

Aus der Psychiatrischen Universitätsklinik der Charité im Sankt Hedwig-
Krankenhaus Berlin

DISSERTATION

Eine Untersuchung der neuronalen Veränderungen durch die
Einnahme oraler hormoneller Kontrazeptiva mit besonderem
Fokus auf Veränderungen des Hippocampus

zur Erlangung des akademischen Grades

Doctor medicinae (Dr. med.)

vorgelegt der Medizinischen Fakultät

Charité – Universitätsmedizin Berlin

von

Philine Miriam Dolz

aus Berlin

Datum der Promotion: 10. März 2017

Meinen Eltern

in Dankbarkeit

gewidmet

Inhaltsverzeichnis

Abbildungsverzeichnis	I
Abkürzungsverzeichnis	II
Zusammenfassung.....	1
Abstract.....	3
1 Einleitung- theoretischer Hintergrund	4
1.1 Weibliche Geschlechtshormone und ihre Wirkung.....	4
1.1.1 Östrogen	5
1.1.2 Progesteron.....	5
1.1.3 Serumhormonkonzentrationen im weiblichen Zyklus	5
1.2 Orale hormonelle Kontrazeption	6
1.3 Der Hippocampus	7
1.4 Hormonell bedingte Neuroplastizität	8
1.4.1 Plastizität im natürlichen Zyklus	8
1.4.2 Plastizität und hormonelle Kontrazeption	11
1.4.3 Hormonrezeptoren im Gehirn.....	12
1.4.3.1 Östrogenrezeptoren.....	12
1.4.3.1.1 Östrogenrezeptoren im Hippocampus.....	14
1.4.3.2 Progesteronrezeptoren	14
1.4.4 Zyklusabhängige Verhaltensstrategien	14
1.5 Abgeleitete Fragestellung	15

2	Material und Methoden	16
2.1	Studiendesign	16
2.2	Studienpopulation	18
2.3	Datenerhebung und -analyse.....	20
2.3.1	Magnetresonanztomographie.....	20
2.3.1.1	Datenaquisition	20
2.3.1.2	Datenanalyse	21
2.3.1.2.1	Räumliche Normalisierung	21
2.3.1.2.2	Segmentierung	21
2.3.1.2.3	Smoothing	22
2.3.1.2.4	statistische Auswertung.....	22
2.3.2	Kognitionstestung.....	23
2.3.3	Labor	23
2.3.3.1	Blut.....	23
2.3.3.2	Speichel	24
2.3.3.3	Analyse der Hormonwerte.....	24
3	Ergebnisse.....	25
3.1	Deskriptive Analyse des Studienkollektivs	25
3.2	MRT- Ganzhirnvolumen- Gruppenvergleich.....	26
3.3	Hormonkonzentrationen im Speichel	27
3.4	Korrelation der hormonellen und strukturellen Daten	29

4	Diskussion	30
4.1	Hirnstrukturelle Veränderungen	30
4.1.1	Neurobiologische Grundlagen	31
4.2	Speichelhormonkonzentrationen.....	32
4.3	Vergleich mit Erkenntnissen anderer Autoren.....	32
4.3.1	Einfluss hormoneller Kontrazeptiva auf die humane Neuroplastizität.....	32
4.3.2	Einfluss der Zyklusphase auf die humane Neuroplastizität	35
4.4	Limitationen der ÖstroBrain-Studie	37
4.5	Ausblick.....	38
4.5.1	Hormonell bedingte Neuroplastizität als möglicher Ansatzpunkt therapeutischer Optionen.....	39
5	Literaturverzeichnis	41
	Eidesstattliche Versicherung.....	49
	Curriculum vitae	50
	Danksagung.....	51

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Studiendesign	18
Abbildung 2: Zunahme des Volumens der grauen Substanz im posterioren Hippocampus rechts.....	26
Abbildung 3: Zunahme des Volumens der grauen Substanz im rechten Cerebellum	27
Abbildung 4: Progesteronkonzentration im Speichel.....	28
Abbildung 5: Estradiolkonzentration im Speichel	28
Abbildung 6: Volumenveränderung der grauen Substanz im posterioren Hippocampus	29

Abkürzungsverzeichnis

ACC	anteriorer cingulärer Cortex
CA	Cornu ammonis
ER	Östrogenrezeptor
FOV	Field of View
FSH	Follikel-stimulierendes Hormon
FWHM	Full Width at half maximum
GnRH	Gonadotropin-Releasing Hormon
GPCR	G-Protein-gekoppelter Rezeptor
ID	Identifikationsnummer
LH	Luteinisierendes Hormon
MNI	Montreal Neurological Institute
MRT	Magnetresonanztomographie
ROI	Region of Interest
SD	Standard Deviation
SE	Standard Error
T1	erster Messzeitpunkt
T2	zweiter Messzeitpunkt
TE	Time of Echo
TI	Time of Inversion
TR	Time of Repetition
VBM	Voxel based morphometry
ZNS	zentrales Nervensystem

Zusammenfassung

Das weibliche Gehirn unterliegt einer zyklusabhängigen Plastizität in Folge der variablen Hormonkonzentrationen insbesondere von Östrogen und Progesteron. In zahlreichen Tierstudien konnten bisher detaillierte Erkenntnisse zur strukturellen sowie funktionellen Modulation durch die Hormonfluktuation erlangt werden. Der Einfluss häufig verwendeter hormoneller Kontrazeptiva auf die beschriebenen Prozesse ist in der bisher vorliegenden Literatur lediglich wenig untersucht. Im Rahmen der am Max-Planck-Institut für Bildungsforschung in Berlin durchgeführten prospektiven ÖstroBrain-Studie wurde der Einfluss einer oralen hormonellen Kontrazeption auf strukturelle sowie funktionelle Veränderungen im Gehirn an 28 gesunden jungen Frauen untersucht. Die vorliegende Arbeit konzentriert sich als Teil der ÖstroBrain-Studie hierbei auf Veränderungen im Bereich der grauen Substanz in Abhängigkeit der Einnahme oraler hormoneller Kontrazeptiva vor dem Hintergrund der zyklusabhängig fluktuierenden Hormonkonzentrationen der weiblichen Geschlechtshormone.

Die ÖstroBrain-Studie schließt 28 Probandinnen ein, die mit der Einnahme eines oralen Kontrazeptivums begannen sowie 28 Probandinnen mit natürlichem Menstruationszyklus in der Kontrollgruppe. Die Probandinnen wurden mittels struktureller MRT zu zwei verschiedenen Zeitpunkten im Abstand von drei Monaten untersucht. Die erhobenen Daten wurden mittels *voxel based morphometry (VBM)* analysiert und mit den zu jedem Messzeitpunkt gewonnenen hormonellen Daten verglichen.

Progesteron konnte als signifikanter Prädiktor für das Volumen der grauen Substanz im weiblichen Hippocampus identifiziert werden, wobei im vorliegenden Probandinnenkollektiv eine negative Korrelation zwischen dem Volumen grauer Substanz und der Progesteronkonzentration im Speichel beobachtet wurde. Bei diesen Frauen ging somit eine höhere Progesteronkonzentration im Speichel mit einem geringeren Hippocampusvolumen einher. Darüber hinaus ergab die VBM-basierte Analyse der einander gegenübergestellten Gruppen einen Volumenzuwachs der grauen Substanz im Bereich des posterioren Hippocampus rechts sowie im Bereich des

rechten Cerebellums bei denjenigen Probandinnen, die mit der Einnahme eines oralen hormonellen Kontrazeptivums begannen.

Die Volumenveränderung im Bereich des Hippocampus ist dabei möglicherweise eher in Abhängigkeit der vorherrschenden Hormonkonstellation aufgrund der Zyklusphase zum jeweiligen Messzeitpunkt zu interpretieren und weniger als eine dauerhafte Veränderung, die durch die Einnahme des Kontrazeptivums vermittelt wird.

Unseres Wissens nach liegt mit der ÖstroBrain-Studie erstmals eine längsschnittliche Untersuchung des Einflusses oraler hormoneller Kontrazeptiva auf die zyklusabhängigen Vorgänge im Rahmen der Neuroplastizität des weiblichen Gehirns vor. Aufgrund unserer und im Einklang stehender vorheriger Erkenntnisse sollten die Einnahme hormoneller Kontrazeptionsmittel und der Einfluss des Menstruationszyklus zukünftig in strukturellen MRT-Untersuchungen des menschlichen Gehirns Berücksichtigung finden.

Abstract

During the menstrual cycle one can observe several cycle dependent changes in the female brain which are related to fluctuation of the main female gonadal hormones estrogen and progesterone. Many studies of rodents have revealed a detailed understanding of hormon-driven structural and functional modulation. At any rate, so far not much attention has been paid in recent neuroscience studies to the influence on the use of oral contraceptives and associated brain modulation.

To shed more light on the influence of intake of oral contraceptives on the structural as well as functional brain plasticity we conducted the prospective ÖstroBrain study at the Max-Planck-Institute of Human Development in Berlin. We took structural MRI scans of 28 healthy young women at two different points of time three months apart and related the VBM-based analysis to collected hormonal data at each point of collecting the data. 28 female participants started to use an oral contraceptive after the first scan and were compared to 28 women with natural menstrual cycles. The present document focuses on structural changes of the gray matter volume in the female brain in relation to use of oral contraceptives and concentrations of estrogen and progesterone.

In our study progesterone has been identified to be a significant predictor of gray matter volume in the female hippocampus. We found a negative correlation between progesterone concentration and gray matter volume as higher progesterone levels are related to decreased gray matter volume in our participants. The VBM-based analysis revealed increased gray matter volume in the right posterior hippocampus and right cerebellum in women after beginning the use of oral contraception.

The volume changes might be seen in context to the given hormonal status at the point of measuring rather than due to longterm changes caused by the oral contraception.

To the best of our knowledge the ÖstroBrain study considers longitudinal structural and functional changes caused by intake of oral hormonal contraceptives for the first time. It points out the necessity of taking menstrual cycle phase and use of hormonal contraceptives into account for future studies of the female brain in order to avoid misleading findings.

1 Einleitung- theoretischer Hintergrund

Die Fluktuation weiblicher Geschlechtshormone im Verlauf des Menstruationszyklus und deren Zusammenhang mit struktureller sowie funktioneller Wandlung in verschiedenen Regionen des Gehirns ist Gegenstand zahlreicher Forschungsprojekte¹⁻⁵. Auf mikroskopischer Ebene ist dieses Prinzip der neuronalen Plastizität in verschiedenen anatomischen Regionen des Gehirns unterschiedlich stark ausgeprägt, da eine unterschiedliche Sensitivität einzelner Hirnareale beobachtet werden konnte^{6,7}.

Insbesondere im Rahmen zahlreicher Tierstudien konnte bisher ein detailliertes Verständnis der ablaufenden Prozesse einer hormonvermittelten Neuroplastizität gewonnen werden. So konnte beispielsweise gezeigt werden, dass vor allem der Hippocampus und die umliegenden Hirnstrukturen bei Ratten im Verlauf des weiblichen Menstruationszyklus einer raschen Wandelbarkeit in Abhängigkeit der vorherrschenden Serumhormonkonzentrationen unterliegen^{2,4,5}.

Zur Übertragbarkeit dieser Erkenntnisse auf das menschliche Gehirn und dem Einfluss einer oralen hormonellen Kontrazeption liegen bis dato jedoch lediglich eine überschaubare Anzahl von Erkenntnissen vor und begründen daher die Motivation der vorliegenden Arbeit.

In diesem Kapitel sollen die wesentlichen theoretischen Grundlagen und Hintergründe der Thematik dieser Arbeit Erläuterung finden. Dazu folgt eine Zusammenfassung der aktuellen Literaturlage.

1.1 Weibliche Geschlechtshormone und ihre Wirkung

Insbesondere den beiden wichtigsten weiblichen Geschlechtshormone Östrogen und Progesteron wird eine besondere Bedeutung für die hormonell vermittelte Neuroplastizität beigemessen. Zum einen, da mehrfach ein Einfluss von Östrogen auf die Zellen im Hippocampus nachgewiesen werden konnte⁸⁻¹⁰ und zum anderen, da eine durch die Interaktion von Östrogen und Progesteron veränderte Modulation der hormonell bedingten Neuroplastizität beobachtet werden konnte^{4,11}.

1.1.1 Östrogen

Biochemisch lassen sich vom Steroidhormon Östrogen drei Hauptformen differenzieren, die eine unterschiedliche biologische Aktivität aufweisen. Neben Estron und Estriol besitzt Estradiol die stärkste endogene Wirkung ¹¹. Des Weiteren sind zwei verschiedene Isomere des Estradiols bekannt, das 17 α - und das 17 β - Estradiol (E2), die eine unterschiedlich stark ausgeprägte Affinität zu den einzelnen Östrogenrezeptoren ER α und ER β auszeichnet und die sich daher in ihrer Bedeutung für die neuronale Plastizität unterscheiden, da regionale Unterschiede im Expressionsmuster der Rezeptorsubtypen nachweisbar sind ¹¹.

1.1.2 Progesteron

Das Steroidhormon Progesteron ist ebenfalls ein wesentliches weibliches Sexualhormon, dessen Serumkonzentration zyklusabhängig fluktuiert. Sein wirksamster Metabolit Allopregnanolon entsteht durch die Enzyme 5- α -Reduktase sowie 3- α -Hydroxy-Steroidoxidoreduktase, welche auch im Gehirn exprimiert werden oder im Rahmen einer lokalen de-novo-Synthese als Neurosteroid freigesetzt werden ¹²⁻¹⁴.

Im Rahmen von in-vitro-Experimenten konnte gezeigt werden, dass unter dem Einfluss von neuroaktiven Progesteronmetaboliten einerseits eine gesteigerte Proliferationsrate von Neuroprogenitorzellen des Hippocampus der Ratte erreicht wird sowie andererseits von humanen neuronalen Stammzellen, die aus dem zerebralen Cortex entnommen wurden ¹⁵.

Zusätzlich kann eine Modulation der Estradiolwirkung auf den Hippocampus und die Neurogenese unter dem Einfluss von Progesteron beobachtet werden ¹⁶. Die unter dem kombinierten Einfluss von Östrogen und Progesteron entstehenden Veränderungen variieren dabei möglicherweise zwischen einzelnen Spezies ^{4,11}.

1.1.3 Serumhormonkonzentrationen im weiblichen Zyklus

Im Verlauf des Menstruationszyklus der Frau lassen sich im Wesentlichen zwei Phasen unterscheiden. Die erste Hälfte wird als Follikelphase bezeichnet und die zweite Hälfte

als Lutealphase. Der Beginn der Follikelphase und damit der Beginn eines Zyklus ist gekennzeichnet durch die Menstruation. Auf hormoneller Ebene finden sich in der frühen Follikelphase niedrige Östrogen- und Progesteronspiegel¹⁷. Mit Heranreifen des Follikels steigt der Östrogenspiegel an und erreicht ein Maximum kurz vor der Ovulation in der Mitte des Zyklus.

Postovulatorisch zeigen sich für beide Hormone relativ hohe Serumspiegel, die charakteristischerweise über den Serumspiegeln der Follikelphase liegen. Durch den Abfall der Serumspiegel beider Hormone am Ende der Lutealphase wird die nächste Menstruation ausgelöst¹⁸.

Neben den bereits genannten weiblichen Geschlechtshormonen wird zusätzlich dem Follikel-stimulierenden Hormon (FSH) sowie dem luteinisierenden Hormon (LH) eine Bedeutung im Menstruationszyklus der Frau beigemessen. Diese erreichen zum Zeitpunkt der Ovulation einen maximalen Serumspiegel und ihre Ausschüttung ist an die pulsatile Freisetzung des hypothalamischen Gonadotropin-Releasing-Hormons (GnRH) gebunden¹⁷.

1.2 Orale hormonelle Kontrazeption

Die Wirkungsweise oraler hormoneller Kontrazeptionsmittel beruht im Wesentlichen auf einer Hemmung der Ovulation durch die Inhibition der Hypothalamus-Hypophysen-Gonaden-Achse¹⁹. Die exogene Zufuhr der weiblichen Sexualhormone Östrogen und Progesteron bewirkt eine Hemmung der Ausschüttung des hypothalamischen Gonadotropin-Releasing-Hormons, gefolgt von einer verminderten Freisetzung von LH und FSH aus der Adenohypophyse sowie eine reduzierte ovarielle Synthese von endogenem Östrogen und Progesteron¹⁹⁻²¹.

Die am häufigsten verwendeten Präparate zur oralen hormonellen Kontrazeption sind Kombinationspräparate bestehend aus einer Östrogen- sowie einer Progesteronkomponente^{19,22}. Als Östrogenkomponente wird in der Regel Ethinylestradiol verwendet, welches mit verschiedenen Progesteronkomponenten kombiniert wird. Die hierbei am häufigsten verwendeten sind Progesteronderivate und Nortestosteronderivate^{19,23}.

Reine Gestagen-Präparate stellen ein weitere Möglichkeit zur oralen hormonellen Kontrazeption dar, welche insbesondere Anwendung finden, sofern eine absolute oder relative Kontraindikation für eine Östrogeneinnahme vorliegen ²². Die kontrazeptive Wirkung wird bei diesen Präparaten hauptsächlich durch eine Beeinflussung des zervikalen Sekrets und eine damit verbundene Behinderung der Spermienaszension hervorgerufen ²⁴. Bei einigen Frauen ist jedoch auch bei dieser Art der Kontrazeption eine Ovulationshemmung zu beobachten ²⁴.

1.3 Der Hippocampus

Im Allgemeinen wird dem Hippocampus als Bestandteil des limbischen Systems neben einer Beteiligung an emotionalen Vorgängen eine entscheidende Rolle für die Funktion der Gedächtnisbildung und -verarbeitung zugeschrieben ²⁵⁻²⁸.

Eine große Anzahl von Studien identifiziert den Hippocampus als eine besonders plastische Hirnstruktur ²⁹⁻³². Darüber hinaus gilt diese Hirnregion als eine der wenigen, in der beim erwachsenen Menschen Neurogenese nachweisbar ist. So ließ sich beispielsweise für den Gyrus dentatus eine Neurogenese durch regelmäßige Trainingsaktivität beobachten ³³. Darüber hinaus konnte in einer früheren post mortem durchgeführten Untersuchung von humanem hippocampalen Gewebe die Entstehung von Neuronen aus Progenitorzellen im Gyrus dentatus festgestellt werden ³⁴.

Funktionell lässt sich der Hippocampus im Wesentlichen in einen ventralen und einen dorsalen Teil unterteilen ^{26,35,36}. Dem ventralen Teil wird dabei vor allem eine Funktion in der Verarbeitung von Stress, Emotionen und Affekt zugesprochen. Dagegen werden im dorsalen Teil hauptsächlich kognitive Prozesse und Lernen verarbeitet ^{26,35}. Eine Dysfunktion im Bereich des Hippocampus wird als Ursache von Depressionen und anderen affektiven Störungen vermutet ³⁵.

Strukturelle Veränderungen im Hippocampus sind über Jahre hinweg zentrales Thema einer Vielzahl internationaler Studien und so legen die Ergebnisse aus bisher vorliegenden Studien die Vermutung nah, dass insbesondere der Hippocampus einer zyklusabhängigen und somit hormonell bedingten Neuroplastizität unterliegt. Zudem konnte der Hippocampus als eine der wenigen Hirnregionen identifiziert werden, in der bei erwachsenen Tieren eine Neurogenese beobachtet werden konnte ³⁷⁻³⁹.

1.4 Hormonell bedingte Neuroplastizität

Der Begriff der neuronalen Plastizität basiert auf der ausgeprägten Fähigkeit des Gehirns auch nach Abschluss der Hirnentwicklung im Kindesalter flexibel auf veränderte Beanspruchung zu reagieren⁴⁰. Die Adaptationsprozesse sind nachweisbar durch strukturelle sowie funktionelle Veränderungen im Gehirn⁷.

Neben Lern- und Trainingsprozessen^{6,41,42}, die Einfluss auf die graue Substanz in bestimmten Hirnarealen nehmen, konnte im Tiermodell ein ausgeprägter Effekt von Schwankungen der Konzentration der weiblichen Geschlechtshormone auf die Neuroplastizität beobachtet werden^{11,43}.

1.4.1 Plastizität im natürlichen Zyklus

Tierstudien

Woolley und Kollegen konnten in verschiedenen Studien am Gehirn von Ratten belegen, dass die Mechanismen der neuronalen Plastizität im Verlauf eines natürlichen weiblichen Zyklus innerhalb sehr kurzer Zeit zu beobachten sind. So konnten beispielsweise in den Pyramidalzellen des Cornu ammonis 1 (CA 1) im Hippocampus in der folliculären Phase des Menstruationszyklus signifikant mehr Dornfortsätze an den Dendriten der Neurone als zum Zeitpunkt der Ovulation beobachtet werden⁸. Darüber hinaus konnte ein zyklisches Entstehen und Verschwinden von Synapsen in Abhängigkeit des Menstruationszyklus sowie ein gesteigertes Ansprechvermögen der Synapsen beobachtet werden^{9,10}. Unter dem Einfluss des Östrogens kommt es über die Vermittlung von N-Methyl-D-Aspartat (NMDA-) Rezeptoren zur reversiblen Bildung von Synapsen, die durch einen präovulatorischen Anstieg der Progesteronkonzentration verschwinden^{43,44}.

Diese Beobachtung beschreibt die Neuroplastizität in speziellen Neuronen des Hippocampus in Abhängigkeit der endogenen Hormonfluktuation: Eine synchrone Erhöhung des Östrogen- sowie des Progesteronspiegels geht einher mit einer maximalen Zahl an Dornfortsätzen, gemessen pro Längeneinheit des Dendriten, während die fortbestehende Erhöhung des Progesteronspiegels bei gleichzeitig niedrigem Östrogenspiegel eine Abnahme der Zahl der Dornfortsätze bedingt⁴. Die

Zeit, die bis zur Minimierung der Dornfortsatz- Zahl vergeht, wird hierbei maßgeblich durch die Wirkung des Progesterons bestimmt, wie durch die Applikation des Progesteron- Antagonisten RU 486 gezeigt werden konnte. In Abwesenheit der Wirkung von Progesteron blieb eine Reduktion der Dornfortsatzdichte während des Übergangs von follikulärer Phase zur Ovulation aus ⁴.

Bei einer Gruppe ovariectomierter Ratten konnte nach Estradiolgabe und anschließender Progesteron-Applikation zunächst eine gesteigerte Dornfortsatz-Dichte dokumentiert werden, die jedoch von einem stärkeren Abfall der Dornfortsatz-Zahl innerhalb einiger Stunden gefolgt war als in der gegenübergestellten Gruppe ovariectomierter Ratten, in der nach alleiniger Estradioltherapie ein Anstieg der Dornfortsatz-Dichte innerhalb von drei Tagen mit anschließend langsamer Reduktion innerhalb von sechs Tagen gemessen wurde ⁴. Eine weitere Studie, die ebenfalls das Zusammenwirken von Estradiol und Progesteron bei ovariectomierten Ratten beleuchtet, erwies eine verminderte Östrogenwirkung auf die Proliferation der Zellen im Gyrus dentatus in Anwesenheit hoher Progesteronspiegel ¹⁶. Die unter dem kombinierten Einfluss von Östrogen und Progesteron entstehenden Veränderungen variieren dabei möglicherweise zwischen den einzelnen Spezies ^{4,11}.

Darüber hinaus ist der Einfluss einer exogenen Östrogenzufuhr auf die hippocampale Zellproliferation und damit auf die Neuroplastizität möglicherweise von der Art der Östrogenapplikation abhängig ¹⁶. Im Tiermodell mit weiblichen Ratten nach Ovariectomie konnte nach kontinuierlicher bzw. zyklischer 17β -Estradiol-Applikation einhergehend mit kontinuierlich hohen Serum-Hormonkonzentrationen kein signifikanter Einfluss auf die Zellproliferation im Unterschied zur Kontrollgruppe nachgewiesen werden ¹⁶. Dem gegenüber stehen die Ergebnisse einer Studie, die eine Erhöhung der Zellproliferation im Hippocampus ovariectomierter weiblicher Ratten nach subkutaner Estradiol-Injektion und damit annähernd pulsatilem Hormonausschüttung beobachtete ⁴⁵.

In verschiedenen weiteren Untersuchungen an Ratten zeigte sich die Estradiol-vermittelte Zunahme der Zellproliferation zudem einerseits abhängig vom Zeitpunkt der Applikation nach Ovariectomie der Tiere und es konnte andererseits eine dosisabhängige Wirkung beobachtet werden ¹⁶. Demgegenüber steht das Ergebnis einer Untersuchung an Wühlmäusen, in der ein gesteigertes Zellüberleben unter dem

Einfluss von Estradiol beobachtet werden konnte, welches unabhängig vom Zeitpunkt der Applikation im Zellzyklus messbar war ⁴⁶.

Die Modulation der Zellproliferation wird hierbei maßgeblich von der Länge der Estradiolexposition bestimmt, da durch eine kurzzeitige Estradiolexposition initial eine Verstärkung der Zellproliferation beobachtet werden kann, die bei andauernder Exposition jedoch supprimiert wird ^{46,47}. Neben einer Zunahme der Zellproliferation zeigte sich auch eine erhöhte Zellüberlebensdauer, welche vor allem Bereich des Gyrus dentatus im Hippocampus weiblicher Ratten nachweisbar war ⁴⁶.

Humanstudien

Die Übertragbarkeit der bisher aus den Tierstudien erlangten Erkenntnisse auf das Gehirn von Frauen und die humane Neuroplastizität ist limitiert durch das Studiendesign, da von der invasiven Messung der Synapsendichte abgesehen werden muss. Als Äquivalent für strukturelle Veränderungen im Rahmen der Neuroplastizität des Menschen dienen Volumenmaße der grauen Substanz. So konnte beispielsweise durch MR- Bildgebung des menschlichen Gehirns gezeigt werden, dass die strukturellen Anpassungsmechanismen im Wesentlichen durch Volumenzunahme im Bereich der grauen Hirnsubstanz sowie durch eine Zunahme der Kortexdicke messbar sind ⁷.

Die Untersuchung in der Pubertät befindlicher Mädchen im Alter von zehn bis fünfzehn Jahren stützt die Beobachtung von Veränderungen der Hirnstruktur in Abhängigkeit der vorherrschenden Serumhormonkonzentration von Östrogen und somit die Beeinflussung der Hirnentwicklung in diesem wichtigen Entwicklungsstadium des Menschen ⁴⁸. So konnte durch Peper und Kollegen eine signifikante negative Korrelation von endogenen Östrogenspiegeln und Volumen der grauen Substanz beobachtet werden ⁴⁸.

Die im Erwachsenenalter durch physiologische zyklusabhängige Hormonfluktuation bedingten Veränderungen des Gehirnvolumens konnten in verschiedenen Studien belegt werden ^{30,49-52}. So liegt beispielsweise von Protopopescu und Kollegen eine *ROI*-basierte Untersuchung der Wirkung von Östrogen und Progesteron auf die hippocampale und parahippocampale Neuroplastizität vor: Hierbei wurden Frauen ohne Einnahme einer hormonellen Kontrazeption in der späten Follikelphase mit hohen

Östrogenspiegeln und dieselben Frauen in der späten Lutealphase mit niedrigen Östrogenspiegeln mittels einer *VBM* untersucht. Es ließ sich während der folliculären Zyklusphase eine Zunahme der grauen Substanz im rechten Hippocampus und im Gyrus lingualis (im Okzipitallappen) messen. Dem gegenüber wurde eine Reduktion der grauen Substanz im superioren Parietallappen, in den dorsalen Basalganglien sowie im Bereich des anterioren Gyrus cinguli beobachtet ³⁰.

In weiteren Untersuchungen konnten beispielsweise Pletzer und Kollegen zeigen, dass sich bei Frauen mit einem natürlichen Menstruationszyklus während der frühen folliculären Phase des Zyklus signifikant größere Volumina der grauen Substanz messen lassen als in der Mitte der lutealen Phase ⁵³.

Lisofsky und Kollegen zeigten, dass das Volumen des Hippocampus dem Anstieg des Östrogens von der frühen bis zur späten Follikelphase folgt und sich während der Lutealphase reduziert, welches von einer Zunahme des Progesteronspiegels begleitet wird und als mögliche Ursache diskutiert wird ⁵⁰.

1.4.2 Plastizität und hormonelle Kontrazeption

In der bis dato vorliegenden wissenschaftlichen Literatur finden sich nur begrenzt Untersuchungen über den Zusammenhang einer oralen hormonellen Kontrazeption und neuroplastischer Vorgänge im menschlichen Gehirn. Durch die tiefgreifende Veränderung des endogenen Hormonhaushalts durch die Anwendung oraler hormoneller Kontrazeptiva liegt jedoch die Vermutung nahe, dass auch durch die Applikation oraler weiblicher Geschlechtshormone eine strukturelle Veränderung im menschlichen Gehirn erwartet werden darf. Insbesondere längsschnittliche Untersuchungen zur Auswirkung der oralen Kontrazeption liegen bisher nicht vor.

Erste Hinweise auf eine durch die exogene Hormonzufuhr modulierte Neuroplastizität liefern die von Pletzer und Kollegen beschriebenen Veränderungen und ein größeres Volumen an grauer Substanz im präfrontalen Kortex, den prä- sowie postzentralen Gyri, der parahippocampalen Hirnregion und der Temporalregionen unter hormoneller Kontrazeption ⁵³. Für eine *VBM*-gestützte Ganzhirnanalyse wurden Frauen mit natürlichem Menstruationszyklus einmal während der frühen Follikelphase und ein zweites Mal während der mittleren Lutealphase untersucht. Zudem wurden Frauen

unter hormoneller Kontrazeption während der Einnahmephase der Kontrazeptionsmittel untersucht. Als die zu vergleichenden Zyklusphasen wurden folgende Zeitpunkt festgelegt: Einerseits die Zeitspanne zwischen Einsetzen der Menstruation und fünf Tage vor der Ovulation, einhergehend mit niedrigen Östrogen- und Progesteronwerten (frühe folliculäre Phase) und demgegenüber die Zeitspanne zwischen drei Tagen postovulatorisch und fünf Tagen vor Beginn der Menstruation, begleitet von hohen Werten für Östrogen und Progesteron (mittlere luteale Phase) ⁵³.

Diese Erkenntnisse werden durch eine Untersuchung von de Bondt und Kollegen untermauert, die ein größeres Volumen grauer Substanz im Gyrus fusiformis und im anterioren cingulären Cortex (ACC) sowie im Gyrus frontalis superior unter oraler Kontrazeption beschreiben, verglichen mit denjenigen Probandinnen ohne exogene Hormonzufuhr ⁴⁹.

Darüber hinaus lässt sich bereits eine kurzzeitige Volumenveränderung der grauen Substanz in einzelnen Hirnarealen in Abhängigkeit der Phase der Pilleneinnahme beobachten. De Bondt und Kollegen beschreiben ein größeres Volumen grauer Substanz in der einwöchigen Phase ohne Pilleneinnahme im sechsten Brodmann-Areal, dem Gyrus postcentralis sowie dem Nucleus caudatus verglichen mit der dreiwöchigen Phase, in der die Frauen täglich die Pille zur hormonellen Kontrazeption einnehmen ⁴⁹.

Von Petersen und Kollegen liegt eine querschnittliche Untersuchung junger Frauen vor, die Volumenunterschiede in verschiedenen Regionen des Gehirns im Vergleich zwischen Frauen unter Einnahme hormoneller Kontrazeptiva und Frauen mit natürlichem Menstruationszyklus untersucht ⁵⁴. In dieser Hypothesen-gesteuerten Analyse zeigen sich signifikant größere Volumina grauer Substanz bei denjenigen Frauen mit natürlich reguliertem Zyklus.

1.4.3 Hormonrezeptoren im Gehirn

1.4.3.1 Östrogenrezeptoren

Das Steroidhormon Östrogen vermittelt seine Wirkung über verschiedene Hormonrezeptoren. Grundsätzlich kann zwischen intrazellulären und Membran-assoziierten Östrogenrezeptoren unterschieden werden ^{55,56}.

Die intrazellulären Rezeptoren entfalten ihre Wirkung als sogenannte Liganden-aktivierte Transkriptionsfaktoren über eine Induktion der Gentranskription im Zellkern und damit einhergehender Proteinsynthese. Dieser Mechanismus stellt die klassische Wirkungsweise von Steroidhormonen dar, die sich aufgrund ihrer biochemischen Struktur durch eine Lipophilie auszeichnen und somit die Zellmembran passieren können⁵⁵. Die über diesen genomischen Weg vermittelte Östrogenwirkung tritt mit einer Latenz von einigen Stunden bis Tagen ein^{57,58}.

Die Membran- assoziierten Rezeptoren vermitteln die Hormonwirkung über verschiedene sekundäre Signalkaskaden, die einerseits eine indirekte Beeinflussung der Transkription beinhalten und andererseits verschiedene Ionenkanäle in der Zellmembran beeinflussen, wie beispielsweise Calcium-aktivierte Kalium-Kanäle^{57,59–61}. Über die Signalkaskaden werden rasche östrogenvermittelte Effekte innerhalb von Sekunden bis Minuten erzielt⁶².

In zahlreichen Tierstudien konnten verschiedene Östrogenrezeptoren im Gehirn identifiziert werden: Aktuell wird zwischen den Östrogenrezeptoren ER α und ER β sowie den G- Protein- gekoppelten Rezeptoren GPCR unterschieden^{55,57,63}.

Die Expression der einzelnen Rezeptorsubtypen variiert in den einzelnen Hirnregionen. Die ER α und ER β sind in Bereichen des Vorderhirns, genauer im präoptischen Areal, dem Hypothalamus und der Amygdala besonders ausgeprägt. Auch im Hippocampus und im Kortexbereich sowie in Astrozyten, anderen Gliazellen und im peripheren Nervensystem wurden diese Subtypen des Östrogenrezeptors nachgewiesen^{55,56,64}. Darüber hinaus gelang die mikroskopische Dokumentation der Rezeptortypen auf Neuronenzellkörpern, Dendriten sowie präsynaptischen Enden im Gehirn von Ratten⁴³.

Post mortem durchgeführte Untersuchungen der ER α - Dichte im menschlichen Gehirn zeigten ebenfalls eine ausgeprägte Expression in den Bereichen Hypothalamus, Amygdala und etwas weniger im zerebralen Kortex und im Hippocampus und somit in Bereichen, denen neben einer neuroendokrinen Funktion Bedeutung für die Emotionsverarbeitung, das Gedächtnis und die Kognition beigemessen wird^{65,66}.

1.4.3.1.1 Östrogenrezeptoren im Hippocampus

Die Expression von Östrogenrezeptoren und entsprechenden Subtypen im Hippocampus zeigt regionale Unterschiede, wie im Tierversuch nachgewiesen werden konnte.

Im Hilus des Gyrus dentatus überwiegt die Expression des ER α ⁶⁷⁻⁶⁹. Der ER β wird vor allem in der Granulosazellschicht des Hippocampus exprimiert ^{66,69}. In einer postmortem durchgeführten Analyse humaner Gehirne konnte die Expression der beiden Östrogenrezeptoren ER α und ER β im Hippocampus von der 15. Schwangerschaftswoche bis ins Erwachsenenalter nachgewiesen werden ⁶⁶. Histologisch fanden sich die Rezeptoren dabei hauptsächlich im Gyrus dentatus sowie den Pyramidalzellen des Cornu ammonis.

1.4.3.2 Progesteronrezeptoren

Neben einer von Östrogen unbeeinflussten Klasse von Progesteronrezeptoren konnten durch Östrogen induzierte Progesteronrezeptoren PR im Hippocampus von Ratten und Mäusen auf Axonen, Dendriten und Synapsen nachgewiesen werden ^{70,71}. Hierbei handelt es sich vor allem um zytosolische und somit extranukleäre Rezeptoren in den Pyramidalzellen im Cornu ammonis (CA)1 und 3 des Hippocampus sowie dem Gyrus dentatus. Darüber hinaus konnten mittels ultrastruktureller Analysen intranukleäre Rezeptoren in Pyramidal- und Subgranulosa-Zellen detektiert werden ⁷¹. Die durch Östrogen E2 vermittelte Induktion der Progesteronrezeptoren ist im Wesentlichen auf nukleäre α - Östrogenrezeptoren (ER α) zurückzuführen, wird jedoch auch durch membrangebundene Östrogenrezeptoren vermittelt ⁷².

1.4.4 Zyklusabhängige Verhaltensstrategien

Einhergehend mit den strukturellen Veränderungen findet sich auch eine Veränderung der Funktion der beschriebenen Regionen. So konnte beispielsweise verändertes Verhalten von weiblichen Ratten in Abhängigkeit der jeweiligen Zyklusphase beobachtet werden ⁷³.

Weibliche Ratten zeigten bei Navigationsaufgaben, dass vor dem Hintergrund hoher Östrogenspiegel vermehrt allozentrische Strategien zum Lösen der Aufgaben verwendet wurden, wobei diese Strategien als Hippocampus-basiert betrachtet werden^{74,75}. Als charakteristisch für eine Orientierung im Rahmen dieser allozentrischen Strategie wird hierbei die Unabhängigkeit von der eigenen Position betrachtet sowie eine reizbezogene Orientierung mithilfe von weiteren Hinweisen in der Umgebung^{73,76}. Das angewandte Verhalten ändert sich zu einer egozentrischen Strategie bei niedrigen Östrogenspiegeln, welches eher im Striatum lokalisiert wird^{3,75}. Das egozentrische Bezugssystem betrachtet die Orientierung der eigenen Person im Raum.

1.5 Abgeleitete Fragestellung

Obwohl orale hormonelle Kontrazeptiva häufig Anwendung finden, ist bis dato nicht abschließend geklärt, welchen Einfluss die Kontrazeptionsmittel auf die Mechanismen der strukturellen Gehirnveränderungen des weiblichen Gehirns nehmen. Aus der zuvor dargestellten aktuellen Literaturlage ergeben sich daher folgende Fragen, auf die die vorliegende Arbeit Antworten zu finden versucht:

- 1) Lassen sich strukturelle Veränderungen des weiblichen Gehirns unter Einnahme hormoneller Kontrazeptiva beobachten?
- 2) Wenn ja, in welchem Zusammenhang stehen die zu beobachtenden strukturellen Veränderungen und die hormonellen Veränderungen im Verlauf des weiblichen Zyklus?

Hierzu soll detailliert auf die Frage eingegangen werden, ob sich eine Zunahme der grauen Substanz im Hippocampus nachweisen lässt. Und wenn ja, ob sich hierbei ein Zusammenhang zu den vorherrschenden Hormonkonzentrationen herstellen lässt?

2 Material und Methoden

Die Daten für die vorliegende Arbeit wurden im Rahmen der ÖstroBrain-Studie am Max-Planck-Institut für Bildungsforschung in Berlin in Zusammenarbeit mit der Psychiatrischen Universitätsklinik der Charité im St. Hedwig-Krankenhaus erhoben.

Die prospektive Studie wurde unter der Leitung von Dr. Simone Kühn im Zeitraum von Juni 2014 bis April 2015 durchgeführt.

Mit Genehmigung der Ethikkommission der Deutschen Gesellschaft für Psychologie erfolgte die Durchführung der Studie gemäß der Deklaration von Helsinki.

Im Folgenden soll auf die Rekrutierung der Probandinnen sowie die Methodik zur Datenerhebung und Analyse eingegangen werden. Des Weiteren erfolgt eine Darstellung der zugrunde liegenden statistischen Verfahren.

2.1 Studiendesign

Bei der ÖstroBrain-Studie handelt es sich um eine longitudinale Studie, in der die Probandinnen zu zwei Messzeitpunkten untersucht wurden.

Zur Versuchsgruppe zählten diejenigen Frauen, die mit der Einnahme eines oralen hormonellen Kontrazeptivums beginnen wollten und die darüber hinaus die unten genannten weiteren Einschlusskriterien erfüllten.

Demgegenüber stand die Kontrollgruppe, bestehend aus Probandinnen, die bei erfüllten Einschlusskriterien ohne Intention zur Einnahme einer oralen hormonellen Kontrazeptivums blieben.

Aus Gründen der Vergleichbarkeit wurde der erste Messzeitpunkt möglichst in der ersten Zykluswoche vereinbart, so dass der Untersuchungstag für die meisten Probandinnen in der frühen Follikelphase während der Menstruation beziehungsweise den ersten zehn Tagen des Zyklus bei niedrigen Serumhormonwerten für Östrogen und Progesteron liegen sollte.

Dieses Vorgehen konnte jedoch nicht für alle Probandinnen angewendet werden, da einige Probandinnen der Studiengruppe bereits im nächsten Zyklus mit der Einnahme der hormonellen Kontrazeption beginnen wollten. Diese Teilnehmerinnen wurden daher am Ende ihres Zyklus gemessen, da zu diesem Zeitpunkt ebenfalls niedrige Spiegel der Steroidhormone erwartet wurden. Hierbei ist der Beginn der späten Lutealphase und somit eine niedrige Hormonkonzentration schwer prognostizierbar. Da eine Messung vor Beginn der hormonellen Kontrazeption sichergestellt werden sollte, wurde für einige Probandinnen das Risiko in Kauf genommen, die Probandinnen eventuell in der mittleren Lutealphase zu messen und somit während endogen erhöhten Progesteronwerten.

Einerseits wurden zu jedem Untersuchungszeitpunkt eine Messung der Gehirnaktivität mittels MRT sowie eine Kognitionstestung am Computer durchgeführt. Andererseits erfolgte eine Bestimmung von Serumhormonspiegeln sowie eine Bestimmung der Hormonspiegel im Speichel. Soweit möglich wurden die Testsitzungen vormittags begonnen, da die endogene Hormonausschüttung einer zirkadianen Rhythmik unterliegt und so eine tageszeitliche Beeinflussung der gemessenen Hormonspiegel minimiert werden sollte.

Die Probandinnen füllten außerdem zu beiden Messzeitpunkten verschiedene Fragebögen aus, in denen Informationen zum momentanen Befinden, dem jeweiligen Schlafverhalten, der wahrgenommenen sozialen Unterstützung und detailliertere Beschreibung der eingenommenen Hormonpräparate gesammelt wurden. Im Folgenden soll auf die Fragebögen nicht näher eingegangen werden, da sie für diese Arbeit von untergeordneter Bedeutung sind.

Im Anschluss an den ersten Messzeitpunkt begannen die Probandinnen zyklusentsprechend mit der Einnahme eines oralen Kontrazeptivums. Die Auswahl und Dosierung des hormonellen Präparates erfolgte ausschließlich durch die behandelnden Gynäkologen.

Der zweite und letzte Messzeitpunkt in der Versuchsgruppe lag in der siebentägigen Einnahmepause nach Abschluss des dritten 21-tägigen Pillenzyklus.

Die Vergleichsgruppe wurde drei Monate nach dem ersten Messzeitpunkt erneut untersucht.

Die Untersuchungstermine wurden unter den gleichen Voraussetzungen wie auch zum ersten Zeitpunkt der Messung vereinbart.

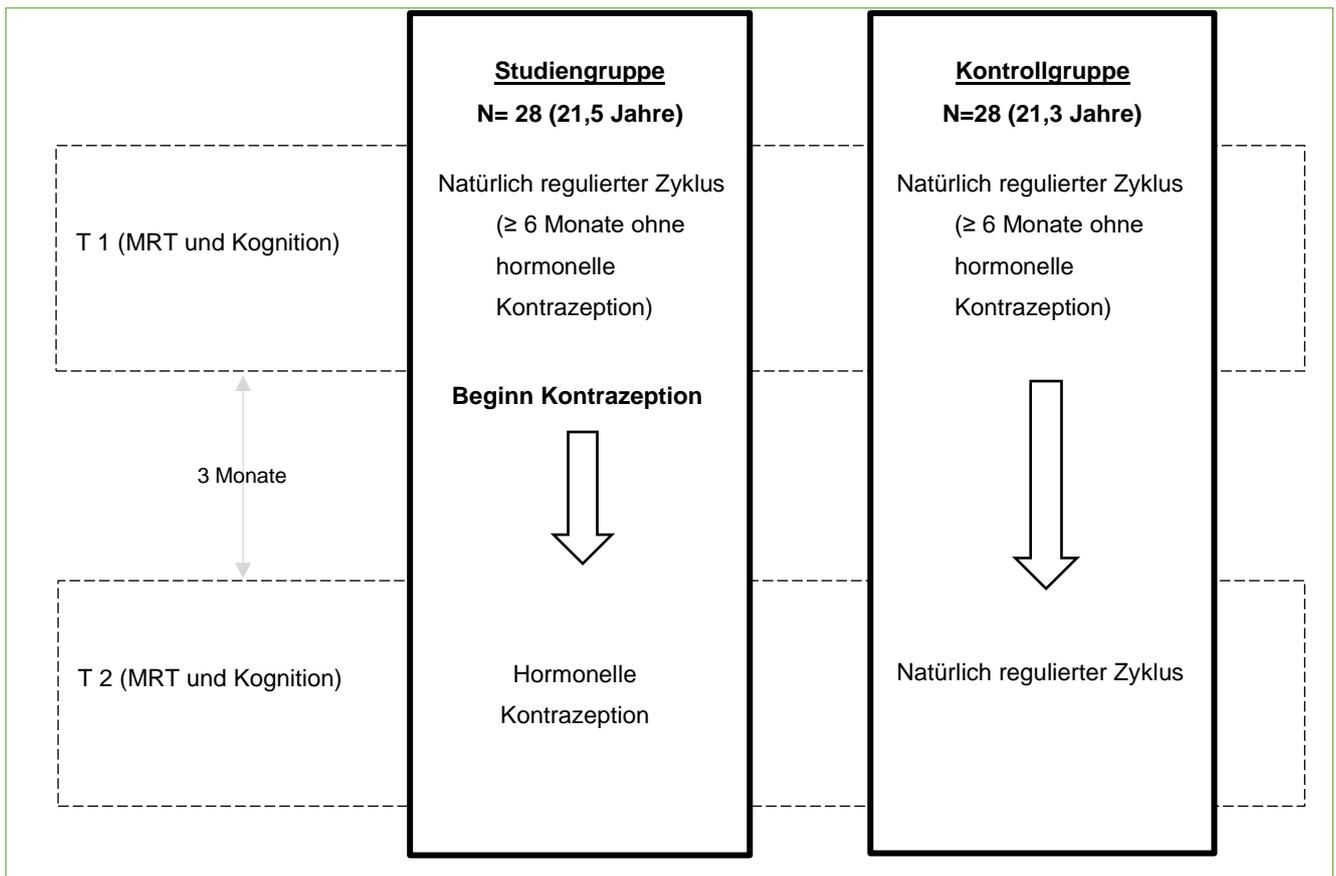


Abbildung 1: Studiendesign

2.2 Studienpopulation

Die Rekrutierung der zunächst 31 Studienteilnehmerinnen erfolgte mittels persönlicher Kontaktaufnahme zu verschiedenen niedergelassenen Gynäkologen und Gynäkologinnen in Berlin. Diese erklärten sich bereit, nach Erläuterung des Studieninhalts und dem Erhalt von Flyern eventuell ins Studienprofil passende Patientinnen direkt auf die ÖstroBrain-Studie aufmerksam zu machen. Die ausgehändigten Flyer enthielten neben den Einschlusskriterien Informationen zum Ort der Studiendurchführung, die Möglichkeiten zur Kontaktaufnahme sowie die Aufwandsentschädigung von insgesamt 120 Euro.

Des Weiteren erfolgte eine Information über die ÖstroBrain-Studie und der Versand des Flyers über die Semester-Emailverteiler der Charité Universitätsmedizin Berlin.

Interessierte Frauen wurden telefonisch bzw. per Email detailliert über den Ablauf und Ziele der ÖstroBrain-Studie aufgeklärt. Außerdem erfolgte eine Überprüfung des Erfüllens bzw. Nichterfüllens der Ein- und Ausschlusskriterien der Studie. Etwaige Fragen der Frauen wurden im Rahmen dieses Vorgesprächs ebenfalls erörtert.

Als *Einschlusskriterien* wurden dabei folgende Punkte festgelegt:

- Teilnahme in der **Studiengruppe**:
 - Probandinnenalter zwischen 16 und 35 Jahre
 - keine Einnahme hormoneller Kontrazeptiva in den vergangenen sechs Monaten
 - keine vorausgegangene Schwangerschaft (> 10. Schwangerschaftswoche)
 - Wunsch nach Einnahme eines oralen Kontrazeptivums
 - Wahrnehmung eines Termins zur Kognitionsmessung sowie ein MRT-Termin vor Beginn der Einnahme des Kontrazeptivums

- Teilnahme in der **Kontrollgruppe**:
 - Zuvor genannte Kriterien bei fehlendem Wunsch nach Einnahme eines oralen Kontrazeptivums in den nächsten 3 Monaten

Der Einschluss von Kontrollprobandinnen erfolgte teilweise aus bereits im Rahmen der MotherBrain-Studie rekrutierten Probandinnen, welche die genannten Kriterien erfüllten.

Als gemeinsame *Ausschlusskriterien* beider Gruppen galten:

- Vorliegen einer hormonellen Erkrankung
- Chronisch-degenerative oder entzündliche Erkrankungen des ZNS
- Bekannte Epilepsie
- Schwere kognitive oder neuropsychologische Beeinträchtigung
- Psychiatrische Erkrankung
- Suchterkrankung (insbesondere Alkohol und weitere Drogen)
- regelmäßige Einnahme von auf das ZNS-wirksamen Medikamenten (insbesondere Antidepressiva, Neuroleptika, Antikonvulsiva)
- vorausgegangene Operation am Gehirn
- akuter Infekt

- für die MRT
 - nicht-entfernbar metallische Implantate (insbesondere Herzschrittmacher, Stents, Gefäßclips, Gelenkprothesen, Knochenplatten etc.)
 - implantierte elektronische Geräte wie Cochleaimplantate oder Medikamentenpumpen
 - großflächige Tätowierungen oder Permanent-Make-up
 - Klaustrophobie
 - nicht herausnehmbare Piercings und andere metallische Fremdkörper

Alle Probandinnen erklärten ihre freiwillige Teilnahme im Rahmen einer schriftlichen Einverständniserklärung. Im Rahmen der Aufklärung erfolgte ebenfalls die Information über das bestehende Rücktrittsrecht, die datenschutzrechtlichen Grundlagen sowie die Ziele der Studie.

Mit drei Probandinnen konnten die letzten beiden Termine nicht vereinbart werden, sodass sich eine Studienpopulation von N= 28 ergibt.

2.3 Datenerhebung und -analyse

Die Datenerhebung erfolgte bei allen Probandinnen zu zwei Messzeitpunkten, die jeweils eine MRT sowie eine Kognitionstestung am Computer umfassten.

Aus Datenschutzgründen wurden alle erhobenen Daten mittels einer spezifischen Identifikationsnummer (ID) anonymisiert, die jeweils nur einmal vergeben wurde. Sowohl die den Probandinnen ausgehändigten Fragebögen als auch Blut- und Speichelproben wurden lediglich mit der jeweiligen ID versehen.

Die Speicherung und Zuordnung der MRT- Daten erfolgte ebenfalls auf Basis der ID.

2.3.1 Magnetresonanztomographie

2.3.1.1 Datenaquisition

Für alle MR- Untersuchungen im Rahmen der Östrobrain- Studie wurde dasselbe 3-Tesla-MRT-Gerät (Siemens Medical Systems, Erlangen, Typ Magnetom TIM-TRIO)

verwendet, welches in den Räumlichkeiten des Max-Planck-Institutes für Bildungsforschung untergebracht ist und für klinische Studien zugelassen ist.

Zur Aufnahme der hochauflösenden anatomischen Bilder wurde die T1-gewichtete Magnetization Prepared Rapid Gradient Echo (MPRAGE)-Sequenz verwendet. Der Kopf der Probandinnen wurde hierzu in einer 12-Kanal-Kopfspule gelagert. Die technischen Parameter der erhobenen Sequenzen lauteten: TR = 2500 ms; TE = 4,77ms; TI = 1100 ms; Erfassungsmatrix = 256x256x192; sagittales FOV = 256 mm; Kippwinkel = 7°; Voxelgröße = 1,0 x 1,0 x 1,0 mm³.

2.3.1.2 Datenanalyse

Die zur Datenauswertung verwendete Voxel Based Morphometry beinhaltet die Möglichkeit der Darstellung von Volumenunterschieden in der grauen Substanz des Gehirns und damit von strukturellen Unterschieden im gesamten Hirn. Hierzu erfolgt eine voxelweise Analyse von zuvor bearbeiteten strukturellen MR-Bildern⁷⁷.

Zur Analyse der in der Östrobrain-Studie erstellten MR-Bilder wurde die VBM8-Toolbox (<http://dbm.neuro.uni-jena.de/vbm.html>) als Teil des SPM8-Softwarepakets (<http://www.fil.ion.ucl.ac.uk/spm>) und die damit verbundenen Standardeinstellungen von Gaser verwendet.

2.3.1.2.1 Räumliche Normalisierung

Die individuellen Ausprägungen jedes Gehirns machen eine Anpassung an ein sogenanntes Template notwendig. Die durch Stauchung und Vergrößerung entstandenen Deformierungen der einzelnen MR-Bilder fließen als sogenannte *Jacobian*-Determinanten in die späteren Berechnungen ein.

2.3.1.2.2 Segmentierung

Die räumlich normalisierten Bilder wurden segmentiert in graue Substanz, weiße Substanz sowie Liquor cerebrospinalis.

Um das Volumen der spezifischen Gewebe innerhalb eines Voxels zu erhalten wurde eine Multiplikation der Voxelwerte der segmentierten Bilder mit der *Jacobian-Determinanten* durchgeführt.

2.3.1.2.3 Smoothing

Die Bilder wurden mit einer Halbwertsbreite (*FWHM*) von 8mm Kernel geglättet (*smoothing*), um durch die vorangegangenen Arbeitsschritte entstandene Verzerrungen zu minimieren.

2.3.1.2.4 statistische Auswertung

Die statistische Analyse der erhobenen Bilddaten erfolgte als Interaktionsanalyse mit Hilfe der sogenannten „flexible factor“- Analyse, bei der ein Interaktionseffekt für den Faktor Zeit sowie den Faktor Gruppe über allen Voxeln des Gehirns gemessen wurde. Es wurde die Veränderung des Volumens der grauen Substanz von Zeitpunkt 1 zu Zeitpunkt 2 zwischen den beiden Gruppen verglichen.

Alter und intrakranielles Gesamtvolumen der Probandinnen wurden als Covariaten in die Analyse aufgenommen.

Als Signifikanzniveau wurde $p < .005$ definiert sowie eine minimale Clustergröße von mindestens 35 Voxeln festgesetzt. Darüber hinaus fand die *non-stationary smoothness correction* Anwendung⁷⁸. Somit sind die Ergebnisse dafür korrigiert, dass die Glätte der VBM-Daten innerhalb des Gehirns nicht überall gleich groß ist und damit in glatten Regionen größere Cluster entstehen würden gegenüber kleineren Clustern in unebenen Regionen des Gehirns.

Im Anschluss an die statistische Ganzhirn-Analyse wurden die signifikanten Voxelcluster grauer Substanz der einzelnen Probandinnen mit Hilfe der *REX- Toolbox* (Region of Interest- Toolbox for SPM, <https://www.nitrc.org/projects/rex/>) extrahiert.

Zudem erfolgte die bildhafte Darstellung der Regionen mittels *mricon* (<http://www.mccauslandcenter.sc.edu/mricro/mricron/>).

Für diese Arbeit soll lediglich ein Zuwachs der grauen Substanz in der Studiengruppe untersucht werden. Eine eventuelle Reduzierung der Hirnsubstanz sollen hier unberücksichtigt bleiben.

2.3.2 Kognitionstestung

Die Kognitionstestung beinhaltete insgesamt elf verschiedene standardisierte neuropsychologische Tests, mit denen die Lern- bzw. Merkfähigkeit sowie die Orientierungsfähigkeit der Probandinnen gemessen wurden. Sämtliche Tests wurden in der zweiten Kognitionstestung unverändert wiederholt.

Auf eine detaillierte Beschreibung der einzelnen Tests soll an dieser Stelle verzichtet werden, da die Kognitionstests für die weiteren Ausführungen dieser Arbeit keine Relevanz haben und lediglich der Vollständigkeit halber Erwähnung finden.

2.3.3 Labor

2.3.3.1 Blut

Zur Bestimmung der Serum- Hormonkonzentrationen von Estradiol und Progesteron wurde jeder Studienteilnehmerin zu beiden Messzeitpunkten eine venöse Blutprobe entnommen und es wurden die Serum- Hormonkonzentrationen von Follikelstimulierendem Hormon, luteinisierendem Hormon, Estradiol, Progesteron sowie Cortisol ermittelt.

Bei jeder Probandin wurde außerdem die venöse Blutglukosekonzentration mittels AccuCheck- Teststreifen ermittelt und auf dem für jede Studienteilnehmerin angelegten Laborprotokoll dokumentiert.

Die ermittelten Serumhormonwerte sollen für die weiteren Betrachtungen außer Acht gelassen werden, da diese zum jetzigen Zeitpunkt noch nicht vollständig ausgewertet sind.

2.3.3.2 *Speichel*

Die Bestimmung der Konzentration von Steroidhormonen in Speichelproben ist eine häufig angewandte, nicht- invasive Methode, die als adäquates Maß für die Hormonaktivität im Plasma gilt, da nur ungebundene und somit biologisch aktive Hormone in den Speichel diffundieren ^{79,80}.

Die Kollektion der Speichelproben erfolgte zu drei verschiedenen Zeitpunkten während der zweistündigen Kognitionstestung, um kurzzeitige Fluktuationen der Hormonkonzentrationen im Speichel auszugleichen. Die Probandinnen wurden jeweils gebeten, ein sogenanntes SaliCap, welches sich zur Bestimmung von Steroidhormonkonzentrationen eignet, mit ausreichend Speichel zu befüllen, gegebenenfalls mit Hilfe eines kleinen Strohhalmes.

Die gesammelten Proben wurden bis zum Abschluss der Datenerhebung in einem Kühlschrank bei -20°C im Institut gelagert, da eine Analyse des kompletten Samples nach Abschluss der Studie vorgesehen war.

Analysiert wurden die Speichelproben von der IBL-International GmbH, Hamburg, Deutschland, wobei zunächst jeweils die drei einer Probandin zuzuordnenden Proben zu einer Gesamtprobe vermengt wurden.

Die Bestimmung der Estradiolkonzentration im Speichel erfolgte mit Hilfe eines Enzymimmunoassays. (17-β-Estradiol Saliva Luminescence Immunoassay, IBL-International GmbH, Hamburg).

Die Konzentration des Progesterons wurde mit ebenfalls mit einem Enzymimmunoassay gemessen (Progesterone Luminescence Immunoassay, IBL-International GmbH, Hamburg).

2.3.3.3 *Analyse der Hormonwerte*

Nach Durchführung eines Jarque-Bera-Tests auf Normalverteilung der hormonellen Daten wurde aufgrund einer signifikanten Nicht- Normalverteilung und der visuell ausgeprägten Verzerrung eine logarithmische Transformation der hormonellen Daten notwendig.

Zum Vergleich der beiden Gruppen wurde eine zweifaktorielle Varianzanalyse (ANOVA) mit Messwiederholung und einem Signifikanzniveau von $p < .05$ zugrunde gelegt.

3 Ergebnisse

3.1 Deskriptive Analyse des Studienkollektivs

Insgesamt konnten 54 Probandinnen in die ÖstroBrain-Studie eingeschlossen werden. Davon waren 28 Frauen der Studiengruppe zuzuordnen und 28 Frauen gehörten der Kontrollgruppe an. Von zunächst 31 für die Studiengruppe rekrutierten Frauen, konnten drei die zweiten Messtermine nicht wahrnehmen und sind daher als Dropout zu betrachten. Somit setzte sich das Studienkollektiv aus $N=28$ Frauen in der Studiengruppe und $N=28$ Frauen in der Kontrollgruppe zusammen.

Das Alter der Probandinnen in der Studiengruppe lag zwischen 16 und 33 Jahren und somit im Durchschnitt bei 21,25 ($SD= 4,02$) Jahren. Die Teilnehmerinnen in der Kontrollgruppe waren zwischen 16 und 28 Jahre alt, sodass das Durchschnittsalter für diese Gruppe mit 21,5 ($SD= 2,82$) Jahren ermittelt wurde. Das Durchschnittsalter der Probandinnen unterschied sich nicht signifikant ($t(54)=0.27, p=0.79$).

Für zwei der Probandinnen der Studiengruppe musste die zweite Messung nach zwei Monaten Pilleneinnahme erfolgen, da diese Probandinnen die Pille aus persönlichen Gründen nicht weiter einnehmen wollten. Aus terminlichen Gründen erfolgte für eine weitere Probandin dieser Gruppe die zweite Messung nach vier anstatt drei Monaten. Die Ergebnisse der durchgeführten *VBM*-Analyse blieben durch die Exklusion dieser Probandinnen unbeeinflusst.

Die Werte zweier Probandinnen wurden vollständig aus der Analyse der Speichelhormonkonzentrationen exkludiert, da für eine Probandin der Kontrollgruppe zum ersten Messzeitpunkt keine Östrogen- und Progesteronwerte vorlagen sowie für eine Probandin aus der Versuchsgruppe zum zweiten Messzeitpunkt kein Östrogenwert erhoben werden konnte.

3.2 MRT- Ganzhirnvolumen- Gruppenvergleich

Die Analyse der erhobenen MR-Daten ergab bei einem Signifikanzniveau von $p < .005$ zusätzlich zu einer Clustergröße > 35 Voxel korrigiert für non-stationary smoothness eine signifikante Interaktion zwischen der Gruppe und den verschiedenen Messzeitpunkten in zwei Hirnregionen. Es ließ sich ein Zuwachs der grauen Substanz im rechten posterioren Hippocampus (MNI- Koordinaten x, y, z: 24; -33; 6) sowie im rechten Cerebellum (MNI-Koordinaten x, y, z: 4; -60; -27) bei denjenigen Probandinnen darstellen, die mit der Einnahme der Pille begonnen haben.

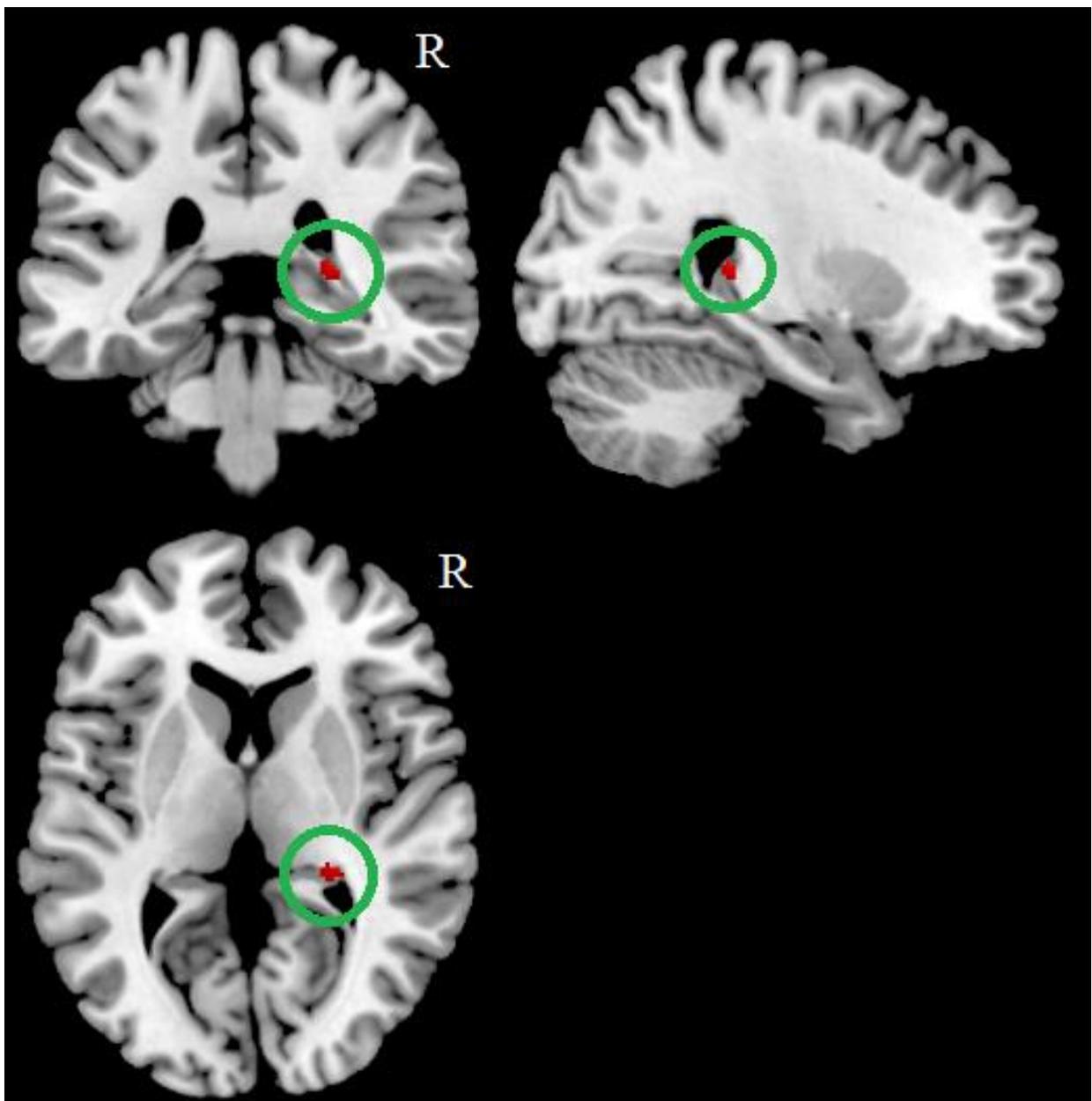


Abbildung 2: Zunahme des Volumens der grauen Substanz von Messzeitpunkt 1 zu Messzeitpunkt 2 im Bereich des posterioren Hippocampus rechts bei Probandinnen der Pillengruppe ($p < .005$, $k > 35$, korrigiert für non-stationary smoothness)

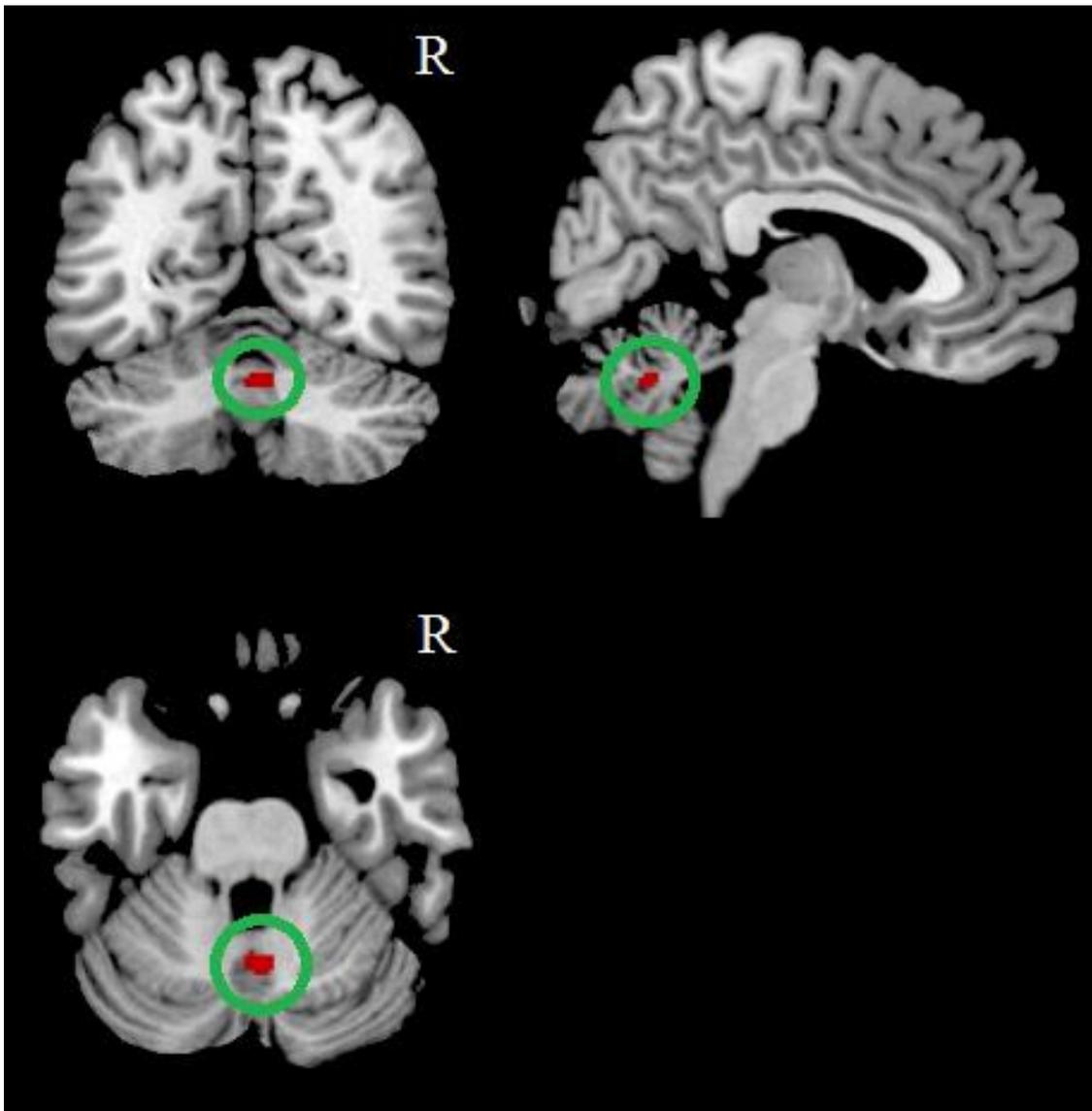


Abbildung 3: Zunahme des Volumens der grauen Substanz im rechten Cerebellum bei Probandinnen der Pillengruppe von Messzeitpunkt 1 zu Messzeitpunkt 2 ($p > .05$)

Die im Bereich des rechten Cerebellums beobachtete Interaktion ergibt sich aus einer Abnahme der grauen Substanz in der Kontrollgruppe sowie einer Substanzzunahme in der Interventionsgruppe.

3.3 Hormonkonzentrationen im Speichel

Für die Konzentration des Progesterons wurde eine signifikante Interaktion für Zeit und Gruppe mit $p = .030$ und $F(1, 53) = 4,952$ errechnet.

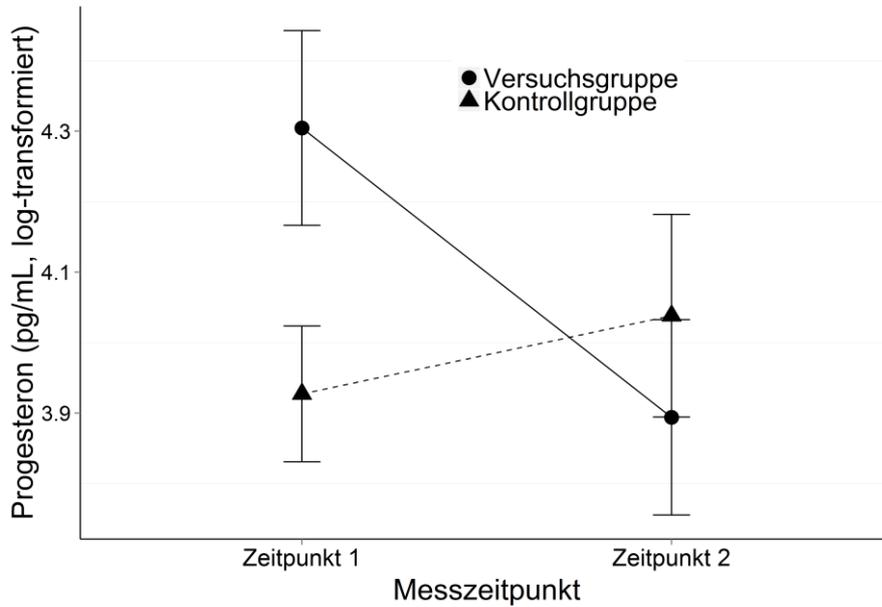


Abbildung 4: Progesteronkonzentration im Speichel zu Messzeitpunkt 1 und Messzeitpunkt 2, Errorbars stehen für Standardfehler des Mittelwertes (SE), Konfidenzintervall 95%

Bei der Analyse der Östrogenwerte zeigte sich keine signifikante Interaktion ($p > .05$).

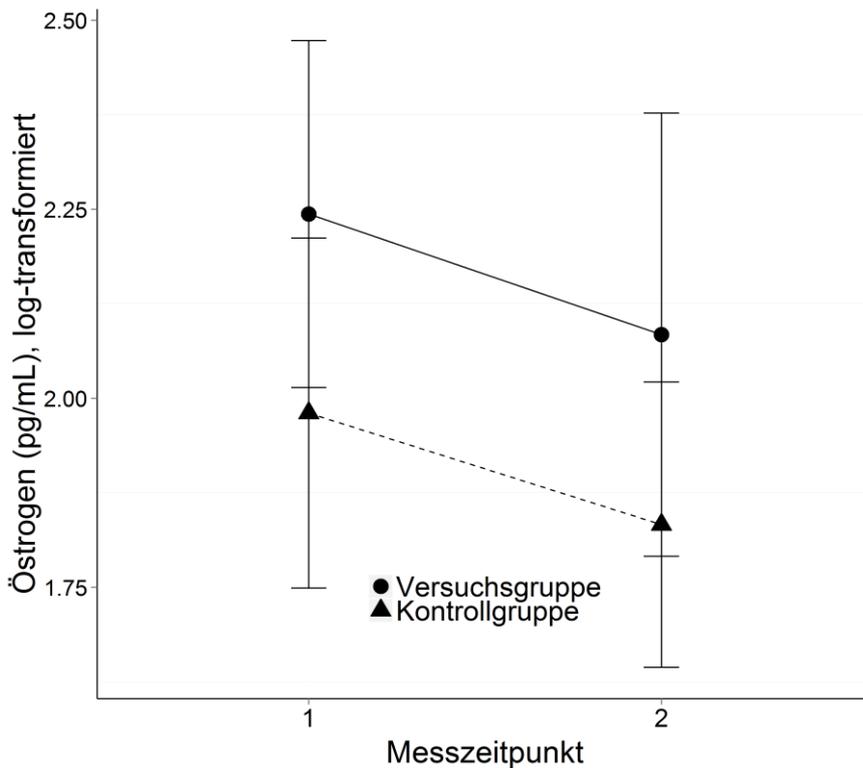


Abbildung 5: Estradiolkonzentration im Speichel von Messzeitpunkt 1 zu Messzeitpunkt 2

Für beide Geschlechtshormone zeigte sich kein signifikanter Haupteffekt für den Faktor Gruppe oder Zeit (alle $p > .05$).

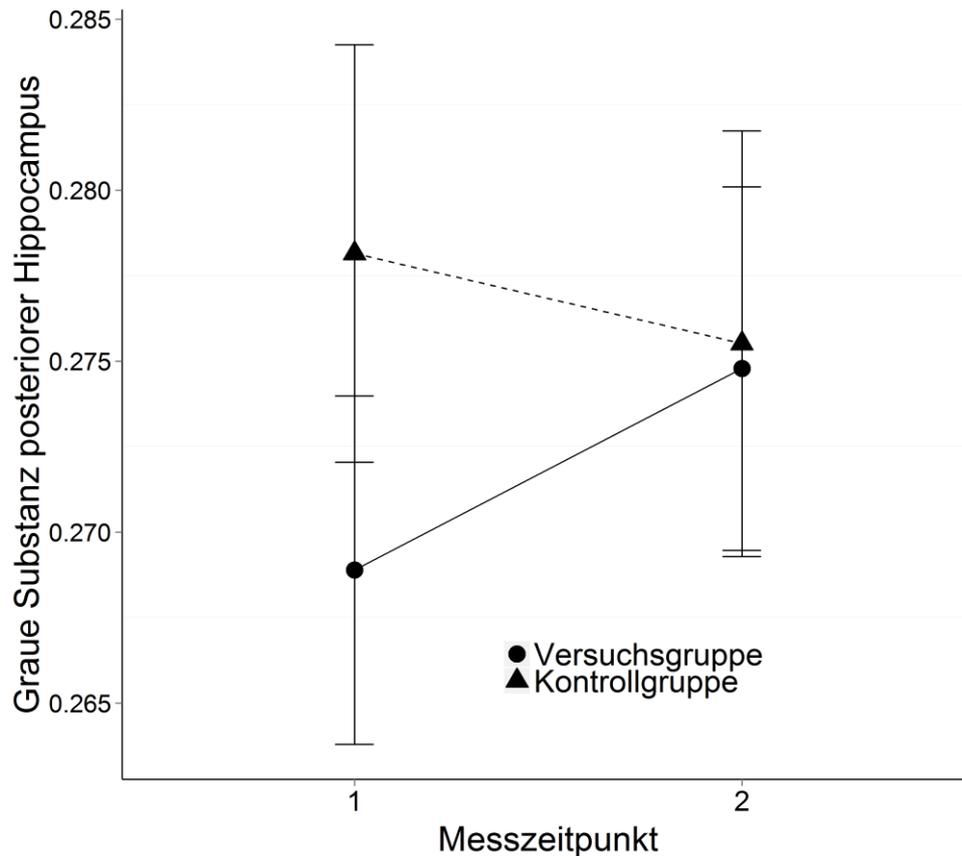


Abbildung 6: Volumen der grauen Substanz im posterioren Hippocampus von Messzeitpunkt 1 zu Messzeitpunkt 2; kein Haupteffekt für Zeit oder Gruppe, jedoch Interaktion. Errorbars stehen für Standardfehler des Mittelwerts (SE)

3.4 Korrelation der hormonellen und strukturellen Daten

Mit der Frage nach einer möglichen Korrelation zwischen der Volumenveränderung der grauen Substanz und der Veränderung der Progesteronkonzentration im Speichel wurde eine Regressionsanalyse durchgeführt. Das hierzu berechnete Mehr-Ebenen-Modell untersucht den Effekt von Progesteron auf die graue Substanz des Hippocampus, wobei für die Faktoren Alter, Messzeitpunkt sowie Gruppe kontrolliert wurde. Bei einem p-Wert von $p = .026$ und $t(53) = -2,247$ wurde Progesteron als signifikanter Prädiktor für das Volumen der grauen Substanz identifiziert. Der negative Schätzwert lässt erkennen, dass die hierbei beobachtete Korrelation negativ ist und somit höhere Progesteronwerte mit einem kleineren Volumen grauer Substanz assoziiert sind.

In Zusammenhang mit Östrogen ist eine derartige Korrelation nicht erkennbar.

4 Diskussion

Die vorliegende Arbeit beleuchtet die Veränderung des posterioren Hippocampus im Verlauf des weiblichen Menstruationszyklus und somit stattfindende Prozesse in Abhängigkeit fluktuierender Hormonkonzentrationen. Unter besonderer Berücksichtigung des Effekts einer oralen hormonellen Kontrazeption wurde hierzu eine Volumenveränderung der grauen Substanz im Hippocampus im Rahmen einer längsschnittlichen Studie untersucht.

4.1 Hirnstrukturelle Veränderungen

Es gelang die Identifikation des Progesterons als signifikanter Prädiktor des Volumens der grauen Substanz im menschlichen Hippocampus. Demnach besteht eine negative Korrelation zwischen der Progesteronkonzentration im Speichel und dem Volumen der grauen Substanz, sodass eine höhere Progesteronkonzentration bei den Probandinnen in unserer Untersuchung mit einem geringeren Hippocampusvolumen einherging.

Möglicherweise ist die Volumenabnahme der grauen Substanz im Hippocampus im Zusammenhang mit den Progesteronwerten an den jeweiligen Messzeitpunkten zu interpretieren. So deutet die Korrelation mit der Speichel-Progesteronkonzentration darauf hin, dass der Volumeneffekt der grauen Substanz im Hippocampus eher durch die aktuelle hormonelle Umgebung während der Messung hervorgerufen wurde als durch eine dauerhafte Veränderung durch die Einnahme der Kontrazeptiva. Diese Interpretation wird untermauert durch Erkenntnisse aus Tierstudien, da in Studien an Ratten festgestellt werden konnte, dass eine veränderte Progesteronkonzentration während der Lutealphase des Zyklus mit einer Reduktion des hippocampalen Volumens einhergeht, welche möglicherweise durch die hohe Progesteronkonzentration und eine damit verbundene Interaktion mit Östrogen- vermittelten Effekten induziert wird ⁴.

Darüber hinaus stellte sich das Cerebellum als eine möglicherweise ebenfalls hormonsensitive Region des weiblichen Gehirns dar, da wir bei unseren Studienteilnehmerinnen auch hier eine Veränderung darstellten, die jedoch nicht signifikant war. Dieses Erkenntnis wird durch eine Studie von Bixo und Kollegen gestützt, die in post mortem durchgeführten Untersuchungen an weiblichen Gehirnen die höchste

Progesteronrezeptordichte neben dem Hypothalamus und der Amygdala im Cerebellum messen konnten⁸¹. Da der Fokus der hier dargestellten Untersuchungen auf der Hippocampusregion lag, bleiben weitere Studien zu empfehlen, um tiefere Erkenntnisse zu hormonabhängigen Veränderungen in weiteren Hirnregionen zu erlangen.

4.1.1 Neurobiologische Grundlagen

Die zugrundeliegenden histologischen Prozesse, die eine hormonabhängige Volumenveränderung der grauen Substanz bedingen, liegen bisher weitestgehend im Verborgenen. Bisherige Untersuchungen der Mechanismen an Gehirnen von Nagern lassen eine wichtige Beteiligung von Synaptogenese, Angiogenese sowie Zellhypertrophie im Bereich der Neurone und Gliazellen vermuten, die möglicherweise zumindest teilweise auf das menschliche Gehirn übertragbar ist^{51,82}.

Neben der Zellhypertrophie und einer Veränderung der Synapsendichte müssen als Ursache für die im MR beobachtete Volumenalteration der grauen Substanz auch Veränderungen des zerebralen Blutflusses und der interstitiellen Flüssigkeit in Betracht gezogen werden⁸³. So konnten Swain und Kollegen bei der Untersuchung des Motorkortex von Ratten eine aktivitätsinduzierte Zunahme der Perfusion einhergehend mit einer Angiogenese beobachten, die möglicherweise auf das menschliche Gehirn übertragbar ist⁸⁴. Eine Darstellung dieses Mechanismus außerhalb des Motorkortex gelang in dieser Studie jedoch nicht.

Die im Hippocampus bereits kurzfristig nachweisbaren Veränderungen des Volumens grauer Substanz sind möglicherweise eher ein Abbild der kurzzeitigen Entstehung neuer Synapsen und einer damit einhergehenden Funktionsmodulation als der in diesem Bereich im Gehirn von Ratten ebenso nachgewiesenen Neurogenese, da diese als ein längerfristiger Prozess verstanden werden darf^{85,86}.

Es liegen Untersuchungen an Ratten zur Lokalisation der Rezeptoren für die hier beschriebenen weiblichen Geschlechtshormone Östrogen und Progesteron vor, in denen Östrogenrezeptoren im Hippocampus, im limbischen System sowie im Kortex in Neuronen, Astrozyten und Dendriten identifiziert werden konnten⁸⁷⁻⁸⁹.

Progesteronrezeptoren wurden unter anderem in Pyramidalzellen des Hippocampus beschrieben⁸⁸.

Dem weiblichen Geschlechtshormon Östrogen konnte in Studien am Hippocampus weiblicher Nager neben einem Einfluss auf die Zellproliferation ebenso eine Beeinflussung des Zellüberlebens nachgewiesen werden, sodass die hippocampalen Östrogenrezeptoren als ein möglicher Schlüssel für die Vermittlung der östrogeninduzierten neuroplastischen Veränderungen betrachtet werden^{11,46,90}. Österlund und Kollegen gelang die Identifikation dieser Östrogenrezeptoren im menschlichen Hippocampus, sodass eine zumindest partielle Übertragbarkeit der Erkenntnisse aus den Tierstudien auf das menschliche Gehirn möglich erscheint⁹¹.

4.2 Speichelhormonkonzentrationen

Die in unserer Studie festgestellte signifikante Interaktion der Progesteronkonzentration im Speichel für Zeit und Gruppe muss vor dem Hintergrund betrachtet werden, dass sich einige der Probandinnen in der Studiengruppe zum Zeitpunkt der ersten Messung in der späten Lutealphase befanden, da ein Beginn der Einnahme der Pille bereits zum nächsten Zyklus geplant war und wir die erste Messung vor Beginn der Einnahme als ein Einschlusskriterium definiert hatten. Somit sind die bei diesen Probandinnen gemessenen hohen Speichelkonzentrationen von Progesteron auf die Zyklusphase zurückzuführen und sollten bei der Interpretation der Ergebnisse berücksichtigt werden.

Bei der Untersuchung der Östrogenkonzentration im Speichel konnte keine signifikante Interaktion identifiziert werden.

4.3 Vergleich mit Erkenntnissen anderer Autoren

4.3.1 Einfluss hormoneller Kontrazeptiva auf die humane Neuroplastizität

In bisher vorliegenden Studien zu Adaptationsprozessen im menschlichen Gehirn unter hormoneller Kontrazeption wurde bei der Auswahl des Probandinnenkollektivs lediglich eine Gruppierung in Frauen mit natürlichem Menstruationszyklus und Frauen unter Einnahme oraler Kontrazeptionsmittel vorgenommen^{49,53}. Dabei blieb zum einen unberücksichtigt, wie lange die Verwendung der Pille im Vorfeld bestand und zum

anderen liegen nach unserem Kenntnisstand bisher keine Untersuchungen mit längsschnittlichem Studiendesign vor, sodass ein *within-subject*-Vergleich vor Beginn sowie nach Einnahme hormoneller Kontrazeptiva bis dato nicht vorliegt. Nach unserem Wissen liegt somit im Rahmen der Östrobrain-Studie erstmals eine Untersuchung der direkten Effekte nach Beginn einer oralen hormonellen Empfängnisverhütung vor.

De Bondt und Kollegen legten 2013 eine erste *VBM*-basierte Ganzhirnanalyse zu zyklusabhängigen Hirnveränderungen junger Frauen mit natürlichem Menstruationszyklus und unter hormoneller Empfängnisverhütung vor⁴⁹. In der Gruppe der Frauen unter hormoneller Kontrazeption stellen sie kurzzeitige volumetrische Veränderungen der grauen Substanz fest, die bei der Gegenüberstellung der dreiwöchigen Phase der Pilleneinnahme und der einwöchigen pillenfreien Phase nachweisbar sind. Darüber hinaus finden sich in dieser Untersuchung zyklusphasenabhängige Volumenunterschiede zwischen den Probandinnen unter hormoneller Kontrazeption und denjenigen mit natürlich reguliertem Menstruationszyklus. Die in dieser Studie verglichenen Zyklusphasen sind definiert als dritter Zyklustag (Follikelphase) und 21. Zyklustag (Lutealphase) in der Gruppe der Frauen ohne hormonelle Kontrazeption sowie der letzte Tag der pillenfreien Woche (Follikelphase) und der 14. Tag der Pilleneinnahme (Lutealphase). Bei dem Vergleich des Volumens der grauen Substanz zwischen der Gruppe von Frauen unter hormoneller Kontrazeption und derer mit natürlichem Zyklusverlauf zeigt sich im Bereich des rechten Brodmann-Areals sechs ein größeres Volumen in beiden Zyklusphasen in der Gruppe der Frauen unter Einnahme hormoneller Kontrazeptionsmittel. Der linke Gyrus fusiformis in der Follikelphase zeigt ebenso in dieser Gruppe Frauen das größere Volumen grauer Substanz, welches sich jedoch in der lutealen Zyklusphase zugunsten der Frauen mit natürlichem Menstruationszyklus verschiebt und zu diesem Zeitpunkt bei diesem Probandinnenkollektiv größer gemessen wurde. Für den rechten Gyrus fusiformis konnte lediglich in der pillenfreien Woche ein größeres Volumen grauer Substanz in der Pillengruppe dargestellt werden. Während dieser mit der Follikelphase vergleichbaren Woche konnten De Bondt und Kollegen keine Hirnregion identifizieren, in der Probandinnen ohne exogene Zyklusmodulation das größere Volumen grauer Substanz aufweisen. Darüber hinaus findet sich in dieser Untersuchung eine ausgeprägte negative Korrelation zwischen Östrogenkonzentration und Volumen grauer Substanz in der Gruppe der Frauen mit natürlichem Menstruationszyklus während der

lutealen Zyklusphase in den Bereichen des anterioren cingulären Kortex (ACC) und beidseits im Gyrus frontalis superior.

Petersen und Kollegen konnten in ihrer Untersuchung diese Erkenntnisse nur teilweise reproduzieren, da keine signifikante Korrelation zwischen der Kortexdicke im rechten ACC und dem Östrogenspiegel in der Lutealphase nachweisbar war⁵⁴. In der Follikelphase konnte jedoch eine negative Korrelation zwischen Kortexdicke im linken ACC und der Östrogenkonzentration hergestellt werden. Hierbei sollte jedoch der unterschiedliche Studienaufbau der beiden Untersuchungen berücksichtigt werden.

Die Auswirkung der Anwendung oraler hormoneller Kontrazeptivummittel auf bestimmte Regionen des weiblichen Gehirns und möglicherweise damit einhergehende Verhaltensänderungen untersuchen Petersen und Kollegen in einer Hypothesen-gesteuerten Studie mit Fokus auf spezifischen Regionen des Gehirns⁵⁴. Der Definition der zu untersuchenden Hirnregionen wurden hierbei vorangegangene Untersuchungen zugrunde gelegt, die der betreffenden Region eine Funktion im Bereich des *default mode network* und des *salience network* zusprechen. Als *ROI* definierten Petersen und Kollegen unter anderem den Hippocampus, die parahippocampale Region sowie den ACC und die Amygdala. Die untersuchten Probandinnen unterlagen hierbei einer hormonellen Kontrazeption mit monophasischen Kombinationspräparaten. Insgesamt beschreiben die Autoren dieser Untersuchung eine Reduktion der Kortexdicke in der Gruppe der Frauen unter hormoneller Kontrazeption. Es wurde keine Region identifiziert, in der unter Einnahme der Kontrazeptiva ein Zuwachs der Kortexdicke gemessen wurde⁵⁴. Verglichen mit unseren Erkenntnissen lässt sich eine Parallele erkennen, indem auch in unserer Untersuchung in der Gruppe der Frauen unter hormoneller Kontrazeption eine Reduktion und keine Zunahme der grauen Substanz beobachtet werden konnte. Durch das unterschiedliche Studiendesign ist eine Vergleichbarkeit der Ergebnisse jedoch nur partiell möglich und sollte bei der Interpretation berücksichtigt werden. Petersen und Kollegen untersuchten ihre Probandinnen im Rahmen einer Querschnittsstudie, wohingegen die Probandinnen unserer Östrobrain-Studie in Form einer längsschnittlichen Erhebung untersucht wurden und somit einer direkten Messung des Effektes einer hormonellen Kontrazeption unterlagen. Zudem muss berücksichtigt werden, dass Petersen und Kollegen in ihrer Studie eine Beschränkung bezüglich der Art des hormonellen Kontrazeptivums vornehmen. So wurden lediglich Probandinnen unter Einnahme eines monophasischen

Kombinationspräparates zur hormonellen Empfängnisverhütung in die Studie eingeschlossen. Eine derartige Beschränkung lag bei unseren Probandinnen nicht vor, da unsere Teilnehmerinnen sowohl Mono- als auch Kombinationspräparate zur Verhütung einnahmen.

Ähnlich unserer Erkenntnis finden auch Pletzer und Kollegen im Rahmen ihrer *VBM*-gestützten Ganzhirnanalyse strukturelle Veränderungen im Verlauf des Menstruationszyklus in der Hippocampusregion⁵³. Im Gegensatz zu unserer Darstellung einer progesteronabhängigen Volumenreduktion der grauen Substanz im Hippocampus beschreiben Pletzer und Kollegen jedoch ein größeres Volumen in dieser Region bei den Probandinnen unter Einnahme hormoneller Kontrazeptiva verglichen mit denjenigen Probandinnen, deren Zyklus exogen nicht beeinflusst ist. Die Volumenunterschiede werden hierbei neben dem parahippocampalen Kortex im präfrontalen Kortex, im Gyrus praecentralis sowie postcentralis, im Gyrus fusiformis sowie im temporalen Kortex lokalisiert. Diese Heterogenität der Ergebnisse ist möglicherweise auf die Auswahl des Probandinnenkollektivs zurückzuführen. Zudem sollte auch hier die Art der angewendeten hormonellen Kontrazeptionsmittel berücksichtigt werden, da Pletzer et al. ähnlich wie in unserer Studie in ihrer Untersuchung jede Form der oralen hormonellen Kontrazeptiva einschließen und somit keine Differenzierung bezüglich der enthaltenen exogen zugeführten Hormone möglich ist. Unter Umständen interagieren rein Gestagen-basierte orale Hormonpräparate in anderer Art und Weise mit der hormonell bedingten Neuroplastizität als Kombinationspräparate, die eine Östrogen- sowie Progesteronkomponente enthalten.

4.3.2 Einfluss der Zyklusphase auf die humane Neuroplastizität

Zur Untersuchung struktureller Hirnveränderungen im Verlauf des weiblichen Zyklus verglichen Protopopescu und Kollegen in einer *ROI*-basierten Untersuchung Frauen in der späten Follikulärphase ihres Zyklus und dieselben Frauen in der späten Lutealphase des Zyklus mithilfe einer *VBM*-gestützten Analyse. Sie beobachteten dabei eine Volumenzunahme der grauen Substanz im rechten Hippocampus und im Gyrus lingualis sowie eine Volumenreduktion im anterioren cingulären Kortex, Putamen/Pallidum und im Lobulus parietalis superior während der Follikelphase verglichen mit der Lutealphase³⁰.

Diese Erkenntnisse von Protopopescu und Kollegen decken sich mit den im Rahmen einer Längsschnittstudie mithilfe einer Voxel-basierten Ganzhirnanalyse untersuchten strukturellen sowie funktionellen Veränderungen des weiblichen Gehirns im Verlauf des Menstruationszyklus junger Frauen von Lisofsky und Kollegen. Sie finden einen Volumenzuwachs der grauen Substanz im Bereich beider Hippocampi von der frühen Follikelphase bis zur späten Follikelphase des Zyklus einhergehend mit einer positiven Korrelation der vorherrschenden Östrogenkonzentration⁵⁰. In der genannten Studie findet sich eine tiefergehende Untersuchung der beobachteten Veränderungen durch die Festsetzung von vier Messzeitpunkten im Verlauf des Menstruationszyklus und somit ein detaillierterer Einblick in die durch hormonelle Fluktuation bedingten Veränderungen im Gehirn. Das von Lisofsky et al. beobachtete signifikant höhere Volumen grauer Substanz während der späten Follikelphase im linken Hippocampus und dem Gyrus parahippocampalis verglichen mit der mittleren Lutealphase ist möglicherweise ein Hinweis auf die Interaktion von Östrogen und Progesteron und somit eine Modulation der durch die weiblichen Geschlechtshormone induzierten neuroplastischen Veränderungen⁵⁰. Diese Hypothese wird durch zahlreiche von Woolley und Kollegen durchgeführte Untersuchungen zur hormonell bedingten Neuroplastizität am Gehirn von Ratten gestützt. So findet sich eine durch die Interaktion von Progesteron und Östrogen bedingte Veränderung der östrogeninduzierten strukturellen Hirnveränderungen, die mit einer Reduktion der dendritischen Dornfortsätze im Hippocampus der Ratten bei steigendem Progesteronspiegel im Verlauf des Zyklus einhergingen⁴. Die reduzierte Anzahl der Dornfortsätze durch hohe Progesteronspiegel während der späten Lutealphase des Zyklus wurde hierbei als ein Grund für die zu beobachtende Volumenreduktion betrachtet⁴. Die aus diesen Zyklusstudien vorliegenden Erkenntnisse stützen auch die in unserer ÖstroBrain- Studie gemachten Beobachtungen, dass eine negative Korrelation zwischen der Progesteronkonzentration im Speichel und dem Volumen des posterioren Hippocampus besteht und liefern erstmals eine Parallele zwischen zahlreichen Erkenntnissen über die zyklusabhängige Neuroplastizität bei Nagetieren und der humanen Neuroplastizität in Abhängigkeit des weiblichen Menstruationszyklus.

Darüber hinaus wurde in dieser Studie von Lisofsky und Kollegen ebenfalls ein Areal im rechten Cerebellum als eine mit dem Östrogenspiegel positiv korrelierende Region und somit eine weitere hormonsensitive Region des menschlichen Gehirns identifiziert⁵⁰.

4.4 Limitationen der ÖstroBrain-Studie

Ein limitierender Faktor für die Aussagekraft der beschriebenen Ergebnisse ist der geringe Stichprobenumfang und es bedarf weiterer Studien zur Gewinnung weiterer repräsentativer Ergebnisse.

Des Weiteren muss kritisch angemerkt werden, dass im Rahmen der ÖstroBrain-Studie die Dosierung der eingenommenen Hormonpräparate sowie die Art der Anwendung der Pille zur hormonellen Kontrazeption keine Berücksichtigung erfahren. Die Mehrheit der Probandinnen begann nach Durchführung der ersten MR-Messung mit der Einnahme eines Kombinationspräparates. Bei einigen Probandinnen (N=2) bestanden jedoch Kontraindikationen für die Einnahme einer östrogenhaltigen Pille, so dass reine Gestagen-Monopräparate verschrieben wurden. Die exogen zugeführten Gestagene lassen sich in zwei in ihrer Wirkweise zu differenzierende Gruppen unterteilen, die anti-androgen wirksamen Gestagene beziehungsweise die androgen wirkenden Gestagene. Diese gegensätzliche Wirkung beinhaltet möglicherweise ebenso einen Aspekt, der in weiterführenden Untersuchungen Berücksichtigung finden sollte.

Die Angabe des Zyklustages, insbesondere in der Kontrollgruppe, basiert auf Selbsteinschätzung und Eigenauskunft der Teilnehmerinnen, der sich im Rahmen unserer Untersuchungen nicht mit letzter Sicherheit bestimmen ließ, da hierfür invasive Messungen notwendig geworden wären.

In Hinblick auf die geringe Größe des in unserer Studie identifizierten Clusters im posterioren Hippocampus ist eine Replikation in weiteren Studien ähnlichen Designs notwendig. Zudem muss der liberale *Threshold* (Grenzwert) von $p < .005$ für die Ergebnisse bezüglich der grauen Substanz in der VBM-Analyse berücksichtigt werden.

Durch das in unserer Untersuchung gewählte Studiendesign ist eine Verflechtung und damit möglicherweise eine Verzerrung der dargestellten Effekte durch im natürlichen weiblichen Zyklus auftretende Veränderungen sowie hirmorphologische Effekte, hervorgerufen durch die Einnahme der Kontrazeptiva zu berücksichtigen, so dass eine Untersuchung der jeweiligen Effekte in getrennten Studien erwogen werden sollte.

Nicht eindeutig zu interpretieren ist der in unserer Auswertung festgestellte Unterschied bezüglich des Hippocampusvolumens der beiden gegenübergestellten Gruppen zum

ersten Messzeitpunkt der Erhebung. Einerseits ist dies ein möglicherweise zufällig aufgetretener Unterschied, der lediglich durch die zufällige Auswahl der Probandinnen zu begründen ist. Andererseits ist eine Interpretation dahingehend möglich, dass die Probandinnen nicht exakt in der gleichen Zyklusphase gemessen wurden. Einige der Teilnehmerinnen in der Kontrollgruppe befanden sich möglicherweise zum Messzeitpunkt bereits in der späteren Follikelphase des jeweiligen Zyklus, sodass durch die vorherrschende Hormonkonstellation bereits eine Zunahme des Hippocampusvolumens stattgefunden hat. Demgegenüber befanden sich die Frauen in der Versuchsgruppe am Übergang von lutealer zur folgenden folliculären Zyklusphase und damit am Tiefpunkt des Hippocampusvolumens. Diese Hypothese wird durch Erkenntnisse von Lisofsky und Kollegen untermauert, die in der Lutealphase des Zyklus ein größeres Hippocampusvolumen bei ihren Probandinnen darstellen konnten im Vergleich zur Follikelphase ⁵⁰.

Die Auswertung der kognitiven Aufgaben wird im Rahmen weiterer Veröffentlichungen betrachtet und somit bleibt die Auswirkung der dargestellten hirnstrukturellen Veränderungen auf die kognitive Leistungsfähigkeit der Probandinnen zu diskutieren und in weiteren Untersuchungen detaillierter zu beleuchten.

4.5 Ausblick

Bisher vorliegende Forschungsergebnisse lassen lediglich einen vagen Rückschluss auf die durch weibliche Sexualhormone bedingten Veränderungen der menschlichen Hirnstruktur zu und bedürfen weiterer Studien zur Gewinnung detaillierterer Erkenntnisse. Darüber hinaus besteht die Notwendigkeit der Berücksichtigung der Einnahme oraler hormoneller Kontrazeptiva und der jeweiligen Zyklusphase bei der weiteren Untersuchung der Auswirkung hormoneller Schwankungen auf Struktur und Funktion des menschlichen Gehirns, da diese einen modulatorischen Effekt und somit einen nicht zu vernachlässigenden Einfluss auf die Ergebnisse haben können. Dies gilt insbesondere für längsschnittliche MR-Studien, da hierbei durch eine veränderte Zyklusphase oder die Einnahme der Pille Veränderungen der Hirnstruktur hervorgerufen werden, die fälschlicherweise auf eine Intervention zurückgeführt werden könnten.

Ein besonderes Augenmerk sollte in zukünftigen Untersuchungen ebenso auf der Hormonkonstellation zum Zeitpunkt der Ovulation liegen, da in einer Studie zu diesem Zeitpunkt ein maximales Volumen grauer Substanz über den weiblichen Zyklus einhergehend mit einer korrespondierenden Reduktion an Liquor identifiziert werden konnte, welches signifikant mit der zyklusabhängigen Progesteronfluktuation korrelierte^{51,52}.

Die durch Östrogen oder Progesteron hervorgerufene Modulation des menschlichen Gehirns unterliegt darüber hinaus möglicherweise einer Beeinflussung durch weitere körpereigene Hormone⁹². Bei der exogenen Applikation von Progesteron in oder auch ohne Kombination mit Östrogen sollte daher eine im Vergleich zu endogener Hormonausschüttung veränderte modulatorische Wirkung im menschlichen Gehirn berücksichtigt werden, da die körpereigenen Hormonachsen einer multifaktoriellen Steuerung unterliegen, welche möglicherweise durch exogene Hormonzufuhr nicht gänzlich imitiert werden kann.

Auch das Vorhandensein beziehungsweise die Dauer einer vorausgegangenen Einnahme oraler hormoneller Kontrazeptiva und damit die Langzeit- Auswirkungen einer exogenen Hormonzufuhr ist ein Faktor, der in weiterführenden Studien Berücksichtigung finden sollte.

4.5.1 Hormonell bedingte Neuroplastizität als möglicher Ansatzpunkt therapeutischer Optionen

Die Auswirkung der Hormone auf das menschliche Hirn bietet möglicherweise einen Ansatzpunkt medikamentöser Therapien von strukturellen Hirnerkrankungen. So wird im Rahmen der Alzheimer-Forschung die Hormonersatztherapie postmenopausaler Frauen als eine mögliche Therapieoption diskutiert, da das Krankheitsgeschehen durch den Abfall der zirkulierenden endogenen Östrogenkonzentration nach der Menopause möglicherweise negativ beeinflusst wird⁵⁵. Diese Hypothese wird durch neuroprotektive Effekte des Östrogens gestützt^{93,94}. Der Einsatz der Hormonersatztherapie zur Prävention neurodegenerativer Prozesse im Alter ist aktuell Gegenstand kontroverser Diskussionen und findet lediglich sehr zurückhaltend Anwendung, da die Datenlage sehr heterogen ist. Bagger und Kollegen sowie Sherwin berichten von gemildertem

kognitiven Abbau im Alter bei zeitnaher Applikation der Hormonersatztherapie nach Beginn einer natürlichen oder induzierten Menopause^{95,96}. Demgegenüber stehen Ergebnisse, dass die Hormonersatztherapie das Risiko für die Entstehung einer dementiellen Erkrankung erhöht⁹⁷. Darüber hinaus wird der langfristigen Anwendung von exogen zugeführtem Östrogen ein negativer Effekt auf das Hippocampusvolumen zugeschrieben⁹⁸.

5 Literaturverzeichnis

1. Czoty PW, Riddick NV, Gage HD, Sandridge M, Nader SH, Garg S, Bounds M, Garg PK & Nader MA. Effect of menstrual cycle phase on dopamine D2 receptor availability in female cynomolgus monkeys. *Neuropsychopharmacology* **34**, 548–54 (2009).
2. Desmond NL & Levy WB. Ovarian Steroidal Control of Connectivity in the Female Hippocampus : An Overview of Recent Experimental Findings and Speculations on Its Functional Consequences. *Hippocampus* **245**, 239–245 (1997).
3. Qiu LR, Germann J, Spring S, Alm C, Vousden DA, Palmert MR & Lerch JP. Hippocampal volumes differ across the mouse estrous cycle , can change within 24 hours , and associate with cognitive strategies. *Neuroimage* **83**, 593–598 (2013).
4. Woolley CS & McEwen BS. Roles of Estradiol and Progesterone in Regulation of Hippocampal Dendritic Spine Density During the Estrous Cycle in the Rat. *J. Comp. Neurol.* **306**, 293–306 (1993).
5. Woolley CS. Estrogen-Mediated Structural and Functional Synaptic Plasticity in the Female Rat Hippocampus. *Horm. Behav.* **148**, 140–148 (1998).
6. Driemeyer J, Boyke J, Gaser C, Büchel C & May A. Changes in gray matter induced by learning - Revisited. *PLoS One* **3**, (2008).
7. Lövdén M, Wenger E, Mårtensson J, Lindenberger U & Bäckman L. Structural brain plasticity in adult learning and development. *Neurosci. Biobehav. Rev.* **37**, 2296–2310 (2013).
8. Woolley CS, Gould E, Frankfurt M & McEwen BS. Naturally occurring fluctuation in dendritic spine density on adult hippocampal pyramidal neurons. *J. Neurosci.* **10**, 4035–4039 (1990).
9. Woolley CS, Weiland NG, McEwen BS & Schwartzkroin PA. Estradiol increases the sensitivity of hippocampal CA1 pyramidal cells to NMDA receptor-mediated synaptic input: correlation with dendritic spine density. *J. Neurosci.* **17**, 1848–59 (1997).
10. Woolley CS, Wenzel HJ & Schwartzkroin PA. Estradiol increases the frequency of multiple synapse boutons in the hippocampal CA1 region of the adult female rat. *J. Comp. Neurol.* **373**, 108–17 (1996).
11. Pawluski JL, Brummelte S, Barha CK, Crozier TM & Galea LAM. Effects of steroid hormones on neurogenesis in the hippocampus of the adult female rodent during the estrous cycle, pregnancy, lactation and aging. *Front. Neuroendocrinol.* **30**, 343–57 (2009).

12. Walf AA, Koonce CJ & Frye CA. Progesterone's effects and mechanisms for object recognition memory across the lifespan. *Behav Brain Res* **294**, 50–61 (2015).
13. Brunton PJ. Neuroactive steroids and stress axis regulation: Pregnancy and beyond. *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.* 1–9 (2015).
14. Guennoun R, Labombarda F, Gonzalez Deniselle MC, Liere P, De Nicola AF & Schumacher M. Progesterone and allopregnanolone in the central nervous system: Response to injury and implication for neuroprotection. *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.* **146**, 48–61 (2015).
15. Wang JM, Johnston PB, Ball BG & Brinton RD. The neurosteroid allopregnanolone promotes proliferation of rodent and human neural progenitor cells and regulates cell-cycle gene and protein expression. *J. Neurosci.* **25**, 4706–4718 (2005).
16. Tanapat P, Hastings NB & Gould E. Ovarian steroids influence cell proliferation in the dentate gyrus of the adult female rat in a dose- and time-dependent manner. *J. Comp. Neurol.* **481**, 252–265 (2005).
17. Sherman BM & Korenman SG. Hormonal characteristics of the human menstrual cycle throughout reproductive life. *J. Clin. Invest.* **55**, 699–706 (1975).
18. Kiechle M. *Gynäkologie und Geburtshilfe*. 1. Auflage, München: Elsevier Urban & Fischer Verlag, 2007, pp.129-130.
19. Santoru F, Berretti R, Locci A, Porcu P & Concas A. Decreased allopregnanolone induced by hormonal contraceptives is associated with a reduction in social behavior and sexual motivation in female rats. *Psychopharmacology (Berl)*. 3351–3364 (2014).
20. Lobo R & Stanczyk F. New knowledge in the physiology of hormonal contraceptives. *Am. J. Obstet. Gynecol.* **170**, 1499–1507 (1994).
21. Loose-Mitchell D & Stancel G. in *Goodman & Gilman's the pharmacological basis of therapeutics* (eds. Hardman J, Limbird L & Goodman Gilman A) New York: McGraw Hill, 2001, p 1597.
22. Amy J & Tripathi V. Contraception for women: an evidence based overview. *BMJ* **339**, b2895 (2009).
23. Stegeman BH, de Bastos M, Rosendaal FR, van Hylckama Vlieg A, Helmerhorst FM, Stijnen T & Dekkers OM. Different combined oral contraceptives and the risk of venous thrombosis: systematic review and network meta-analysis. *BMJ* **347**, f5298–f5298 (2013).
24. Aktories K, Förstermann U, Hofmann F & Starke K. in *Allgemeine und spezielle Pharmakologie und Toxikologie* (eds. Forth W, Henschler D & Rummel W) München: Elsevier Urban & Fischer Verlag, 2009, pp. 704–709.

25. Phillips ML, Drevets WC, Rauch SL & Lane R. Neurobiology of emotion perception I: The neural basis of normal emotion perception. *Biol. Psychiatry* **54**, 504–514 (2003).
26. Kishi T, Tsumori T, Yokota S & Yasui Y. Topographical projection from the hippocampal formation to the amygdala: A combined anterograde and retrograde tracing study in the rat. *J. Comp. Neurol.* **496**, 349–368 (2006).
27. Squire LR, Stark CE & Clark RE. The medial temporal lobe. *Annu. Rev. Neurosci.* **27**, 279–306 (2004).
28. Brown MW & Aggleton JP. Recognition memory: what are the roles of the perirhinal cortex and hippocampus? *Nat. Rev. Neurosci.* **2**, 51–61 (2001).
29. Colciago A, Casati L, Negri-Cesi P & Celotti F. Learning and memory: Steroids and epigenetics. *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.* **150**, 64–85 (2015).
30. Protopopescu X, Butler T, Pan H, Root J, Altemus M, Polanecsky M, McEwen B, Silbersweig D & Stern E. Hippocampal structural changes across the menstrual cycle. *Hippocampus* **18**, 985–8 (2008).
31. Li C, Brake WG, Romeo RD, Dunlop JC, Gordon M, Buzescu R, Magarinos AM, Allen PB, Greengard P, Luine V & McEwen BS. Estrogen alters hippocampal dendritic spine shape and enhances synaptic protein immunoreactivity and spatial memory in female mice. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **101**, 2185–2190 (2004).
32. McEwen B. Estrogen actions throughout the brain. *Recent Prog. Horm. Res.* **57**, 357–84 (2002).
33. Pereira AC, Huddleston DE, Brickman AM, Sosunov AA, Hen R, McKhann GM, Sloan R, Gage FH, Brown TR & Small SA. An in vivo correlate of exercise-induced neurogenesis in the adult dentate gyrus. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **104**, 5638–5643 (2007).
34. Eriksson PS, Perfilieva E, Björk-Eriksson T, Alborn AM, Nordborg C, Peterson DA & Gage FH. Neurogenesis in the adult human hippocampus. *Nat. Med.* **4**, 1313–1317 (1998).
35. Fanselow MS & Dong HW. Are the Dorsal and Ventral Hippocampus Functionally Distinct Structures? *Neuron* **65**, 7–19 (2010).
36. Kühn S & Gallinat J. Gray matter correlates of posttraumatic stress disorder: A quantitative meta-analysis. *Biol. Psychiatry* **73**, 70–74 (2013).
37. Altman J & Das GD. Autoradiographic and Histological Evidence of Postnatal Hippocampal Neurogenesis in Rats'. *J. Comp. Neurol.* **124**, 319–335 (1965).
38. Gould E, McEwen BS, Tanapat P, Galea LAM & Fuchs E. Neurogenesis in the Dentate Gyrus of the Adult Tree Shrew Is Regulated by Psychosocial Stress and NMDA Receptor Activation. *J. Neurosci.* **17**, 2492–2498 (1997).

39. Kaplan S & Bell H. Mitotic neuroblasts in the 9-day-old and 11-months-old rodent hippocampus. *J. Neurosci.* **4**, 1429–1441 (1984).
40. Reichert H. *Neurobiologie*. 2. neubearbeitete Auflage, Stuttgart: Thieme, 2000, pp 219-228.
41. Draganski B, Gaser C, Kempermann G, Kuhn HG, Winkler J, Büchel C & May A. Temporal and spatial dynamics of brain structure changes during extensive learning. *J. Neurosci.* **26**, 6314–6317 (2006).
42. Busch V, Schuierer G, Bogdahn U & May A. Changes in grey matter induced by training Newly honed juggling skills show up as a transient feature on a brain-imaging scan . *Nature* **427**, 311–312 (2004).
43. McEwen BS, Akama KT, Spencer-Segal JL, Milner TA & Waters EM. Estrogen effects on the brain: actions beyond the hypothalamus via novel mechanisms. *Behav. Neurosci.* **126**, 4–16 (2012).
44. McEwen B, Gould E, Orchinik M, Weiland N & Woolley C. Oestrogens and the structural and functional plasticity of neurons: implications for memory, ageing and neurodegenerative processes. *Ciba Found Symp.* **191:52-66**, discussion 66–73 (1995).
45. Barker JM & Galea LAM. Repeated estradiol administration alters different aspects of neurogenesis and cell death in the hippocampus of female, but not male, rats. *Neuroscience* **152**, 888–902 (2008).
46. Galea LA, Spritzer MD, Barker JM & Pawluski JL. Gonadal hormone modulation of hippocampal neurogenesis in the adult. *Hippocampus* **16**, 225–32 (2006).
47. Galea LAM, Uban KA, Epp JR, Brummelte S, Barha CK, Wilson WL, Lieblich SE & Pawluski JL. Endocrine Regulation of Cognition and Neuroplasticity : Our Pursuit to Unveil the Complex Interaction Between Hormones, the Brain, and Behaviour. *Can. J. Exp. Psychol.* **62**, 247–260 (2008).
48. Peper JS, Brouwer RM, Schnack HG, van Baal GC, van Leeuwen M, van den Berg SM, Delemarre-Van de Waal HA, Boomsma, DI, Kahn RS & Hulshoff Pol HE. Sex steroids and brain structure in pubertal boys and girls. *Psychoneuroendocrinology* **34**, 332–342 (2009).
49. De Bondt T, Jacquemyn Y, van Hecke W, Sijbers J & Sunaert S. Regional gray matter volume differences and sex-hormone correlations as a function of menstrual cycle phase and hormonal contraceptives use. *Brain Res.* **1530**, 22–31 (2013).
50. Lisofsky N, Mårtensson J, Eckert A, Lindenberger U, Gallinat J & Kühn S. Hippocampal volume and functional connectivity changes during the female menstrual cycle. *Neuroimage* **118**, 154–162 (2015).

51. Hagemann G, Ugur T, Schleussner E, Mentzel HJ, Fitzek C, Witte OW & Gaser C. Changes in brain size during the menstrual cycle. *PLoS One* **6**, e14655 (2011).
52. Franke K, Hagemann G, Schleussner E & Gaser C. Changes of individual BrainAGE during the course of the menstrual cycle. *Neuroimage* **115**, 1–6 (2015).
53. Pletzer B, Kronbichler M, Aichhorn M, Bergmann J, Ladurner G & Kerschbaum HH. Menstrual cycle and hormonal contraceptive use modulate human brain structure. *Brain Res.* **1348**, 55–62 (2010).
54. Petersen N, Touroutoglou A, Andreano JM & Cahill L. Oral contraceptive pill use is associated with localized decreases in cortical thickness. *Hum. Brain Mapp.* **36**, 2644–2654 (2015).
55. Behl, C. Oestrogen as a neuroprotective hormone. *Nat. Rev. Neurosci.* **3**, 433–442 (2002).
56. Enmark E, Peltö-Huikko M, Grandien K, Lagercrantz S, Lagercrantz J, Fried G, Nordenskjöld M & Gustafsson JA. Human estrogen receptor beta-gene structure, chromosomal localization, and expression pattern. *J Clin Endocrinol Metab* **82**, 4258–4265 (1997).
57. Hazell GGJ, Yao ST, Roper JA, Prossnitz ER, O'Carroll AM & Lolait SJ. Localisation of GPR30, a novel G protein-coupled oestrogen receptor, suggests multiple functions in rodent brain and peripheral tissues. *J. Endocrinol.* **202**, 223–236 (2009).
58. Gruber C, Tschugguel W, Schneeberger C & Huber J. Production and Actions of Estrogens. *NEJM* **346**, 340–352 (2002).
59. Pfaff DW & Ribeiro AC. Theoretical consequences of fluctuating versus constant liganding of oestrogen receptor- α in neurones. *J. Neuroendocrinol.* **22**, 486–491 (2010).
60. Valverde MA, Rojas P, Amigo J & Hollenberg NK. Acute activation of Maxi-K channels (hSlo) by Estradiol binding to the β subunit. *Curr. Hypertens. Rep.* **2**, 232 (2000).
61. Revankar CM, Cimino DF, Sklar LA, Arterburn JB & Prossnitz ER. A transmembrane intracellular estrogen receptor mediates rapid cell signaling. *Science* **307**, 1625–1630 (2005).
62. Prossnitz ER, Arterburn JB, Smith HO, Oprea TI, Sklar LA & Hathaway HJ. Estrogen Signaling through the Transmembrane G Protein–Coupled Receptor GPR30. *Annu. Rev. Physiol.* **70**, 165–190 (2008).
63. Almey A, Milner TA & Brake WG. Estrogen receptors in the central nervous system and their implication for dopamine-dependent cognition in females. *Horm. Behav.* (2015).

64. González M, Cabrera- Socorro A, Pérez-García CG, Fraser JD, López FJ, Alonso R & Meyer G. Distribution Patterns of Estrogen Receptor alpha and beta in the Human Cortex and Hippocampus During Development and Adulthood. *J. Comp. Neurol.* **503**, 790–802 (2007).
65. Osterlund MK, Keller E & Hurd YL. The human forebrain has discrete estrogen receptor alpha messenger RNA expression: high levels in the amygdaloid complex. *Neuroscience* **95**, 333–342 (2000).
66. Blurton-Jones M & Tuszynski MH. Estradiol-Induced Modulation of Estrogen Receptor-beta and GABA within the Adult Neocortex: A Potential Transsynaptic Mechanism for Estrogen Modulation of BDNF. *J. Comp. Neurol.* **499**, 603–612 (2006).
67. Weiland NG, Orikasa C, Hayashi S & McEwen BS. Distribution and hormone regulation of estrogen receptor immunoreactive cells in the hippocampus of male and female rats. *J. Comp. Neurol.* **388**, 603–612 (1997).
68. Orikasa C, McEwen BS, Hayashi H, Sakuma Y & Hayashi S. Estrogen receptor alpha, but not beta, is expressed in the interneurons of the hippocampus in prepubertal rats: An in situ hybridization study. *Dev. Brain Res.* **120**, 245–254 (2000).
69. Blurton-Jones M, Kuan PN & Tuszynski MH. Anatomical Evidence for Transsynaptic Influences of Estrogen on Brain-Derived Neurotrophic Factor Expression. *J. Comp. Neurol.* **468**, 347–360 (2004).
70. Parsons B, Rainbow TC, MacLusky NJ & McEwen BS. Progesterin Receptor Levels in Rat Hypothalamic and Limbic Nuclei. *J. Neurosci.* **2**, 1446–1452 (1982).
71. Waters EM, Torres-Reveron A, McEwen BS & Milner TA. Ultrastructural localization of extranuclear progesterin receptors in the rat hippocampal formation. *J. Comp. Neurol.* **511**, 34–46 (2008).
72. Sá SI, Pereira PA, Malikov V & Madeira MD. Role of estrogen receptor α and β in the induction of progesterone receptors in hypothalamic ventromedial neurons. *Neuroscience* **238**, 159–167 (2013).
73. Korol DL. Role of estrogen in balancing contributions from multiple memory systems. *Neurobiol. Learn. Mem.* **82**, 309–323 (2004).
74. Lee I & Kim J. The shift from a response strategy to object-in-place strategy during learning is accompanied by a matching shift in neural firing correlates in the hippocampus. *Learn. Mem.* **17**, 381–393 (2010).
75. Korol DL, Malin EL, Borden KA, Busby RA & Couper-Leo J. Shifts in preferred learning strategy across the estrous cycle in female rats. *Horm. Behav.* **45**, 330–338 (2004).

76. Karnath HO & Thier P. *Kognitive Neurowissenschaften*. 3. Auflage, Berlin-Heidelberg: Springer Verlag, 2012, pp 217-224.
77. Ridgway GR, Henley S, Rohrer JD, Scahill RI, Warren JS & Fox NC. Ten simple rules for reporting voxel-based morphometry studies. *Neuroimage* **40**, 1429–1435 (2008).
78. Hayasaka S & Nichols TE. Combining voxel intensity and cluster extent with permutation test framework. *Neuroimage* **23**, 54–63 (2004).
79. Quissell DO. Steroid Hormone Analysis in Human Saliva. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* **694**, 143–145 (1993).
80. Read GF, Walker RF, Wilson DW & Griffiths K. Steroid analysis in saliva for the assessment of endocrine function. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* **595**, 260–274 (1990).
81. Bixo M, Andersson A, Winblad B, Purdy RH & Bäckström T. Progesterone, 5 α -pregnane-3,20-dione and 3 α -hydroxy-5 α -pregnane-20-one in specific regions of the human female brain in different endocrine states. *Brain Res.* **764**, 173–178 (1997).
82. Zatorre RJ, Fields RD & Johansen-Berg H. Plasticity in gray and white: neuroimaging changes in brain structure during learning. *Nat. Neurosci.* **15**, 528–536 (2012).
83. May A, Hajak G, Gänßbauer S, Steffens T, Langguth B, Kleinjung T & Eichhammer P. Structural brain alterations following 5 days of intervention: Dynamic aspects of neuroplasticity. *Cereb. Cortex* **17**, 205–210 (2007).
84. Swain RA, Harris AB, Wiener EC, Dutka MV, Morris HD, Theien BE, Konda S, Engberg K, Lauterbur PC & Greenough WT. Prolonged exercise induces angiogenesis and increases cerebral blood volume in primary motor cortex of the rat. *Neuroscience* **117**, 1037–1046 (2003).
85. Trachtenberg JT, Chen BE, Knott GW, Feng G, Sanes JR, Welker E & Svoboda K. Long-term in vivo imaging of experience-dependent synaptic plasticity in adult cortex. *Nature* **420**, 788–794 (2002).
86. Kempermann G, Kuhn HG & Gage FH. More hippocampal neurons in adult mice living in an enriched environment. *Nature* **386**, 493–495 (1997).
87. Milner TA, Ayoola K, Drake CT, Herrick SP, Tabori NE, McEwen BS, Warriar S & Alves SE. Ultrastructural localization of estrogen receptor β immunoreactivity in the rat hippocampal formation. *J. Comp. Neurol.* **491**, 81–95 (2005).
88. Baudry M, Bi X & Aguirre C. Progesterone-estrogen interactions in synaptic plasticity and neuroprotection. *Neuroscience* **239**, 280–294 (2013).

89. Simerly RB, Swanson LW, Chang C & Muramatsu M. Distribution of androgen and estrogen receptor mRNA-containing cells in the rat brain: An in situ hybridization study. *J. Comp. Neurol.* **294**, 76–95 (1990).
90. Spencer JL, Waters EM, Romeo RD, Wood GE, Milner TA & McEwen BS. Uncovering the mechanisms of estrogen effects on hippocampal function. *Front. Neuroendocrinol.* **29**, 219–37 (2008).
91. Österlund MK & Hurd YL. Estrogen receptors in the human forebrain and the relation to neuropsychiatric disorders. *Prog. Neurobiol.* **64**, 251–267 (2001).
92. Andreano JM & Cahill L. Menstrual cycle modulation of medial temporal activity evoked by negative emotion. *Neuroimage* **53**, 1286–93 (2010).
93. Behl C. Sex hormones , neuroprotection and cognition. *Prog. Brain Res.* **138**, 135–142 (2002).
94. Behl C. Estrogen can protect neurons: Modes of action. *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.* **83**, 195–197 (2002).
95. Bagger YZ, Tankó LB, Alexandersen P, Qin G & Christiansen C. Early postmenopausal hormone therapy may prevent cognitive impairment later in life. *Menopause (New York,N.Y.)* **12**, 12–7 (2005).
96. Sherwin BB. Estrogen and Cognitive Functioning in Women: Lessons We Have Learned. *Behav. Neurosci.* **126**, 123–127 (2012).
97. Shumaker SA, Legault C, Rapp SR, Thal L, Wallace RB, Ockene JK, Hendrix SL, Jones BN, Assaf AR, Jackson RD, Kotchen JM, Wassertheil-Smoller S & Wactawski-Wende J. Estrogen Plus Progestin and the Incidence of Dementia and Mild Cognitive Impairment in Postmenopausal Women. **289**, 2651–2662 (2015).
98. Lord C, Buss C, Lupien SJ & Pruessner JC. Hippocampal volumes are larger in postmenopausal women using estrogen therapy compared to past users, never users and men: A possible window of opportunity effect. *Neurobiol. Aging* **29**, 95–101 (2008).

Eidesstattliche Versicherung

„Ich, Philine Miriam Dolz, versichere an Eides statt durch meine eigenhändige Unterschrift, dass ich die vorgelegte Dissertation mit dem Thema: *Eine Untersuchung der neuronalen Veränderungen durch die Einnahme oraler hormoneller Kontrazeptiva mit besonderem Fokus auf Veränderungen des Hippocampus* selbstständig und ohne nicht offengelegte Hilfe Dritter verfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel genutzt habe.

Alle Stellen, die wörtlich oder dem Sinne nach auf Publikationen oder Vorträgen anderer Autoren beruhen, sind als solche in korrekter Zitierung (siehe „Uniform Requirements for Manuscripts (URM)“ des ICMJE -www.icmje.org) kenntlich gemacht. Die Abschnitte zu Methodik (insbesondere praktische Arbeiten, Laborbestimmungen, statistische Aufarbeitung) und Resultaten (insbesondere Abbildungen, Graphiken und Tabellen) entsprechen den URM (s.o) und werden von mir verantwortet.

Meine Anteile an etwaigen Publikationen zu dieser Dissertation entsprechen denen, die in der untenstehenden gemeinsamen Erklärung mit dem/der Betreuer/in, angegeben sind. Sämtliche Publikationen, die aus dieser Dissertation hervorgegangen sind und bei denen ich Autor bin, entsprechen den URM (s.o) und werden von mir verantwortet.

Die Bedeutung dieser eidesstattlichen Versicherung und die strafrechtlichen Folgen einer unwahren eidesstattlichen Versicherung (§156,161 des Strafgesetzbuches) sind mir bekannt und bewusst.“

Datum

Unterschrift

Curriculum vitae

Mein Lebenslauf wird aus datenschutzrechtlichen Gründen in der elektronischen Version meiner Arbeit nicht veröffentlicht.

Danksagung

An dieser Stelle gebührt mein außerordentlicher Dank all denjenigen, die mich bei der Erhebung und Auswertung der Forschungsdaten tatkräftig unterstützt haben.

Zunächst danke ich Herrn Prof. Dr. Jürgen Gallinat für die freundliche Überlassung des interessanten Themas meiner Promotion.

Dr. Simone Kühn und Nina Lisofsky danke ich sehr für die Möglichkeit zum bereichernden Mitwirken an dem Projekt und ihre stetige fachliche und hilfreiche Betreuung. Stets offene Ohren und unermüdliche Anleitung waren mir viel Motivation.

Darüber hinaus möchte ich mich bei dem gesamten „Structural Plasticity“-Team des Max-Planck-Instituts für Bildungsforschung in Berlin herzlich für die Unterstützung und die praktische Hilfestellung bei der Gewinnung der Daten bedanken.