dadurch zwar nicht mehr im Zeitraum der maximalen, jedoch noch erhöhten Cortisol-Konzentrationen befanden (95), erfolgte die letzte Blutentnahme zum Zeitpunkt 5-2 um etwa 15:00 Uhr, mit einer erwartungsgemäß geringeren Cortisol-Konzentration im Vergleich zu den Morgenstunden.

Somit stehen die in der vorliegenden Studie aufgezeigten, geringeren Cortisol-Konzentrationen zum Zeitpunkt 5-2 im Vergleich zu den Zeitpunkten 0-1 und 5-1 im Einklang mit bereits vorliegenden Studien zur tageszeitabhängig Fluktuation der Cortisol-Konzentrationen, welche geringere Cortisol-Konzentrationen um die Mittags- bis Nachmittagszeit im Vergleich zu den Morgenstunden zeigten (95), dies jedoch unabhängig von Medikamenteneinnahme und Studienteilnahme mit Absolvierung von Stresstests wie dem NPU oder TSST.

Als weiteren Grund für den nicht zu verzeichnenden, jedoch zu erwartenden Anstieg der Cortisol-Konzentration nach Absolvierung des Stresstests muss der zeitliche Abstand zwischen TSST und Blutentnahme angeführt werden: Während die Halbwertszeit des Serum-Cortisols auf etwas mehr als eine Stunde festgelegt wurde (95), erfolgte die Blutentnahme zum Zeitpunkt 5-2 um etwa 15:00 Uhr, also etwa zwei Stunden nach Beginn des TSST.

Nach Exposition gegenüber einem akuten Stressor wurde nach Erreichen des maximalen Glucocorticoid-Peaks binnen 30 min ein Konzentrationsabfall in den nachfolgenden 90 min beschrieben (93). (97). So zeigten beispielsweise Kirschbaum et al nach Durchführung des TSST erhöhte Serum-Cortisol-Konzentrationen mit einem Peak des Serum-Cortisols direkt nach Beendigung des TSST auf (175). Auch die im Rahmen des vorliegenden Projektes durchgeführten Messungen der Cortisol-Konzentrationen im Speichel konnten nach Absolvierung des TSST eine signifikante Veränderung der Cortisol-Konzentrationen im Speichel aufzeigen, wobei für alle Zeitpunkte nach Beendigung des TSST höhere Speichelkonzentrationen des Cortisols verzeichnet werden konnten, als während der Ruhephase vor Beginn des TSST (149). Die Maximalkonzentrationen der

Speichelkonzentrationen von Cortisol konnten hierbei 10 – 20 min nach dem TSST bestimmt werden (149). Während die verschiedenen Untersuchungsmedien Serum und Speichel insbesondere im Hinblick auf die Cortisol-Konzentrationen zwar schwer verglichen werden können (191), ist dennoch festzuhalten, dass es auch in der vorliegenden Studie zu einer Stress-induzierten, erhöhten Cortisol-Ausschüttung kam, welche in den Serum-Proben nicht abgebildet werden konnte.

Durch tageszeitliche Beeinflussung der Cortisol-Messwerte sowie zu großem zeitlichen Abstand zwischen Stressor (Durchführung des TSST) und Blutentnahme mit deutlicher Überschreitung der Cortisol-Halbwertszeit ist die Einschätzung des gruppenunabhängigen, tatsächlichen Cortisol-Konzentrationsverlaufs im Serum nach Durchführung des TSST in der gegebenen Konstellation nicht möglich. Eine potentielle Möglichkeit zur Optimierung ist somit die Anpassung der Zeitpunkte der Blutentnahmen: Da die durchgeführten Cortisol-Bestimmungen zum Zeitpunkt 5-1 und nach dem TSST zum Zeitpunkt 5-2 in unterschiedliche Tageszeiten und somit unterschiedliche zirkadiane Sekretionsmuster fallen, wodurch die zirkadiane Rhythmik die Konzentrationsverläufe verfälschen kann, sollte in kommenden Studien die Blutentnahme für die prä-TSST-Konzentrations-Baseline kurz vor dem TSST erfolgen. Dadurch wären die beiden Blutentnahmen in einem vergleichbaren, zirkadianen Sekretionszyklus, wodurch eine adäquate Evaluation der Konzentrationsveränderungen, insbesondere nun auch in Abhängigkeit der Studienmedikation, möglich wäre.

Des Weiteren sollte die Blutentnahme zum Zeitpunkt 5-2 vorverlegt werden, sodass diese in einem geringeren zeitlichen Abstand zur Beendigung des TSST durchgeführt wird. Unter Berücksichtigung der Halbwertszeit von Cortisol und in Hinblick auf die Studienergebnisse von Kirschbaum et al mit einem Peak des Serum-Cortisols direkt nach Beendigung des TSST sollte die Blutentnahme idealerweise direkt nach Beendigung des TSST bis maximal eine Stunde nach Beendigung des TSST durchgeführt werden (95), (175). So könnten die Halbwertszeit-bedingten Schwankungen umgangen werden.

Als geeignet würden sich deshalb multiple Blutentnahmen zur adäquaten Darstellung des zeitlichen Verlaufes und der besseren Darstellung des Peaks erweisen. Da sich jedoch multiple Blutentnahmen binnen kurzer Zeit ebenfalls als Stressfaktor und somit konfundierende Variable auf die Cortisol-Konzentrationen auswirken können, sollte die Möglichkeit der einmaligen Anlage einer peripheren Venenverweilkanüle vor dem TSST zur erleichterten Blutentnahme vor und nach Durchführung des TSST evaluiert werden, vgl. Fries et al (150).

Bei dem Vergleich der Cortisol-Serumkonzentrationen zum Messzeitpunkt 5-2 nach Absolvierung des TSST konnten die Cortisol-Serumkonzentrationen in der Alprazolam-Gruppe im Vergleich zur Placebo-Gruppe trotz der obig dargelegten, konfundierenden Variablen als signifikant niedriger herausgearbeitet werden. Während dieser Unterschied zwar aufgrund der bereits dargelegten Argumente lediglich mit Vorsicht zu interpretieren ist, kann auch hieraus ein Rückschluss bezüglich des medikamentösen Einflusses auf die physiologische Stressreaktion gezogen werden. Der Abfall der Cortisol-Konzentration in der Alprazolam-Gruppe im zeitlichen Verlauf sowie der signifikante Konzentrationsunterschied zu den Zeitpunkten 5-1 und 5-2 im Vergleich zur Placebo-Gruppe kann durch den Einfluss von Alprazolam auf die Cortisol-Sekretion erklärt werden und steht im Einklang mit diversen Studien:

Bereits ohne den Einfluss eines Stressors konnte nach Verabreichung von Alprazolam eine verminderte Cortisol-Konzentration im Blut nachgewiesen werden (192).

Unter Einfluss eines akuten Stressors wie dem TSST (150), dem erstmaligen Absolvieren eines Tandem-Fallschirmsprungs (193) oder dem Halten einer Rede vor einer Videokamera (194) zeigten gesunde Probanden nach vorheriger Applikation von Alprazolam im Vergleich zur Placebogruppe eine deutlich abgeschwächte Cortisol-Reaktion auf den Stressor, welche sowohl in Speichelproben (150) als auch im Blut (150), (193), (194) herausgearbeitet werden konnte.

Wie einleitend bereits beschrieben, entfaltet Alprazolam seine potente, anxiolytische Eigenschaft durch Bindung an den als Chloridkanal fungierenden GABA_A-Rezeptor, wodurch eine vermehrte Bindung von GABA an deren Bindestellen am GABA_A-Rezeptor resultiert (67), (158). Dies führt wiederum zu einer erhöhten Öffnungsfrequenz des Chloridkanals und hierdurch zu einer Entfaltung seiner zentral dämpfenden Wirkung (68), (195).

Konkret scheint diese Interaktion zwischen Alprazolam und GABA_A-Rezeptor, mit folglich resultierender, inhibitorischer Wirkung im ZNS, ein zugrunde liegender Mechanismus für den oben dargelegten, Alprazolam-induzierten Einfluss auf die HPA-Achse darzustellen (150), (196), (197).

Im Nucleus Paraventricularis des Hypothalamus konnte ein dichtes Netzwerk an GABAergen Neuronen mit synaptischen Verbindungen zu CRH-sezernierenden Neuronen beschrieben und GABA als einer der dominanten Neurotransmitter identifiziert werden (198), (199), vgl. Bahr, 2020 (149). In Studien an Rhesusaffen konnte zudem aufgezeigt werden, dass die Bindung von Alprazolam an den GABA_A-Rezeptor die Serotonin-induzierte CRH-Ausschüttung als

Anfang der Signalkaskade zur Cortisol-Ausschüttung moduliert (197). Die *in vivo* gezeigte Suppression der ACTH- und Cortisol-Konzentrationen nach Gabe von Alprazolam wurde folglich partiell auf die Hemmung der hypothalamischen CRH-Neurone zurückgeführt, eine Annahme, die durch Untersuchungen von Rohrer et al an menschlichen Probanden unterstützt wurde (194), (197). Auch eine Beteiligung des Locus Coeruleus an der inhibitorischen Wirkung von Alprazolam auf die CRH-Sekretion wurde durch Owens et al durch Alprazolam-Injektionen bei Ratten nachgewiesen (196).

In der vorliegenden Studie zeigten sich die Cortisol-Konzentrationen nach fünftägiger Alprazolam-Einnahme im Vergleich zu einer Placebo-Einnahme signifikant verringert. Auch nach Absolvierung des Stresstest war ein signifikanter Konzentrationsunterschied zwischen der Placebo- und der Alprazolam-Gruppe nachzuweisen. In Zusammenschau mit obig dargelegten Studien könnte dies zumindest partiell auf die zentral inhibitorische Wirkung von Alprazolam auf das CRH und daraus resultierende Suppression der Cortisol-Ausschüttung zurückgeführt werden.

In der Etifoxin-Gruppe zeigte sich, wie in der Placebo-Gruppe, ein nicht signifikanter, jedoch kontinuierlicher Konzentrationsabfall der Serum-Cortisol-Konzentrationen zwischen den Zeitpunkten 0-1 und 5-2. Im Gegensatz zur Alprazolam-Interventionsgruppe erreichte die Etifoxin-Gruppe jedoch zu keinem Zeitpunkt einen signifikanten Konzentrationsunterschied zur Placebo-Gruppe. Dies steht in Einklang zu den Ergebnissen von Bahr, 2020 (149), wobei nach Durchführung des TSST ebenfalls signifikante Konzentrationsunterschiede zwischen der Alprazolam- und der Placebo-Interventionsgruppe, jedoch nicht zwischen der Etifoxin- und der Placebo-Gruppe nachgewiesen werden konnten.

Wie einleitend dargelegt, werden die anxiolytischen Eigenschaften von Etifoxin einem dualen Wirkmechanismus zugeschrieben: So interagiert Etifoxin einerseits als GABA_A-Rezeptor-Modulator direkt mit dem GABA_A-Rezeptor (81) und verstärkt somit dessen GABAerge inhibitorische Funktion (81), (88). Ein Wirkmechanismus, der dem von Alprazolam nicht unähnlich scheint.

Des Weiteren steigert Etifoxin als TSPO-Ligand nach Bindung an das TSPO die Synthese von Neurosteroiden und neuroaktiven Steroidhormonen (27), (32), (80), (89), welche wiederum über allosterische Bindung an den GABA_A-Rezeptor dessen neuronal inhibitorische Wirkung potenzieren können (27), (63), (91).

Bei *in vivo* und *in vitro* durchgeführten Tierversuchen an Ratten konnten Verleye et al zudem nach Verabreichung von Etifoxin eine dosisabhängige Verringerung des CRH-induzierten Grooming- und Bewegungsverhaltens und somit einen potentiellen Einfluss von TSPO-Liganden auf die CRH-Sekretion durch seine GABAergen Eigenschaften, nicht jedoch durch eine direkte Interaktion mit dem CRH-Rezeptor, nachweisen (200).

Trotz dualem Wirkmechanismus des Etifoxins mit dualer Modulation des GABA_A-Rezeptors, welcher wiederum, wie obig dargelegt, modulierenden Einfluss auf die Cortisol-Sekretion hat, konnte in der vorliegenden Studie kein über die Placebo-Interventionsgruppe hinausreichender, signifikanter Konzentrationsabfall des Cortisols im Serum nach Medikamenteneinnahme oder nach Durchführung des Stresstests verzeichnet werden.

Eine mögliche Ursache für den nicht signifikanten Cortisol-Abfall nach Etifoxin-Einnahme sowie nach Durchführung des Stresstests könnte dem dualen Wirkmechanismus per se zugeschrieben werden, wobei der Wirkmechanismus hauptsächlich der Neurosteroid-Synthesemodulation und nicht der Modulation des GABA_A-Rezeptors zugeschrieben wird (78), (81).

In der vorliegenden Studie konnte in den Versuchsteilen von Dr. Bahr jedoch in der Etifoxin-Gruppe auch die zu erwartende, signifikant erhöhte Allopregnanolon-Konzentration im Vergleich zur Placebo- und Alprazolam-Gruppe nicht nachgewiesen werden (149). Die im Verlauf der Studie gemessenen Allopregnanolon-Konzentrationen unterschieden sich zwischen den Gruppen nicht signifikant, vgl. Bahr, 2020 (149). Eine potentielle Ursache hierfür ist eine dosisabhängige Wirkung von Etifoxin, wobei Etifoxin beim gesunden Menschen möglicherweise erst bei höheren Konzentrationen einen detektierbaren Einfluss auf die Neurosteroid- wie Allopregnanolon oder Pregnenolon ausübt (32), (149) und gegebenenfalls auch erst dann ein Einfluss auf die HPA-Achse zu verzeichnen ist.

Auch muss der potenzielle Einfluss des TSPO-Einzelnukleotid-Polymorphismus auf die Auswirkungen von Etifoxin auf hormoneller Ebene mit einbezogen werden: Um zu überprüfen, ob das Vorliegen des TSPO-Einzelnukleotid-Polymorphismus die Etifoxin-abhängige Cortisol-Konzentration beeinflusst, wurden die statistischen Analysen nach Ausschluss der Träger des TSPO-SNP innerhalb der Etifoxin-Gruppe wiederholt, sodass nur homozygote High-Affinity Binder sowie heterozygote Mixed-Affinity Binder eingeschlossen wurden. Hiernach ergab sich allerdings weiterhin kein signifikanter Unterschied zwischen der Etifoxin- und der Placebo-Gruppe. Limitierend muss allerdings angeführt werden, dass es in

der Etifoxin-Gruppe lediglich drei Low-Affinity Binder gab, was für eine aussagekräftige, statistische Analyse zu wenig scheint. Der Einfluss des TSPO-Einzelnukleotid-Polymorphismus auf die Cortisol-Konzentration nach Etifoxin-Einnahme und Stressexposition sollte deshalb gesondert untersucht und gegebenenfalls bereits vor Einschluss in die Studie ein TSPO-SNP-Screening durchgeführt werden.

Eine interessante Forschungsfrage wäre deshalb die Evaluation der Wirkung von Etifoxin auf die Cortisol-Konzentrationen im Serum bei verschiedenen Dosierungen sowie die Ergänzung um das HPA-Achsen-Signalkaskaden-Hormon ACTH, um auch kleinere Einflüsse von Etifoxin auf die HPA-Achse kritisch beleuchten zu können. In diesem Zusammenhang könnte neben der Durchführung einer psychologischen Stresstestung auch ein Stresstest mittels CRH-Test, vgl. Rohrer et al (194), zur Verdeutlichung der neuronalen Ebene des Wirkmechanismus weitere Aufschlüsse geben.

Zusammenfassend konnte bei Untersuchung der Konzentrationsverläufe von Cortisol im Serum nach fünftägiger Einnahme von Etifoxin, Alprazolam oder einem Placebo mit nachfolgender Absolvierung eines Stresstests der antizipierte, signifikante Konzentrationsunterschied zwischen der Alprazolam- und Placebo-Gruppe nachgewiesen werden, nicht jedoch ein signifikanter Unterschied zwischen der Etifoxin- und der Placebo-Gruppe.

Hierdurch bietet die vorliegende Untersuchung einen interessanten Beitrag bezüglich des Wirkmechanismus von Etifoxin, insbesondere bezüglich dessen geringeren Einfluss auf die HPA-Achse trotz GABAerger Modulation.

Es wird deutlich, dass die Auswirkungen von TSPO-Liganden auf die HPA-Achse ein relevantes und bisher nicht ausreichend untersuchtes Forschungsgebiet darstellt. Ein Hauptaugenmerk der weiteren Forschung mit Etifoxin sollte insbesondere auf der physiologischen und psychologischen Reaktion auf verschiedene Stresstests sowie auf dosisabhängigen Veränderungen physiologischer und psychologischer Parameter liegen.

4.2 Einflussnahme von akutem Stress und anxiolytischer Medikation auf die Serum-Konzentrationen der Zytokine

Zur Analyse des Einflusses einer fünftägigen Alprazolam- oder Etifoxin-Einnahme im Vergleich zu einer Placebo-Administration auf die Serumkonzentrationen von Zytokinen physisch und psychisch gesunder, männlicher Probanden nach Absolvierung eines Stresstests wurden die Serum-Zytokin-Konzentrationen zu zwei Zeitpunkten bestimmt. Die erste Bestimmung erfolgte am Tag der Screening-Untersuchung zum Zeitpunkt 0-1 als Baseline, die zweite Messung erfolgte zum Zeitpunkt 5-2 nach fünf Tagen Medikamenteneinnahme und nach Durchführung des TSST.

4.2.1 Modulation der proinflammatorischen Zytokin-Konzentrationen im Serum durch akute Stressexposition und anxiolytische Medikation

Während die Interpretation von IL-8 und IL-10 aufgrund eines signifikanten Levene-Tests auf Gleichheit der Fehlervarianzen und signifikanten Box-Tests auf Gleichheit von Kovarianzen-Matrizen nicht möglich war, soll im Folgenden ein Hauptaugenmerk auf die proinflammatorischen Zytokine Interleukin-6 und TNF- α gelegt werden.

Bei IL-6 ergab sich weder eine signifikante Interaktion noch ein signifikanter Haupteffekt für den Faktor Zeit oder Gruppe. Zum Ausschluss der potentiell konfundierenden Variable des TSPO-Einzelnukeotid-Polymorphismus wurden die Träger des TSPO-SNP innerhalb der TSPO-Gruppe für eine weiterführende Analyse der proinflammatorischen Zytokine exkludiert, sodass nur homozygote High-Affinity Binder sowie heterozygote Mixed-Affinity Binder eingeschlossen wurden, jedoch ergab sich weiterhin kein signifikanter Effekt für IL-6. Im Gegensatz hierzu ergab sich in der statistischen Analyse von TNF- α ein signifikanter Haupteffekt für den Faktor Zeit, welcher auch nach Exklusion der TSPO-SNP-Träger bestehen blieb.

Bisher konnte bereits durch diverse Studien hinreichend dargelegt werden, dass psychologischer Stress wie eine anstehende Prüfung oder auch die Absolvierung des TSST in einem signifikanten Anstieg von proinflammatorischen Zytokinen wie IL-1 β , IL-6, IL-10 und TNF- α resultiert (142), (201), (141), (143). In der vorliegenden Studie konnte hingegen nach Absolvierung des TSST in virtueller Realität kein Anstieg der proinflammatorischen Zytokine verzeichnet werden. Im Gegenteil, im Vergleich der Baseline zum Zeitpunkt nach Absolvierung des Stresstests konnte ein gruppenunabhängiger Abfall der Konzentrationen

von IL-6 und TNF- α beobachtet werden, welcher im Falle von TNF- α sogar Signifikanzniveau erreichte.

Während die obig zitierten Studien bezüglich des psychosozialen Stresstests auf den TSST *in vivo* zurückgriffen, wurde in der vorliegenden Studie der TSST in virtueller Realität verwendet. Dieser wiederum zeigte im Vergleich zum TSST *in vivo* Unterschiede bezüglich des Cortisols im Speichel, wobei, wie bereits obig dargelegt, bei Durchführung in virtueller Realität geringere Ansprechraten bezüglich Cortisol-Sekretion und Cortisol-Veränderungen aufgewiesen werden konnten (177). Jedoch konnte durch spätere Modifikationen des Testprotokolls ein signifikanter Anstieg der Cortisol-Konzentrationen in virtueller Realität und folglich vergleichbare HPA-Achsen-Aktivierung mit lediglich gering stärkerem Effekt *in vivo* erreicht werden (190).

Während hinsichtlich der Cortisol-Messungen des VR-TSST eine geringere Ansprechrate zu verzeichnen war (177), ist fraglich, ob dieses Muster auf die Zytokin-Sekretion übertragbar ist. Hinweisend hierauf wäre die enge, sekretorische Verbindung zwischen IL-6 und Cortisol, wobei IL-6 als potenter Einflussnehmer auf die HPA-Achse und somit als ein Sekretionsreiz für die Cortisol-Ausschüttung identifiziert wurde (202), (203), (204). So konnte bereits während der Verabreichung einer niedrig dosierten Infusion mit rekombinantem, humanen IL-6 ein signifikanter Anstieg des Plasma-Cortisols festgestellt werden (202), was auf die enge Verbindung zwischen Cortisol-Sekretion und IL-6 hinweist. Es lässt die Überlegung zu, ob bei obig zitierter VR-TSST-Studie mit geringerer Anzahl an Cortisol-Respondern dies zumindest partiell einem fehlenden Anstieg von IL-6 und somit einem fehlenden Sekretionsreiz durch IL-6 zugeschrieben werden könnte.

Während die Probanden der vorliegenden Studie zwar einen signifikanten Anstieg des subjektiven Stresslevels bei Absolvierung des TSST angaben, ist nicht sicher auszuschließen, dass der lediglich durch die virtuelle Realität applizierte, psychosoziale Stress zur Beeinflussung sensibler Parameter wie den Zytokinen nicht ausreichend gewesen sein könnte.

Ergänzend muss die Peak- und Halbwertszeit proinflammatorischer Zytokine in Betracht gezogen werden: Während nach Exposition gegenüber einem akuten Stressor die größte Effektstärke für IL-6 nach 90-120 min verzeichnet wurde, konnte nach einer moderaten Erhöhung von TNF- α binnen 31-50 min bereits nach 60-75 min kein signifikanter Effekt mehr nachgewiesen werden (141). In der vorliegenden Studie erfolgte die Blutentnahme etwa zwei Stunden nach Beginn des TSST, wodurch gemäß obig zitierter Studie der Peak von

TNF- α bereits nicht mehr nachweisbar und der IL-6-Peak ebenfalls bereits wieder abklingend gewesen sein sollte (141). Somit wären, insbesondere im Hinblick auf die deutlich vorgezogene Peak-Zeit von TNF- α , erneut multiple Blutentnahmen nach Beendigung des TSST notwendig, um die zeitlichen Konzentrationsverläufe adäquat darstellen zu können.

Ein interessanter Aspekt der Konzentrationsvergleiche von IL-6 und TNF- α zum Zeitpunkt 5-2 sollte an dieser Stelle jedoch aufgegriffen werden: Bereits vorliegende Studien erbrachten den Nachweis eines Anstiegs von IL-6 und TNF- α nach Exposition gegenüber akuten Stressoren wie beispielsweise dem TSST (141), weshalb auch in der vorliegenden Studie von einem Anstieg der IL-6 und TNF- α Konzentrationen auszugehen gewesen wäre. Dennoch war in der vorliegenden Studie ein Abfall beider Konzentrationen nach TSST im Vergleich zur Baseline zu verzeichnen, wobei IL-6 nicht so stark wie TNF- α abfiel und dieser Abfall kein Signifikanzniveau erreichte. Da die Auswirkungen des TSST auf die TNF- α -Konzentrationen in einer vergleichbaren Studie mit einem *in-vivo*-TSST bereits nach mehr als einer Stunde nicht mehr nachweisbar waren und IL-6 hingegen erst nach mehr als eineinhalb Stunden seinen Peak verzeichnete, könnte die fehlende Signifikanz des IL-6-Abfalls zum Zeitpunkt 5-2 noch auf den Rückstand eines stressinduzierten Peaks und folglich anhaltend erhöhten IL-6-Konzentration zurückgeführt werden.

Zudem muss auch in der vorliegenden Analyse erneut von einer Beeinflussung der Baseline-Erhebung durch die konfundierende Variable der Erwartungsangst und einer daraus resultierenden, zumindest partiell verfälschten, falsch hohen Baseline ausgegangen werden.

Die Baseline wurde mindestens fünf Tage vor Abnahme der Referenzprobe zum Zeitpunkt 5-2 erhoben, weshalb auch hier von einem konfundierenden Einfluss diverser Variablen, wie beispielsweise chronischem, psychosozialen Stress durch die Studienteilnahme, sozioökonomische Faktoren und auch Prüfungsstress ausgegangen werden muss (140), (142). Diese Stressoren könnten sich zwischen den zwei Erhebungszeitpunkten verändert und somit Einfluss auf den Zytokinhaushalt genommen haben.

Eine potentielle Optimierungsmöglichkeit wäre deshalb erneut die Anpassung der Zeitpunkte der Blutentnahmen: Durch den großen, zeitlichen Abstand zwischen den Zeitpunkten 0-1 und 5-2 und der großen Interventionsspanne für die Einflussnahme konfundierender Variablen sollte eine Probenentnahme kurz vor Durchführung des TSST zur Erhebung der prä-TSST-Konzentrations-Baseline in kommenden Studien erwogen werden.

Letztlich muss ein ausschlaggebender Faktor auf den Verlauf der Zytokin-Konzentrationen in Betracht gezogen werden: Die Probanden nahmen zwischen Baseline-Erhebung und

Durchführung des TSST über 5 Tage entweder ein Placebo, Etifoxin oder Alprazolam, weshalb im Folgenden der Einfluss der Studienmedikation auf die Zytokin-Konzentrationen sowie Beeinflussung der Zytokin-Konzentrationen während des Stresstests erläutert werden sollen.

Für Benzodiazepine liegen bereits diverse Nachweise bezüglich einer signifikanten Einflussnahme dieser auf die Ausschüttung proinflammatorischer Zytokine vor: Während in Rattenstudien keine Auswirkung von Alprazolam auf die IL-6 Konzentrationen gesunder, nicht gestresster Ratten nachgewiesen wurde, konnte jedoch nach Exposition gegenüber Restraint-induziertem Stress durch Bewegungsinhibition ein Anstieg von IL-6 verzeichnet werden, der durch Alprazolam dosisabhängig und signifikant gedämpft wurde (205).

Ähnliche Ergebnisse konnten durch Verabreichung von Muscimol, einem GABA_A-Rezeptor-Agonisten, erzielt werden, wobei die medikationsinduzierte IL-6-Sekretionsdämpfung am ehesten der GABA_A-Rezeptor-modulierenden Wirkung zugeschrieben wurde (206). Hieraus kann eine Beteiligung der GABA_A-Modulation an der Alprazolam-assoziierten Sekretionsdämpfung von IL-6 abgeleitet werden.

Bei Betrachtung des Wirkmechanismus auf neuronaler Ebene scheint der Einfluss des Hypothalamus besonders hervorzuheben zu sein: Bewegungs-Zurückhaltung konnte als Stressor bei Ratten selektiv IL-6 magnozelluläre Neuronen aktivieren, sowie die Gen-Expression von IL-6 in Nucleus paraventricularis und Nucleus supraopticus erhöhen (207).

Bei Etifoxin scheint die Studienlage bisher weniger umfangreich, jedoch konnten auch der Applikation von Etifoxin bereits antiinflammatorische Eigenschaften nachgewiesen werden, wenn auch nicht in seiner Rolle als Anxiolytikum, sondern bei Studien zu dessen Auswirkung auf inflammatorische Erkrankungen: So wurde in Zellstudien zur neuroinflammatorischen Erkrankung Multiple Sklerose bei Rattenastrozyten eine Etifoxin-induzierte, signifikant reduzierte Freisetzung von IL-1 β und IL-6 nach Lipopolysaccharid-Stimulation aufgezeigt, ein Effekt auf die TNF- α -Konzentrationen konnte jedoch nur bei höchsten Etifoxin-Dosierungen verzeichnet werden (208). Die modulierenden Einflüsse von Etifoxin auf die Inflamationsparameter wurden hierbei am ehesten der direkten Modulation von Etifoxin am GABA_A-Rezeptor und indirekten Wirkweise über die Corticosteron-Erhöhung zugeschrieben (208). Ähnliches konnte bei einer Studie bezüglich des analgetischen Potentials in einem monoarthritischen Schmerzmodell bei Ratten nachgewiesen werden: Hier konnte die modellinduzierte Elevation der messenger-RNA (mRNA) proinflammatorischer Zytokine wie TNF- α und IL-6 teils bis ganz durch Etifoxin gedämpft werden (75).

Allerdings muss kritisch hinterfragt werden, ob diese experimentellen Tierzellversuche zunächst *in vivo* auf menschliche Probanden und weiterführend auf Stress als inflammatorischen Trigger übertragbar sind. Auch muss zudem die Dosierung von Etifoxin evaluiert werden, da insbesondere für TNF- α eine dosisabhängige Modulation nachgewiesen werden konnte (208).

Letztlich kann lediglich spekuliert werden, wie sich der Konzentrationsverlauf der proinflammatorischen Zytokine nach fünf Tagen Medikamenteneinnahme darstellen würde. Unter Berücksichtigung obig genannter Studie sollte eine alleinige, fünftägige Alprazolam-Gabe ohne Stressexposition keinen Einfluss auf die Konzentrationen proinflammatorischer Zytokine nehmen (205). Interessant wäre die Erforschung, ob diese Hypothese auch auf Etifoxin übertragbar ist, wenn man durch die Alprazolam-induzierte Modulation des GABA_A-Rezeptors (206) von einem ähnlichen Wirkprinzip ausgeht (208).

Nach Stressexposition, wie dem in der vorliegenden Studie applizierten VR-TSST, wäre jedoch aufgrund des nachgewiesenen antiinflammatorischen Potentials von Alprazolam und Etifoxin durchaus ein gruppenspezifischer Unterschied zwischen der Alprazolam- und Placebo-Gruppe sowie potentiell zwischen der Etifoxin- und Placebo-Gruppe zu erwarten gewesen. Dieser konnte jedoch in der vorliegenden Studie nicht aufgezeigt werden.

In kommenden Studien sollte folglich ein besonderes Augenmerk auf die Auswirkung von Alprazolam und Etifoxin bezüglich ihrer modulierenden Eigenschaften auf die proinflammatorischen Zytokine bei stressbedingten, inflammatorischen Triggern gerichtet werden. Dies sollte unter Berücksichtigung der TSST-induzierten Erwartungsangst durch eine zeitnahe Abnahme der Baseline-Blutprobe vor Durchführung des TSST und durch multiple Blutentnahmen mittels Venenverweilkanüle nach Beendigung des TSST zur adäquaten Darstellung des Konzentrationsverlaufes erfolgen. Auch sollten hinsichtlich des im Rattenmodell nachgewiesenen, dosisabhängigen Einflusses von Etifoxin auf TNF- α (208) verschiedene Dosierungen von Etifoxin erwogen werden. Zuletzt sollte zur genaueren Evaluation des Wirkmechanismus der TSPO-Liganden nicht einzig Etifoxin als TSPO-Modulator mit dualem Wirkmechanismus, sondern auch weitere TSPO-Liganden wie beispielsweise der reine TSPO-Modulator XBD173 untersucht werden (27).

4.2.2 Modulation der Chemokin-Konzentrationen im Serum durch akute Stressexposition und anxiolytische Medikation

Die Interpretation der Chemokine Eotaxin-3 und IP-10 war aufgrund eines signifikanten Levene-Tests auf Gleichheit der Fehlervarianzen nicht möglich. Die Analyse der Chemokine MIP-1 β und MCP-1 zeigte auch nach Korrektur des Signifikanzniveaus mittels Bonferroni einen signifikanten Haupteffekt für den Faktor Zeit, wobei es sowohl bei MIP-1 β als auch bei MCP-1 zu einem gruppenunabhängigen Konzentrationsabfall über den Verlauf der Zeit kam. In der Auswertung der Chemokine Eotaxin, TARC, MIP-1 α , MDC und MCP-4 ergaben sich nach Korrektur des Signifikanzniveaus mittels Bonferroni weder eine signifikante Interaktion noch ein signifikanter Haupteffekt für die Faktoren Zeit oder Gruppe.

Chemokine, oder auch chemotaktische Zytokine, nehmen durch ihre Leitung von Leukozyten und weiteren mononukleären Zellen zu Entzündungsherden eine besondere Rolle im Rahmen der Inflammation und somit auch in der Pathogenese diverser Erkrankungen ein (209).

Während Chemokine häufig mit der Pathogenese diverser, meist inflammatorischer Erkrankungen wie der rheumatoiden Arthritis oder auch Atherosklerose in Verbindung gebracht werden, wurde auch eine Beteiligung der Chemokine bei multiplen psychiatrischen Erkrankungen nachgewiesen (209), (210). Im Folgenden soll speziell die Bedeutung der Chemokine in der Depressionsforschung besonders hervorgehoben werden.

Die Serumkonzentrationen der proinflammatorischen Chemokine MIP-1 α und Eotaxin zeigten sich bei Patient*innen mit einer Major-Depression oder depressiven Episode im Vergleich zur gesunden Kontrollgruppe signifikant erhöht (211). Hierbei konnte bei der ebenfalls beschriebenen Erhöhung der MCP-1-Konzentrationen eine potentielle Verfälschung durch eine frühere oder bisherige Antidepressiva-Einnahme allerdings nicht ausgeschlossen werden (211). Die Hypothese einer Verfälschung unterstützend, zeigten sich bei depressiven Patient*innen in darauffolgenden Studien die Serumkonzentrationen von MCP-1 signifikant niedriger als in der gesunden Kontrollgruppe (212), (213), (214), (215). Zudem stiegen in einer Studie von Myung et al die Serumkonzentrationen von MCP-1 sechs Wochen nach Beginn einer medikamentösen Therapie mit Antidepressiva signifikant an, unabhängig davon, ob der Patient auf die antidepressive Medikation ansprach oder nicht (212).

Im Vergleich zur gesunden Kontrollgruppe zeigten sich auch die Serumkonzentrationen von MIP-1 β bei Depressiven bei Lehto et al erniedrigt (214), wobei sich diese jedoch in einer aktuellen Studie von Gao et al bei depressiven Patient*innen erhöht zeigten (215).

Auch konnten im Rahmen der Studie von Gao et al weitere Unterschiede bezüglich der Chemokin-Konzentrationen im Serum depressiver Patient*innen herausgearbeitet werden: Neben erhöhten MIP-1 α -Konzentrationen wurden erniedrigte Serumspiegel von MCP-4, TARC, Eotaxin-3 und MDC nachgewiesen (215).

Zusätzlich wurde das Chemokin MDC mit dem Ansprechen auf eine antidepressive Medikation assoziiert, wobei es sechs Wochen nach Beginn einer antidepressiven Medikation bei Respondern zu einer signifikanten Erhöhung der MDC-Konzentrationen im Serum im Vergleich zu Non-Respondern kam (216).

Limitierend muss hier angeführt werden, dass die aktuelle Studienlage über die Beteiligung der Chemokine bezüglich Pathogenese, Diagnose und Therapieprognose der Depression noch spärlich und teils widersprüchlich erscheint.

Ähnlich wirkt die Studienlage über die Beeinflussung der Chemokin-Konzentrationen durch akuten und chronischen Stress. Durchaus konnten bereits Studien darlegen, dass eine akute oder chronische Stressexposition in gewissem Grad unter gewissen Bedingungen Chemokin-Level beeinflussen kann: Nach wiederholter Exposition gegenüber sozialem Stress konnten 24 Stunden nach der fünften Stressexposition bei Ratten mit passivem Bewältigungsmechanismus signifikant erhöhte Plasma-Konzentrationen von MCP-1 nachgewiesen werden (217). Ein Anstieg der MCP-1-Level nach Exposition gegenüber sozialem Stress konnte ebenso bei Mäusen 20 min nach Applikation von Stress durch eine soziale Niederlage verzeichnet werden (218).

Durch die Applikation von akutem Stress in Form von unvermeidbaren Fuß-Stromstößen konnten bei Mäusen ebenso erhöhte Plasma-Konzentrationen von MIP-1 α und MIP-1 β mit einem Peak von bis zu zwölf Stunden nach Stressexposition nachgewiesen werden (219). Dieser Peak konnte durch eine 24 Stunden zuvor durchgeführte Vorkonditionierung der Mäuse mittels Applikation von Fuß-Stromstößen vorgezogen werden, trat somit früher in Erscheinung und konnte durch einen beschleunigten Konzentrationsanstieg auf etwa eine bis zwei Stunden nach Stressexposition vorverlegt werden (219).

Während sich die Chemokin-Konzentrationen bei Exposition gegenüber akutem Stress tendenziell erhöht zeigten, konnten bei der Erforschung der Auswirkungen von chronischem Stress jedoch erniedrigte Konzentrationen einiger Chemokine verzeichnet werden. So zeigten fünfjährige Kinder, die gemäß den Studienkriterien von Carlsson et al als hoch stressbelastet identifiziert wurden, gegenüber der nicht stressbelasteten Kontrollgruppe eine signifikant niedrigere Spontansekretion von MIP-1 α , MCP-1 und IP-10 (220).

Auch die Exposition gegenüber chronischer psychosozialer und psychophysischer Stressbelastung durch die Arbeitsstelle ging mit geringeren Chemokin-Konzentrationen einher, wobei höhere Angstskala-Werte und Magen-Darm-Beschwerden jeweils mit geringeren Serum-Konzentrationen von Eotaxin und MCP-1 in Verbindung gebracht werden konnten (221).

In der vorliegend durchgeführten Studie konnte nach Applikation von akutem Stress durch den TSST in virtueller Realität lediglich ein gruppenunabhängiger Konzentrationsabfall von MIP-1 β und MCP-1 über den Verlauf der Zeit nachgewiesen werden. Dies steht im Widerspruch zu den obig zitierten Studien an Mäusen und Ratten, wobei es nach Exposition derer gegenüber akutem Stress zu einem Anstieg von MCP-1 und MIP-1 β kam (217), (218), (219). Aufgrund der bisweilen fehlenden Studien an menschlichen Proband*innen kann keine sichere Aussage getroffen werden, ob diese Diskrepanz lediglich auf einen Spezies-abhängigen Unterschied zurückzuführen ist, oder bisher nicht beachtete, konfundierende Faktoren Einfluss auf den Konzentrationsverlauf genommen haben.

Zudem muss bedacht werden, dass der Anstieg von MCP-1 bei Mäusen etwa 20 min nach Stressor-Exposition und bei Ratten sogar erst 24 Stunden nach wiederholter Stressexposition verzeichnet wurde, der Peak von MIP-1 β zeigte sich nach etwa zwölf Stunden (217), (218), (219).

Aufgrund der bisweilen unzureichenden Studienlage bezüglich des Chemokin-Konzentrations-Verlaufes nach akutem Stress bei menschlichen Proband*innen kann somit erneut der Zeitpunkt der Blutentnahme als potentieller, konfundierender Faktor nicht ausgeschlossen werden. Hierbei können sowohl die Erhebung der Baseline-Blutentnahme mindestens fünf Tage vor TSST-Durchführung als auch der zeitliche Abstand nach TSST-Beginn als optimierbar angeführt werden. In der vorliegenden Studie fand die zweite Blutentnahme etwa zwei Stunden nach Beginn des Stresstests statt, sodass zur exakteren Darstellung des Verlaufes der Chemokin-Konzentrationsveränderungen unmittelbar vor dem

TSST eine Blutentnahme zur Erhebung der prä-TSST-Baseline und unmittelbar nach Abschluss des TSST eine Blutentnahme mit multiplen folgenden Messungen durchgeführt werden sollten. Aufgrund der zuvor bei Mäusen beschriebenen, bis zu zwölfstündigen Latenz bis zum Erreichen des Peaks von MIP-1 β (219) sollte für Blutentnahme zudem eine längere Zeitspanne als die bisherigen zwei Stunden angestrebt werden.

Limitierend sollte hinzugefügt werden, dass sich aufgrund des Studiendesigns der vorliegenden Studie die Umsetzung der angestrebten Zeitspanne von zwölf Stunden als schwierig erweist, da bei Beginn des TSST um die Mittagszeit die letzte Blutentnahme erst nach Mitternacht durchzuführen und somit nur erschwert umsetzbar wäre. Deshalb wäre eine Änderung des Studiendesigns um eine Verschiebung des Beginns des TSST in den Vormittag von Nöten, wodurch sich allerdings abermals eine Konfundierung bezüglich zusätzlich erhobener, tageszeitabhängiger Messungen wie von Cortisol ergeben könnte.

Auch sollte der Einfluss einer Medikamenteneinnahme auf die Konzentrationsverläufe der Chemokine weiter evaluiert werden: Während bisher keine Daten bezüglich des medikamentösen Einflusses von Etifoxin oder Alprazolam auf die Chemokin-Konzentrationen unter akuter Stressexposition aufgetan werden konnten, zeigten dennoch diverse Studien, dass Etifoxin und Alprazolam modulierende Effekte auf die Chemokin-Konzentrationen nehmen können. In einem Modell zu Morbus Parkinson konnte bei Mäusen nach Verabreichung von 1-methyl-4phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine-Etifoxin neben geringeren Infiltrationsraten von T-Zellen, Neutrophilen und Makrophagen im Gehirn ebenfalls eine geringere Expression von MIP-1 α im Gehirn nachgewiesen werden (222). Ähnliches konnte bei der Aktivierung von Mikroglia der Maus durch den Toll-Like-Rezeptor-Liganden Pam3CSK4 nachgewiesen werden, wobei sich nach einer Vorinkubation der Mikroglia mit TSP0-Liganden wie Etifoxin deren MCP-1-Sekretion signifikant reduziert zeigte (223). Die Applikation von Alprazolam wiederum konnte bei einer menschlichen Glioblastom-Zelllinie die IL-1 α -bedingte Ausschüttung der mRNA von MCP-1 verringern (224).

Unbeantwortet bleibt vorerst allerdings weiterhin, wie sich die Einnahme von Etifoxin und Alprazolam *in vivo* auf die Peripherie, spezifischer die Serum- und Plasmakonzentrationen der Chemokine, auswirken und ob sich zuvor genannte, inflammationshemmende Eigenschaften von Alprazolam und Etifoxin auch auf den stressassoziierten Chemokin-Anstieg übertragen lassen können. Deshalb sollten die Einflüsse obig genannter Anxiolytika

auf die peripheren Konzentrationen der Chemokine während Exposition gegenüber akutem Stress in weiteren Studien kritisch beleuchtet werden.

4.2.3 Modulation der Angiogenesefaktor-Konzentrationen im Serum durch akute Stressexposition und anxiolytische Medikation

Im Rahmen der Analyse des Angiogenese-Panels war die Interpretation von PlGF aufgrund eines signifikanten Levene-Tests auf Gleichheit der Fehlervarianzen nicht möglich. Die Interpretation von VEGF-D verbat sich wegen eines signifikanten Levene-Tests sowie eines signifikanten Box-Tests auf Gleichheit von Kovarianzen-Matrizen. In der Auswertung der Angiogenese-Faktoren bFGF, Flt-1, Tie-2 und VEGF-C ergaben sich nach Korrektur des Signifikanzniveaus mittels Bonferroni-Korrekturfaktor weder eine signifikante Interaktion noch ein signifikanter Haupteffekt für den Faktor Zeit oder den Faktor Gruppe. Aufgrund der thematischen Relevanz in der Diskussion der Angiogenese wurde die Analyse des VEGF an dieser Stelle aus der Diskussion des Cytokine-Panels vorgezogen, wobei sich ebenfalls weder eine signifikante Interaktion noch ein signifikanter Haupteffekt für den Faktor Zeit oder den Faktor Gruppe ergab.

Zu Beginn soll ein Überblick über die genannten Zytokine verschafft werden: Zu den Zytokinen der VEGF-Familie zählen neben VEGF(-A) auch VEGF-B, VEGF-C, VEGF-D und PlGF (225), (226). Während mittels VEGF ein wichtiger Einfluss auf die Angiogenese und Neovaskularisation genommen wird (225), werden VEGF-C sowohl Eigenschaften zur Angiogenese- als auch Lymphangiogenese-Stimulation, aber auch der Endothelerhaltung zugeschrieben (226), (227). Auch VEGF-D zeigt sich an der Modulation von Blut- und Lymphgefäßen beteiligt, mit dem Potential zur Beeinflussung deren Umbaus (227), (228). Während PlGF neben dem Einfluss auf das Gefäßwachstum eine Vielzahl von Funktionen aufweist, scheint die Relevanz von PlGF wiederum erst während pathologischer Zustände wie Hypoxie, Ischämie oder Entzündungen relevant zu werden (229).

Flt-1, oder auch VEGF-Rezeptor 1 (VEGFR-1), ist einer der VEGF-Rezeptoren, welche als Rezeptor-Tyrosin-Kinasen fungieren (226). Dem gegenüber steht Tie-2 als Teil der Angiopoetin-Rezeptoren (226).

bFGF, oder auch Fibroblastic Growth Factor 2 (FGF-2), ist Teil der FGF-Familie und kann durch autokrine und parakrine Wirkung multifunktionell unter anderem starke Auswirkungen auf die Angiogenese, aber auch Einfluss auf die Differenzierung des zentralen Nervensystems nehmen (230), (231).

Während bereits eine ausführliche Studienlage bezüglich der Zusammenhänge zwischen inflammatorischen Zytokinen und psychiatrischen Erkrankungen wie der Depression (135) vorliegt, scheinen bisher kaum Studien vorzuliegen, die Angiogenese-Faktoren im Kontext von psychiatrischen Erkrankungen oder psychologischen Testsituationen untersuchen.

Die Studienlage bezüglich des Zusammenhangs der Konzentrationsveränderungen von VEGF und der Depression zeigt sich uneinheitlich: Während diverse Studien signifikant erhöhte VEGF-Konzentrationen und assoziierte mRNA-Level bei depressiven Patient*innen im Vergleich zur gesunden Kontrollgruppe aufwiesen, stehen dem Studien gegenüber, die keinen Unterschied oder gar einen inversen Unterschied der VEGF-Konzentrationen beschrieben (232). Diese Diskrepanzen konnten zumindest partiell den unterschiedlichen Studienprotokollen zugeschrieben werden (232).

Dennoch wurde trotz allen bisherigen Unstimmigkeiten die Relevanz der VEGF-Konzentrationen im Rahmen der Depressionsforschung verdeutlicht und das mögliche Potential als richtungsweisender Biomarker bezüglich der Diagnostik und Evaluation des Therapieansprechens bei einer Depression hervorgehoben (232). Auch eine Beteiligung an der Pathogenese sowie Therapiemöglichkeit wurde VEGF aufgrund der VEGF/VEGF-Rezeptor 2-assoziierten Modulation der Blut-Hirn-Schranke zugesprochen (233).

Eine Dysregulation der FGF-Familie konnte wiederum in diversen Hirnarealen bei depressiven Patient*innen nachgewiesen werden (234). Post-mortem Analysen des dorsolateralen präfrontalen Cortex und anterioren cingulären Kortex ergaben bei Erkrankten erniedrigte FGF-1 und FGF-2-Konzentrationen, welche sich unabhängig von antidepressiver Vorbehandlung zeigten (235). Ebenfalls konnten reduzierte Konzentrationen von bFGF-mRNA im Hippocampus nachgewiesen werden (236). In Diskrepanz hierzu konnten jedoch in weiteren Studien post-mortem keine Veränderungen der Genexpression von bFGF im präfrontalen Kortex nachgewiesen werden (237), (238). Auch hinsichtlich der peripheren bFGF-Expression liegt eine uneinheitliche Studienlage vor, wobei jedoch die Behandlung mit Antidepressiva als ein konfundierender Einfluss auf die bFGF-Konzentrationen identifiziert werden konnte (238).

Allerdings scheint bFGF nicht nur in der Diagnostik, sondern auch in der potentiellen Therapie der Depression ein interessantes Zytokin darzustellen: Bei Mäusen konnte in einem Modell der Depression, welche durch Applikation von chronischem, unvorhersehbaren,

milden Stress induziert wurde, durch die periphere Verabreichung von FGF-2 eine antidepressive Wirkung nachgewiesen werden (239).

Dies scheint neben der Depressionsforschung auch im Rahmen der Angstforschung von Relevanz. Ratten mit genetisch bedingter, höherer Ängstlichkeit zeigten signifikant erniedrigte Konzentrationen von FGF-2-mRNA im Hippocampus im Vergleich zu Ratten mit geringer Ängstlichkeit (240). Periphere Applikationen von FGF-2 konnten über einen dreiwöchigen Zeitraum jedoch eine Reduktion des Angstverhaltens bei den Ratten mit hoher Ängstlichkeit erzielen (240).

Im Rahmen der Stressforschung bezüglich der Assoziation zwischen Stress und Angiogenese steht bisher lediglich primär der chronische Stress im Fokus:

So konnte bereits vielfach dargelegt werden, dass die Exposition gegenüber chronischem Stress in schweren, gesundheitlichen Folgen resultieren kann und insbesondere chronischer Stress immunologische (140), (144) und endokrinologische Funktionen (93), (111) beeinflusst. Aber auch die Entstehung und Entwicklung von Krebs kann durch chronischen Stress gefördert werden (241). Neben stressassoziiierter Inflammation durch proinflammatorische Zytokine konnte hierbei insbesondere eine Verbindung zwischen chronischem Stress und der Angiogenese aufgezeigt werden (241). In einem Mausmodell zur Auswirkung von chronischem Stress auf das Ovarialkarzinom konnte gezeigt werden, dass die Exposition gegenüber einem chronischen Stressor sowohl Tumorlast als auch Tumorwachstum und Angiogenese beeinflusst (242). Tiere, die dem chronischen Stressor, dem hierfür modifizierten Restraint-System, ausgesetzt waren, zeigten eine deutlich erhöhte Tumervaskularisation und eine erhöhte Expression von Angiogenese-Faktoren wie VEGF (242). Somit konnte nachgewiesen werden, dass die Auswirkungen von chronischer Stressexposition auf das Tumorwachstum unter anderem durch Angiogenese-Faktoren initiiert wurde (242). Insbesondere VEGF wurde hierbei mit der Vermittlung des stressbedingten Tumorwachstums und dessen Beschleunigung in Verbindung gebracht (242).

Auch auf neuronaler Ebene konnten die Angiogenese-Faktoren mit chronischem Stress assoziiert werden: Nach Applikation von chronischem Stress konnten bei Ratten signifikant verminderte VEGF-Konzentrationen im Stratum granulare des Hippocampus nachgewiesen werden, wobei eine Regeneration nach drei Wochen stressfreier Erholung eintrat (243). Bei damit einhergehender, erniedrigter, neuronaler Proliferation im Hippocampus wurde somit die

Relevanz der Konzentration der Angiogenese-Faktoren an der neuronalen Proliferation nach Exposition gegenüber chronischem Stress aufgezeigt (243).

In der vorliegenden Studie konnte nach Applikation von akutem Stress durch den TSST in virtueller Realität jedoch keine signifikanten Veränderungen der Angiogenese-Faktoren in der Peripherie verzeichnet werden. Aufgrund der bisher nur unzureichend vorliegenden Studienlage kann lediglich spekuliert werden, ob und wie sich akuter Stress auf die peripheren Konzentrationen von Angiogenese-Faktoren auswirkt. Auch konnten bislang keine Daten bezüglich des zeitlichen Verlaufs der Konzentrationsveränderungen der Angiogenese-Faktoren auf akuten Stress aufgetan werden. In der vorliegenden Studie wurde die Blutentnahme etwa zwei Stunden nach Beginn des Stresstests durchgeführt, wobei hier die Möglichkeit besteht, dass der Peak der Angiogenese-Veränderungen gegebenenfalls früher oder auch deutlich später zu erwarten sein könnte.

Somit wäre es von großer Relevanz, das Angiogenese-Panel unmittelbar vor dem TSST und in mehreren Messungen danach zu bestimmen, um die Auswirkungen von akutem Stress auf die peripheren Konzentrationen der Angiogenese-Faktoren darzustellen. Auch könnte das Spektrum der potentiell relevanten Angiogenese-Faktoren hinsichtlich der psychiatrischen Forschung und Stressforschung durch diese Erkenntnisse erweitert werden, da in bisherig vorliegenden Studien der Hauptfokus insbesondere auf VEGF und bFGF gelegt wurde. Angiogenese-Faktoren wie Flt-1, Tie-2, PlGF, VEGF-C und VEGF-D hingegen wurden bisher kaum beachtet.

Hierbei muss die Möglichkeit in Betracht gezogen werden, dass die Applikation von akutem Stress gegebenenfalls nicht ausreicht, um die Angiogenese akut und kurzfristig zu beeinflussen. Ergänzend sollte das Angiogenese-Panel deshalb in obiger Konstellation nach Applikation von chronischem Stress bei gesunden Probanden, beispielsweise in Form von chronischem Examenstress oder durch die Pflege von erkrankten Angehörigen, ausgewertet werden, um die vorliegende Datenlage um das Spektrum obig genannter Angiogenese-Faktoren zu erweitern.

Weiterhin wären, neben der Erforschung der Auswirkungen von akutem als auch von chronischem Stress auf die Konzentrationsveränderungen der Angiogenese-Faktoren selbst, ebenfalls die Konzentrationsveränderungen der entsprechenden mRNAs der Angiogenese-Faktoren interessant. Insbesondere im Hinblick darauf, ob durch den Einfluss von Stressoren Veränderungen der Genexpression festgestellt werden können und diese letztlich in

potentielle Diskrepanz zu nachweisbaren Konzentrationsveränderungen in der Peripherie zu setzen sind.

Auch sollte die in der vorliegenden Studie durchgeführte Medikamenteneinnahme im Rahmen zukünftiger Studien bezüglich Therapieoptionen stressassoziierter Erkrankungen eine wichtige Rolle spielen, weshalb auch die Einflüsse von Anxiolytika auf die Konzentrationen von Angiogenese-Faktoren während Exposition gegenüber akutem und chronischem Stress in weiteren Studien tiefer evaluiert werden sollten.

4.2.4 Modulation der inflammationsmodulierenden Zytokin-Konzentrationen im Serum durch akute Stressexposition und anxiolytische Medikation

Im Panel der Zytokine konnte aufgrund eines signifikanten Levene-Tests auf Gleichheit der Fehlervarianzen keine Interpretation von IL-15 erfolgen.

IL-12/IL-23p40 zeigte einen signifikanten Haupteffekt für den Faktor Zeit, wobei es zu einem gruppenunabhängigen Konzentrationsanstieg über den Verlauf der Zeit kam.

Bei den Interleukinen IL-7 und IL-16 konnten weder eine signifikante Interaktion noch ein signifikanter Haupteffekt für die Faktoren Zeit oder Gruppe nachgewiesen werden.

Die Analyse von VEGF wurde bereits in der Interpretation der Angiogenese-Faktoren erläutert.

Während die in diesem Kapitel untersuchten Interleukine wichtige Rollen in der zellulären Immunabwehr einnehmen, wie IL-7 und IL-15 beispielsweise durch die Entwicklung und Regulation der lymphatischen Immunabwehr (244), (245), IL-16 durch dessen chemoattraktive Wirkung oder Beeinflussung der Zytokin-Sekretion (246) oder auch IL-12/IL-23p40 durch Modulation der T-Zell-Antwort auf Inflammation und Modulation der Zytokin-Sekretion (247), (248), konnte auch im Rahmen der psychiatrischen Forschung eine besondere Relevanz dieser Zytokine herausgearbeitet werden:

Bei depressiven Patient*innen konnten teils signifikant erniedrigte Interleukin-7-Konzentrationen nachgewiesen werden, wobei sich die Konzentrationsdifferenz unabhängig von diversen, konfundierenden Variablen zeigte (249), (250). Darüber hinaus wurde eine negative Korrelation zwischen IL-7-Konzentrationen und dem testpsychologisch festgestellten Schweregrad der Depression herausgearbeitet (249). Jedoch zeigte sich auch hier die Studienlage teils widersprüchlich, wobei Simon et al bei depressiven Patient*innen erhöhte Serum-Konzentrationen von IL-7 nachwies (211). Allerdings lies sich in dieser

Studie nach Korrektur der Patient*innen bezüglich einer bisherigen Einnahme eines Antidepressivums kein signifikanter Unterschied mehr feststellen, wodurch die Einnahme eines Antidepressivums in der Vorgeschichte als potentielle, konfundierende Variable herausgearbeitet werden konnte (211).

Dysregulationen bezüglich Interleukin-15 hingegen wurden in der Forschung zur laborchemischen Differenzierung zwischen einer unipolaren Depression und bipolaren Störung mit depressiver Phase allerdings eher mit der bipolaren Störung in Verbindung gebracht (251). Insgesamt scheint auch hier die Studienlage noch spärlich und auch im Rahmen der Angst- und Stressforschung scheint noch viel Forschungsbedarf:

In einem Versuch an Knockout-Mäusen ohne IL-15 oder seine Rezeptoren zeigten diese während Exposition gegenüber Angst auslösenden Experimenten einen verringerten Angstzustand, eine direkte Injektion mit IL-15 konnte hingegen keine Verhaltensveränderungen während der durchgeführten Testungen hervorrufen (252).

Durch die Applikation von chronischem, sozialen Stress durch soziale Niederlage bei männlichen Mäusen konnten ebenfalls Veränderungen der proinflammatorischen Zytokine beobachtet werden: Die Mäuse, die einer chronischen Niederlage ausgesetzt wurden, zeigten signifikant erhöhte Serumwerte des proinflammatorischen IL-7, während sich IL-15 im Vergleich zur Kontrollgruppe ebenfalls erhöht, wenn auch nicht signifikant erhöht zeigte (253).

Zudem konnte in einer Studie an Patient*innen mit einer chronischen lymphatischen Leukämie nachgewiesen werden, dass höhere Stresslevel mit erhöhten Plasma-Konzentrationen des proinflammatorischen IL-16 einher gingen (254). Hierdurch kann diese Studie zumindest als Anhaltspunkt für die Assoziation zwischen Stressexposition und IL-16-Konzentrationsmodifikationen herangezogen werden (254). Bei Betrachtung dieser Studie müssen allerdings die zahlreichen, potentiell konfundierenden Faktoren wie die Erkrankung selbst, das Geschlecht der Patient*innen, weitere Co-Morbiditäten, die eingenommenen Medikamente sowie das untersuchte Medium Plasma selbst berücksichtigt werden (254).

Diese These unterstützend scheint eine Studie bezüglich Prüfungsstress bei Medizinstudent*innen: Während der Exposition von gesunden Medizinstudent*innen gegenüber Prüfungsstress als Stressor konnten signifikante Konzentrationsveränderungen von IL-16 beschrieben werden, wonach am ersten Tag der Examensperiode signifikant erniedrigte IL-16-Konzentrationen im Vergleich zu zwei Tagen nach der Examensperiode festgestellt werden konnten (255). Nach Bonferroni-Korrektur bezüglich multiplem Testen zeigte sich dieser Effekt jedoch nicht mehr signifikant (255). Die untersuchten

Konzentrationsveränderungen der Zytokine IL-7 und IL-15 zeigten sich in keiner der statistischen Analysemodelle signifikant (255). In ähnlichem Studiendesign mit gesunden Medizinstudent*innen während der Prüfungsphase konnten durch Evaluation diverser Zytokine hinsichtlich IL-15 und insbesondere auch IL-16 keine signifikanten Konzentrationsveränderungen beobachtet werden (256).

Während für IL-12/IL-23p40 per se keine Studien bezüglich ihrer Assoziation mit Stressexposition aufgetan werden konnten, müssen hierfür auch die einzelnen Komponenten herangezogen werden: Bei der Entdeckung von IL-23 wurde erstmals festgestellt, dass die Untereinheit p19 mit der p40-Untereinheit von IL-12, welchem lediglich als p35p40-Komplex eine biologische Funktion nachgewiesen werden konnte, eine Verbindung eingeht und hierdurch das biologisch aktive p19p40 Heterodimer bildet, welches namentlich als IL-23 geprägt wurde (257). IL-12 und IL-23 teilen sich somit eine gemeinsame Untereinheit, p40 (257).

In einer Studie über die Auswirkungen von andauerndem Prüfungsstress konnte bei einem Vergleich der IL-12-Konzentrationen im Speichel zwischen Baseline und Absolvierung des dritten Tests ein steter Anstieg von IL-12 verzeichnet werden (258). Während diese Studie mit einer sehr kleinen Probandenzahl, keiner Korrektur auf den Menstruationszyklus sowie der Wahl des Mediums Saliva selbst einige Schwachpunkte aufweist, kann sie jedoch Anhaltspunkte dafür bieten, dass Stress auch die menschliche IL-12-Sekretion beeinflusst (259). Diese These stützt die Forschungsarbeit von Breen et al, wobei es nach Exposition gegenüber einem akuten, psychischen Stressor in Form eines Fallschirmsprungs zu einer signifikanten Hochregulierung von den Genen kam, welche als Beteiligte an der IL-12-vermittelten Signalübertragung identifiziert werden konnten (260). In Kontext mit der Funktion von IL-12, wie der T-Zell-Differenzierung oder der Beeinflussung natürlicher Killerzellen, wurde dies am ehesten als „Priming“ der proinflammatorischen Reaktion des Körpers gewertet (260).

Im Widerspruch hierzu steht eine Rattenstudie zu IL-12-Konzentrationsveränderungen bei Exposition gegenüber akutem und chronischem Stress: In mehreren Unterstudien konnte hierbei sowohl bei Applikation von akutem als auch chronischem Stress eine signifikante Reduktion von IL-12 aufgezeigt werden (261).

Letztlich konnten während der Literaturrecherche neben der ohnehin spärlichen Studienlage in der Stressforschung keine Anhaltspunkte für die Beeinflussung von anxiolytischer

Medikation wie Alprazolam oder Etifoxin auf die Zytokine IL-7, IL-12/IL-23p40, IL-15 und IL-16 gefunden werden.

Nach Exposition der an der vorliegenden Studie teilnehmenden Probanden gegenüber akutem, psychosozialen Stress in Form des TSST in virtueller Realität konnten neben einem signifikanten Haupteffekt für den Faktor Zeit für IL-12/IL-23p40 mit gruppenunabhängigem Konzentrationsanstieg über die Studienteilnahme keine signifikanten Veränderungen von IL-7 und IL-16 detektiert werden.

Insgesamt ist insbesondere hinsichtlich IL12/IL-23p40, aber auch für IL-12 und IL-23 die Studienlage bisweilen zu karg und widersprüchlich, um eine interpretatorische Aussage hierüber wagen zu können.

Breen et al wertete die in deren Studie beobachtete Vermehrung an Genen der IL-12 assoziierten Signalübertragungskaskade als Anstoß der proinflammatorischen Reaktion des menschlichen Körpers auf Stressexposition (260). Auch wurde IL-12 bereits als äußerst maßgebender Förderer der Interferon- γ -Synthese und Hemmer der IL-4-Synthese identifiziert (262). Es wurde bisher hinreichend belegt, dass akuter Stress eine inflammatorische Reaktion hervorruft (263). Der genaue Ablauf und die exakte Identifikation der Komponenten der Signalkaskade, welche der Inflammation zugrunde liegt, bleibt allerdings weiterhin nicht vollständig geklärt. Auch, inwieweit das in der Studie untersuchte IL-12/IL-23p40 per se involviert ist, bleibt bis dato nicht beantwortbar.

Aufgrund der spärlichen Studienlage bleibt auch hier lediglich zu spekulieren, ob eine akute, psychosoziale Stressexposition eine akute oder latente Auswirkung auf die Ausschüttung obig diskutierter Zytokine hat.

Inbesondere IL-16 scheint aufgrund der bisherigen Studienlage als vielversprechendes Zytokin hervorgehoben werden zu können, wobei in den bisherigen Studien weder bei IL-16 noch bei IL-7, IL-12/IL-23p40 oder IL-15 ein Forschungsfokus auf den zeitlichen Verlauf der potentiellen Konzentrationsveränderungen gelegt wurde.

Wie bei den zuvor diskutierten Zytokin-Panels erfolgte auch hier die Blutentnahme etwa zwei Stunden nach Beginn des Stresstests, sodass erneut die Eventualität nicht ausgeschlossen werden kann, dass die Peaks der entsprechenden Zytokine früher oder auch deutlich später zu erwarten sein könnten. Somit sollten Serumproben auch für dieses Zytokin-Panel unmittelbar vor dem TSST und in mehreren Messungen nach Absolvierung asserviert werden, um den

zeitlichen Verlauf der Auswirkungen von akutem Stress auf die peripheren Konzentrationen der Zytokine adäquat abzubilden.

Auch sollte unter Berücksichtigung einer Studie von Hall et al über IL-7 bei Alzheimer-Patient*innen mit Depression zudem die zu untersuchende Blutprobe genauer evaluiert werden (264): Während bei Männern die Serum-Konzentrationen von IL-7 signifikant positiv mit dem testpsychologisch evaluierten Schweregrad der Depression assoziiert waren, gingen bei Frauen die Plasma-Konzentrationen von IL-7 signifikant negativ mit dem testpsychologischen Schweregrad der Depression einher (264). Auch dieses geschlechts- und Untersuchungsmedium-abhängige Phänomen sollte in kommenden Studien, insbesondere im Hinblick auf die Stressforschung, genauer evaluiert werden. So sollte die gleichzeitige Erhebung und Messung von Plasma- und Serumkonzentrationen erwogen und letztlich die beobachteten Veränderungen auf Geschlechtsspezifität geprüft werden.

Da, wie dargelegt, bereits Nachweise über die Auswirkungen von chronischem Stress auf die Konzentrationen von IL-7, IL-15 und IL-16 gelangen (253), (254), (255), sollte zudem das Cytokine-Panel bei einer weiteren Studie mit Applikation von chronischem Stress bei gesunden Proband*innen erweitert werden, um die aktuell vorliegende, noch spärliche Datenlage zu ergänzen.

Letztlich bleibt natürlich auch der Einfluss von anxiolytischer Medikation von großer Relevanz. Zum Zeitpunkt der Fertigstellung dieser Arbeit lagen keine Studienergebnisse hierüber vor, sodass auch hier lediglich über die Auswirkungen einer Medikamenteneinnahme spekuliert werden kann. Insbesondere, da Etifoxin bereits in Rattenstudien antiinflammatorische Eigenschaften bei den Zytokinen IL-1 β , IL-6, TNF- α und partiell deren mRNAs gezeigt hatte (75), (208), könnte vermutet werden, dass auch bei den obig untersuchten, proinflammatorischen Zytokinen Konzentrationsveränderungen durch wiederholte Etifoxin-Einnahme zu erwarten wären. Deshalb sollten auch in künftigen Studien die Einflüsse von Anxiolytika wie Etifoxin oder Benzodiazepinen auf die untersuchten Zytokine während Exposition gegenüber akutem und chronischem Stress tiefer evaluiert werden.

5 Zusammenfassung

Angststörungen und unipolare Depressionen sind die in Deutschland häufigsten psychischen Erkrankungen und zeigen eine hohe Prävalenz (6). In der multifaktoriellen, komplexen Entstehungshypothese dieser Erkrankungen wird der Stressexposition und dem Umgang mit stressigen Lebenssituationen eine bedeutende Rolle beigemessen (4), (10), (12). Ein potentieller, therapeutisch-präventiver Ansatz zum Umgang mit akutem Stress könnte deshalb in der medikamentösen Therapie liegen, wobei sich neben den Benzodiazepinen, welche eine Vielzahl an unerwünschten Nebenwirkungen mit sich bringen (19), (20), (24), insbesondere das Translokator-Protein 18 kDa (TSPO) als vielversprechender Ansatzpunkt erwiesen hat (27): Das TSPO ist als Transmembran-Protein der äußeren Mitochondrienmembran maßgeblich an der Steroid- und Neurosteroidhormon-Synthese beteiligt (37), (38), (57). Dessen Ligand Etifoxin mit einem dualen Wirkmechanismus als GABA_A-Rezeptor-Modulator und TSPO-Ligand (78), (81), (85) konnte bereits ein anxiolytisches Potential mit geringerem Nebenwirkungspotential als gängige Benzodiazepine nachgewiesen werden (70), (71), (82), (84). Dadurch sollte dessen Einsatz als kurzfristige, pharmakologische Akutintervention bei akutem Stress in Betracht gezogen werden.

Als Biomarker für die Stressexposition kann unter anderem Cortisol herangezogen werden, welches als Teil der Hypothalamus-Hypophysen-Nebennierenrinden-Achse (93), (94) bei akuter und chronischer Exposition gegenüber psychischem Stress mit erhöhten Blutkonzentrationen einher geht (93), (97), (107).

Auch wurde die Dysregulation diverser Zytokine, wie beispielsweise IL-6 oder TNF- α , bereits sowohl mit einer Depression (134), (135) als auch mit einer systemischen Inflammationsreaktion auf akute Stressexposition assoziiert (141), (143), wodurch die Gruppen der Zytokine als weitere, interessante Biomarker zur Evaluation der systemischen Stressreaktion fungieren können.

Das Ziel der vorliegenden Studie war nun die Erforschung des Einflusses einer anxiolytischen Medikation auf gesunde, männliche Probanden unter Exposition gegenüber akutem, psychosozialen Stress, insbesondere hinsichtlich der Veränderung molekularer Marker von Stress und Angst. Es wurden die Serum-Konzentrationsverläufe von Cortisol sowie diverser Zytokine im zeitlichen Verlauf der Studienteilnahme gemessen und in Zusammenhang mit der aktuell vorliegenden Studienlage gestellt.

Hierfür unterzogen sich 60 physisch und psychisch gesunde männliche Probanden einer fünftägigen, randomisierten, dreiarmigen und doppelt verblindeten Medikamentenstudie, wobei über fünf Tage dreimal täglich die Einnahme je eines Placebos, 0,5 mg Alprazolam oder 50 mg Etifoxin erfolgte. Im Rahmen der Studienteilnahme absolvierten die Probanden diverse psychologische Fragebögen sowie multiple Blutentnahmen und Stresstests, wobei an dieser Stelle insbesondere der TSST am letzten Tag der Studienteilnahme hervorzuheben ist.

Während sich nach einer fünftägigen Alprazolam-Einnahme die Cortisol-Serum-Konzentrationen im Vergleich zur Placebo-Interventionsgruppe sowohl vor als auch nach Absolvierung des TSST signifikant niedriger und somit im Einklang mit diversen Studienergebnissen zeigten, konnte kein signifikanter Konzentrationsunterschied zwischen der Etifoxin- und Placebo-Interventionsgruppe nachgewiesen werden. Obwohl multiple, konfundierende Variablen wie der Zeitpunkt der Blutentnahmen in Abhängigkeit von zirkadianer Rhythmik und Halbwertszeit, der Antizipationsstress, der Placeboeffekt oder die Durchführung des TSST in virtueller Realität per se in Betracht gezogen werden müssen und die vorliegenden Ergebnisse folglich nur mit Vorsicht zu interpretieren sind, bietet die vorliegende Datenlage dennoch neue Aufschlüsse über den Wirkmechanismus von Etifoxin, besonders hinsichtlich des geringeren Einflusses auf die HPA-Achse trotz GABAerger Modulation. Eine potentiell Dosis-abhängige Einflussnahme von Etifoxin auf die Cortisol-Konzentrationen sowie den HPA-Achsen-Vorläufer ACTH sollte ebenfalls in weiterführenden Studien evaluiert werden.

Zudem konnten bei der Analyse der Zytokin-Konzentrationsveränderungen mehrere gruppenunabhängig signifikante Konzentrationsveränderungen der Zytokine über den Verlauf der Zeit beobachtet werden, jedoch ohne möglichen Rückschluss auf die Auswirkungen von Medikamenten auf die Konzentrationsverläufe. So zeigte sich eine gruppenunabhängige Konzentrationssteigerung über den Verlauf der Zeit bei IL-12/IL-23p40, während bei TNF- α , MCP-1 und MIP-1 β ein gruppenunabhängiger Konzentrationsabfall über den Verlauf der Zeit zu verzeichnen war.

Bis auf wenige Ausnahmen scheint das Gebiet der Zytokine noch ein sehr unerforschtes Thema, zu dem insbesondere in der Stressforschung bezüglich akuter Stressexposition lediglich eine spärliche und teils widersprüchliche Datenlage vorliegt.

Bei erneut vorliegenden, potentiell konfundierenden Variablen wie dem Zeitpunkt der Blutentnahme bei zum Teil nicht bekannten Peak-Zeitpunkten der jeweiligen Zytokine, einer

möglichen Dosis-abhängigen Zytokin-Beeinflussung von Etifoxin und auch dem TSST als gegebenenfalls nicht ausreichenden Stress-Trigger an sich, sollte die vorliegende Studie lediglich als Basis für künftige Studien gewertet werden: Zur Komplettierung der bisherigen Studienlage sollte ein Hauptaugenmerk auf die exakten Konzentrationsverläufe der in der vorliegenden Studie untersuchten Zytokine nach akuter und chronischer Stressexposition gelegt werden, um den zeitlichen Verlauf der Konzentrationsveränderungen genau darstellen zu können. Des Weiteren sollten die Einflüsse anxiolytischer Medikationen wie Etifoxin in weiteren Studien evaluiert werden, um somit eine Verbindung zwischen subjektivem Stressempfinden und objektiver, systemischer Stressreaktion zu schaffen.

Zusammenfassend konnten in der vorliegenden Studie nach akuter, psychosozialer Stressexposition in virtueller Realität diverse Veränderungen der molekularen Marker von Stress und Angst nachgewiesen werden. Unbeantwortet bleibt allerdings weiterhin die Frage, inwieweit das Anxiolytikum Etifoxin neben seiner angstreduzierenden Wirkung auf das subjektive Angstempfinden auch die objektiven, molekularen Stressparameter beeinflussen und somit auch auf zellulärer Ebene präventive Einflüsse auf das Stresserleben nehmen kann. Deshalb sollten kommende Forschungsarbeiten darauf abzielen, dieses Wissen zu ergänzen und hierdurch einen potentiellen, medikamentös-präventiven Ansatzpunkt bei akuter Stressexposition zu schaffen, um auf lange Sicht zur Vermeidung der Entwicklung chronisch psychischer Folgeerkrankungen beizutragen.

6 Anhang

6.1 Abkürzungsverzeichnis

Gängige Abkürzungen aus der Medizin und Biochemie, S.I.-Einheiten sowie davon abgeleitete Einheiten und geläufige Abkürzungen der deutschen Sprache werden als bekannt vorausgesetzt.

Å	Ångström
ACG	Adenin-Cytosin-Guanin; Threonin.Codon
ACTH	Adrenocorticotropes Hormon / Corticotropin
AMG	Arzneimittelgesetz
ANOVA	Analysis of Variance, Varianzanalyse
ASI-3	Angstsensitivitätsindex 3
ATC	anatomisch-therapeutisch-chemisches Klassifikationssystem
AX-CPT	Continuous Performance Test in der AX-Version
BfArM	Bundesinstitut für Arzneimittel und Medizinprodukte
bFGF	Basic Fibroblast Growth Factor / Basischer Fibroblasten-Wachstumsfaktor
BSQ	Body Sensations Questionnaire and the Agoraphobic Cognitions Questionnaire
C-Terminus	Carboxy-Terminus
CBG	Corticosteroid-Binding Globulin / Transcortin
CI	Confidence Interval / Konfidenzintervall
CRAC	Cholesterol Recognition Sequence
CRF	Case Report Form
CRH	Corticotropin-Releasing-Hormone
CRP	C-reaktives Protein
Cu-DDC	Kupfer(II)-Diethyldithiocarbamat
CYP11A1	Cytochrome P450 Family 11 Subfamily A Member 1
CYP3A4	Cytochrome P450 Family 3A4
dB	Dezibel
DBI	Diazepam binding inhibitor
DFG	Deutsche Forschungsgemeinschaft
dl	Deziliter
DRESS	Drug Rash with Eosinophilia and Systemic Symptoms

DRKS	Deutsches Register Klinischer Studien
DTI	Diffusions-Tensor-Imaging / Diffusions-Tensor-Bildgebung
EDTA	Ethylendiamintetraessigsäure
Eudra-CT	European Union Drug Regulating Authorities Clinical Trials Database
EKG	Elektrokardiogramm
ELISA	Enzyme-linked Immunosorbent Assay
FGF	Fibroblastic Growth Factor / Fibroblasten-Wachstumsfaktor
Flt-1	Fms-like Tyrosine Kinase
FNE-K	Furcht vor negativer Evaluation - Kurzsкала
g	Erdbeschleunigung
GABA	γ -Aminobuttersäure
GABA _A - Rezeptor	γ -Aminobuttersäure-A-Rezeptor
GCG	Guanin-Cytosin-Guanin; Alanin-Codon
GCP	Good Clinical Practice / Gute klinische Praxis
GCP-V	GCP-Verordnung
GOT	Glutamat-Oxalacetat-Transaminase
GPT	Glutamat-Pyruvat-Transaminase
HPA-Achse	Hypothalamic-pituitary-adrenal axis / Hypothalamus-Hypophysen-Nebennierenrinden-Achse
HR	Heart Rate / Herzfrequenz
ICD-10	International Classification of Diseases and Health related Problems, 10th Revision / Internationale statistische Klassifikation der Krankheiten und verwandter Gesundheitsprobleme, 10. Revision
IFN	Interferon
IL	Interleukin
IP-10	Interferon- γ induced protein
IPQ	Igroup Presence Questionnaire, Fragebogen zum Erleben in Computerwelten
IUS-18	Intolerance of Uncertainty Scale 18
<i>k</i>	Anzahl der durchgeführten statistischen Tests im Rahmen des Bonferroni-Korrekturfaktors
kDa	Kilodalton

MCP-1	Monocyte Chemoattractant Protein 1
MCP-4	Monocyte Chemoattractant Protein 4
MDC	Macrophage-Derived Chemokine
MINI	Mini International Neuropsychiatric Interview
MIP-1 α	Macrophage Inflammatory Protein 1 α
MIP-1 β	Macrophage Inflammatory Protein 1 β
miRNA	Micro-RNA, Micro- Ribonukleinsäure
ml	Milliliter
mmHg	Millimeter-Quecksilbersäule
MPRage	Magnetization Prepared - Rapid Gradient Echo
mRNA	Messenger-RNA, Messenger- Ribonukleinsäure
MRT	Magnetresonanztomographie
N-Bedingung	Neutrale Bedingung
N-Terminus	Amino-Terminus
<i>p</i>	<i>p</i> -Wert
P-Bedingung	Predictable / vorhersehbare Bedingung
p19	Untereinheit p19
p40	Untereinheit p40
P450scc	Cholesterin-Monooxygenase
Pam3CSK4	Pam3CysSerLys4
PANAS	Positive and Negative Affect Schedule
PBMC	Peripheral Blood Mononuclear Cell / mononukleäre Zellen des peripheren Blutes
PBR	Peripherer Benzodiazepin-Rezeptor
PBR28	Peripheral Binding Receptor 28
PIGF	Placental Growth Factor / Plazenta-Wachstumsfaktor
PPIX	Protoporphyrin IX
RCF	Relative Centrifugal Force / Relative Zentrifugalkraft
rpm	Round per Minute / Umdrehungen pro Minute
SD	Standard Deviation / Standardabweichung
SmPC	Summary of Product Characteristics / Zusammenfassung der Merkmale des Arzneimittels

SNP	Single Nucleotide Polymorphism / Einzelnukleotidpolymorphismus
SSPS	Self Statements During Public Speaking Scale / Selbstbezogene Aussagen während öffentlichen Sprechens
STAI	Spielberger State-Trait-Angst-Inventar
SUDS	Subjective Units of Distress Scale
SVF 120	Stressverarbeitungsfragebogen 120
SVF-42ak	Stressverarbeitungsfragebogen 42-aktuell
T	Tesla
TARC	Thymus and Activation-regulated Chemokine
Tie-2	Tyrosin-Kinase 2, Angiopoietin-1-Rezeptor
TM	Transmembrane Helix
TNF	Tumornekrosefaktor
TSPO	Translokator Protein 18 kDa
TSST	Trier Social Stress Test
U-Bedingung	Unpredictable / unvorhersehbare Bedingung
U/l	Unit pro Liter
VAS	Visuelle Analogskala
VEGF	Vascular Endothelial Growth Factor / Endothelwachstumsfaktor
VEGF-C	Vascular Endothelial Growth Factor C / Endothelwachstumsfaktor C
VEGF-D	Vascular Endothelial Growth Factor D / Endothelwachstumsfaktor D
VEGFR-1	VEGF-Rezeptor 1
VR-TSST	Trier Social Stress Test in virtueller Realität
$\bar{x} \pm s$	Mittelwert plus/minus Standardabweichung
ZNS	Zentrales Nervensystem
μl	Mikroliter

6.2 Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Einschlusskriterien für die Studienteilnahme, gemäß des CRF	26
Tabelle 2: Ausschlusskriterien für die Studienteilnahme, gemäß des CRF	27
Tabelle 3: Physiologische Parameter der Probanden, vgl. Bahr, 2020 (149).....	28
Tabelle 4: Darstellung der häufigsten Nebenwirkungen von Etifoxin, modifiziert gemäß der SmPC (157), vergleiche Bahr, 2020 (149).....	30
Tabelle 5: Darstellung der häufigsten Nebenwirkungen, modifiziert gemäß der Fachinformation von Alprazolam (160), vergleiche Bahr, 2020 (149)	31
Tabelle 6: Zeitlicher Ablauf der Voruntersuchung.....	34
Tabelle 7: Zeitlicher Ablauf von Tag 1 der Studienteilnahme	35
Tabelle 8: Zeitlicher Ablauf von Tag 2 und Tag 3 der Studienteilnahme.....	35
Tabelle 9: Zeitlicher Ablauf von Tag 4 der Studienteilnahme	36
Tabelle 10: Zeitlicher Ablauf von Tag 5 der Studienteilnahme	38
Tabelle 11: Blutentnahme zum Zeitpunkt 0-1	39
Tabelle 12: Blutentnahme zum Zeitpunkt 1-1	39
Tabelle 13: Blutentnahme zum Zeitpunkt 4-1	39
Tabelle 14: Blutentnahme zum Zeitpunkt 5-1	39
Tabelle 15: Blutentnahme zum Zeitpunkt 5-2.....	39
Tabelle 16: Übersicht der erhobenen Laborparameter	50
Tabelle 17: Durchführung des ELISA gemäß der beiliegenden Arbeitsanweisung (178).....	52
Tabelle 18: Vorbereitung der Serumproben, Kontrolle und Detection Antibody Lösung gemäß der beiliegenden Arbeitsanweisung (179).....	54
Tabelle 19: Durchführung des ELISA gemäß der beiliegenden Arbeitsanweisung (179).....	55
Tabelle 20: Vorbereitung der Serumproben, Kontrolle und Detection Antibody Lösung gemäß der beiliegenden Arbeitsanweisung (180).....	55
Tabelle 21: Durchführung des ELISA gemäß der beiliegenden Arbeitsanweisung (180).....	56
Tabelle 22: Vorbereitung der Serumproben, Kontrolle und Detection Antibody Lösung gemäß der beiliegenden Arbeitsanweisung (181).....	56
Tabelle 23: Durchführung des ELISA gemäß der beiliegenden Arbeitsanweisung (181).....	57
Tabelle 24: Vorbereitung der Serumproben, Kontrolle und Detection Antibody Lösung gemäß der beiliegenden Arbeitsanweisung (182).....	57
Tabelle 25: Durchführung des ELISA gemäß der beiliegenden Arbeitsanweisung (182).....	58

6.3 Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Darstellung der durch Etifoxin potenzierten Neurosteroidogenese und die Interaktion der entstandenen Neurosteroidoide wie Allopregnanolon mit den GABA _A -Rezeptor; übernommen aus „Anxiolytics targeting GABA _A receptors: Insights on etifoxine“, von Poisbeau P., Gazzo G., Cavel L. in: The World Journal of Biological Psychiatry, 19 (S1) (92), 2018; © den Autoren... 14

Abbildung 2: Ablauf der Studienteilnahme.....	34
Abbildung 3: Graphische Darstellung des Verlaufs der Cortisol-Konzentration im Serum in Abhängigkeit der Medikamentengruppe zwischen den Messzeitpunkten 0-1 und 5-1 als Boxplot mit Kennzeichnung des Median, des ersten und dritten Quartils sowie des Maximal- und Minimalwerts innerhalb des 1,5fachen Interquartilsabstands mittels Whisker und der aufgetretenen Messausreißer. Markierung des statistisch signifikanten Haupteffektes für den Faktor Zeit sowie der signifikanten Konzentrationsunterschiede zwischen Alprazolam und Placebo zum Messzeitpunkt 5-1 mit * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p \leq 0.001$	62
Abbildung 4: Graphische Darstellung des Verlaufs der Cortisol-Konzentration im Serum in Abhängigkeit der Medikamentengruppe zwischen den Messzeitpunkten 5-1 und 5-2 als Boxplot mit Kennzeichnung des Median, des ersten und dritten Quartils sowie des Maximal- und Minimalwerts innerhalb des 1,5fachen Interquartilsabstands mittels Whisker und der aufgetretenen Messausreißer. Markierung des statistisch signifikanten Haupteffektes für den Faktor Zeit sowie der signifikanten Konzentrationsunterschiede zwischen Alprazolam und Placebo zu den Messzeitpunkten 5-1 und 5-2 mit * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p \leq 0.001$	63
Abbildung 5: Graphische Darstellung des Verlaufs der IL-6-Konzentration im Serum in Abhängigkeit der Medikamentengruppe zwischen den Messzeitpunkten 0-1 und 5-2 als Boxplot mit Kennzeichnung des Median, des ersten und dritten Quartils sowie des Maximal- und Minimalwerts innerhalb des 1,5fachen Interquartilsabstands mittels Whisker und der aufgetretenen Messausreißer.	64
Abbildung 6: Graphische Darstellung des Verlaufs der IL-8-Konzentration im Serum in Abhängigkeit der Medikamentengruppe zwischen den Messzeitpunkten 0-1 und 5-2 als Boxplot mit Kennzeichnung des Median, des ersten und dritten Quartils sowie des Maximal- und Minimalwerts innerhalb des 1,5fachen Interquartilsabstands mittels Whisker und der aufgetretenen Messausreißer.	65
Abbildung 7: Graphische Darstellung des Verlaufs der IL-7-Konzentration im Serum in Abhängigkeit der Medikamentengruppe zwischen den Messzeitpunkten 0-1 und 5-2 als Boxplot mit Kennzeichnung des Median, des ersten und dritten Quartils sowie des Maximal- und Minimalwerts innerhalb des 1,5fachen Interquartilsabstands mittels Whisker und der aufgetretenen Messausreißer.	66
Abbildung 8: Graphische Darstellung des Verlaufs der TNF- α -Konzentration im Serum in Abhängigkeit der Medikamentengruppe zwischen den Messzeitpunkten 0-1 und 5-2 als Boxplot mit Kennzeichnung des Median, des ersten und dritten Quartils sowie des Maximal- und Minimalwerts innerhalb des 1,5fachen Interquartilsabstands mittels Whisker und der aufgetretenen Messausreißer. Markierung des statistisch signifikanten Haupteffektes für den Faktor Zeit mit *** $p \leq 0.001$	67
Abbildung 9: Graphische Darstellung des Verlaufs der Eotaxin-Konzentration im Serum in Abhängigkeit der Medikamentengruppe zwischen den Messzeitpunkten 0-1 und 5-2 als Boxplot mit Kennzeichnung des Median, des ersten und dritten Quartils sowie des Maximal- und Minimalwerts innerhalb des 1,5fachen Interquartilsabstands mittels Whisker und der aufgetretenen Messausreißer.	68
Abbildung 10: Graphische Darstellung des Verlaufs der Eotaxin-3-Konzentration im Serum in Abhängigkeit der Medikamentengruppe zwischen den Messzeitpunkten 0-1 und 5-2 als Boxplot mit Kennzeichnung des Median, des ersten und dritten Quartils sowie des Maximal- und Minimalwerts innerhalb des 1,5fachen Interquartilsabstands mittels Whisker und der aufgetretenen Messausreißer.	69

Abbildung 11: Graphische Darstellung des Verlaufs der IP-10-Konzentration im Serum in Abhängigkeit der Medikamentengruppe zwischen den Messzeitpunkten 0-1 und 5-2 als Boxplot mit Kennzeichnung des Median, des ersten und dritten Quartils sowie des Maximal- und Minimalwerts innerhalb des 1,5fachen Interquartilsabstands mittels Whisker und der aufgetretenen Messausreißer.	70
Abbildung 12: Graphische Darstellung des Verlaufs der MCP-1-Konzentration im Serum in Abhängigkeit der Medikamentengruppe zwischen den Messzeitpunkten 0-1 und 5-2 als Boxplot mit Kennzeichnung des Median, des ersten und dritten Quartils sowie des Maximal- und Minimalwerts innerhalb des 1,5fachen Interquartilsabstands mittels Whisker und der aufgetretenen Messausreißer. Markierung des statistisch signifikanten Haupteffektes für den Faktor Zeit mit *** $p \leq 0.001$	71
Abbildung 13: Graphische Darstellung des Verlaufs der MCP-4-Konzentration im Serum in Abhängigkeit der Medikamentengruppe zwischen den Messzeitpunkten 0-1 und 5-2 als Boxplot mit Kennzeichnung des Median, des ersten und dritten Quartils sowie des Maximal- und Minimalwerts innerhalb des 1,5fachen Interquartilsabstands mittels Whisker und der aufgetretenen Messausreißer.	72
Abbildung 14: Graphische Darstellung des Verlaufs der MDC-Konzentration im Serum in Abhängigkeit der Medikamentengruppe zwischen den Messzeitpunkten 0-1 und 5-2 als Boxplot mit Kennzeichnung des Median, des ersten und dritten Quartils sowie des Maximal- und Minimalwerts innerhalb des 1,5fachen Interquartilsabstands mittels Whisker und der aufgetretenen Messausreißer	73
Abbildung 15: Graphische Darstellung des Verlaufs der MIP-1 α -Konzentration im Serum in Abhängigkeit der Medikamentengruppe zwischen den Messzeitpunkten 0-1 und 5-2 als Boxplot mit Kennzeichnung des Median, des ersten und dritten Quartils sowie des Maximal- und Minimalwerts innerhalb des 1,5fachen Interquartilsabstands mittels Whisker und der aufgetretenen Messausreißer.	74
Abbildung 16: Graphische Darstellung des Verlaufs der MIP-1 β -Konzentration im Serum in Abhängigkeit der Medikamentengruppe zwischen den Messzeitpunkten 0-1 und 5-2 als Boxplot mit Kennzeichnung des Median, des ersten und dritten Quartils sowie des Maximal- und Minimalwerts innerhalb des 1,5fachen Interquartilsabstands mittels Whisker und der aufgetretenen Messausreißer. Markierung des statistisch signifikanten Haupteffektes für den Faktor Zeit mit *** $p \leq 0.001$	75
Abbildung 17: Graphische Darstellung des Verlaufs der TARC-Konzentration im Serum in Abhängigkeit der Medikamentengruppe zwischen den Messzeitpunkten 0-1 und 5-2 als Boxplot mit Kennzeichnung des Median, des ersten und dritten Quartils sowie des Maximal- und Minimalwerts innerhalb des 1,5fachen Interquartilsabstands mittels Whisker und der aufgetretenen Messausreißer.	76
Abbildung 18: Graphische Darstellung des Verlaufs der bFGF-Konzentration im Serum in Abhängigkeit der Medikamentengruppe zwischen den Messzeitpunkten 0-1 und 5-2 als Boxplot mit Kennzeichnung des Median, des ersten und dritten Quartils sowie des Maximal- und	

	Minimalwerts innerhalb des 1,5fachen Interquartilsabstands mittels Whisker und der aufgetretenen Messausreißer.	77
Abbildung 19:	Graphische Darstellung des Verlaufs der Flt-1-Konzentration im Serum in Abhängigkeit der Medikamentengruppe zwischen den Messzeitpunkten 0-1 und 5-2 als Boxplot mit Kennzeichnung des Median, des ersten und dritten Quartils sowie des Maximal- und Minimalwerts innerhalb des 1,5fachen Interquartilsabstands mittels Whisker und der aufgetretenen Messausreißer.	78
Abbildung 20:	Graphische Darstellung des Verlaufs der PIGF-Konzentration im Serum in Abhängigkeit der Medikamentengruppe zwischen den Messzeitpunkten 0-1 und 5-2 als Boxplot mit Kennzeichnung des Median, des ersten und dritten Quartils sowie des Maximal- und Minimalwerts innerhalb des 1,5fachen Interquartilsabstands mittels Whisker und der aufgetretenen Messausreißer.	79
Abbildung 21:	Graphische Darstellung des Verlaufs der Tie-2-Konzentration im Serum in Abhängigkeit der Medikamentengruppe zwischen den Messzeitpunkten 0-1 und 5-2 als Boxplot mit Kennzeichnung des Median, des ersten und dritten Quartils sowie des Maximal- und Minimalwerts innerhalb des 1,5fachen Interquartilsabstands mittels Whisker und aufgetretener Messausreißer.	80
Abbildung 22:	Graphische Darstellung des Verlaufs der VEGF-C-Konzentration im Serum in Abhängigkeit der Medikamentengruppe zwischen den Messzeitpunkten 0-1 und 5-2 als Boxplot mit Kennzeichnung des Median, des ersten und dritten Quartils sowie des Maximal- und Minimalwerts innerhalb des 1,5fachen Interquartilsabstands mittels Whisker und der aufgetretenen Messausreißer.	81
Abbildung 23:	Graphische Darstellung des Verlaufs der VEGF-D-Konzentration im Serum in Abhängigkeit der Medikamentengruppe zwischen den Messzeitpunkten 0-1 und 5-2 als Boxplot mit Kennzeichnung des Median, des ersten und dritten Quartils sowie des Maximal- und Minimalwerts innerhalb des 1,5fachen Interquartilsabstands mittels Whisker und der aufgetretenen Messausreißer.	82
Abbildung 24:	Graphische Darstellung des Verlaufs der IL-7-Konzentration im Serum in Abhängigkeit der Medikamentengruppe zwischen den Messzeitpunkten 0-1 und 5-2 als Boxplot mit Kennzeichnung des Median, des ersten und dritten Quartils sowie des Maximal- und Minimalwerts innerhalb des 1,5fachen Interquartilsabstands mittels Whisker und der aufgetretenen Messausreißer.	83
Abbildung 25:	Graphische Darstellung des Verlaufs der IL-12/IL-23p40-Konzentration im Serum in Abhängigkeit der Medikamentengruppe zwischen den Messzeitpunkten 0-1 und 5-2 als Boxplot mit Kennzeichnung des Median, des ersten und dritten Quartils sowie des Maximal- und Minimalwerts innerhalb des 1,5fachen Interquartilsabstands mittels Whisker und der aufgetretenen Messausreißer. Markierung des statistisch signifikanten Haupteffektes für den Faktor Zeit mit *** $p \leq 0.001$	84
Abbildung 26:	Graphische Darstellung des Verlaufs der IL-15-Konzentration im Serum in Abhängigkeit der Medikamentengruppe zwischen den Messzeitpunkten 0-1 und 5-2 als Boxplot mit Kennzeichnung	

	des Median, des ersten und dritten Quartils sowie des Maximal- und Minimalwerts innerhalb des 1,5fachen Interquartilsabstands mittels Whisker und der aufgetretenen Messausreißer.....	85
Abbildung 27:	Graphische Darstellung des Verlaufs der IL-16-Konzentration im Serum in Abhängigkeit der Medikamentengruppe zwischen den Messzeitpunkten 0-1 und 5-2 als Boxplot mit Kennzeichnung des Median, des ersten und dritten Quartils sowie des Maximal- und Minimalwerts innerhalb des 1,5fachen Interquartilsabstands mittels Whisker und der aufgetretenen Messausreißer.....	86
Abbildung 28:	Graphische Darstellung des Verlaufs der VEGF-Konzentration im Serum in Abhängigkeit der Medikamentengruppe zwischen den Messzeitpunkten 0-1 und 5-2 als Boxplot mit Kennzeichnung des Median, des ersten und dritten Quartils sowie des Maximal- und Minimalwerts innerhalb des 1,5fachen Interquartilsabstands mittels Whisker und der aufgetretenen Messausreißer.....	87
Abbildung 29:	Graphische Darstellung des Verlaufs des Stresslevels in zeitlicher Relation zur Durchführung des VR-TSST sowie in Abhängigkeit der Medikamentengruppe als Boxplot mit Kennzeichnung des Median, des ersten und dritten Quartils sowie des Maximal- und Minimalwerts innerhalb des 1,5fachen Interquartilsabstands mittels Whisker und der aufgetretenen Messausreißer. Markierung des statistisch signifikanten Haupteffektes für den Faktor Zeit mit *** $p \leq 0.001$	88

7 Literaturverzeichnis

1. Kessler RC, Angermeyer M, Anthony JC, de Graaf R, Demyttenaere K, Gasquet I, et al. Lifetime prevalence and age-of-onset distributions of mental disorders in the World Health Organization's World Mental Health Survey Initiative. *World Psychiatry*. 2007 Oct;6(3):168–76.
2. Wittchen HU, Jacobi F, Rehm J, Gustavsson A, Svensson M, Jönsson B, et al. The size and burden of mental disorders and other disorders of the brain in Europe 2010. *Eur Neuropsychopharmacol*. 2011 Sep;21(9):655–79.
3. Deutsche Rentenversicherung Bund, Grundsatz- und Querschnittsbereich: Finanzen und Statistik Bereich 0760 – Statistische Analysen. *Rentenversicherung in Zahlen 2021*. Stat Dtsch Rentenversicher. 2021;
4. Jacobi F, Höfler M, Strehle J, Mack S, Gerschler A, Scholl L, et al. Psychische Störungen in der Allgemeinbevölkerung: Studie zur Gesundheit Erwachsener in Deutschland und ihr Zusatzmodul Psychische Gesundheit (DEGS1-MH). *Nervenarzt*. 2014 Jan;85:77–87.
5. Saarni SI, Suvisaari J, Sintonen H, Pirkola S, Koskinen S, Aromaa A, et al. Impact of psychiatric disorders on health-related quality of life: general population survey. *Br J Psychiatry*. 2007 Apr;190(4):326–32.
6. Jacobi F, Höfler M, Siegert J, Mack S, Gerschler A, Scholl L, et al. Twelve-month prevalence, comorbidity and correlates of mental disorders in Germany: the Mental Health Module of the German Health Interview and Examination Survey for Adults (DEGS1-MH). *Int J Methods Psychiatr Res*. 2014 Sep;23(3):304–19.
7. Ströhle A, Gensichen J, Domschke K. The diagnosis and treatment of anxiety disorders. *Dtsch Ärztebl Int*. 2018 Sep;115(37):611–20.
8. Wancata J, Freidl M, Fabrian F. Epidemiologie der Angststörungen. *J Für Neurol Neurochir Psychiatr*. 2011;12(4):332–5.
9. Domschke K, Maron E. Genetic Factors in Anxiety Disorders. In: Baldwin D, Leonard B, editors. *Anxiety Disorders Mod Trends Pharmacopsychiatry*. Basel: S. Karger AG; 2013. p. 24–46.
10. Moreno-Peral P, Conejo-Cerón S, Motrico E, Rodríguez-Morejón A, Fernández A, García-Campayo J, et al. Risk factors for the onset of panic and generalised anxiety disorders in the general adult population: A systematic review of cohort studies. *J Affect Disord*. 2014 Oct;168:337–48.
11. Southwick SM, Charney DS. The Science of Resilience: Implications for the Prevention and Treatment of Depression. *Science*. 2012 Oct 5;338(6103):79–82.
12. Kendler KS, Karkowski LM, Prescott CA. Causal Relationship Between Stressful Life Events and the Onset of Major Depression. *Am J Psychiatry*. 1999 Jun;156(6):837–41.
13. Vink D, Aartsen MJ, Schoevers RA. Risk factors for anxiety and depression in the elderly: A review. *J Affect Disord*. 2008 Feb;106(1–2):29–44.
14. Ebmeier KP, Donaghey C, Steele JD. Recent developments and current controversies in depression. *The Lancet*. 2006 Jan 14;367(9505):153–67.
15. Sullivan PF, Neale MC, Kendler KS. Genetic Epidemiology of Major Depression: Review and Meta-Analysis. *Am J Psychiatry*. 2000 Oct;157(10):1552–62.
16. Antony MM, Federici A, Stein MB. Overview and introduction to anxiety disorders. In: Antony MM, Stein MB, editors. *Oxford Handbook of Anxiety and Related Disorders*, Oxford Library of Psychology. online edn. Oxford Academic; 2012.
17. Gottschalk MG, Domschke K. Genetics of generalized anxiety disorder and related traits. *Dialogues Clin Neurosci*. 2017 Jun;19(2):159–68.
18. Nothdurfter C, Sarubin N, Wetter TC, Baghai TC, Rupprecht R. S3-Leitlinie/Nationale

- Versorgungs-Leitlinie Unipolare Depression. Bayer Ärztebl. 2016 Nov;11:552–9.
19. DGPPN, BÄK, KBV, AWMF (Hrsg.) für die Leitliniengruppe Unipolare Depression*. S3-Leitlinie/Nationale VersorgungsLeitlinie Unipolare Depression – Kurzfassung, 2. Auflage. Version 1. 2017;
 20. Bandelow B, Wiltink J, Alpers G, Benecke C, Deckert J, Eckhardt-Henn A, et al. Deutsche S3-Leitlinie Behandlung von Angststörungen - Kurzversion. www.awmf.org/leitlinien.html. 2014;
 21. Ein Jahr nach der Reform der Psychotherapie-Richtlinie Wartezeiten 2018. Bundes Psychotherapeuten Kammer BPtK; 2018 Apr.
 22. Thompson C. Onset of action of antidepressants: results of different analyses. *Hum Psychopharmacol Clin Exp*. 2002 Jun;17(S1):S27–32.
 23. DGPPN, BÄK, KBV, AWMF (Hrsg.) für die Leitliniengruppe Unipolare Depression*. S3-Leitlinie/Nationale VersorgungsLeitlinie Unipolare Depression – Langfassung, 2. Auflage. Version 5. 2015;
 24. Altamura AC, Moliterno D, Paletta S, Maffini M, Mauri MC, Bareggi S. Understanding the pharmacokinetics of anxiolytic drugs. *Expert Opin Drug Metab Toxicol*. 2013;9(4):423–40.
 25. Kinman G, Wray S. Taking its toll: rising stress levels in further education UCU Stress Survey 2014. *UCU Publ*. 2015 May;
 26. Johnson S, Cooper C, Cartwright S, Donald I, Taylor P, Millet C. The experience of work-related stress across occupations. *J Manag Psychol*. 2005 Mar;20(2):178–87.
 27. Nothdurfter C, Rammes G, Baghai TC, Schüle C, Schumacher M, Papadopoulos V, et al. Translocator Protein (18 kDa) as a Target for Novel Anxiolytics with a Favourable Side-Effect Profile. *J Neuroendocrinol*. 2012 Jan;24(1):82–92.
 28. Braestrup C, Squires RF. Specific benzodiazepine receptors in rat brain characterized by high-affinity [3H]diazepam binding. *Proc Natl Acad Sci*. 1977 Sep;74(9):3805–9.
 29. Papadopoulos V, Baraldi M, Guilarte TR, Knudsen TB, Lacapère JJ, Lindemann P, et al. Translocator protein (18kDa): new nomenclature for the peripheral-type benzodiazepine receptor based on its structure and molecular function. *Trends Pharmacol Sci*. 2006 Aug 1;27(8):402–9.
 30. Bonsack F, Sukumari-Ramesh S. TSPO: An Evolutionarily Conserved Protein with Elusive Functions. *Int J Mol Sci*. 2018;19(6):1694.
 31. Gavish M, Bachman I, Shoukrun R, Katz Y, Veenman L, Weisinger G, et al. Enigma of the Peripheral Benzodiazepine Receptor. *Pharmacol Rev*. 1999 Dec;51(4):629–50.
 32. Wolf L, Bauer A, Melchner D, Hallof-Buestrich H, Stoertebecker P, Haen E, et al. Enhancing Neurosteroid Synthesis – Relationship to the Pharmacology of Translocator Protein (18 kDa) (TSPO) Ligands and Benzodiazepines. *Pharmacopsychiatry*. 2015;48(02):72–7.
 33. Nothdurfter C, Baghai TC, Schüle C, Rupprecht R. Translocator protein (18 kDa) (TSPO) as a therapeutic target for anxiety and neurologic disorders. *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci*. 2012 Nov;262(S2):S107–12.
 34. Maeda J, Higuchi M, Inaji M, Ji B, Haneda E, Okauchi T, et al. Phase-dependent roles of reactive microglia and astrocytes in nervous system injury as delineated by imaging of peripheral benzodiazepine receptor. *Brain Res*. 2007 Jul 9;1157:100–11.
 35. Le Fur G, Guilloux F, Rufat P, Benavides J, Uzan A, Renault C, et al. Peripheral benzodiazepine binding sites: Effect of PK 11195, 1-(2-chlorophenyl)-n-methyl-(1-methylpropyl)-3 isoquinolinecarboxamide II. In vivo studies. *Life Sci*. 1983 Apr 18;32(16):1849–56.
 36. Arbo BD, Benetti F, Garcia-Segura LM, Ribeiro MF. Therapeutic actions of translocator protein (18 kDa) ligands in experimental models of psychiatric disorders

- and neurodegenerative diseases. *J Steroid Biochem Mol Biol*. 2015 Nov;154:68–74.
37. Rupprecht R, Papadopoulos V, Rammes G, Baghai TC, Fan J, Akula N, et al. Translocator protein (18 kDa) (TSPO) as a therapeutic target for neurological and psychiatric disorders. *Nat Rev Drug Discov*. 2010 Dec;9:971–88.
 38. Jaremko Ł, Jaremko M, Giller K, Becker S, Zweckstetter M. Structure of the Mitochondrial Translocator Protein in Complex with a Diagnostic Ligand. *Science*. 2014 Mar 21;343(6177):1363–6.
 39. Bernassau JM, Reversat JL, Ferrara P, Caput D, Lefur G. A 3D model of the peripheral benzodiazepine receptor and its implication in intra mitochondrial cholesterol transport. *J Mol Graph*. 1993 Dec;11(4):236–44.
 40. Anholt RRH, Pedersen PL, De Souza EB, Snyder SH. The Peripheral-type Benzodiazepine Receptor: Localization to the mitochondrial outer membrane. *J Biol Chem*. 1986 Jan 15;261(2):576–83.
 41. Joseph-Liauzun E, Delmas P, Shire D, Ferrara P. Topological Analysis of the Peripheral Benzodiazepine Receptor in Yeast Mitochondrial Membranes Supports a Five-transmembrane Structure. *J Biol Chem*. 1998 Jan 23;273(4):2146–52.
 42. Li H, Papadopoulos V. Peripheral-Type Benzodiazepine Receptor Function in Cholesterol Transport. Identification of a Putative Cholesterol Recognition/Interaction Amino Acid Sequence and Consensus Pattern. *Endocrinology*. 1998 Dec 1;139(12):4991–7.
 43. Jamin N, Neumann JM, Ostuni MA, Vu TKN, Yao ZX, Murail S, et al. Characterization of the Cholesterol Recognition Amino Acid Consensus Sequence of the Peripheral-Type Benzodiazepine Receptor. *Mol Endocrinol*. 2005 Mar 1;19(3):588–94.
 44. Guo Y, Kalathur RC, Liu Q, Kloss B, Bruni R, Ginter C, et al. Structure and activity of tryptophan-rich TSPO proteins. *Science*. 2015 Jan 30;347(6221):551–5.
 45. Kreisl WC, Jenko KJ, Hines CS, Lyoo CH, Corona W, Morse CL, et al. A Genetic Polymorphism for Translocator Protein 18 Kda Affects both *in Vitro* and *in Vivo* Radioligand Binding in Human Brain to this Putative Biomarker of Neuroinflammation. *J Cereb Blood Flow Metab*. 2013 Jan 1;33(1):53–8.
 46. National Center for Biotechnology Information, U.S. National Library of Medicine. Reference SNP (rs) Report - rs6971 [Internet]. The Single Nucleotide Polymorphism Database (dbSNP). o. J. Available from: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp/rs6971#frequency_tab; Stand: 24.06.2023
 47. Owen DR, Yeo AJ, Gunn RN, Song K, Wadsworth G, Lewis A, et al. An 18-kDa Translocator Protein (TSPO) Polymorphism Explains Differences in Binding Affinity of the PET Radioligand PBR28. *J Cereb Blood Flow Metab*. 2012 Jan 1;32(1):1–5.
 48. Owen DRJ, Gunn RN, Rabiner EA, Bennacef I, Fujita M, Kreisl WC, et al. Mixed-Affinity Binding in Humans with 18-kDa Translocator Protein Ligands. *J Nucl Med*. 2011 Jan 1;52(1):24–32.
 49. Berroterán-Infante N, Tadić M, Hacker M, Wadsak W, Mitterhauser M. Binding Affinity of Some Endogenous and Synthetic TSPO Ligands Regarding the rs6971 Polymorphism. *Int J Mol Sci*. 2019 Jan;20(3):563.
 50. Costa B, Pini S, Gabelloni P, Da Pozzo E, Abelli M, Lari L, et al. The Spontaneous Ala147Thr Amino Acid Substitution within the Translocator Protein Influences Pregnenolone Production in Lymphomonocytes of Healthy Individuals. *Endocrinology*. 2009 Dec;150(12):5438–45.
 51. Colasanti A, Owen DR, Grozeva D, Rabiner EA, Matthews PM, Craddock N, et al. Bipolar Disorder is associated with the rs6971 polymorphism in the gene encoding 18kDa Translocator Protein (TSPO). *Psychoneuroendocrinology*. 2013

- Nov;38(11):2826–9.
52. Costa B, Pini S, Martini C, Abelli M, Gabelloni P, Landi S, et al. Ala147Thr substitution in translocator protein is associated with adult separation anxiety in patients with depression: *Psychiatr Genet*. 2009 Apr;19(2):110–1.
 53. Milenkovic VM, Bader S, Sudria-Lopez D, Siebert R, Brandl C, Nothdurfter C, et al. Effects of genetic variants in the TSPO gene on protein structure and stability. *PLoS ONE*. 2018 Apr;13(4):e0195627.
 54. Veenman L, Papadopoulos V, Moshe Gavish. Channel-Like Functions of the 18-kDa Translocator Protein (TSPO): Regulation of Apoptosis and Steroidogenesis as Part of the Host-Defense Response. *Curr Pharm Des*. 2007;13(23):2385–405.
 55. Hirsch JD, Beyer CF, Malkowitz L, Beer B, Blume AJ. Mitochondrial benzodiazepine receptors mediate inhibition of mitochondrial respiratory control. *Mol Pharmacol*. 1989 Jan 1;35(1):157–63.
 56. Denora N, Natile G. An Updated View of Translocator Protein (TSPO). *Int J Mol Sci*. 2017;18(12):2640.
 57. Papadopoulos V. Structure and Function of the Peripheral-Type Benzodiazepine Receptor in Steroidogenic Cells. *Exp Biol Med*. 1998 Feb;217(2):130–42.
 58. Papadopoulos V, Liu J, Culty M. Is there a mitochondrial signaling complex facilitating cholesterol import? *Mol Cell Endocrinol*. 2007 Feb;265–266:59–64.
 59. Miller WL, Auchus RJ. The Molecular Biology, Biochemistry, and Physiology of Human Steroidogenesis and Its Disorders. *Endocr Rev*. 2011 Feb 1;32(1):81–151.
 60. Schüle C, Eser D, Baghai TC, Nothdurfter C, Kessler JS, Rupprecht R. Neuroactive steroids in affective disorders: target for novel antidepressant or anxiolytic drugs? *Neuroscience*. 2011 Sep 15;191:55–77.
 61. Nothdurfter C, Rupprecht R, Rammes G. Recent Developments in Potential Anxiolytic Agents Targeting GABAA/BzR Complex or the Translocator Protein (18kDa) (TSPO). *Curr Top Med Chem*. 2012;12(4):360–70.
 62. Zheng P. Neuroactive steroid regulation of neurotransmitter release in the CNS: Action, mechanism and possible significance. *Prog Neurobiol*. 2009 Oct;89(2):134–52.
 63. Callachan H, Cottrell GA, Hather NY, Lambert JJ, Nooney JM, Peters JA. Modulation of the GABAA Receptor by Progesterone Metabolites. *Proc R Soc Lond B Biol Sci*. 1987;231(1264):359–69.
 64. Twyman RE, Macdonald RL. Neurosteroid regulation of GABAA receptor single-channel kinetic properties of mouse spinal cord neurons in culture. *J Physiol*. 1992 Oct;456(1):215–45.
 65. Simmonds MA, Turner JP, Harrison NL. Interactions of steroids with the GABA-A receptor complex. *Neuropharmacology*. 1984 Jul;23(7B):877–8.
 66. Puia G, Mienville JM, Matsumoto K, Takahata H, Watanabe H, Costa E, et al. On the putative physiological role of allopregnanolone on GABAA receptor function. *Neuropharmacology*. 2003 Jan;44(1):49–55.
 67. Olsen RW, Sieghart W. GABAA Receptors: Subtypes Provide Diversity of Function and Pharmacology. *Neuropharmacology*. 2009 Jan;56(1):141–8.
 68. Sieghart W. Structure, Pharmacology, and Function of GABAA Receptor Subtypes. *Adv Pharmacol*. 2006;54:231–63.
 69. Rudolph U, Möhler H. GABA-based therapeutic approaches: GABAA receptor subtype functions. *Curr Opin Pharmacol*. 2006 Feb;6(1):18–23.
 70. Nguyen N, Fakra E, Pradel V, Jouve E, Alquier C, Le Guern ME, et al. Efficacy of etifoxine compared to lorazepam monotherapy in the treatment of patients with adjustment disorders with anxiety: a double-blind controlled study in general practice.

- Hum Psychopharmacol Clin Exp. 2006 Apr;21(3):139–49.
71. Servant D, Graziani PL, Parquet PhJ. Etifoxine in the treatment of adjustment disorder with anxiety: A multicenter double blind study. *Biol Psychiatry*. 1997 Jul;42(S1-297S):27S.
 72. Kim T, Pae AN. Translocator Protein (TSPO) Ligands for the Diagnosis or Treatment of Neurodegenerative Diseases: A Patent Review (2010 – 2015; Part 2). *Expert Opin Ther Pat*. 2016;26(11):1353–66.
 73. Daugherty DJ, Selvaraj V, Chechneva OV, Liu XB, Pleasure DE, Deng W. A TSPO ligand is protective in a mouse model of multiple sclerosis: Etifoxine and multiple sclerosis. *EMBO Mol Med*. 2013 Jun 1;5(6):891–903.
 74. Simon-O'Brien E, Gauthier D, Riban V, Verleye M. Etifoxine improves sensorimotor deficits and reduces glial activation, neuronal degeneration, and neuroinflammation in a rat model of traumatic brain injury. *J Neuroinflammation*. 2016;13:203.
 75. Aouad M, Petit-Demoulière N, Goumon Y, Poisbeau P. Etifoxine stimulates allopregnanolone synthesis in the spinal cord to produce analgesia in experimental mononeuropathy. *Eur J Pain*. 2014 Feb;18(2):258–68.
 76. Aouad M, Charlet A, Rodeau JL, Poisbeau P. Reduction and prevention of vincristine-induced neuropathic pain symptoms by the non-benzodiazepine anxiolytic etifoxine are mediated by 3 α -reduced neurosteroids. *Pain*. 2009 Dec;147(1):54–9.
 77. Kruse HJ, Kuch H. Etifoxine: evaluation of its anticonvulsant profile in mice in comparison with sodium valproate, phenytoin and clobazam. *Arzneimittelforschung*. 1985;35(1):133–5.
 78. Verleye M, Akwa Y, Liere P, Ladurelle N, Pianos A, Eychenne B, et al. The anxiolytic etifoxine activates the peripheral benzodiazepine receptor and increases the neurosteroid levels in rat brain. *Pharmacol Biochem Behav*. 2005 Dec;82(4):712–20.
 79. Verleye M, Gillardin JM. Effects of etifoxine on stress-induced hyperthermia, freezing behavior and colonic motor activation in rats. *Physiol Behav*. 2004 Oct 15;82(5):891–7.
 80. Ugale RR, Sharma AN, Kokare DM, Hirani K, Subhedar NK, Chopde CT. Neurosteroid allopregnanolone mediates anxiolytic effect of etifoxine in rats. *Brain Res*. 2007 Dec 12;1184:193–201.
 81. Schlichter R, Rybalchenko V, Poisbeau P, Verleye M, Gillardin JM. Modulation of GABAergic synaptic transmission by the non-benzodiazepine anxiolytic etifoxine. *Neuropharmacology*. 2000 Aug;39(9):1523–35.
 82. Stein DJ. Etifoxine Versus Alprazolam for the Treatment of Adjustment Disorder with Anxiety: a Randomized Controlled Trial. *Adv Ther*. 2015 Jan;32:57–68.
 83. Aleksandrovsky YuA, Krasnov VN, Neznanov NG, Romasenko LV. Efficacy of etifoxine versus phenazepam in the treatment of patients with adjustment disorders (open randomized controlled trial). *Russ Psychiatr J*. 2010 May 1;1:74–8.
 84. Micallef J, Soubrouillard C, Guet F, Le Guern ME, Alquier C, Bruguerolle B, et al. A double blind parallel group placebo controlled comparison of sedative and amnesic effects of etifoxine and lorazepam in healthy subjects. *Fundam Clin Pharmacol*. 2001 Jun;15(3):209–16.
 85. Hamon A, Morel A, Hue B, Verleye M, Gillardin JM. The modulatory effects of the anxiolytic etifoxine on GABAA receptors are mediated by the β subunit. *Neuropharmacology*. 2003 Sep;45(3):293–303.
 86. Verleye M, Schlichter R, Neliat G, Pansart Y, Gillardin JM. Functional modulation of gamma-aminobutyric acidA receptors by etifoxine and allopregnanolone in rodents. *Neurosci Lett*. 2001 Apr 6;301(3):191–4.
 87. Verleye M, Pansart Y, Gillardin JM. Effects of etifoxine on ligand binding to GABAA

- receptors in rodents. *Neurosci Res.* 2002 Oct;44(2):167–72.
88. Mattei C, Taly A, Soualal Z, Saulais O, Henrion D, Guérineau NC, et al. Involvement of the GABAA receptor α subunit in the mode of action of etifoxine. *Pharmacol Res.* 2019 Jul;145:104250.
 89. Costa B, Cavallini C, Da Pozzo E, Taliani S, Da Settimo F, Martini C. The Anxiolytic Etifoxine Binds to TSPO Ro5-4864 Binding Site with Long Residence Time Showing a High Neurosteroidogenic Activity. *ACS Chem Neurosci.* 2017 Mar 31;8(7):1448–54.
 90. Liere P, Pianos A, Oudinet JP, Schumacher M, Akwa Y. Differential effects of the 18-kDa translocator protein (TSPO) ligand etifoxine on steroidogenesis in rat brain, plasma and steroidogenic glands: Pharmacodynamic studies. *Psychoneuroendocrinology.* 2017 Sep;83:122–34.
 91. Belelli D, Lambert JJ. Neurosteroids: endogenous regulators of the GABAA receptor. *Nat Rev Neurosci.* 2005 Jul;6:565–75.
 92. Poisbeau P, Gazzo G, Calvel L. Anxiolytics targeting GABA_A receptors: Insights on etifoxine. *World J Biol Psychiatry.* 2018;19(S1):S36–45.
 93. de Kloet ER, Joëls M, Holsboer F. Stress and the brain: from adaptation to disease. *Nat Rev Neurosci.* 2005 Jun;6:463–75.
 94. Jacobson L. Hypothalamic–Pituitary–Adrenocortical Axis Regulation. *Endocrinol Metab Clin North Am.* 2005 Jun;34(2):271–92.
 95. Weitzman ED, Fukushima D, Nogeire C, Roffwarg H, Gallagher TF, Hellman L. Twenty-four Hour Pattern of the Episodic Secretion of Cortisol in Normal Subjects. *J Clin Endocrinol Metab.* 1971 Jul;33(1):14–22.
 96. de Kloet ER, Vreugdenhil E, Oitzl MS, Joëls M. Brain Corticosteroid Receptor Balance in Health and Disease*. *Endocr Rev.* 1998 Jun 1;19(3):269–301.
 97. Russell G, Lightman S. The human stress response. *Nat Rev Endocrinol.* 2019 Sep;15:525–34.
 98. Sapolsky RM, Romero LM, Munck AU. How Do Glucocorticoids Influence Stress Responses? Integrating Permissive, Suppressive, Stimulatory, and Preparative Actions. *Endocr Rev.* 2000 Feb;21(1):55–89.
 99. Cruz-Topete D, Cidlowski JA. One Hormone, Two Actions: Anti- and Pro-Inflammatory Effects of Glucocorticoids. *Neuroimmunomodulation.* 2015;22(1–2):20–32.
 100. Lewis JG, Bagley CJ, Elder PA, Bachmann AW, Torpy DJ. Plasma free cortisol fraction reflects levels of functioning corticosteroid-binding globulin. *Clin Chim Acta.* 2005 Sep;359(1–2):189–94.
 101. Frairia R, Agrimonti F, Fortunati N, Fazzari A, Gennari P, Berta L. Influence of Naturally Occurring and Synthetic Glucocorticoids on Corticosteroid-Binding Globulin-Steroid Interaction in Human Peripheral Plasma. *Ann N Y Acad Sci.* 1988 Sep;538(1):287–303.
 102. Lewis JG, Möpert B, Shand BI, Doogue MP, Soule SG, Frampton CM, et al. Plasma Variation of Corticosteroid-binding Globulin and Sex Hormone-binding Globulin. *Horm Metab Res.* 2006;38(4):241–5.
 103. Follenius M, Simon C, Brandenberger G, Lenzi P. Ultradian plasma corticotropin and cortisol rhythms: time-series analyses. *J Endocrinol Invest.* 1987 Jun;10:261–6.
 104. Kalafatakis K, Russell GM, Harmer CJ, Munafò MR, Marchant N, Wilson A, et al. Ultradian rhythmicity of plasma cortisol is necessary for normal emotional and cognitive responses in man. *Proc Natl Acad Sci.* 2018 Apr 24;115(17):E4091–100.
 105. Gibbison B, Spiga F, Walker JJ, Russell GM, Stevenson K, Kershaw Y, et al. Dynamic Pituitary-Adrenal Interactions in Response to Cardiac Surgery*: *Crit Care*

- Med. 2015 Apr;43(4):791–800.
106. Clinton E, Cookson G, Brown S, Woods D, Evans JF. The Stress of Public Speaking Increases Cortisol Levels in Undergraduates: Is Increased Preparation Really the Best Remedy? In Boston, MA, USA; 2017.
 107. Dickerson SS, Kemeny ME. Acute Stressors and Cortisol Responses: A Theoretical Integration and Synthesis of Laboratory Research. *Psychol Bull.* 2004;130(3):355–91.
 108. Jönsson P, Wallergård M, Österberg K, Hansen ÅM, Johansson G, Karlson B. Cardiovascular and cortisol reactivity and habituation to a virtual reality version of the Trier Social Stress Test: A pilot study. *Psychoneuroendocrinology.* 2010 Oct;35(9):1397–403.
 109. Liu JJW, Ein N, Peck K, Huang V, Pruessner JC, Vickers K. Sex differences in salivary cortisol reactivity to the Trier Social Stress Test (TSST): A meta-analysis. *Psychoneuroendocrinology.* 2017 Aug;82:26–37.
 110. Henley DE, Russell GM, Douthwaite JA, Wood SA, Buchanan F, Gibson R, et al. Hypothalamic-Pituitary-Adrenal Axis Activation in Obstructive Sleep Apnea: The Effect of Continuous Positive Airway Pressure Therapy. *J Clin Endocrinol Metab.* 2009 Nov 1;94(11):4234–42.
 111. Wahbeh H, Kishiyama SS, Zajdel D, Oken BS. Salivary Cortisol Awakening Response in Mild Alzheimer Disease, Caregivers, and Noncaregivers. *Alzheimer Dis Assoc Disord.* 2008;22(2):181–3.
 112. Fonareva I, Oken BS. Physiological and functional consequences of caregiving for relatives with dementia. *Int Psychogeriatr.* 2014 May;26(5):725–47.
 113. Russell GM, Lightman SL. Can side effects of steroid treatments be minimized by the temporal aspects of delivery method? *Expert Opin Drug Saf.* 2014;13(11):1501–13.
 114. Miller GE, Cohen S, Ritchey AK. Chronic Psychological Stress and the Regulation of Pro-Inflammatory Cytokines: A Glucocorticoid-Resistance Model. *Health Psychol.* 2002;21(6):531–41.
 115. Deuschle M, Schweiger U, Weber B, Gotthardt U, Körner A, Schmider J, et al. Diurnal Activity and Pulsatility of the Hypothalamus-Pituitary-Adrenal System in Male Depressed Patients and Healthy Controls. *J Clin Endocrinol Metab.* 1997 Jan;82(1):234–8.
 116. Young EA, Carlson NE, Brown MB. Twenty-Four-Hour ACTH and Cortisol Pulsatility in Depressed Women. *Neuropsychopharmacology.* 2001 Aug;25(2):267–76.
 117. von Bardeleben U, Holsboer F. Cortisol Response to a Combined Dexamethasone-Human Corticotrophin-Releasing Hormone Challenge in Patients with Depression. *J Neuroendocrinol.* 1989 Dec;1(6):485–8.
 118. Heuser I, Yassouridis A, Holsboer F. The combined dexamethasone/CRH test: A refined laboratory test for psychiatric disorders. *J Psychiatr Res.* 1994;28(4):341–56.
 119. Ising M, Kunzel HE, Binder EB, Nickel T, Modell S, Holsboer F. The combined dexamethasone/CRH test as a potential surrogate marker in depression. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry.* 2005 Jul;29(6):1085–93.
 120. Mokhtari M, Arfken C, Boutros N. The DEX/CRH test for major depression: A potentially useful diagnostic test. *Psychiatry Res.* 2013 Jul 30;208(2):131–9.
 121. Hardeveld F, Spijker J, Vreeburg SA, Graaf RD, Hendriks SM, Licht CMM, et al. Increased cortisol awakening response was associated with time to recurrence of major depressive disorder. *Psychoneuroendocrinology.* 2014 Dec;50:62–71.
 122. Dienes KA, Hazel NA, Hammen CL. Cortisol secretion in depressed, and at-risk adults. *Psychoneuroendocrinology.* 2013 Jun;38(6):927–40.
 123. Loppnow H. Zytokine: Klassifikation, Rezeptoren, Wirkungsmechanismen. *Internist.*

- 2001 Jan;42(1):13–27.
124. Balkwill FR, Burke F. The cytokine network. *Immunol Today*. 1989;10(9):299–304.
 125. Hagiwara E, Abbasi F, Mor G, Ishigatsubo Y, Klinman DM. Phenotype and frequency of cells secreting IL-2, IL-4, IL-6, IL-10, IFN and TNF- α in human peripheral blood. *Cytokine*. 1995 Nov;7(8):815–22.
 126. Eugenin EA, Berman JW. Chemokines. In: Mackay IR, Rose NR, Diamond B, Davidson A, editors. *Encyclopedia of Medical Immunology: Autoimmune Diseases*. New York, NY: Springer New York; 2014. p. 279–86.
 127. Tanaka T, Narazaki M, Kishimoto T. Interleukin-6. In: Mackay IR, Rose NR, Diamond B, Davidson A, editors. *Encyclopedia of Medical Immunology: Autoimmune Diseases*. New York, NY: Springer New York; 2014. p. 579–87.
 128. Ishikawa F, Miyazaki S. New biodefense strategies by neutrophils. *Arch Immunol Ther Exp*. 2005;53:226–33.
 129. Zhang JM, An J. Cytokines, Inflammation, and Pain. *Int Anesthesiol Clin*. 2007;45(2):27–37.
 130. Barnes PJ. The cytokine network in asthma and chronic obstructive pulmonary disease. *J Clin Invest*. 2008;118(11):3546–56.
 131. Mudter J, Neurath MF. Die Rolle von Zytokinen in der Pathogenese und Therapie chronisch-entzündlicher Darmerkrankungen. *Bundesgesundheitsbl - Gesundheitsforsch Gesundheitsschutz*. 2003 Mar;46:217–24.
 132. Lippitz BE. Cytokine patterns in patients with cancer: a systematic review. *Lancet Oncol*. 2013 May;14:e218–28.
 133. Dowlati Y, Herrmann N, Swardfager W, Liu H, Sham L, Reim EK, et al. A Meta-Analysis of Cytokines in Major Depression. *Biol Psychiatry*. 2010 Mar;67(5):446–57.
 134. Haapakoski R, Mathieu J, Ebmeier KP, Alenius H, Kivimäki M. Cumulative meta-analysis of interleukins 6 and 1 β , tumour necrosis factor α and C-reactive protein in patients with major depressive disorder. *Brain Behav Immun*. 2015 Oct;49:206–15.
 135. Köhler CA, Freitas TH, Maes M, de Andrade NQ, Liu CS, Fernandes BS, et al. Peripheral cytokine and chemokine alterations in depression: a meta-analysis of 82 studies. *Acta Psychiatr Scand*. 2017 May;135(5):373–87.
 136. Raison CL, Capuron L, Miller AH. Cytokines sing the blues: inflammation and the pathogenesis of depression. *Trends Immunol*. 2006 Jan;27(1):24–31.
 137. Bonaccorso S, Marino V, Biondi M, Grimaldi F, Ippoliti F, Maes M. Depression induced by treatment with interferon-alpha in patients affected by hepatitis C virus. *J Affect Disord*. 2002 Dec;72(3):237–41.
 138. Bonaccorso S, Puzella A, Marino V, Pasquini M, Biondi M, Artini M, et al. Immunotherapy with interferon-alpha in patients affected by chronic hepatitis C induces an intercorrelated stimulation of the cytokine network and an increase in depressive and anxiety symptoms. *Psychiatry Res*. 2001 Dec 15;105(1–2):45–55.
 139. Nothdurfter C, Milenkovic VM, Sarubin N, Hilbert S, Manook A, Weigl J, et al. The cytokine IL-17A as a marker of treatment resistance in major depressive disorder? *Eur J Neurosci*. 2021 Jan;53(1):172–82.
 140. Rohleder N. Stimulation of Systemic Low-Grade Inflammation by Psychosocial Stress: *Psychosom Med*. 2014 Apr;76(3):181–9.
 141. Marsland AL, Walsh C, Lockwood K, John-Henderson NA. The effects of acute psychological stress on circulating and stimulated inflammatory markers: A systematic review and meta-analysis. *Brain Behav Immun*. 2017 Aug;64:208–19.
 142. Maes M, Song C, Lin A, De Jongh R, Van Gastel A, Kenis G, et al. The effects of psychological stress on humans: increased production of pro-inflammatory cytokines and a Th1-like response in stress-induced anxiety. *Cytokine*. 1998 Apr;10(4):313–8.

143. Yamakawa K, Matsunaga M, Isowa T, Kimura K, Kasugai K, Yoneda M, et al. Transient responses of inflammatory cytokines in acute stress. *Biol Psychol.* 2009 Sep;82(1):25–32.
144. Speer K, Upton D, Semple S, McKune A. Systemic low-grade inflammation in post-traumatic stress disorder: a systematic review. *J Inflamm Res.* 2018;11:111–21.
145. Rohleder N, Aringer M, Boentert M. Role of interleukin-6 in stress, sleep, and fatigue. *Ann N Y Acad Sci.* 2012 Jul;1261(1):88–96.
146. World Medical Association. Declaration Of Helsinki - Ethical Principles for Medical Research Involving Human Subjects. 2013.
147. International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use (ICH). Leitlinie zur Guten Klinischen Praxis, Harmonisierte ICH-Leitlinie für die EU, Japan und die USA, E6 (R2). 2016.
148. Bundesministerium der Justiz und für Verbraucherschutz, Bundesamts für Justiz. Arzneimittelgesetz in der Fassung der Bekanntmachung vom 12. Dezember 2005 (BGBl. I S. 3394), das zuletzt durch Artikel 2 Absatz 1 des Gesetzes vom 25. Juni 2020 (BGBl. I S. 1474) geändert worden ist. 2020.
149. Bahr LM. Investigating the role of the central and the peripheral benzodiazepine receptor on stress and anxiety related parameters. Universität Regensburg; 2020.
150. Fries E, Hellhammer DH, Hellhammer J. Attenuation of the hypothalamic–pituitary–adrenal axis responsivity to the Trier Social Stress Test by the benzodiazepine alprazolam. *Psychoneuroendocrinology.* 2006 Nov;31(10):1278–88.
151. Faul F, Erdfelder E, Lang AG, Buchner A. G*Power 3: A flexible statistical power analysis program for the social, behavioral, and biomedical sciences. *Behav Res Methods.* 2007 May;39(2):175–91.
152. Rohleder N, Schommer NC, Hellhammer DH, Engel R, Kirschbaum C. Sex Differences in Glucocorticoid Sensitivity of Proinflammatory Cytokine Production After Psychosocial Stress: *Psychosom Med.* 2001 Nov;63(6):966–72.
153. Uhart M, Chong R, Oswald L, Lin P, Wand G. Gender differences in hypothalamic–pituitary–adrenal (HPA) axis reactivity. *Psychoneuroendocrinology.* 2006 Jun;31(5):642–52.
154. Kirschbaum C, Kudielka BM, Gaab J, Schommer NC, Hellhammer DH. Impact of Gender, Menstrual Cycle Phase, and Oral Contraceptives on the Activity of the Hypothalamus-Pituitary-Adrenal Axis: *Psychosom Med.* 1999;61(2):154–62.
155. Cottin J, Gouraud A, Jean-Pastor MJ, Disson-Dautriche A, Boulay C, Geniaux H, et al. Safety profile of etifoxine: A French pharmacovigilance survey. *Fundam Clin Pharmacol.* 2016 Apr;30(2):147–52.
156. Choi YM, Kim KH. Etifoxine for Pain Patients with Anxiety. *Korean J Pain.* 2015 Jan;28(1):4–10.
157. Biocodex. Summary of Product Characteristics (SmPC) Stresam (Etifoxine); Gentilly, France. 2015.
158. Verster JC, Volkerts ER. Clinical Pharmacology, Clinical Efficacy, and Behavioral Toxicity of Alprazolam: A Review of the Literature. *CNS Drug Rev.* 2004 Mar;10(1):45–76.
159. Greenblatt DJ, Wright CE. Clinical Pharmacokinetics of Alprazolam: Therapeutic Implications. *Clin Pharmacokinet.* 1993 Jun;24(6):453–71.
160. ratiopharm. Fachinformation Alprazolam-ratiopharm 0,5 mg Tabletten,. ratiopharm. 2018 Jul;Version 2.
161. Krohne HW, Egloff B, Kohlmann CW, Tausch A. Untersuchungen mit einer deutschen Version der “Positive and Negative Affect Schedule” (PANAS). *Diagnostica.* 1996 Jan;42(2):139–56.

162. Laux L, Glanzmann P, Schaffner P, Spielberger CD. Das State-Trait-Angstinventar (STAI): Theoretische Grundlagen und Handanweisungen. Weinheim : Beltz; 1981.
163. Kemper CJ, Ziegler M, Taylor S. Überprüfung der psychometrischen Qualität der deutschen Version des Angstsensitivitätsindex-3. *Diagnostica*. 2009 Oct;55(4):223–33.
164. Gerlach AL, Andor T, Patzelt J. Die Bedeutung von Unsicherheitsintoleranz für die Generalisierte Angststörung Modellüberlegungen und Entwicklung einer deutschen Version der Unsicherheitsintoleranz-Skala. *Z Für Klin Psychol Psychother*. 2008 Jul;37(3):190–9.
165. Erdmann G, Janke W. Stressverarbeitungsfragebogen: SVF; Stress, Stressverarbeitung und ihre Erfassung durch ein mehrdimensionales Testsystem. Hogrefe; 2008.
166. Reichenberger J, Schwarz M, König D, Wilhelm FH, Voderholzer U, Hillert A, et al. Angst vor negativer sozialer Bewertung: Übersetzung und Validierung der Furcht vor negativer Evaluation–Kurzsкала (FNE-K). *Diagnostica*. 2016 Jul;62(3):169–81.
167. Schmitz A, Grillon C. Assessing fear and anxiety in humans using the threat of predictable and unpredictable aversive events (the NPU-threat test). *Nat Protoc*. 2012 Mar;7(3):527–32.
168. Chambless DL, Caputo GC, Bright P, Gallagher R. Assessment of Fear of Fear in Agoraphobics: The Body Sensations Questionnaire and the Agoraphobic Cognitions Questionnaire. *J Consult Clin Psychol*. 1984 Dec;52(6):1090–7.
169. Schubert TW. The sense of presence in virtual environments: A three-component scale measuring spatial presence, involvement, and realness. *Z Für Medien*. 2003 Apr;15(2):69–71.
170. Gerlach AL, Heinrichs N, Bandl C, Zimmermann T. SSPS - Ein Fragebogen zur Erfassung der kognitiven Komponente von Redeangst. *Z Für Klin Psychol Psychother*. 2007 Apr;36(2):112–20.
171. Hofmann SG, DiBartolo PM. An Instrument to Assess Self-Statements During Public Speaking: Scale Development and Preliminary Psychometric Properties. *Behav Ther*. 2000;31(3):499–515.
172. Ackenheil M, Stotz G, Dietz-Bauer R, Vossen A, Dietz R, Vossen-Wellmann A, et al. Deutsche Fassung des Mini-International Neuropsychiatric Interview, German Version 5.0.0. München: Psychiatrische Universitätsklinik München; 1999.
173. Rosvold HE, Mirsky AF, Sarason I, Bransome ED, Beck LH. A Continuous Performance Test of Brain Damage. *J Consult Psychol*. 1956;20(5):343–50.
174. Marcora SM, Staiano W, Manning V. Mental fatigue impairs physical performance in humans. *J Appl Physiol*. 2009 Mar;106(3):857–64.
175. Kirschbaum C, Pirke KM, Hellhammer DH. The ‘Trier Social Stress Test’ – A Tool for Investigating Psychobiological Stress Responses in a Laboratory Setting. *Neuropsychobiology*. 1993;28(1–2):76–81.
176. Wallergård M, Jönsson P, Johansson G, Karlsson B. A Virtual Reality Version of the Trier Social Stress Test: A Pilot Study. *Presence Teleoperators Virtual Environ*. 2011 Aug;20(4):325–36.
177. Shibani Y, Diemer J, Brandl S, Zack R, Mühlberger A, Wüst S. Trier Social Stress Test in vivo and in virtual reality: Dissociation of response domains. *Int J Psychophysiol*. 2016 Dec;110:47–55.
178. Demeditec Diagnostics GmbH. Cortisol ELISA.
179. MSD MULTI-SPOT Assay System. Proinflammatory Panel 1 (human) Insert. Meso Scale Diagnostics, LLC.; 2020.
180. MSD MULTI-SPOT Assay System. Chemokine Panel 1 (human) Kits Insert. Meso Scale Diagnostics, LLC.; 2020.
181. MSD MULTI-SPOT Assay System. Angiogenesis Panel 1 (human) Insert. Meso Scale

- Diagnostics, LLC.; 2020.
182. MSD MULTI-SPOT Assay System. Cytokine Panel 1 (human) Kits Insert. Meso Scale Diagnostics, LLC.; 2020.
 183. Verma JP. Repeated Measures Design for Empirical Researchers. 1st ed. John Wiley & Sons, Inc; 2015.
 184. Wager TD, Atlas LY. The neuroscience of placebo effects: connecting context, learning and health. *Nat Rev Neurosci*. 2015 Jul;16(7):403–18.
 185. McCann CC, Goldfarb B, Frisk M, Quera-Salva M, Meyer P. The role of personality factors and suggestion in placebo effect during mental stress test. *Br J Clin Pharmacol*. 1992 Jan;33(1):107–10.
 186. Roger D, Najarian B. The relationship between emotional rumination and cortisol secretion under stress. *Personal Individ Differ*. 1998 Apr;24(4):531–8.
 187. Ennis M, Kelly KS, Lambert PL. Sex differences in cortisol excretion during anticipation of a psychological stressor: possible support for the tend-and-befriend hypothesis. *Stress Health*. 2001 Jul;17(4):253–61.
 188. Engert V, Efanov SI, Duchesne A, Vogel S, Corbo V, Pruessner JC. Differentiating anticipatory from reactive cortisol responses to psychosocial stress. *Psychoneuroendocrinology*. 2013 Aug;38(8):1328–37.
 189. Benjamins C, Asscheman H, Schuurs AHB. Increased Salivary Cortisol in Severe Dental Anxiety. *Psychophysiology*. 1992 May;29(2):302–5.
 190. Zimmer P, Buttlar B, Halbeisen G, Walther E, Domes G. Virtually stressed? A refined virtual reality adaptation of the Trier Social Stress Test (TSST) induces robust endocrine responses. *Psychoneuroendocrinology*. 2019 Mar;101:186–92.
 191. Ljubijankić N, Popović-Javorić R, Šćeta S, Šapčanin A, Tahirović I, Sofić E. Daily Fluctuation of Cortisol in the Saliva and Serum of Healthy Persons. *Bosn J Basic Med Sci*. 2008 May 20;8(2):110–5.
 192. Risby ED, Hsiao JK, Golden RN, Potter WZ. Intravenous alprazolam challenge in normal subjects: Biochemical, cardiovascular, and behavioral effects. *Psychopharmacology (Berl)*. 1989 Dec;99:508–14.
 193. Benschop RJ, Jacobs R, Sommer B, Schurmeyer TH, Raab H, Schmidt RE, et al. Modulation of the immunologic response to acute stress in humans by β -blockade or benzodiazepines. *FASEB J*. 1996 Mar;10(4):517–24.
 194. Rohrer T, Richthofen V von, Schulz C, Beyer J, Lehnert H. The Stress-, but Not Corticotropin-Releasing Hormone-Induced Activation of the Pituitary-Adrenal Axis in Man is Blocked by Alprazolam. *Horm Metab Res*. 1994;26(04):200–6.
 195. Costa E, Guidotti A. Molecular Mechanisms in the Receptor Action of Benzodiazepines. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*. 1979 Apr;19:531–45.
 196. Owens MJ, Vargas MA, Nemeroff CB. The effects of alprazolam on corticotropin-releasing factor neurons in the rat brain: Implications for a role for CRF in the pathogenesis of anxiety disorders. *J Psychiatr Res*. 1993 Jan;27(Suppl. 1):209–20.
 197. Kalogeras KT, Calogero AE, Kuribayashi T, Khan I, Gallucci WT, Kling MA, et al. *In Vitro* and *in Vivo* Effects of the Triazolobenzodiazepine Alprazolam on Hypothalamic Pituitary-Adrenal Function: Pharmacological and Clinical Implications*. *J Clin Endocrinol Metab*. 1990 May;70(5):1462–71.
 198. Miklós IH, Kovács KJ. GABAergic innervation of corticotropin-releasing hormone (CRH)-secreting parvocellular neurons and its plasticity as demonstrated by quantitative immunoelectron microscopy. *Neuroscience*. 2002 Sep;113(3):581–92.
 199. Decavel C, Van Den Pol AN. GABA: A dominant neurotransmitter in the hypothalamus. *J Comp Neurol*. 1990 Dec 22;302(4):1019–37.
 200. Verleye M, André N, Gillardin JM. Lack of interaction between etifoxine and CRF1

- and CRF2 receptors in rodents. *Neurosci Res.* 2006 Sep;56(1):53–60.
201. Kuebler U, Zuccarella-Hackl C, Arpagaus A, Wolf JM, Farahmand F, von Känel R, et al. Stress-induced modulation of NF- κ B activation, inflammation-associated gene expression, and cytokine levels in blood of healthy men. *Brain Behav Immun.* 2015 May;46:87–95.
 202. Steensberg A, Fischer CP, Keller C, Møller K, Pedersen BK. IL-6 enhances plasma IL-1ra, IL-10, and cortisol in humans. *Am J Physiol-Endocrinol Metab.* 2003 Aug;285(2):E433–7.
 203. Weber MM, Michl P, Auernhammer CJ, Engelhardt D. Interleukin-3 and interleukin-6 stimulate cortisol secretion from adult human adrenocortical cells. *Endocrinology.* 1997 May;138(5):2207–10.
 204. Mastorakos G, Ilias I. Relationship between interleukin-6 (IL-6) and hypothalamic-pituitary-adrenal axis hormones in rheumatoid arthritis. *Z Für Rheumatol.* 2000 Oct;59(S2):II75–9.
 205. Ibrahim N, Ibrahim S, Mannaa F, AbdelWahab K, Ali M. Selective amelioration of chronic restraint stress effects on IL-6, liver function and erythrocyte indices by the chemical Alprazolam drug or the herb valerian extract in rats. *Egypt J Exp Biol Zool.* 2017;13(2):149–58.
 206. Song DK, Suh HW, Huh SO, Jung JS, Ihn BM, Choi IG, et al. Central GABAA and GABAB Receptor Modulation of Basal and Stress-Induced Plasma Interleukin-6 Levels in Mice. 1998;287(1):144–9.
 207. Jankord R, Zhang R, Flak JN, Solomon MB, Albertz J, Herman JP. Stress activation of IL-6 neurons in the hypothalamus. *Am J Physiol-Regul Integr Comp Physiol.* 2010 Jul;299(1):R343–51.
 208. Ravikumar B, Crawford D, Dellovade T, Savinainen A, Graham D, Liere P, et al. Differential efficacy of the TSPO ligands etifoxine and XBD-173 in two rodent models of Multiple Sclerosis. *Neuropharmacology.* 2016 Sep;108:229–37.
 209. Charo IF, Ransohoff RM. The Many Roles of Chemokines and Chemokine Receptors in Inflammation. *N Engl J Med.* 2006 Feb;354(6):610–21.
 210. Stuart MJ, Singhal G, Baune BT. Systematic Review of the Neurobiological Relevance of Chemokines to Psychiatric Disorders. *Front Cell Neurosci.* 2015 Sep;9.
 211. Simon NM, McNamara K, Chow CW, Maser RS, Papakostas GI, Pollack MH, et al. A detailed examination of cytokine abnormalities in Major Depressive Disorder. *Eur Neuropsychopharmacol.* 2008 Mar;18(3):230–3.
 212. Myung W, Lim SW, Woo HI, Park JH, Shim S, Lee SY, et al. Serum Cytokine Levels in Major Depressive Disorder and Its Role in Antidepressant Response. *Psychiatry Investig.* 2016;13(6):644–51.
 213. Grassi-Oliveira R, Brieztke E, Teixeira A, Pezzi JC, Zanini M, Lopes RP, et al. Peripheral chemokine levels in women with recurrent major depression with suicidal ideation. *Rev Bras Psiquiatr.* 2012 Mar;34(1):71–5.
 214. Lehto SM, Niskanen L, Herzig KH, Tolmunen T, Huotari A, Viinamäki H, et al. Serum chemokine levels in major depressive disorder. *Psychoneuroendocrinology.* 2010 Feb;35(2):226–32.
 215. Gao W, Xu Y, Liang J, Sun Y, Zhang Y, Shan F, et al. Serum CC Chemokines as Potential Biomarkers for the Diagnosis of Major Depressive Disorder. *Psychol Res Behav Manag.* 2022 Oct;Volume 15:2971–8.
 216. Milenkovic VM, Sarubin N, Hilbert S, Baghai TC, Stöffler F, Lima-Ojeda JM, et al. Macrophage-Derived Chemokine: A Putative Marker of Pharmacological Therapy Response in Major Depression? *Neuroimmunomodulation.* 2017 Oct;24(2):106–12.
 217. Wood SK, Wood CS, Lombard CM, Lee CS, Zhang XY, Finnell JE, et al.

- Inflammatory Factors Mediate Vulnerability to a Social Stress-Induced Depressive-like Phenotype in Passive Coping Rats. *Biol Psychiatry*. 2015 Jul;78(1):38–48.
218. Hodes GE, Pfau ML, Leboeuf M, Golden SA, Christoffel DJ, Bregman D, et al. Individual differences in the peripheral immune system promote resilience versus susceptibility to social stress. *Proc Natl Acad Sci*. 2014 Oct;111(45):16136–41.
219. Cheng Y, Jope RS, Beurel E. A pre-conditioning stress accelerates increases in mouse plasma inflammatory cytokines induced by stress. *BMC Neurosci*. 2015;16:31.
220. Carlsson E, Frostell A, Ludvigsson J, Faresjö M. Psychological Stress in Children May Alter the Immune Response. *J Immunol*. 2014 Mar;192(5):2071–81.
221. Polacchini A, Girardi D, Falco A, Zanotta N, Comar M, De Carlo NA, et al. Distinct CCL2, CCL5, CCL11, CCL27, IL-17, IL-6, BDNF serum profiles correlate to different job-stress outcomes. *Neurobiol Stress*. 2018 Feb;8:82–91.
222. Tian Q, Yang X, Du J, Huang H, Liu W, Zhao P. Translocator Protein Ligand Etifoxine Attenuates MPTP-Induced Neurotoxicity. *Front Mol Neurosci*. 2022 May;15:850904.
223. Lee JW, Nam H, Yu SW. Systematic Analysis of Translocator Protein 18 kDa (TSPO) Ligands on Toll-like Receptors-mediated Pro-inflammatory Responses in Microglia and Astrocytes. *Exp Neurobiol*. 2016 Oct;25(5):262–8.
224. Oda T, Ueda A, Shimizu N, Handa H, Kasahara T. Suppression of Monocyte Chemoattractant Protein 1, But Not IL-8, by Alprazolam: Effect of Alprazolam on c-Rel/p65 and c-Rel/p50 Binding to the Monocyte Chemoattractant Protein 1 Promoter Region. *J Immunol*. 2002 Sep;169(6):3329–35.
225. Vempati P, Popel AS, Mac Gabhann F. Extracellular regulation of VEGF: Isoforms, proteolysis, and vascular patterning. *Cytokine Growth Factor Rev*. 2014 Feb;25(1):1–19.
226. Olofsson B, Jeltsch M, Eriksson U, Alitalo K. Current biology of VEGF-B and VEGF-C. *Curr Opin Biotechnol*. 1999 Dec;10(6):528–38.
227. Li X, Eriksson U. Novel VEGF family members: VEGF-B, VEGF-C and. *Int J Biochem Cell Biol*. 2001 Apr;33(4):421–6.
228. Stacker SA, Achen MG. Emerging Roles for VEGF-D in Human Disease. *Biomolecules*. 2018;8(1):1.
229. Dewerchin M, Carmeliet P. PlGF: A Multitasking Cytokine with Disease-Restricted Activity. *Cold Spring Harb Perspect Med*. 2012 Aug;2(8):a011056.
230. Gospodarowicz D, Ferrara N, Schweigerer L, Neufeld G. Structural Characterization and Biological Functions of Fibroblast Growth Factor. *Endocr Rev*. 1987 May;8(2):95–114.
231. Woodbury ME, Ikezu T. Fibroblast Growth Factor-2 Signaling in Neurogenesis and Neurodegeneration. *J Neuroimmune Pharmacol*. 2014 Mar;9:92–101.
232. Clark-Raymond A, Halaris A. VEGF and depression: A comprehensive assessment of clinical data. *J Psychiatr Res*. 2013 Aug;47(8):1080–7.
233. Matsuno H, Tsuchimine S, O’Hashi K, Sakai K, Hattori K, Hidese S, et al. Association between vascular endothelial growth factor-mediated blood–brain barrier dysfunction and stress-induced depression. *Mol Psychiatry*. 2022 Sep;27:3822–32.
234. Levy MJF, Bouille F, Steinbusch HW, van den Hove DLA, Kenis G, Lanfumey L. Neurotrophic factors and neuroplasticity pathways in the pathophysiology and treatment of depression. *Psychopharmacology (Berl)*. 2018 Aug;235:2195–220.
235. Evans SJ, Choudary PV, Neal CR, Li JZ, Vawter MP, Tomita H, et al. Dysregulation of the fibroblast growth factor system in major depression. *Proc Natl Acad Sci*. 2004 Oct 26;101(43):15506–11.
236. Gaughran F, Payne J, Sedgwick PM, Cotter D, Berry M. Hippocampal FGF-2 and

- FGFR1 mRNA expression in major depression, schizophrenia and bipolar disorder. *Brain Res Bull.* 2006 Jul;70(3):221–7.
237. Goswami DB, Jernigan CS, Chandran A, Iyo AH, May WL, Austin MC, et al. Gene expression analysis of novel genes in the prefrontal cortex of major depressive disorder subjects. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry.* 2013 Jun;43(3):126–33.
238. Deng Z, Deng S, Zhang MR, Tang MM. Fibroblast Growth Factors in Depression. *Front Pharmacol.* 2019 Feb 5;10:60.
239. Wang L, Li XX, Chen X, Qin XY, Kardami E, Cheng Y. Antidepressant-Like Effects of Low- and High-Molecular Weight FGF-2 on Chronic Unpredictable Mild Stress Mice. *Front Mol Neurosci.* 2018 Oct 12;11:377.
240. Perez JA, Clinton SM, Turner CA, Watson SJ, Akil H. A New Role for FGF2 as an Endogenous Inhibitor of Anxiety. *J Neurosci.* 2009 May 13;29(19):6379–87.
241. Dai S, Mo Y, Wang Y, Xiang B, Liao Q, Zhou M, et al. Chronic Stress Promotes Cancer Development. *Front Oncol.* 2020 Aug 19;10:1492.
242. Thaker PH, Han LY, Kamat AA, Arevalo JM, Takahashi R, Lu C, et al. Chronic stress promotes tumor growth and angiogenesis in a mouse model of ovarian carcinoma. *Nat Med.* 2006 Aug 1;12(8):939–44.
243. Heine VM, Zareno J, Maslam S, Joëls M, Lucassen PJ. Chronic stress in the adult dentate gyrus reduces cell proliferation near the vasculature and VEGF and Flk-1 protein expression. *Eur J Neurosci.* 2005 Mar;21(5):1304–14.
244. Alpdogan Ö, Vandenbrink MRM. IL-7 and IL-15: therapeutic cytokines for immunodeficiency. *Trends Immunol.* 2005 Jan;26(1):56–64.
245. Ma A, Koka R, Burkett P. Diverse Functions of IL-2, IL-15, and IL-7 in Lymphoid Homeostasis. *Annu Rev Immunol.* 2006;24:657–79.
246. Mathy NL, Scheuer W, Lanzendörfer M, Honold K, Ambrosius D, Norley S, et al. Interleukin-16 stimulates the expression and production of pro-inflammatory cytokines by human monocytes. *Immunology.* 2000 May;100:63–9.
247. Chyuan IT, Lai JH. New insights into the IL-12 and IL-23: From a molecular basis to clinical application in immune-mediated inflammation and cancers. *Biochem Pharmacol.* 2020 May;175:113928.
248. Watford WT, Moriguchi M, Morinobu A, O’Shea JJ. The biology of IL-12: coordinating innate and adaptive immune responses. *Cytokine Growth Factor Rev.* 2003 Oct;14(5):361–8.
249. Anjum S, Qusar MMAS, Shahriar M, Islam SMA, Bhuiyan MA, Islam MdR. Altered serum interleukin-7 and interleukin-10 are associated with drug-free major depressive disorder. *Ther Adv Psychopharmacol.* 2020 Jan;10:1–11.
250. Lehto SM, Huotari A, Niskanen L, Herzig KH, Tolmunen T, Viinamäki H, et al. Serum IL-7 and G-CSF in major depressive disorder. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry.* 2010 Aug;34(6):846–51.
251. Martinuzzi E, Barbosa S, Courtet P, Olié E, Guillaume S, Ibrahim EC, et al. Blood cytokines differentiate bipolar disorder and major depressive disorder during a major depressive episode: Initial discovery and independent sample replication. *Brain Behav Immun - Health.* 2021 May;13:100232.
252. Wu X, He Y, Hsuchou H, Kastin AJ, Rood JC, Pan W. Essential role of interleukin-15 receptor in normal anxiety behavior. *Brain Behav Immun.* 2010 Nov;24(8):1340–6.
253. Stewart AM, Roy S, Wong K, Gaikwad S, Chung KM, Kalueff AV. Cytokine and endocrine parameters in mouse chronic social defeat: Implications for translational ‘cross-domain’ modeling of stress-related brain disorders. *Behav Brain Res.* 2015 Jan;276:84–91.

254. Andersen BL, Goyal NG, Weiss DM, Westbrook TD, Maddocks KJ, Byrd JC, et al. Cells, Cytokines, Chemokines, and Cancer Stress: A Biobehavioral Study of Patients With Chronic Lymphocytic Leukemia. *Cancer*. 2018 Aug;124(15):3240–8.
255. Katsuura S, Kamezaki Y, Tominaga K, Masuda K, Nishida K, Yamamoto Y, et al. High-throughput screening of brief naturalistic stress-responsive cytokines in university students taking examinations. *Int J Psychophysiol*. 2010 Aug;77(2):135–40.
256. Kamezaki Y, Katsuura S, Kuwano Y, Tanahashi T, Rokutan K. Circulating cytokine signatures in healthy medical students exposed to academic examination stress: Acute psychological stress-responsive cytokines. *Psychophysiology*. 2012 Jun;49(7):991–7.
257. Oppmann B, Lesley R, Blom B, Timans JC, Xu Y, Hunte B, et al. Novel p19 Protein Engages IL-12p40 to Form a Cytokine, IL-23, with Biological Activities Similar as Well as Distinct from IL-12. *Immunity*. 2000 Nov;13(5):715–25.
258. Lester SR, Brown JR, Aycock JE, Grubbs SL, Johnson RB. Use of Saliva for Assessment of Stress and Its Effect on the Immune System Prior to Gross Anatomy Practical Examinations. *Anat Sci Educ*. 2010 Jul;3(4):160–7.
259. Slavish DC, Graham-Engeland JE, Smyth JM, Engeland CG. Salivary markers of inflammation in response to acute stress. *Brain Behav Immun*. 2015 Feb;44:253–69.
260. Breen MS, Beliakova-Bethell N, Mujica-Parodi LR, Carlson JM, Ensign WY, Woelk CH, et al. Acute psychological stress induces short-term variable immune response. *Brain Behav Immun*. 2016 Mar;53:172–82.
261. Shaashua L, Sominsky L, Levi B, Sorski L, Reznick M, Page GG, et al. In vivo suppression of plasma IL-12 levels by acute and chronic stress paradigms: Potential mediating mechanisms and sex differences. *Brain Behav Immun*. 2012 Aug;26(6):996–1005.
262. Elenkov IJ, Chrousos GP. Stress Hormones, Proinflammatory and Antiinflammatory Cytokines, and Autoimmunity. *Ann N Y Acad Sci*. 2002 Jun;966(1):290–303.
263. Rohleder N. Stress and inflammation – The need to address the gap in the transition between acute and chronic stress effects. *Psychoneuroendocrinology*. 2019 Jul;105:164–71.
264. Hall JR, Wiechmann A, Edwards M, Johnson LA, O’Bryant SE. IL-7 and Depression: The importance of gender and blood fraction. *Behav Brain Res*. 2016 Dec;315:147–9.

8 Eidesstattliche Versicherung

Ich erkläre hiermit, dass ich die vorliegende Arbeit ohne unzulässige Hilfe Dritter und ohne Benutzung anderer als der angegebenen Hilfsmittel angefertigt habe. Die aus anderen Quellen direkt oder indirekt übernommenen Daten und Konzepte sind unter Angabe der Quelle gekennzeichnet.

Insbesondere habe ich nicht die entgeltliche Hilfe von Vermittlungs- bzw. Beratungsdiensten (Promotionsberater oder andere Personen) in Anspruch genommen. Niemand hat von mir unmittelbar oder mittelbar geldwerte Leistungen für Arbeit erhalten, die im Zusammenhang mit dem Inhalt der vorgelegten Dissertation stehen. Die Arbeit wurde bisher weder im In- noch im Ausland in gleicher oder ähnlicher Form einer anderen Prüfungsbehörde vorgelegt.

Franziska Maria Maurer

Regensburg, 24.06.2023

9 Danksagung

An dieser Stelle möchte ich mich von Herzen bei all jenen bedanken, die zur Verwirklichung dieser Dissertation beigetragen haben.

Mein Dank gilt meiner Doktormutter Prof. Dr. Caroline Nothdurfter für die Bereitstellung des Themas, die wissenschaftliche Betreuung sowie ihre Unterstützung und ihren Rückhalt während der Anfertigung dieser Dissertation.

Darüber hinaus möchte ich von Herzen meiner Mit-Doktorandin Dr. Lisa-Marie Brunner für eine fantastische Zusammenarbeit, ihren unverzichtbaren Beistand bei der Datenerhebung und ihre stete Hilfsbereitschaft und Freundschaftlichkeit danken.

Für die ärztliche Mitbetreuung unserer Probanden gilt Dr. Johannes Weigl und Dr. Andre Manook mein großer Dank. Im Hinblick auf die vielen Stunden im Labor möchte ich besonders Doris Melchner, Anett Dörfelt, Dr. Vladimir Milenkovic, Heike Hallof-Buestrich und Tatjana Jahner danken, für ihre Hilfe und Unterstützung sowie eine großartige Zusammenarbeit und alle schönen Gespräche und Zusammenkünfte.

Prof. Dr. Gunter Meister und Norbert Eichner möchte ich von Herzen für ihre unermüdliche Unterstützung und Hilfe bei der Erforschung der miRNA danken. Obwohl die miRNA letztlich nicht in die fertige Arbeit integriert werden konnte, wurde mir hiermit ein spannendes, neues Themengebiet aufgezeigt, welches mich auf meinem weiteren wissenschaftlichen Weg begleiten wird.

Mein Dank gilt meinen Freunden und Kollegen für ihren unerschütterlichen Glauben an mich und diese Arbeit und ihre Begleitung durch alle Schwierigkeiten. Mein herzlicher Dank gilt hierbei besonders Dr. Felix Berger und Florian Stegmann für ihre moralische Unterstützung, konstruktiven Ratschläge und unerbittlichen Kürzungen meiner Schachtelsätze.

Mein innigster Dank gilt meinen Eltern Ute und Markus dafür, dass sie mich mit immerwährender Liebe und Fürsorge durch alle Höhen und Tiefen dieser Dissertationsreise begleitet und die Verwirklichung meiner Ziele stets unterstützt und ermöglicht haben.

10 Lebenslauf