

Aus dem Molekularbiologischen Forschungslabor und Tinnituszentrum
der HNO-Klinik
der Medizinischen Fakultät Charité – Universitätsmedizin Berlin

DISSERTATION

Einfluss von Stress auf Neuroimmunparameter bei Tinnitus

zur Erlangung des akademischen Grades
Doctor medicinae (Dr. med.)

vorgelegt der Medizinischen Fakultät
Charité – Universitätsmedizin Berlin

von
Jendrik Steffin
aus Berlin

Datum der Promotion: 14.02.2014

INHALTSVERZEICHNIS

ABSTRAKT	6
ABSTRACT	7
1. EINLEITUNG.....	8
1.1 . Tinnitus.....	8
1.1.1. Definition von Tinnitus	8
1.1.2. Epidemiologie des Tinnitus	8
1.1.3. Ätiologie des Tinnitus.....	9
1.1.4. Pathogenese des Tinnitus.....	10
1.1.5. Krankheitsschwere und psychische Komorbidität bei Tinnitus	12
1.2. Stress.....	14
1.2.1 Definition	14
1.2.1.1. Stress als Reaktion - Das Adaptationssyndrom	14
1.2.1.2. Stress als Beziehungskonzept – Der transaktionale Ansatz	15
1.2.2. Stress und Endokrinologie	16
1.2.2.1. Schnelle Stressantwort über Adrenalin/ Noradrenalin.....	16
1.2.2.2. Längerfristige Stressantwort über die HHN-Achse	16
1.2.3. Stress und ZNS	19
1.2.3.1. Glutamat	20
1.2.3.2. NGF und BDNF	21
1.2.3.3. Substanz P	24
1.2.4. Stress und Immunsystem	25
1.2.4.1. Unspezifische und adaptive Immunabwehr	25
1.2.4.2. Lymphozyten	25
1.2.4.3. Das Th1-Th2-Konzept.....	26
1.2.4.5. Chronischer Stress und Immunsuppression	27
1.2.4.6. Kortikosteroide und Immunsystem	27
1.2.5. Stress und Auditorisches System	28
1.2.5.1. Stressreduktion in der Tinnitustherapie.....	29
1.2.5.2. Modulation des Immunsystems des Innenohres durch Stress	30
1.3 Ziel der Arbeit	31
2. MATERIAL UND METHODEN.....	33
2.1. Studienteilnehmer, Therapien und Untersuchungen.....	33
2.1.1. Rekrutierung, Aufklärung und Aufnahme der Teilnehmer	33
2.1.2. Tinnitus-Retraining-Therapie	35
2.1.3. Progressive Muskelrelaxation nach Jacobson	35
2.1.4. Systematische Anordnung.....	37
2.1.6. Ausschlusskriterien.....	38
2.1.7. Studienablauf	38
2.2. Bearbeitung und Messung der Blutproben.....	40
2.2.1. Chemikalien und Sonstige Materialien.....	40
2.2.2. Herstellung der Stimulationslösungen	41
2.2.3. Probenbearbeitung des Serumblutes	41

2.2.3.1. Kortisol und Substanz P Immunoassay	42
2.2.3.1.1. Funktionsweise des kompetitiven Immunoassay	42
2.2.3.1.2. Bestandteile der Kortisol Assay Kits	42
2.2.3.1.3. Durchführung des Kortisol Immunoassay.....	42
2.2.3.1.4. Bestandteile der Substanz P Assay Kits.....	43
2.2.3.1.5. Durchführung des Substanz P Assay	44
2.2.3.2. NGF ELISA und BDNF ELISA	44
2.2.3.2.1. Funktionsweise des Sandwich-Elisas.....	44
2.2.3.2.2. Bestandteile der NGF und BDNF Elisa Development Systems.....	44
2.2.3.2.3. weiteres Material bei NGF und BDNF Elisa	45
2.2.3.2.4. Durchführung der NGF ELISA und BDNF ELISA	45
2.2.4. Leukozytenstimulation Heparinmonovette	46
2.2.4.1. Cytometric Bead Array (CBA).....	46
2.2.4.2. Bestandteile des CBA-Kits	47
2.2.4.3. Durchführung des CBA.....	47
2.2.4.4. FACS-Analyse.....	48
2.3. Psychometrische Erhebung	48
2.3.1. Der Tinnitusfragebogen nach Goebel und Hiller (TF)	48
2.3.2. Messung von Stress - Der Perceived Stress Questionnaire (PSQ)	49
2.3.3. Messung von Ängstlichkeit - Generalized Anxiety Disorder (GAD7)	49
2.3.4. Messung von Depressivität - Allgemeine Depressionsskala (ADS-L).....	50
2.3.5. Messung von Copingfähigkeit - COPE.....	50
2.4. Statistische Auswertung.....	51
3. BESCHREIBUNG DER ERGEBNISSE	52
3.1.1. Gruppe A (Tinnitus & TRT+).....	54
3.1.1.1. Neuroimmunologische Parameter der Gruppen A vs. C.....	54
3.1.1.2. Psychometrische Parameter der Gruppen A vs. C	55
3.1.2. Gruppe B (Tinnitus & PMR).....	56
3.1.2.1. Neuroimmunologische Parameter der Gruppen B vs. C.....	56
3.1.2.2. Psychometrische Parameter der Gruppen B vs. C.....	57
3.1.3. Vergleich der Gruppen A und B.....	58
3.1.4. Neuroimmunologische Parameter bei komp. vs. dekomp. Tinnitus.....	62
3.2. Korrelationen - baseline.....	63
3.2.1. neuroimmunologischen und psychometrischen Parameter	63
3.2.2. Korrelationen innerhalb der Neuroimmunologischen Parameter.....	66
3.2.3. Korrelationen innerhalb der Psychometrischen Parameter	68
3.3. Korrelationen – follow up.....	72
3.3.1. neuroimmunologische und psychometrische Parameter	72
3.3.2. Korrelationen innerhalb der Neuroimmunologischen Parameter.....	74
3.4. Therapieeffekte im Verlauf.....	76
3.4.1. Effekte der TRT+	76
3.4.1.1. Effekt der TRT+ auf psychometrische Parameter	76
3.4.1.2. Effekt der TRT+ auf neuroimmunologische Parameter	77
3.4.2. Effekte der PMR.....	78
3.4.2.1. Effekt der PMR auf Psychometrische Parameter.....	78

3.4.2.2. Effekt der PMR auf Neuroimmunologische Parameter	79
4. DISKUSSION	80
4.1. Interpretation der Ergebnisse.....	80
4.1.1. Erkenntnisse über das Krankheitsgeschehen bei Tinnitus.....	80
4.1.1.1. Psychometrische Veränderungen bei Tinnitus.....	80
4.1.1.2. Neuroimmunologischer Status der Gruppe B	80
4.1.1.3. Neuroimmunologischer Status der Gruppe A.....	83
4.1.2. Erkenntnisse über die Psychometrischen Parameter bei Tinnitus.....	88
4.2. Kritische Betrachtung der eigenen Ergebnisse.....	90
4.2.1. unvollständige Daten.....	90
4.2.2. Limitationen der Psychometrie.....	90
4.2.3. Limitationen der Laborparameter	90
4.2.3.1. NGF	91
4.2.4. Limitationen der Kontrollgruppe	91
4.3. Ausblick.....	92
5. REFERENZEN	94
6. ERKLÄRUNG AN EIDES STATT	110
7. CURRICULUM VITAE.....	111
8. DANKSAGUNG	111

ABSTRAKT

ZIEL: Die Pathogenese von chronisch-dekompensiertem Tinnitus und seiner vielseitigen Komorbiditäten sind weiterhin nicht abschließend geklärt. Bei anderen chronischen Stresserkrankungen wie Depression oder PTBS wurden bereits immunologische wie neurologische Veränderungen beobachtet. So soll in der vorliegenden Arbeit untersucht werden, welche neuroimmunologischen Parameter bei moderatem und schweren Tinnitus verändert sind, ob diese durch Progressive Muskelrelaxation nach Jacobson (PMR) und erweiterte Tinnitus Retraining Therapy (TRT+) beeinflussbar sind, und ob diese in Korrelation zu emotionalem Stress, subjektiver Tinnitusbelastung, Angst, Depression oder Copingfähigkeit stehen.

METHODEN: Von 99 Tinnituspatienten erhielten 50 mit moderatem Therapiebedarf eine PMR und 49 schwer belastete eine TRT+. Verglichen mit 50 gesunden Kontrollprobanden wurde Kortisol, NGF, BDNF und Substanz P im Serum, TNF α , IFN γ , IL2, IL4, IL6 und IL10 nach Leukozytenstimulation sowie die Psychometricscores von PSQ, TF, GAD7, ADS-L und COPE.

ERGEBNISSE: Die Patientengruppe mit moderatem Therapiebedarf wies signifikant erhöhte Werte für TNF α ($p < 0,05$) und IFN γ ($p < 0,01$) auf. Bei den schwer belasteten TRT+-Patienten zeigte sich signifikant Hypokortisolismus ($p < 0,01$), BDNF-Verminderung ($p < 0,05$) sowie erhöhtes TNF α ($p < 0,01$), IFN γ ($p < 0,01$), IL4 ($p < 0,05$), IL6 ($p < 0,01$) und IL10 ($p < 0,01$). Die initial erheblich erhöhten Psychometricscores sanken bei beiden Patientengruppen im Therapieverlauf signifikant, korrelierten jedoch nicht mit den Neuroimmunparametern. Kortisol wurde durch die TRT+ fast auf das Niveau der Gesunden gesteigert ($p < 0,01$). Für Zytokine wie auch BDNF wurden tendentielle, jedoch keine signifikanten Verbesserungen durch beide Therapien beobachtet.

SCHLUSSFOLGERUNG: Es gibt erhebliche neuroimmunologische Veränderungen bei Tinnitus. Diese scheinen in Stadien zu verlaufen. TNF α und IFN γ waren bereits bei den moderat belasteten Patienten erhöht, ähnlich wie bei einem akuten Stresszustand. Die schwer belasteten Patienten litten unter massivem Hypokortisolismus, der sämtliche Organsysteme beeinflussen kann und die Ursache der hohen Komorbiditätsrate bei Tinnitus sein könnte sowie auch für die beobachtete BDNF-Verminderung. Die Zytokinverschiebung weist zudem auf eine entzündliche Komponente hin. Kortisolquantifizierung könnte sich als sinnvolles diagnostisches Instrument erweisen. Es sollte in weiteren Studien geprüft werden, ob der frühzeitige Ausgleich eines beginnenden Hypokortisolismus weitere Veränderungen aufhalten kann. Die TRT+ hat sich auch zur Kortisolnormalisierung als hochwirksam erwiesen. Ob sie längerfristig auch die übrigen Veränderungen bei Tinnitus positiv beeinflussen kann, steht noch aus.

ABSTRACT

PURPOSE: The pathogenesis of chronic decompensated tinnitus and its various comorbidities is still not conclusively solved. In other chronic stress related diseases like major depression or PTSD, immunological as neurological changes have been found. Therefore, the aim of this study is to investigate changes of neuroimmunological parameters in moderate and severe tinnitus, if they can be influenced by Jacobson's Progressive Muscle Relaxation (PMR) and enhanced Tinnitus Retraining Therapy (TRT+), and if they correlate with emotional distress, subjective tinnitus stress, anxiety, depression or coping abilities.

METHODS: 99 tinnitus patients were observed, 50 of those with moderate need of intervention were treated with PMR and 49 in severe need with TRT+. The test parameters Cortisol, NGF, BDNF and Substance P in blood serum, TNF α , IFN γ , IL2, IL4, IL6 und IL10 after leucocyte stimulation and psychometrical scores of PSQ, TF, GAD7, ADS-L und COPE were compared with 50 healthy control subjects.

RESULTS: The group of moderate need of treatment showed significantly elevated levels of TNF α ($p < 0,05$) and IFN γ ($p < 0,01$). The severe tinnitus patients showed significant Hypocortisolism ($p < 0,01$), BDNF reduction ($p < 0,05$) and elevated levels of TNF α ($p < 0,01$), IFN γ ($p < 0,01$), IL4 ($p < 0,05$), IL6 ($p < 0,01$) and IL10 ($p < 0,01$). Psychometrical scores were significantly improved in both therapy groups, but did not correlate with blood parameters. Cortisol was raised by the TRT+, almost to the healthy control groups level ($p < 0,01$). Cytokines and BDNF tended to improve in the TRT+ group, but not significantly.

CONCLUSIONS: There are a large amount of neuroimmunological changes in tinnitus which seem to evolve in different stages. TNF α and IFN γ were already elevated in moderate tinnitus patients, like in acute stress situations. Severe tinnitus patients suffered under massive hypocortisolism, which can affect all organ systems and might be the key to the high rate of comorbidity in tinnitus patients, as well as the observed reduction of BDNF. Furthermore, the cytokine shift suggests an inflammatory component in tinnitus. Testing of Cortisol levels might turn out to be a useful diagnostic instrument. It should be evaluated in further studies, if early intervention on falling cortisol levels could influence the disease's progression. TRT+ was also shown to be highly effective for normalizing low cortisol levels. If it also positively influences other anomalies in Tinnitus in the long term remains to be proven.

1. Einleitung

1.1. Tinnitus

1.1.1. Definition von Tinnitus

Subjektiver Tinnitus (von lat. „tinnire“, klingeln, klimpern) ist eine auditorische Phantomwahrnehmung ohne äußere Geräuschquelle, mechanische Aktivität oder Vibrationen in der Cochlea [1]. So ist er von endogenen oder durch Fremdkörper im äußeren Gehörgang generierten Geräuschen abzugrenzen, die als tatsächliches Geräusch messbar und als „Somatosounds“ definiert sind [2]. Dieses Phänomen wird auch „objektiver Tinnitus“ genannt, ist sehr selten und wird in dieser Arbeit nicht behandelt. Die akustischen Eindrücke des subjektiven Tinnitus werden als Brumm- oder Pfeifton, Zischen, Rauschen, Knacken oder Klopfen beschrieben. Die Wahrnehmung kann in ihrer Intensität gleichbleibend sein oder einen rhythmisch pulsierenden Charakter haben. Je nach Dauer der frequentiert wahrgenommenen Phantomgeräusche unterscheidet man akuten (kürzer als 3 Monate), subakuten (zwischen 3 und 6 Monaten) und chronischen Tinnitus (länger als 6 Monate) und, wie später noch erläutert, kompensierten und dekompenzierten Tinnitus.

1.1.2. Epidemiologie des Tinnitus

Laut einer aktuellen epidemiologischen Studie von Shargorodsky et al. (2010) haben 25.3% der US-Bürger irgendeine Form von Tinnitus. Das entspricht etwa 50 Millionen Menschen allein in den USA. 7,9% der US-Amerikaner geben an, frequentiert wiederkehrenden Tinnitus über das vergangene Jahr wahrgenommen zu haben, was per Definition chronischer Tinnitus ist und in den USA somit mindestens 16 Millionen Menschen betrifft [3]. Damit ist Tinnitus die häufigste Funktionsstörung der HNO [4]. Betroffen sind Menschen jeden Alters, es zeigt sich allerdings eine deutlich höhere Prävalenz in den Altersgruppen über 60 Jahren [5], so liegt auch in der Studie von Shargorodsky et al. der Prävalenzgipfel bei der Altersgruppe zwischen 60 und 69 Jahren (14.3%).

Tinnitus ist ein weltweit auftretendes Phänomen, auch für Europa sind repräsentative Querschnittsstudien zu finden: In Belgien ermittelte eine Studie von Demeester et al. (2007) eine Tinnitusprävalenz von 11.8% bis 19,3% [6]. Die „Britische nationale Studie

des Hörens“ ergab eine Prävalenz von akutem Tinnitus von 10%, 1% erlebte schwere Belästigung durch das Ohrgeräusch und in 0,5% der Fälle wurde die Fähigkeit, ein normales Leben zu führen, schwer eingeschränkt und der Tinnitus hatte den Stellenwert einer eigenständigen Erkrankung [7]. In Göteborg, Schweden bejahten 2,4% der Erwachsenen der 3600 Befragten den höchsten Schweregrad “Tinnitus belastet mich den ganzen Tag” und 14.2% litten “oft” oder „immer“ unter Tinnitus [8]. Nach einer repräsentativen Studie der Deutschen Tinnitus-Liga von 1999 erleben pro Jahr etwa 10 Mio. Menschen in irgendeiner Form einen akuten Tinnitus, der bei ca. 340.000 Menschen in ein chronisches Stadium übergeht (Jahresinzidenz chronischer Tinnitus). Nach dieser Studie sind etwa 3 Mio. Erwachsene von chronischem Tinnitus betroffen (4% der Bevölkerung, Punktprävalenz chronischer Tinnitus) [9]. Eine Querschnittsstudie von Nagel und Drexel (1989) in Ulm ergab dass 19.5% der 270 untersuchten Bürger akuten Tinnitus erlebten [10]. Bei der Mehrzahl der erwähnten Studien lag die Tinnitusprävalenz bei Frauen etwas höher als bei Männern, bei Betrachtung der schwer durch den Tinnitus beeinträchtigten fällt dieser Unterschied deutlicher aus.

1.1.3. Ätiologie des Tinnitus

Meist lässt sich Tinnitus auf Veränderungen des Innenohres zurückführen, ursächlich dabei sind auch die Effekte des Alters und exzessive Lärmbelastung [11],[12]. Oben erwähnte NHS-Studie ergab einen positiven Zusammenhang zwischen Tinnitusprävalenz und Alter sowie Lärmbelastung. Entsprechend haben die meisten Tinnituspatienten Gehöreinschränkungen, laut Vernon (2000) haben sogar 70-80% der untersuchten Tinnituspatienten eine „signifikante Schwerhörigkeit“ [13]. Laut Naumann et al. (1994) ist die häufigste Ursache von Schwerhörigkeit ein direkter Haarzellschaden [14], zu den entsprechenden Pathomechanismen sind mittlerweile zahlreiche Studien durchgeführt worden. Eine Untersuchung von Lenarz et al. (1989) ergab als häufigste Ursache der sensorineuralen Schwerhörigkeit die Lärmschwerhörigkeit, gefolgt von Knalltrauma, Morbus Menière und Hörsturz. Die Tinnitusfrequenz ist bei diesen Patienten meist am Ort des maximalen Hörverlustes zu finden [15]. Zusätzlich zu der häufig auftretenden Schwerhörigkeit berichten etwa 40% der Tinnitusbetroffenen über eine generelle Geräuschüberempfindlichkeit [16], die vermutlich ein positives Recruitment darstellt. Gopinath et al. (2010) identifizierten Schwindel und Hörverlust als prädiktive Faktoren [17]. Tinnitus, wie auch Schwindel und Hörverlust können auch durch pathologische Prozesse an der Halswirbelsäule (HWS) oder des Kiefergelenkes

verursacht werden, insbesondere in diesem Zusammenhang zu erwähnen sind Gelenkblockaden der oberen HWS und die unter dem Begriff Kraniomandibuläre Dysfunktion (CMD) zusammengefassten muskuloskelettale Beschwerden im Kiefergelenk und dessen muskulären Apparates, die von Myofaszialen Schmerzen, eingeschränkter Kieferöffnung, Diskusverlagerung bishin zu Arthrose des Kiefergelenkes reichen [18]. Die möglichen Ursachen von subjektivem Tinnitus sind zahlreich, unter anderem in der Literatur erwähnt sind auch Altersschwerhörigkeit, Schädel-Hirn-Trauma, Akustikusneurinom, chronische Mittelohrentzündung, Otosklerose, Herzkreislauf-, ZNS-, Stoffwechsel- und Nierenerkrankungen. Intoxikationen wie z.B. durch Chinin, Diuretika, Aminoglykoside oder Acetylsalicylsäure verursachen Gehörschäden und Tinnitus [19], letzteres wird auch für Tiermodelle genutzt. Insgesamt über 300 handelsübliche Medikamente erwähnen Tinnitus als mögliche unerwünschte Wirkung [20].

1.1.4. Pathogenese des Tinnitus

Funktionell-anatomisch lassen sich zunächst Schalleitungstinnitus, sensorineuraler Tinnitus und zentraler Tinnitus in gleicher Weise wie die entsprechenden Schwerhörigkeiten unterscheiden [21]. Zusammenfassend werden Schalleitungstinnitus und sensorineuraler Tinnitus auch als peripherer Tinnitus bezeichnet. Eine genauere Klassifikation inklusive Subtypisierung des sensorineuralen Tinnitus entsprechend der pathophysiologischen Entstehungsmechanismen wurde von Zenner 1998 definiert [21]. Schalleitungstinnitus kann durch Tubenventilationsstörung oder sehr selten auch durch Mittelohrmyoklonien entstehen. Zu den peripheren Strukturen bei der Tinnituserstehung gehören die inneren und äußeren Haarzellen (IHZ, ÄHZ) des Innenohres und das Spiralganglion. Durch die Haarzellen werden Schallwellen in neuronale Signale umgewandelt, indem sie durch Stereozilienauslenkung getriggert depolarisieren und den Neurotransmitter Glutamat freisetzen. Bei einer Schädigung der äußeren Haarzellen, also einer Störung des cochleären Verstärkungsmechanismus handelt es sich um einen sensorineuralen Tinnitus Typ I (Motortinnitus). Ursachen können Lärmtrauma, Hypermotilität oder Ionenkanalstörungen äußerer Haarzellen sein. Bei Dauerdepolarisation, Stereozilienstörung oder Untergang innerer Haarzellen, also einem mit der elektromechanischen Transduktion der inneren Haarzellen assoziierten Tinnitus entspricht dieser dem sensorineuralen Tinnitus Typ II (Transduktions-Tinnitus). Ist primär der Signaltransfer von inneren Haarzellen bis entlang der afferenten

Nervenfasern betroffen, wie beispielsweise durch synaptische Transmitterüberflutung oder Schwellung der afferenten Nervenfasern, so ist von sensorineuralen Tinnitus Typ III (Transformations-Tinnitus) die Rede. Alle übrigen, also extrasensorischen sensorineuralen Tinnitusmechanismen werden unter der Bezeichnung sensorineuraler Tinnitus Typ IV (Extrasensorischer Tinnitus) zusammengefasst. Ursachen können Störungen der Ionenkanäle der Stria vascularis, Durchblutungsstörungen der Cochlea, eine Resorptionsstörung oder Osmolaritätsänderung der Endolymphe oder ein Endolymphhydrops sein. Da Tinnitus wie erwähnt meistens mit einer Schädigung der ÄHZ assoziiert ist, kommt der sensorineurale Tinnitus vom Typ I am häufigsten vor. Mögliche Pathomechanismen der Haarzellschädigung können über Hypoxie und Ischämie verlaufen, diese können auch direkt zur Apoptose führen. Untersuchungen von Mazurek et al. (2006) zeigen, dass Ischämie die Haarzellen dabei stärker schädigt als Hypoxie, da nicht nur Sauerstoffmangel auftritt, sondern auch die Versorgung mit zahlreichen weiteren Substraten aus dem Blut eingeschränkt ist [22]. Ferner ergab besagte Studie, dass IHZ stärker vulnerabel gegenüber Hypoxie und Ischämie sind als ÄHZ, was schlussfolgern lässt, dass Hypoxie/ Ischämie eine geringere Rolle bei der lärminduzierten Haarzellschädigung spielt, da bei dieser überwiegend die ÄHZ betroffen sind [22]. Tinnitus kann auch gänzlich ohne periphere Schädigung entstehen. In diesen seltenen Fällen kann die Ursache ein Hirntumor sein, auch bei Patienten mit Multipler Sklerose wurde vom Auftreten von Tinnitus ohne erkennbare periphere Schädigung berichtet [18],[23]. Zenner definierte derartige Fälle als primär zentralen Tinnitus. Sekundär zentraler Tinnitus entspricht nach dieser Systematik einem ursprünglich peripheren Tinnitus der sich zentralisiert hat, also nach Ausbleiben der Peripheren Quelle wie, beispielsweise nach Neurektomie, weiterhin wahrgenommen wird. Mischformen sind laut Zenner generell möglich [21]. Es muss angemerkt werden, dass es nach aktueller Studienlage unwahrscheinlich ist, dass chronischer dekompensierter Tinnitus ausschließlich peripher bedingt ist, denn dauerhafte oder als irrelevant bewertete Akustische Signale erreichen üblicherweise nicht langfristig das Bewusstsein. Offenbar führt auch nicht jeder Haarzelluntergang zu Tinnitus. Eine zusätzliche Dysbalance in zentralen Strukturen des auditorischen Systems und/ oder des limbischen Systems erscheint also obligat. Zu den zentralen auditorischen Strukturen gehören die Nuclei cochlearis dorsalis und ventralis, der obere Olivenkomplex, der Colliculus inferior, der Corpus geniculatum mediale und der primäre und sekundäre auditorische Kortex. Die Signalstörung kann prinzipiell auf jeder Ebene des

Transduktionsprozesses stattfinden [24]. Die neurophysiologischen Mechanismen der Tinnituswahrnehmung sind nicht befriedigend geklärt [25]. Experimentelle Tierstudien zeigen allerdings eine Verbindung zwischen Tinnitus und einer Hyperaktivität des auditorischen Cortex, welche durch Cochleaschädigung induziert werden kann [26],[27], und lassen vermuten, dass der zugrundeliegende Pathomechanismus aus thalamokortikalen Arrhythmien, Reorganisation [28] und verminderten Lateralhemmungen besteht [29],[30]. Die Cortexhyperaktivität lässt sich bei Betroffenen Menschen durch funktionelles Neuroimaging darstellen und vorübergehend durch Transkranielle Magnetstimulation (TMS) modulieren [31],[32]. Ebenfalls darstellbar ist eine erhöhte Aktivität des Limbischen Systems wie Mandelkern und Hippocampus [33],[34],[35], was von Jastreboff (2000) zunächst als emotionale Reaktion auf die Tinnitusbelastung interpretiert wurde. In einem neuen Modell sprechen Rauschecker, Amber und Mühlau (2010) dem Limbischen System eine weit größere Rolle bei der Tinnituserstehung zu. Demnach hat dieses die Fähigkeit, die Wahrnehmung von unerwünschten oder irrelevanten Geräuschen und Fehlsignalen, wie zum Beispiel die Hyperaktivität der afferenten auditorischen Bahnen, zu verhindern. Hierbei werden die herauszufilternden Signale vom Limbischen System erkannt und an den Nucleus reticularis des Thalamus zurückgesendet, der diese vom afferenten auditorischen Signal substrahiert. So beschreibt dieses Modell, dass ein obligater Faktor bei der Tinnituserstehung eine Dysfunktion dieses Regelkreislaufes ist, wozu eine Störung des Limbischen Systems oder eine Beeinflussung des Nucleus reticularis führen könnte. Resultat wäre, dass das Signal den auditorischen Cortex und damit das Bewusstsein erreicht und möglicherweise eine permanente kortikale Reorganisation auslösen kann [4].

1.1.5. Krankheitsschwere und psychische Komorbidität bei Tinnitus

Die epidemiologisch ermittelte Prävalenz von Tinnitus ist weit höher als die Zahl der Hilfesuchenden; 80 bis 90% der Patienten mit chronischem Tinnitus erleben geringe bis keine Einschränkungen in Gesundheitsempfinden und Lebensqualität [36]. Bei etwa 10–20% der chronisch Betroffenen jedoch führt Tinnitus zur dauerhaften Beeinträchtigung des alltäglichen Lebens mit emotionalen, kognitiven sowie körperlichen Störungen bis hin zur völligen Dekompensation im privaten und beruflichen Bereich. In diesen Fällen spricht man von dekompenziertem Tinnitus. Diese Patienten erleben erheblichen Leidensdruck und eine bis zu 90-prozentige Chance auf

psychische Komorbidität, wie Depression (33-76%), Angst (29-31%) und Dysthymie (15-21%) [37]. Bei ihren stationär behandelten Patienten mit chronischem Tinnitus fanden Goebel und Flözinger bei 41,7% eine Major Depression und unter anderem ebenfalls häufiger Sozialphobien, Agoraphobien, spezifische Phobien, Panikstörungen, Somatisierungsstörungen, Hypochondrien, manische Episoden, Anpassungsstörungen und Schmerzstörungen [38]. Eine Ursache, warum Chronischer Tinnitus individuell derart unterschiedlich schwer verläuft, ist die persönliche Copingfähigkeit. Laut Holgers, Erlandsson und Barrenas (2000) wird Tinnitus dann zu einem Problem, wenn er als Bedrohung empfunden wird, dauerhaft und besonders aufdringlich erscheint oder wenn die Patienten Tinnitus als Stressfaktor empfinden und Schwierigkeiten haben diesen Stress zu bewältigen [11]. Goebel et al. (2001) sehen eine Kombination aus psychologischen, sozialen und organischen Faktoren als Begründung für eine Dekompensation von Ohrgeräuschen. Sie betonen, dass vor allem Belastungen psychischer Art wie z. B. Angstzustände, Schlafstörungen und affektive Störungen als Primär- oder Sekundärsymptomatik für eine Tinnitusverarbeitung, die zur Dekompensation führt, verantwortlich sein können [39].

1.2. Stress

1.2.1 Definition

„Stress“ ist ein sowohl im alltäglichen als auch im wissenschaftlichen Sprachgebrauch vielseitig verwendeter Begriff mit mannigfaltigen Betrachtungsmöglichkeiten. So gibt es über 200 verschiedene Definitionen und Erklärungsansätze zum Stressbegriff [40]. Keine von diesen ist allgemein wissenschaftlich akzeptiert, den meisten gemein ist jedoch die Grundidee, dass es sich um eine notwendige psychologische und physiologische Leistung des Menschen handelt, mit der dieser versucht, sich an veränderte Bedingungen anzupassen und Problemlagen zu bewältigen. Über die Anpassung von Wesen an ihre Umwelt schrieb auch Charles Darwin, der allerdings den Begriff „Stress“ nicht verwendete [41]. Evolution ist weit mehr als Stressreaktionen, doch sind diese sicherlich eine wichtige evolutionäre Komponente. In dieser Arbeit werden primär die folgenden Ansätze berücksichtigt, deren Entwickler am häufigsten zitiert sind und die für die aktuelle Stressforschung unentbehrlich erscheinen.

1.2.1.1. Stress als Reaktion - Das Adaptationssyndrom

Hans Selye (1976) definierte dieses hauptsächlich biologische Aspekte umfassende „Allgemeine Adaptationssyndrom“. Es beschreibt Stress als unspezifische leistungssteigernde Anpassungsreaktion auf jegliche Anforderungen und Belastungen aus der Umwelt, die das dynamische Gleichgewicht stören. Unabhängig von der Art des Auslösers läuft diese immer in drei Phasen ab: Die erste „Alarmreaktion“ dient der Aktivierung von Energie- und Handlungsreserven. Die „Anpassungs- und Widerstandsphase“ erhöht die Widerstandskraft gegen erneute oder chronische Belastung indem der Organismus an diese adaptiert. Unabhängig von Intensität oder Herkunft der Anforderung folgt nun eine „Erschöpfungsphase“ aufgrund der Homöostaseverschiebung, welche als Regenerations- oder Erholungsphase dient. Später unterschied Selye zwischen „Dysstress“ und „Eustress“, um den pathogenen vom nicht schädigenden Stress zu unterscheiden.

Diese Theorie kann die potentielle Gefahr erklären, die von permanenter Beanspruchung ausgeht. So kann durch wiederholte Beeinflussung der Adaptionen ablauf unterbrochen werden, die dritte Phase nicht erreicht werden und die Erholung bliebe aus, was zu Regenerations- und damit zu Ressourcenmangel führen könnte. Trifft der

nächste Belastungsmoment bereits vor Abschluss der zweiten Phase ein, wird die Anpassung an die erste Anforderung verhindert woraufhin diese unbewältigt bestehen bliebe und immer wieder die Alarmphase auslösen könnte. Dies könnte ein Pathomechanismus der Stresschronifizierung sein und, durch die dauerhafte Homöostasestörung, auch der Entstehung stressbedingter Somatischer Erkrankungen.

1.2.1.2. Stress als Beziehungskonzept – Der transaktionale Ansatz

In den 60er-Jahren des 20. Jahrhunderts wurde von Lazarus et al. [42] ein kognitives Stresskonzept vorgestellt, welches Stress als einen transaktionalen Prozess beschreibt, der einsetzt, wenn Umweltaforderungen, endogene Anforderungen oder eine Kombination aus beiden zusammen bewältigt werden müssen. Dieser Prozess ist gekennzeichnet durch Wechselwirkungen zwischen den an eine Person gestellten Anforderungen und der Art seines Verhaltens im Umgang mit ihnen. So können die Anforderungen selbsttätig bewertet und beeinflusst werden. Ob aus der Anforderung Stress resultiert und es einer Bewältigung (Coping) bedarf oder nicht, ist Ergebnis dieses Beurteilungsprozesses, der von Lazarus in drei Schritte eingeteilt wird.

In der ersten Bewertung („primary appraisal“) wird die Anforderung danach beurteilt, ob sie irrelevant, angenehm-positiv oder stressbezogen ist. Ist sie stressbezogen, folgt eine zweite Bewertung. In dieser („secondary appraisal“) werden insgesamt die individuellen Bewältigungsmöglichkeiten eingeschätzt. Die Prüfung bezieht sich dabei auf das Vorhandensein und das Ausmaß von zur Bewältigung zur Verfügung stehenden Fähigkeiten und Ressourcen. Solche können intellektueller, körperlicher, materieller oder sozialer Art sein. Letztendlich wird eingeschätzt, ob es sich um eine bewältigbare Herausforderung oder um eine Bedrohung handelt. Die dritte Bewertung ist eine Neubewertung der Gesamtsituation („reappraisal“) und erfolgt nach unternommenen Bewältigungsversuchen. Sie ist einer bilanzierenden Analyse gleichzusetzen. Das Resultat kann unter Anderem ein Erfahrungsgewinn für zukünftige ähnliche Situationen und deren Bewältigung oder aber auch die Veränderung von Bewertungstendenzen sein.

1.2.2. Stress und Endokrinologie

Die Stressreaktion wird über mehrere miteinander interagierende endokrine Achsen vermittelt, wobei eine situative Anpassung des Organismus erfolgt und durch Regelkreisläufe die Homöostase aufrechterhalten werden soll.

1.2.2.1. Schnelle Stressantwort über Adrenalin/ Noradrenalin

Bei akutem Stress, vor allem wenn eine aktive Verhaltensantwort erfolgt, überwiegt zunächst die Reaktion des autonomen sympathischen Nervensystems. Über die Ausschüttung der Katecholamine Adrenalin und Noradrenalin der Nebennierenrinde ins Blut wirkt es an α - und β -adrenergen Rezeptoren auf fast alle menschlichen Organsysteme. Ziel ist eine schnelle Erhöhung der Leistungsfähigkeit. So erhöhen sie z.B. den Blutdruck indem sie positiv inotrop, chronotrop und dromotrop auf das Herz und vasokonstriktorisch auf periphere Blutgefäße wirken, dilatieren die Bronchien, erhöhen die Atemfrequenztaktung am Hirnstamm, erweitern die Pupillen, erhöhen die Glucoseausschüttung aus Speicherorganen und vermindern die Magen- und Darmperistaltik. Die Halbwertszeit dieser beiden Katecholamine liegt unter 2 Minuten, die Wirkung entfaltet sich innerhalb von Sekunden [43].

1.2.2.2. Längerfristige Stressantwort über die Hypothalamus-Hypophysen-Nebennierenrinden- (HHN-)Achse

Diesen Regelkreislauf mit dem zunächst als pathogen angenommenen Kortisol als Mediator begründete ebenfalls Hans Selye. Die Aktivierung der Hypothalamus-Hypophysen-Nebennierenrinden- (HHN-) Achse ist ein länger wirkender Prozess. Bei Stress schütten die parvozellulären neurosekretorischen Neurone des Hypothalamus Corticotropin-Releasing-Hormon (CRH) aus. Dieses stimuliert die Bildung und Ausschüttung von adenokortikotrophem Hormon (ACTH) der Adenohypophyse und führt über dieses zu einer vermehrten Ausschüttung von Kortisol aus der Nebennierenrinde [44],[45]. Die Sekretionsrate beträgt 12-30mg/Tag, bei Gesunden schwanken die Kortisolkonzentrationen im Blut zwischen 50-250ng/ml. Die Sekretion erfolgt in einem zirkadianen Rhythmus. Zwischen 3 Uhr und 10 Uhr steigt die Kortisolkonzentration im Blut steil an und fällt im Laufe des Nachmittags langsam wieder ab. Die Blutkonzentration erreicht 15-30 Minuten nach akuter Stressexposition ihr Maximum und normalisiert sich in der Regel innerhalb von 60-90 Minuten nach Stressende [46]. Mehr als 90% des Blutkortisols liegen Proteingebunden vor, davon

sind etwa 75% an das spezifische Transportprotein Transkortin/ Kortikosteroid binding globulin (CBG) und 15% an Albumin gebunden. Die Plasmahalbwertszeit von Kortisol beträgt ca.90 Minuten, inaktiviert wird es überwiegend in der Leber [43]. Kortisol spielt eine zentrale Rolle in der Stressantwort, es vermittelt diese an nahezu alle Organe und Gewebe. Glukokortikoide können aufgrund ihrer Lipophilie frei durch die Zellmembranen diffundieren und im Zytoplasma mit den Rezeptoren interagieren [47]. Es wird in genomische und nicht genomische Wirkmechanismen unterschieden. Kortisol beeinflusst die Transkriptionsrate von etwa 20% des menschlichen Genoms. Durch Bindung an intrazelluläre Rezeptoren werden unter anderem CRE (cAMP response elements) und Transkriptionsfaktoren aktiviert und so die Expression von steroidhormonregulierten Genen reguliert. Der genomische Effekt wird auch über membranständige Rezeptoren vermittelt. Im Hippocampus beispielsweise konnte nachgewiesen werden, dass die Aktivierung von Mineralokortikoid- (MR) und Glukokortikoidrezeptoren (GR) zu einer veränderten Expression von 70–100 Genen führt, wobei die Anzahl der vermehrt und vermindert exprimierten Gene ausgewogen ist [48]. Nichtgenomische Effekte werden über eine Vielzahl von Secondmessenger-Systemen vermittelt, über Veränderungen an Transmembranproteinen wie Ionenkanäle und über die Aktivierung von Kinasesignalwegen. So hat Kortisol einen starken Einfluss auf den Metabolismus, wie die Bildung und Freisetzung von Glukose aus Speicherorganen, Zellwachstum, Apoptose, Zell- und Gewebedifferenzierung, Entzündung, Gefäßtonus, Stimmung und kognitive Funktion sowie immunsuppressive Aktivität [49]. Letzteres wird im Kapitel „Stress und Immunsystem“ näher erörtert. Als weitere bedeutungsvolle Wirkung verstärkt es die Aktivität des unter 1.2.2.1 erläuterten Adrenergen Systems durch Stimulierung von Phenylethanolamin-N-Methyltransferase, die zu einer verstärkten Adrenalin-Synthese und zu einer Hemmung der katabolischen Aktivität der Katechol-O-Methyltransferase führt, welche Katecholamine abbaut [50].

Da es lipophil ist, hat Kortisol auch im ZNS eine Vielzahl von Effekten, es beeinflusst unter anderem die Aktivität von biogenen Aminen und die Genexpression des β -Adrenorezeptors und reguliert auch so die Wirkung der Katecholamine [51]. Die Zielwirkung im Gehirn wird über zwei Arten von Kortikosteroidrezeptoren vermittelt. Auch im Gehirn binden MR und GR Kortikosteroide, beim Primaten einschließlich dem Menschen Kortisol, bei anderen Säugern Kortikotropin, MR haben dabei eine bis zu 10-fach höhere Bindungsaffinität und werden primär im limbischen System (Hippocampus)

gefunden [52],[53]. Die GR sind im ZNS weiter verbreitet und werden erst bei höheren Blutkortisolkonzentrationen aktiviert [52]. Bei geringen zirkulierenden Basismengen Kortisols sind so bereits etwa 90% der MR, jedoch nur 10% der GR besetzt [54]. So sind MR eher für tonische Aktivität zuständig, die GR dagegen für stressinduzierte Aktivierung des HPA-Systems und für durch akuten Stress bedingte Veränderungen an den Zielzellen [55]. Bei akutem Stress sowie im täglichen physiologischen Kortisolmaximum sind die GR zu etwa 50% besetzt [45],[56]. Chronischer Stress kann zur Dysregulation in der HPA-Achse und Hyperkortisolämie führen, welche bei Depression, Posttraumatischer Belastungsstörung (PTSD) sowie tierexperimentell bei pränatalem Stress sowie bei Langzeitisolation nachgewiesen wurde [57],[58],[59],[60]. Hyperkortisolämie ist durch erhöhte Basiswerte, verlängertes erhöhtes Kortisol nach zusätzlicher akuter Stresseinwirkung [58],[61], und partielle Unterbrechung der negativen Feedbackregulation über ACTH [58] gekennzeichnet. Eine Hypokortisolämie, wie sie beim Chronic Fatigue Syndrome, Fibromyalgie und ebenfalls bei Patienten mit PTSD vorkommt, liegen vermutlich länger anhaltende erhöhte Glukokortikoidkonzentrationen zugrunde, auf die der Organismus mit einem verstärkten Feedback reagiert und die langfristig zu erniedrigten Kortisolwerten führen [62]. Die Regulation der HHN-Achse ist vielseitig. An der Hypophyse hemmt Kortisol durch negative Rückkopplung die Ausschüttung von ACTH. Eine weitere mögliche zeitverzögerte negative Rückkopplung verläuft zentralnervös gesteuert über den Hippocampus, der die höchste Gluko- und Mineralkortikoidrezeptordichte und den höchsten Kortisolgehalt aller neuralen Strukturen sowie neuronale Verbindungen zum Hypothalamus aufweist [45],[63]. Eine inhibierende Funktion des Hippocampus wird durch Studien gestützt, bei denen die Schädigung dieser Struktur bei Ratten die mRNA-Expression von CRH und AVP in Parvozellulären Neuronen des Hypotalamen Paraventriculären Nukleus potenziert [64],[65].

Das Atriale Natriuretische Peptid (ANP) wird aufgrund von Dehnungsreizen von glatten Muskelzellen des Herzvorhofes ausgeschüttet und bewirkt eine verminderte Natriumreabsorption der Niere und verursacht damit Natrio- und Diurese. An dieser Stelle ist es erwähnenswert, weil es auch ein potenter Inhibitor der HPA-Achse ist, indem es die Ausschüttung von ACTH hemmt [66]. Wenn durch stressbedingte HHN-Aktivierung eine zu starke Peripherisierung des Blutes ausgelöst wird, so dass es zu potentieller Funktionseinschränkung des Herzens kommt, hemmen die Vorhöfe durch ANP-Ausschüttung also das gesamte HHN-System.

Auch Arginin-Vasopressin (AVPNP) (syn.: Antidiuretisches Hormon ADH) hat einen Einfluss auf die HPA-Achse [67], dieser ist bisher jedoch wenig begründet.

1.2.3. Stress und ZNS

Unser zentrales Nervensystem ist nach den oben erläuterten Stresstheorien der eigentliche Entstehungsort von Stress, wobei dieser Mechanismus sowie dessen Modulation und Wechselwirkung mit anderen Systemen wie der HHN-Achse äußerst komplex und nicht abschließend geklärt ist.

Bekannt ist, dass ein langfristig erhöhter Kortisolspiegel neben der erwähnten Rezeptor-Downregulation auch zu Langzeiteffekten in zahlreichen Hirnstrukturen, unter anderem im limbischen System führt [41],[58]. Es kommt unter chronischem Stress zur Reduzierung der synaptischen Kontakte [68],[69],[70], reduzierter Neurogenese und verminderter synaptischer Plastizität [71]. Im Speziellen atrophieren die Hippocampuszellen und deren Expression von brain derived neurotrophic factor (BDNF) (s.u.) wird reduziert [41,68]. Die Neurotoxizität von Kortikosteroiden, vermittelt über die Effektoren Glutamat, γ -Aminobuttersäure (GABA) und Serotonin, wurde direkt an Hirnregionen wie Hippocampus, Amygdala, Zingulum und präfrontalen Arealen gezeigt [72],[73]. Dies könnte erklären, warum Patienten mit Depression in Korrelation mit der Krankheitsdauer verminderte Hippocampusvolumina haben [74]. Innerhalb des zentralen Nervensystems wird als Stressreaktion ebenfalls Adrenalin und Noradrenalin ausgeschüttet, die synthetisierenden Neurone liegen primär im Hirnstamm, in Pons und Medulla oblongata [75],[76],[77]. In diesem Zusammenhang ist insbesondere der Locus coeruleus (LC) der Formatio reticularis im Rhombencephalon zu erwähnen, der in nahezu alle Teile des Gehirns projiziert und dort als Transmitter primär Noradrenalin freisetzt [77],[78]. In einige Gehirnregionen, wie z.B. in den Hippocampus und den frontalen Cortex gelangt Noradrenalin sogar ausschließlich über Neurone des LC [79]. Bekannt ist jedenfalls, dass Stress durch aufsteigende aminerge Projektionen aus dem Locus coeruleus und den Raphe-Kernen moduliert wird. Während der Nucleus paraventricularis (PVN) des Hypothalamus wenig direkte aminerge Projektionen erhält, kommt es indirekt über das limbische System vermittelt zu einer Modulation der Stressreaktion [79].

1.2.3.1. Glutamat

Glutamat ist der am häufigsten vorkommende exzitatorische Neurotransmitter unseres ZNS. Es spielt eine wichtige Rolle bei einer Vielzahl von physiologischen Funktionen wie Regulation vieler Hormone, Lernen und Gedächtnis und ist bei zahlreichen neurodegenerativen Störungen wie M. Alzheimer und M. Parkinson involviert [80].

Die Vermittlung des Glutamateffekts erfolgt über zwei spezifische Rezeptorklassen, ionotrope Ionenkanäle (iGluRs) und metabotrope G-Protein gekoppelte Rezeptoren (mGluRs). Die iGluRs werden weiter unterteilt in N-methyl-D-aspartat- (NMDA), Kainat- (KA) und Alpha-amino-5-methyl-3-hydroxy-4-isoxazol-propionsäure- (AMPA) Rezeptoren, während die mGluRs entsprechend der Ähnlichkeiten ihrer second messenger in drei Subgruppen unterteilt werden. mGluRs wurden unter anderem in Kernen des Hypothalamus und der Hypophyse in hoher Dichte nachgewiesen [81], verschiedene Studien zeigen zudem eine glutamatinduzierte Sekretion der Hypophysenhormone Adrenocorticotropes Hormon (ACTH), Luteinisierendes Hormon (LH), Prolaktin (PRL) und Somatotropes Hormon (STH) in vivo [82],[83],[84],[85]. Dies lässt darauf schließen, dass die mGluRs eine wichtige Kontrollaufgabe im Neuroendokrinen System erfüllen. Das glutamaterge System wird schon lange als kritischer Regulator der Stressantwort betrachtet [83],[86], im Tierversuch wurde nach Injektion eines mGluR-Agonisten in die Liquorventrikel ein erhöhter Serumcortisolspiegel gemessen [87]. Es ist wiederum auch bekannt, dass Stress das Glutamatsystem beeinflusst, dessen extrazelluläre Konzentration erhöht und den durch NMDA-Rezeptoren bedingten Kalziuminflux verstärkt [46],[88]. Ein besonders starker Einfluss von Stress wurde bei NMDA-Glutamatrezeptoren festgestellt [89]. So verstärkt chronischer Stress NMDA-rezeptorvermittelt die Feuerrate von Hippocampalen CA3-Neuronen [90], was auch zur Atrophie dieser führen kann [91], ein möglicher Pathomechanismus von stressbedingter Neurodegeneration und den bereits erwähnten verminderten Hippocampusvolumina bei Depression. Der Einfluss von Stress auf die Glutamatausschüttung ist für die vorliegende Studie von Bedeutung, da Glutamat auch ein Neurotransmitter der afferenten Hörbahn ist und eine beispielsweise durch Lärmbelastung oder andersweitigen Stress verursachte massive Glutamatausschüttung die synaptische Verbindung von primären auditorischen Neuronen und IZH entkoppeln kann und damit offensichtlich über ein massives exzitotoxisches Potential verfügt. Dieser Mechanismus kann auch durch direkte Applikation von Glutamatagonisten in Gang gesetzt werden und stellt einen wichtigen Pathomechanismus bei der stress- und

lärmbedingten innenohrschädigung dar [92]. Auch im Colliculus inferior konnten erhöhte Glutamatkonzentrationen nach Lärmexposition festgestellt werden [93]. Im Spiralganglion von Mäusen konnte die NMDA-vermittelte Glutamatwirkung durch Gabe von ASS potentiert werden, was die Neurotoxizität von Salicylaten erklären könnte [94]. Erhöhte Glutamatausschüttung durch Stress spielt vermutlich nicht nur eine Rolle bei der Hörschädigung, sie könnte auch durch die verstärkte Transmitterfreisetzung zu Tinnitus führen, indem sie afferente Signale in der Hörbahn verstärkt, die als Geräusch interpretiert werden können. Veränderungen im Glutamatsystem könnten zudem die unter „1.1.4. Pathogenese des Tinnitus“ erwähnte Dysbalance in zentralen Strukturen des auditorischen und limbischen Systems und ebenfalls die nachgewiesene Hyperaktivität des auditorischen Cortex bei Tinnitus bedingen.

1.2.3.2. NGF und BDNF

Die Neurotrophine NGF (Nerve Growth Factor) und BDNF (Brain Derived Neurotrophic Factor) gehören zu einer Gruppe von strukturverwandten neurotrophen Faktoren der NGF-Familie. Sie werden in zahlreichen Gebieten des Säugerhirns von Neuronen, Gliazellen, Astrozyten und Schwann'schen Zellen gebildet und spielen eine bedeutende Rolle bei Wachstum, Differenzierung und Aufrechterhaltung von Neuronen, sowohl bei der Hirnentwicklung [95], als auch im Erwachsenenalter [96],[97]. Auch bei der aktivitätsabhängigen synaptischen Plastizität des Hippocampus haben diese Neurotrophine eine modulierende Funktion [98], zudem erhöht BDNF die glutamaterge synaptische Übertragungsrate in Hippocampus-Zellkulturen [99]. Es ist möglich, dass BDNF so die Lernfähigkeit erhöht und eine Verbesserung von alters- oder neurodegenerativ bedingten neurologischen Defiziten bewirken könnte [100],[101]. Auf der anderen Seite könnte sowohl die Erhöhung der Neuroplastizität als auch die Modulation des Hippocampus respektive Limbischen Systems ein modulierender Faktor der Tinnitusenstehung sein. BDNF hat ebenso wie Kortisol einen zirkadiären Rhythmus, der mit dem des Kortisols positiv korreliert, wobei die Ursachen und Folgen dieses Phänomens noch unklar sind [102]. Neuronale Aktivität erhöht die BDNF Synthese, wie Castrèn et al. (1992) durch Messung von BDNF-mRNA-Leveln zeigten [103]. Im Großhirncortex und Hippocampus der Ratte induziert auch körperliche Bewegung eine erhöhte BDNF-mRNA-Expression [104]. Bekannt ist, dass die Serumkonzentration von BDNF bei schizophrener Patienten deutlich erhöht ist [105]. Im Liquor cerebrospinalis von Patienten mit ausgeprägtem Morbus Alzheimer wurde im Vergleich zu Gesunden

erhöhte NGF Level gefunden [106]. Blasko et al. (2006) bestätigten eine Korrelation der NGF Konzentration mit dem Grad der Neurodegeneration der untersuchten Alzheimerpatienten [107]. In post mortem Untersuchungen zeigte sich ein Mangel von NGF im Frühstadium und erhöhte Level in späteren Stadien von Alzheimer [108]. Tuszynski et al. (2009) zeigte unter Anderem eine Umkehrung der Hirnatrophie und deutliche Verbesserung der altersbedingten neurologischen Defizite nach Infusion von BDNF bei Primaten. Eine Phase-1 Studie zur ex vivo Gentherapie von Alzheimerpatienten in frühem Krankheitsstadium, mittels Implantation von NGF produzierenden Hautfibroblasten in das Vorderhirn, ergab eine Stärkung der metabolischen Hirnaktivität nach der Operation, 22 Monate danach ergab sich im Mini Mental Status Test (MMSE) keine Verbesserung der kognitiven Fähigkeiten, aber ein um 51 Prozent verminderter Abfall der Leistungen im Vergleich zu krankheitstypisch erwarteten Werten [109]. Die Entwicklung der Neurotrophinsubstitution als Behandlungsform für beginnende Alzheimerdemenz ist noch nicht abgeschlossen. Obwohl diese wohl keine Heilung der Krankheit, sondern eher eine Verzögerung des Krankheitsverlaufs bewirken wird, ist dies angesichts der derzeitigen Behandlungsoptionen als deutlicher Fortschritt zu werten. Neurotrophine könnten auch das Ziel einer Therapie von Affektiven Störungen sein, denn aktuelle Studien lassen vermuten, dass neuronale Plastizität einen wichtigen Faktor bei der Erholung von depressiven Störungen darstellt [110]. Bei chronischer Applikation von Antidepressiva wie selektiven Serotonin-Wiederaufnahmehemmern (SSRI) erhöht sich die Expression von BDNF-mRNA im Hippocampus von Ratten, jedoch nicht nach akuter Gabe. Diese Beobachtung deckt sich damit, dass es auch eine gewisse Zeit dauert bis eine Antidepressivatherapie ihre Wirkung entfaltet. Diese Entdeckung wurde von den Autoren der Studie als Verringerung der stressbedingten Downregulation von BDNF-mRNA bei Antidepressivagabe interpretiert [111]. Akuter und auch wiederholter Stress durch Immobilisation erhöht die Konzentration von BDNF-mRNA in Hypothalamus und Hypophyse der Ratte, was das Resultat eines verringerten negativen Feedbacks sein könnte, denn in allen anderen untersuchten Hirnregionen fand sich eine Abnahme von BDNF-mRNA [112]. Gorgulu et al. (2009) zeigten signifikant geringere Serum-BDNF-Level bei depressiven Patienten als bei Gesunden, welche mit dem Score des Depressionsfragebogens „Hamilton Rating Scale for Depression“ (HAM-D) negativ korrelierten. Nach einer Therapie mit Schlafentzug und dem selektiven Serotonin-Wiederaufnahmehemmer (SSRI) Sertralin waren die HAM-D-Scores signifikant geringer

und die Serum-BDNF-Level signifikant höher [113]. Shi et al. fanden ebenfalls verringerte BDNF-Plasmalevel bei Depression ihrer geriatrischen Patienten [114]. Bei Anwendung von Elektrokonvulsivtherapie bei Depressiven fand sich eine BDNF-Serum-Erhöhung, allerdings nur bei Therapierespondern, bei Nonrespondern blieben die BDNF-Level fast unverändert [115]. Ob die veränderten Serumlevel durch modifizierte neuronale Ausschüttung bedingt sind, ist in der Mehrzahl der Studien nicht geklärt, denn Neurotrophine werden nicht nur von Nervenzellen gebildet, sie konnten auch in endokrinen Zellen der Thyroidea [116], braunen Adipozyten [117], aktivierten T- und B-Zellen wie Monozyten [118] und viszeralen Epithelzellen [119] nachgewiesen werden. Ihre Funktion ist in Nervenzellen jedoch deutlich besser erforscht. Die NGF Produktion von braunen Fettzellen scheint umgekehrt proportional zur Sympatikusaktivität zu sein, das jedenfalls schließen Nisoli et al. (1996) aus ihren Beobachtungen, dass im Braunen Fettgewebe von Kälteexponierten Ratten weniger NGF-mRNA als bei unbehandelten Kontrollen vorhanden war [117]. Bei Ratten konnte eine Stressbedingte Erhöhung von NGF im Serum gezeigt werden. [120]. Hadjiconstantinou et al. (2001) bestätigten dies auch beim Menschen. Sie fanden bei Frauen, die dem chronischen Stress ausgesetzt waren einen geistig behinderten Ehepartner zu pflegen, erhöhte NGF-Blutkonzentrationen im Vergleich zu Kontrollprobandinnen gleichen Alters, ethnischer Herkunft und Bildungsgrades [121]. Auch akuter Stress durch Fallschirmspringen erhöht NGF-Level im Blut [122]. All diese Beobachtungen lassen darauf schließen, dass Stresssituationen eine erhöhte Ausschüttung von Neurotrophinen zur Folge hat und die durch diese bedingte verbesserte neurale Plastizität eine verbesserte Anpassungsfähigkeit an Umwelтанforderungen und damit eine verbesserte Stressbewältigung bewirkt. Sowohl Ängstlichkeit, Depression und chronischer Stress als wahrscheinlich auch dekompenzierter Tinnitus können aus einem Versagen der Anpassungsfähigkeit resultieren und könnten demnach in ihrer Pathogenese auch ein Neurotrophindefizit beinhalten. Für chronischen Stress und Tinnitus liegen in diesem Kontext keine Humanstudien vor. Sicher ist, dass Neurotrophinveränderungen nur als ein Faktor in einem großen Komplex von Pathomechanismen zu verstehen sind, und dass unter Anderem auch betrachtet werden muss, welche weiteren Faktoren eine Rolle spielen könnten und welche Wechselwirkungen zwischen diesen herrschen. So stimuliert NGF beispielsweise die Ausschüttung von Neurokininen wie Neurokinin A und Substanz P aus sensiblen neuronalen Fasern und hat bekannte Korrelation zu diesen in anderen Krankheitsbildern [123].

1.2.3.3. Substanz P

Substanz P (SP, Neurokinin-1), ein Neuropeptid aus der Gruppe der Neurokinine, ist zunächst als Neurotransmitter der schmerzleitenden C-Fasern entdeckt worden. Sie vermittelt aber eine Vielzahl weiterer Reaktionen, unter Anderen Bronchokonstriktion, Mucosekretion und zwei Schlüsselkomponenten der Entzündungsreaktion: Vasodilatation und Aktivierung und zielgerichtete Einwanderung von Leukozyten (Chemotaxis). Hauptsächlich handelt es sich bei diesen um Mastzellen, sie exprimieren sowohl SP als auch den Neurokinin-1-Rezeptor (NK-1R) [124]. Bei knock-out Ratten mit gezielt deaktiviertem NK-1-R wurde eine verminderte Bildung von Immunkomplexen beobachtet, SP wird daher als Schlüsselmediator der Entzündungsreaktion mittels Immunkomplexbildung und damit auch der Typ-III-Überempfindlichkeitsreaktion angesehen [125]. Somit gilt es auch als vielversprechendes Ziel unter Anderem bei der Therapieentwicklung der Rheumatischen Arthritis, Vaskulitiden und des systemischen Lupus Erythematosus, bei denen ein Zusammenhang zwischen Krankheitsschwere und Immunkomplexitern besteht [126]. Bei atopischer Dermatitis sind sowohl SP als auch NGF im Plasma signifikant erhöht und korrelieren mit der Krankheitsschwere, so dass sie möglicherweise sinnvolle diagnostische Marker darstellen. In besagter Studie korrelierten ebenfalls die Konzentrationen von NGF und SP untereinander [127]. Weitere Effekte von SP sind die Freisetzung von Zytokinen wie Interleukin 8 und TNF α , von Histamin, Leukotrien B₄ und Prostaglandin D₂ und E₂ durch Mastzellen, Leukozyten, Lymphozyten und Makrophagen [128],[124]. In aktivierten menschlichen T-Lymphozyten steigert SP die Interleukin-2-Produktion und führt somit zur T-Zell-Proliferation [124]. Neben der gesicherten proinflammatorischen Wirkung wird auch eine zentrale stressvermittelnde Funktion der SP vermutet. Immobilisationsstress führte bei Ratten zu einer Erhöhung der im Nucleus medialis der Amygdala gemessenen SP-Konzentration um 150% im Vergleich zu Kontrolltieren, während die Konzentration im nucleus centralis unverändert blieb [129]. Mello et al. (2007) fanden bei Ratten nach SP-Injektion erhöhte Level von Kortisol, Glukose und freien Fettsäuren und interpretierten dies als stressbedingte Substratmobilisation [130]. Dies deckt sich mit der Beobachtung, dass die Behandlung mit NK-1R-Antagonisten die neuronale Aktivität, gemessen an der c-Fos-Expression in ZNS-Stresszentren, wie dem paraventriculären nucleus des Hypothalamus, reduziert [129]. Die Serumkonzentrationen von SP, Interleukin-6 sowie von CRP sind bei adipösen Typ-2-Diabetikern erhöht [131]. Eine

Verbindung zu Depression wurde von Li et al (2009) bei Schlaganfallpatienten 2 bis 4 Wochen nach dem Apoplex festgestellt. So hatte die Gruppe der Patienten mit apoplexbedingter Depression (post stroke depression, PSD) signifikant höhere SP-Level sowohl im Liquor cerebrospinalis (LCS) als auch im Serum [132]. Konträr zu dieser Beobachtung haben Deuschle et al (2005) keine Unterschiede der SP-Konzentrationen in Serum sowie LCS zwischen depressiven Patienten und gesunden Kontrollen sowie im Verlauf der Behandlung der depressiven Patienten mit den Antidepressiva Paroxetin oder Amitriptylin festgestellt. Bondy et al. (2003) fanden ebenfalls keine veränderten SP-Konzentration im Verlauf der Antidepressivatherapie ihrer depressiven Patienten, dafür aber übereinstimmend mit den von Li et al. untersuchten PSD-Patienten eine deutliche baseline-Erhöhung im Vergleich zu Nichtdepressiven [133]. Ebenfalls für einen Zusammenhang zwischen SP und Affekt spricht eine Studie, bei der gesunden jungen Männern SP bzw. ein Placebo infundiert wurde. Die SP-Gruppe zeigte eine deutliche Stimmungsverschlechterung und unter anderem eine Erhöhung von Serumkortisol und Thyroidea stimulierendem Hormon (TSH) [134]. Untersuchungen zum Verhältnis von Angstempfinden sowie subjektiv wahrgenommenem Stress zu SP-Veränderungen beim Menschen liegen derzeit nicht vor.

1.2.4. Stress und Immunsystem

1.2.4.1. Unspezifische und adaptive Immunabwehr

Wir unterteilen unsere Immunantwort in ein erregerspezifisches, angeborenes und ein erworbenes, adaptives System. Letzteres beinhaltet zelluläre wie humorale Mechanismen und wird in erster Linie durch Lymphozyten vermittelt [135].

1.2.4.2. Lymphozyten

Die Leukozytensupopulation der Lymphozyten wird anhand ihrer Oberflächenrezeptoren in B-Zellen, T-Zellen und Natürliche Killerzellen unterteilt. Mittels B-Zell-Rezeptoren werden Antigene erkannt, nach Kostimulation durch T-Helferzellen erfolgt die Migration der B-Zellen in Keimzentren, die Proliferation als Plasmazellen und die Produktion spezifischer Antikörper. Die im Thymus ausreifenden T-Zellen werden aufgrund verschiedener T-Zell-Rezeptoren weiter unterschieden, wie in CD4-positive T-Helferzellen oder CD8-positive zytotoxische T-Zellen. Letztere sind als Endpunkt der zellulären Abwehr in der Lage, infizierte Körperzellen direkt zu schädigen, während

CD4-T-Helferzellen als Vermittler fungieren. Mittels Produktion und Ausschüttung verschiedenster Zytokine kann sowohl die zelluläre als auch die humorale Reaktion verstärkt werden. Diese unterschiedliche Ausprägung von Zytokinmustern lässt eine weitere Klassifizierung der T-Zellen zu [135].

1.2.4.3. Das Th1-Th2-Konzept

Das Th1-Th2-Konzept wurde von Mosmann und Coffman begründet [136] und besagt, dass sich unter anderem naive CD4-T-Helferzellen, beeinflusst von ihrem umgebenen Medium, in zwei Subtypen differenzieren, Typ1 (TH1) und Typ2 (TH2), und diese wiederum mittels Zytokinfreisetzung die Differenzierung weiterer naiver T-Zellen beeinflussen können [137]. Nach Phagozytose von intrazellulären Erregern wie Viren, Rickettsien, Mykobakterien wie Tuberkulose oder Lepra oder von Tumorb Bestandteilen setzen Makrophagen IL-12 frei, welches naive T-Zellen zu Th1-Zellen differenzieren lässt. Diese setzen IFN γ , IL-2 und TNF α frei, was zu einem Aktivitätsanstieg von zytotoxischen T-Zellen, natürlichen Killerzellen und Makrophagen führt, die daraufhin infizierte Zellen abtöten. Phagozytieren Makrophagen dagegen extrazelluläre Bakterien oder Parasiten, setzen sie IL-10 frei. Naive T-Zellen differenzieren daraufhin zu Th2-Zellen und stimulieren die humorale Immunabwehr. Dabei regulieren IL-4, IL-5, IL-6, IL-9, IL-10 und IL-13 Wachstum und Aktivitätszustand von Basophilen, Mastzellen und Eosinophilen sowie die Differenzierung von B-Zellen in Antikörper produzierende B-Zellen und Gedächtniszellen und den hergestellten Typ von B-Zell-Immunglobulinen wie IgM und IgG. Die TH1- und die TH2-Immunantwort hemmen sich gegenseitig, das heißt, IL-12 und IFN γ hemmen die Differenzierung zu Th2 und IL-4 und IL-10 zu Th1, weshalb sie auch anti-inflammatorische Zytokine genannt werden [138],[139],[140],[141].

Eine mögliche Methode, den TH1/TH2-Status im Blut zu untersuchen, besteht aus der Isolation und anschließenden Stimulation der Leukozyten [142], sodass intrazelluläre Zytokine ausgeschüttet und damit messbar werden. Als Stimulant eignet sich beispielsweise das in der Natur in der roten Kidneybohne (*Phaseolous vulgaris*) vorkommende Mucoprotein PHA. Dieses bindet an T-Zell-Rezeptorkomplexe und führt in den ersten 24 Stunden ausschließlich zur Ausschüttung bereits intrazellulär vorhandener Stoffe, bei längerer Stimulation wurde eine erhöhte RNA-Synthese beobachtet; Ab 48-stündiger Stimulation kommt es auch zu Mitosen [142].

1.2.4.4. Akuter Stress und Immunmodulation

Als akute Stressbelastung wurden in Studien Stressoren wie z.B. das Halten einer Rede vor Publikum, das Lösen kognitiver Aufgaben, im Tiermodell auch Lärmbelastung und flimmerndes Licht eingesetzt. Die Untersuchungen immunologischer Parameter zeigen in all diesen Akutsituationen erhöhte Werte in der Zahl peripherer Immunzellen wie zytotoxische T-Zellen (CD-8), neutrophile Granulozyten und natürliche Killerzellen, eine erhöhte Aktivität der natürlichen Killerzellen (NK) und verminderte Proliferation peripherer T-Lymphozyten. Bei akutem Stress ist von einer Immunmodulation und weniger von Immunsuppression auszugehen [143].

1.2.4.5. Chronischer Stress und Immunsuppression

Chronischer Stress bewirkt eine Abnahme der Lymphozyten im peripheren Blut, eine Reduktion der NK und, wie auch bei akutem Stress beobachtet, eine Abnahme der Proliferationsfähigkeit peripherer T-Lymphozyten nach Stimulation mit Mitogenen. Man kann also von einer Schwächung sowohl der zellulären als auch der humoralen Immunität durch chronischen Stress ausgehen [144].

1.2.4.6. Kortikosteroide und Immunsystem

Bei physiologischen Kortikosteroidkonzentrationen hemmen diese die TH-1- und verstärken die TH-2-Produktion, wirken also immunmodulatorisch. In höheren Dosierungen werden Glukokortikoide zur Immunsuppression bei zahlreichen entzündlichen, entzündlich-degenerativen und autoimmunen Erkrankungen als Therapeutika eingesetzt. Auf der einen Seite wirken diese an den bereits erwähnten Membranrezeptoren, hemmen so unter anderem die Phospholipase A2, die zur Umwandlung von Phospholipiden zu Arachidonsäure benötigt wird. So kommt es zur verminderten Produktion von proinflammatorischen Prostaglandinen durch Cyclooxygenase und von Leukotrienen via Lipoxygenase und somit zu verminderter Entzündungsreaktion [43]. Der zweite Hauptwirkmechanismus der Immunsuppression kortikosteroidaler Medikamente, sowie auch der körpereigen ausgeschütteten Glukokortikoide nach akuter Stresseinwirkung, besteht aus der Expressionsregulation von zahlreichen immunmodulierenden Genen und Faktoren, auch in den Immunzellen selbst. So wird zum Beispiel die Expression der Moleküle B7-1 und B7-2 in Monozyten und Dendritischen Zellen gehemmt, was inhibierend auf die T-Zell-Koaktivierung wirkt so wie auch die Hemmung der MHC II-Expression in Antigenpräsentierenden Zellen mit

folgender verminderter IL-2-Ausschüttung [145]. Es kommt nach Glukokortikoidapplikation zur verminderten Blutkonzentration von Lymphozyten, Monozyten, eosinophilen und basophilen Granulozyten, lediglich die neutrophile Granulozytenzahl erhöht sich. Auch hierdurch mitbedingt erfolgt eine Verschiebung der Synthese von Zytokinen, wie dem oben schon erwähnten TH2-Shift, insgesamt verändert sich die Expression der Interleukine 1-6, 8, 11, 12, und 16, IFN γ und TNF α , von weiteren Adhäsionsmolekülen wie Selektinen und dem Interzellulären Adhäsionsmolekül-1 (ICAM-1) und von Chemoattraktantien, was letztendlich Immunzellkontakt, -migration, -reifung und -differenzierung beeinflusst. Das veränderte Zytokinprofil bewirkt zahlreiche weitere Reaktionen, wie zum Beispiel die Induktion von Akutphaseproteinen in der Leber wie C-reaktives Protein (CRP) durch IL-6. Vor allem IL-1, IL-6 und TNF α haben eine gut untersuchte proinflammatorische Funktion und können als Indikator für die Immunaktivität verwendet werden [29],[146],[147],[148]. Nicht nur Kortikosteroide, sondern auch CRH selbst wirkt auf lymphatische Organe. So wurden CRH-reaktive Nervenbündel in Milz und Thymus von Ratten gefunden, wobei deren Funktion bislang ungeklärt ist [149].

1.2.5. Stress und Auditorisches System

Klinische Beobachtungen zeigen, dass Stress sehr häufig mit otologischen Phänomenen wie Hyperakusis, M.Menière und Tinnitus *assoziiert ist* [11],[150],[151]. So erleben 60% der Patienten mit chronisch dekompenziertem Tinnitus längerfristig emotionalen Stress und 80% eine Hyperakusis [152],[153]. Eine Beziehung zwischen Tinnitus und Stress wurde in zahlreichen Studien untersucht [37],[152],[154],[156]. In diesen ist Tinnitus nicht nur als stressbedingt identifiziert worden, sondern auch als Stressor selbst. So können sich Stress und Tinnitus gegenseitig verstärken, es ist von einem Circulus viciosus die Rede, der besonders bei Belastung zur Verstärkung des Ohrgeräusches führen kann [157]. Das auditorische System ist bereits in seiner Entwicklung vulnerabel durch Stress. Kadner et al. (2006) haben trächtigen Ratten milde Stressoren wie Käfigwechsel und Kochsalzinjektionen ausgesetzt und an den so pränatal gestressten Jungtieren einen niedrigfrequenten Hörverlust von durchschnittlich 7.7 dB im Vergleich zu ungestressten Kontrollen gemessen [158]. Pränatal mit dem Kortisolderivat Dexamethason behandelte Ratten sind im Erwachsenenalter deutlich anfälliger für Lärmtraumata, wie eine Studie von Canlon et al. (2003) zeigt. Die Genesung nach Lärmexposition war im Vergleich zu unbehandelten Kontrolltieren stark

eingeschränkt, so dass es zu permanenten massiven ÄHZ-Verlusten kam, während die Kontrollen nur geringe Haarzellverluste aufwiesen. Die wiederholte Gabe des Radikalfängers Alpha-phenyl-N-tert-butyl-nitrone (PBN) vor, während und nach Lärmexposition verringerte die morphologischen und physiologischen Innenohrveränderungen deutlich. [159]. Stress führt über Adrenalin/Noradrenalin zu Vasokonstriktion, was die Durchblutung im auditorischen System und in der Cochlea verringert und durch Ischämie Radikalbildung verursachen kann, die zu oxidativem Stress führt, der direkt toxisch auf die Haarzellen wirken kann. Eine Durchblutungseinschränkung könnte auch durch resultierenden Substratmangel eine toxische Wirkung auf die Gehörzellen haben [160]. So konnte im Tierexperiment gezeigt werden, dass die Gabe von hohen Mengen Adrenalin zu erhöhter Na⁺ und K⁺ Konzentration und Osmolarität in der Perilymphe und zu einer Anhebung der Hörschwelle führt, tendenziell verstärkt in den hohen Frequenzen [161]. Eine chronische Adrenalinanwendung bewirkte eine über alle Frequenzen relativ konstante Hörschwellensenkung von 20–45 dB [161]. Unterschiedliche im Vorfeld angewendete Stressoren verringern allerdings die Langzeitgehörschäden nach akustischem Trauma im Tierexperiment und zeigen, dass akuter Stress auch protektiv auf das Gehör wirken kann [162],[164]. Hitzeschockproteine (HSP) haben eine verstärkte Genexpression bei Stress, bei 13 von 36 Patienten mit ideopathischem Tinnitus waren in einer Untersuchung von Savastano (2006) HSP-70-positiv [165]. Es besteht die Frage, ob HSP-70 ausschließlich ein Indikator für die Autoimmun- Innenohrerkrankung (AIED) ist, oder eine generelle Rolle bei der Pathogenese von Innenohrschädigungen spielt. HSP können scheinbar auch auf das Gehör protektiv wirken: Im Tierversuch konnte bei Knockout-Mäusen mit fehlendem Regulator der HSP-Transkription (HSP-Faktor1) in der Cochlea eine eingeschränkte Regenerationsfähigkeit nach lärminduziertem Hörverlust gezeigt werden [166]. Vermittelt wird dieser Effekt der Stressoren vermutlich über Corticosteroidrezeptoren, eine pharmakologische Unterbrechung der HPA-Achse führt zur Verstärkung des Lärmschadens im Tierexperiment [167].

1.2.5.1. Stressreduktion in der Tinnitustherapie

Erfolgreiche Behandlungskonzepte für Tinnitus zielen auf Stressreduktion. Zentrale Bestandteile der von Jastreboff und Hazell entwickelten Tinnitus-Retraining-Therapie (TRT+) sind Hörtherapie und Beratung (direktives Counseling), erweiterte Therapieelemente beinhalten die psychosomatische Behandlung sowie das Erlernen

eines Entspannungsverfahrens wie die progressive Muskelrelaxation (PMR) nach Jacobson [168]. Die TRT+ wurde im Rahmen dieser Arbeit angewendet, siehe auch Methodik (2.1.1.). In einer Studie von Weber et al (2002) wurde erstmals der Effekt einer Entspannungstechnik, in diesem Fall der 10-wöchigen PMR, auf stressrelevante Immunparameter bei Tinnituspatienten untersucht, wobei sich bei diesen eine Reduktion des Zytokins TNF α und eine Reduktion der subjektiven Belastung durch den Tinnitus, gemessen mit dem Perceived Stress Fragebogen (PSQ), s.Methodik, darstellte [169].

1.2.5.2. Modulation des Immunsystems des Innenohres durch Stress

Eine Beeinflussung des auditorischen Systems durch die stressbedingten Veränderungen seines Immunsystems ist anzunehmen, doch die Immunologie des Innenohrs ist noch nicht ausreichend erforscht. Über die kochleären Gefäßendothelien können Immunkomponenten des Blutes Einfluss nehmen, zahlreiche Noxen wie z.B. oxidative Prozesse nach akustischem Trauma oder ototoxische Medikamente und Umweltgifte können Entzündungen und die Infiltration von mononuklearen Zellen in das kochleäre Gewebe verursachen [170],[171]. Bei Patienten mit Hörverlust und M.Menièrè wurden Autoimmunreaktionen nachgewiesen [172],[173].

1.3 Ziel der Arbeit

Tinnitus ist eine weit verbreitete Erkrankung mit hoher psychosozialer und volkswirtschaftlicher Relevanz. Trotz der mittlerweile intensiven Forschung und zahlreichen gewonnenen Erkenntnissen ist die Ätiologie und Pathogenese nicht befriedigend geklärt. Diese Zusammenhänge zu verstehen, ist die notwendige Basis für die Entwicklung neuer therapeutischer Ansätze. Trotz erfolgreicher Behandlungsansätze zur Reduktion der Tinnitusstärke und –belastung handelt es sich derzeit um eine unbefriedigend zu therapierende Erkrankung. Klinisch und auch in der Forschung kommt erschwerend hinzu, dass zur Therapiebeurteilung bisher nur das Patientengespräch und die Erhebung psychometrischer Daten der subjektiven Tinnituswahrnehmung zur Verfügung stehen [174],[175], was dem komplexen psychophysiologischen Entstehungs- und Chronifizierungsgeschehen nicht gerecht wird und zudem ausschließlich auf subjektiven Angaben der Patienten beruht. Instrumente zur objektiven Therapieevaluation bei Tinnitus im klinischen Alltag sowie auch der objektiven Messung von psychischem Stress existieren derzeit nicht. Sie könnten aber möglicherweise auf Basis von Neuroimmunparameterquantifizierung entwickelt werden. So ist es ein Ziel dieser Arbeit, zu untersuchen, ob und wenn ja welche neuroimmunologischen Parameter bei Tinnituspatienten im Vergleich zu den Kontrollprobanden signifikant erhöht beziehungsweise erniedrigt sind und ob die Höhe dieser Parameter möglicherweise mit dem Stresserleben, Angst, Depression oder der Copingfähigkeit korreliert. Evaluiert werden soll, ob auch bei Tinnituspatienten eine stresstypische Kortisolreduktion und ein TH2-Shift stattfindet. In diesem Fall werden im Vergleich zur Kontrollpopulation erhöhte IL-4, IL-6 und IL-10 Level nach Leukozytenstimulation erwartet, wogegen TNF α , IFN γ und IL-2 eher vermindert sein sollten. Insgesamt wird versucht, ein tinnitustypisches Profil auf Transmitterebene herauszuarbeiten. Zudem wird untersucht, bei welchen psychometrisch messbaren Parametern sich Tinnituspatienten von gesunden Kontrollprobanden unterscheiden. Mittels der TF-Scores werden die Tinnituspatienten in dekompenziert und kompensiert eingeteilt. Um neue Erkenntnisse über die Tinnitusdekomensation und insbesondere ihre begleitenden Veränderungen hinsichtlich Stressempfindung, Ängstlichkeit, Depression, Copingfähigkeit, Nerven- und Immunsystem besser verstehen zu können, werden alle Patienten in die Gruppen ‚kompensiert‘ und ‚dekompenziert‘ unterteilt und

diese zum Aufnahmezeitpunkt auf Differenzen der psychometrischen und neuroimmunologischen Parameter untersucht.

Der Effekt der beiden angewendeten Therapieformen (Siehe Kapitel 2 „Material und Methoden“) wird anhand der Veränderungen der Psychometricscores im Therapieverlauf überprüft.

Zu den immunologischen und neurologischen Effekten der angewendeten erweiterten Tinnitus Retraining Therapy (TRT+) und der Progressiven Muskelrelaxation (PMR) liegen nur wenige Studien vor und keine dieser untersucht einen möglichen Einfluss auf Neurotrophine. Es besteht Grund zur Annahme solcher Effekte, da unter Anderem Li et al. (2009) bei chronischem Stress eine verminderte Expression von BDNF beobachtet haben [176] und aufgrund derartiger Beobachtungen BDNF als möglicher Biomarker für affektive Störungen diskutiert wird. Somit werden die neuroimmunologischen Messungen der beiden Patientengruppen des Aufnahmetages mit denen des Therapieabschlusses, und bei TRT+-Gruppe auch mit denen der Follow-up Untersuchung, verglichen.

Um zu beurteilen, welchen Anteil der Therapieeffekte die alleinige Stressreduktion tragen kann wurde eine zusätzliche Gruppe mit Patienten gebildet, die ausschließlich eine PMR erlernten.

2. Material und Methoden

2.1. Studienteilnehmer, Therapien und Untersuchungen

2.1.1. Rekrutierung, Aufklärung und Aufnahme der Teilnehmer

150 erwachsene Personen von 18 bis 74 Jahren nahmen an der Studie teil, von denen 99 an Tinnitus litten und 51 gesunde Kontrollprobanden waren. Die Patientenrekrutierung fand zwischen dem 08.07.2007 und 17.07.2010 statt und erfolgte über das Tinnituszentrum Charité, Prof. Dr. med. Birgit Mazurek, Universitätsmedizin Berlin, Campus Mitte. Zu Studienbeginn befanden sich die Tinnituspatienten bereits in Behandlung in der Charité und wurden nach einem intensiven Arzt-Patienten-Gespräch je nach individuellem Therapiebedarf in die Gruppen A und B eingeteilt. Es wurde bewusst keine Randomisierung angewendet, da die optimale Behandlung der Patienten Vorrang hatte und in der A-Gruppe eine deutlich intensivere Therapie angewendet wurde (s.u.). Da alle Patienten sich mit bestehendem Behandlungsbedarf vorstellten und die Kapazitäten der Tinnitusklinik eine zügige Therapieaufnahme aller Betroffenen zuließen, musste auch auf eine Kontroll-Wartegruppe mit Tinnitus verzichtet werden. Eine Evaluation der beiden Therapieformen ist bereits in zahlreichen Studien erfolgt (s.u.). Eine Kontrollgruppe ohne Tinnitus (Gruppe C) wurde über Aushänge in Gebäuden der Charité rekrutiert. Alle Studienteilnehmer wurden gemäß der Vorgabe der Ethikkommission der Charité mündlich und schriftlich über die Inhalte, Risiken und Datenverarbeitung informiert, eine entsprechende Einwilligungserklärung wurde von allen Patienten und Probanden unterzeichnet. Die Patienten der Gruppen A und B wurden einer testpsychologischen Untersuchung unterzogen. Bei der Versuchsgruppe A erfolgte zusätzlich eine ausführliche HNO-ärztliche, psychosomatische und internistische Untersuchung sowie des Bewegungsapparates in der Physikalischen Medizin. Es wurden in der vorliegenden Studie drei Gruppen verglichen:

Gruppe A beinhaltete zu Studienbeginn 49 Tinnituspatienten, die durch ihre Tinnituserkrankung derartig belastet waren, dass eine intensiviertere Tinnitus-Retraining-Therapie (TRT+) unumgänglich erschien. Diese umfasst 7 Behandlungstage innerhalb eines 10-tägigen Zeitraumes und wurde in der Tinnitus-Tagesklinik der Charité durchgeführt. Von den Patienten der Gruppe A sind 27 weiblich mit einem mittleren

Alter von 47,63 Jahren (SE:±12,686) und 22 männlich mit einem mittleren Alter von 46,18 Jahren (SE:±10,817).

Gruppe B bildeten 50 Tinnituspatienten der Tinnitusprechstunde, bei denen ebenfalls ein Therapiewunsch bestand, jedoch beim wie auch in Gruppe A durchgeführten Patientengespräch ein weitaus geringerer Therapiebedarf festgestellt wurde. Diese Patienten nahmen an einem siebenwöchigen ambulanten Entspannungstraining teil (Progressive Muskelrelaxation nach Jacobson einmal wöchentlich). Sie beinhaltet 24 Frauen mit einem mittleren Alter von 53,17 Jahren (SE:±16,513) und 26 Männer mit einem mittleren Alter von 51,69 Jahren (SE:±12,211).

Gruppe C besteht aus 49 gesunden freiwilligen Kontrollprobanden ohne Ohrgeräusche, 26 davon weiblich mit einem mittleren Alter von 56,68 Jahren (SE:±13,616) und 23 männlich mit einem mittleren Alter von 52,68 Jahren (SE:±11,966).

Abb.1 Übersicht der Studiengruppen

	A	B	C
Anzahl	49	50	49
weiblich	27	24	26
männlich	22	26	23
Alter (MW)	47,0	52,4	54,8
Max. Hörverlust links	40,2	40,4	n.d.
(MW) in dB rechts	33,6	37,9	n.d.
Tinnitusfragebogen (MW)	35,7	32,5	n.d.
Percieved Stress Questionnaire (MW)	48,8	43,8	30,9
Belastung (Therapeuteneinschätzung)	hoch	niedrig	n.d.
durchgeführte Therapie	TRT+	PMR	---

2.1.2. Tinnitus-Retraining-Therapie

Zentrale Bestandteile der von Jastreboff und Hazell (1993) entwickelten Tinnitus-Retraining-Therapie (TRT) sind Hörtherapie und Beratung (direktives Counseling), erweiterte Therapieelemente beinhalten die psychosomatische Behandlung sowie das Erlernen eines Entspannungsverfahrens [177]. Die aktuell klinisch und auch in der vorliegenden Studie angewendete TRT+ ist eine Weiterentwicklung nach dem von der Arbeitsgemeinschaft deutschsprachiger Audiologen und Neurootologen (ADANO) im Jahre 2000 vorgeschlagenen erweiterten Konzept und legt einen besonderen Schwerpunkt auf Tinnitushabituation und Stressbewältigung. Als Hilfsmittel zur auditiven Ablenkung vom Tinnitus kommt in fast allen Behandlungsfällen (außer bei sehr geringer Tinnitusbeeinträchtigung) die Nutzung von Umgebungsgeräuschen (z.B. Hintergrundmusik), Hörgeräten und Noisern (Rauschgeneratoren) zum Einsatz [1]. Zur Stressbewältigung wird gegebenenfalls eine Psychotherapie angeboten, die Vermittlung von Coping-Strategien und dem Entspannungsverfahren progressive Muskelrelaxation (PMR) nach Jacobson findet bei allen TRT+-Patienten statt [175]. Tinnitushabituation, d.h. dass der Patient den Tinnitus als bedeutungsloses Hintergrundgeräusch zu akzeptieren lernt und ihn so schließlich ausblenden kann, erfolgt durch Initiierung bzw. Förderung des Habituationsprozesses. Wichtig hierfür ist zunächst die Bearbeitung der negativen affektiven Interpretation der Ohrgeräusche durch aufklärende Gespräche, da die Beeinträchtigung durch den Tinnitus nicht primär von dessen Klangqualität oder Lautstärke, sondern von der Stärke der mit ihm verbundenen negativen Assoziationen abhängt. Die Gewöhnung an ein Geräusch kann sich nur dann einstellen, wenn dieses nicht mit negativen Emotionen wie Angst assoziiert ist [2]. In kontrollierten Langzeitstudien zeigte allein dieses direkte Counseling eine Reduktion der Belastung und Einschränkung bei moderat und schwer betroffenen Tinnituspatienten, durch Anwendung der TRT+ zeigten sich noch bessere Erfolge [178]. Zu den wichtigsten Therapieelementen gehört die Veränderung der Stresswahrnehmung und -bewältigung, zentraler Bestandteil der Entwicklung von Copingfähigkeit in diesem Therapiekomplex die progressive Muskelrelaxation nach Jacobson.

2.1.3. Progressive Muskelrelaxation nach Jacobson

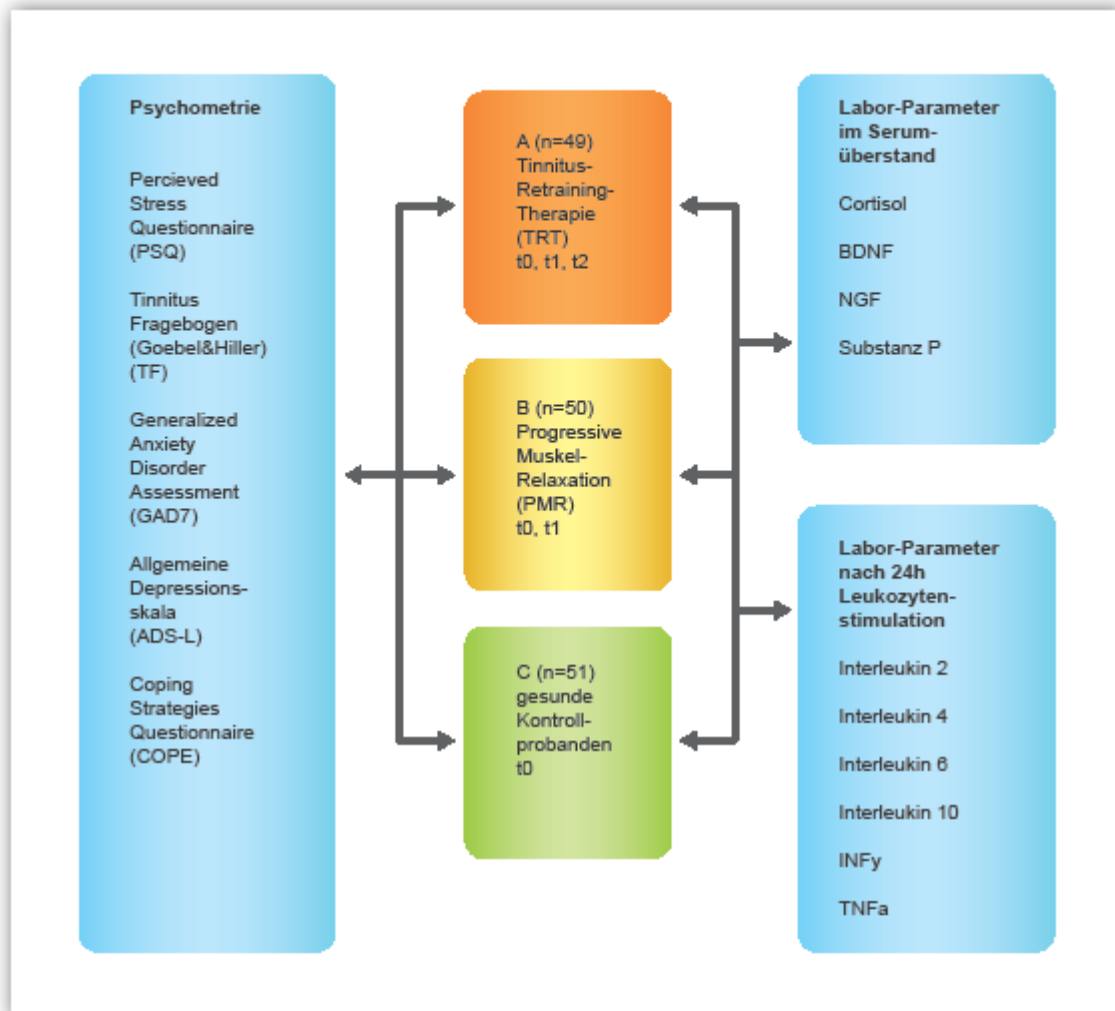
Als Entspannungsmethode wurde die Progressive Muskelrelaxation (PMR) nach Jacobson (1938) angewendet. Als etabliertes medizinisches Entspannungsverfahren

zeichnet sich die PMR durch einen hohen Grad an Formalisierung, Lehr- und Lernbarkeit aus [179].

Die PMR basiert auf der systematischen An- und Entspannung von Muskelgruppen und dient der intensivierten Körperwahrnehmung und Entspannung. Der therapeutische Ansatz ist, Stress und Spannung und deren physiologische Begleiterscheinungen durch Reduzierung der Muskelspannung zu minimieren. Durch gezieltes Entspannen der Skelettmuskeln könnte auch in anderen Subsystemen des Körpers eine Reduzierung der Aktivität erreicht werden. Gellhorn und Kieley (1972) erklären das neurophysiologische Zusammenspiel zwischen Muskelspannung, Relaxation und dem autonomen Nervensystem so, dass afferente neuromuskuläre Signale zunächst über die Formatio reticularis in den Hypothalamus posterior geleitet werden. Eine Reduzierung des Skelettmuskeltonus führt also zu einer sympathikustonusreduktion im Hypothalamus, was durch reziproke Innervation zum Überwiegen des Parasympathikustonus führt [180]. Aus klinischer Sicht ist die PMR ein etabliertes Entspannungsverfahren zur Reduktion stressinduzierter Maladaptionen auf der psychovegetativen, hormonellen, kognitiv-emotionalen und muskulären Ebene. PMR ist indiziert bei Angst- und Zwangsstörungen, Insomnien, muskulären Verspannungszuständen, chronischen Schmerzsyndromen sowie funktionellen Herzkreislauf- und Magendarmerkrankungen. Weitere, jedoch weniger empirisch gesicherte Indikationen sind das Fibromyalgie-Syndrom, Tinnitus, Asthma bronchiale, Suchtleiden, essentielle Hypertonie und Essstörungen [179].

2.1.4. Systematische Anordnung

Abb.2 Systematische Anordnung



2.1.5. Einschlusskriterien

Die Studienteilnehmer mussten folgende Einschlusskriterien erfüllen:

- Mindestalter 18 Jahre; Höchstalter 80 Jahre
- Einwilligungsfähigkeit
- gute Deutschkenntnisse
- Schriftliche Einwilligung des Studienteilnehmers nach Aufklärung
- Gruppe A und B: Klinische Diagnose eines mindestens drei Monate bestehenden Tinnitus

2.1.6. Ausschlusskriterien

Da es für die gemessenen Parameter eine Vielzahl von Einflussfaktoren gibt, wurden die folgenden erfassbaren als Ausschlusskriterien festgelegt:

- Medikation mit oralen Kortikosteroiden
- Schwangerschaft und Stillzeit
- schwere internistische Herz-Kreislauf- oder Stoffwechselerkrankungen
- Patienten mit dauerhafter immunsuppressiver oder immunmodulierender Therapie
- Patienten unter antihypertensiver Therapie mit Beta-Blockern
- Patienten unter Hormontherapie
- Autoimmunerkrankungen oder andere systemisch entzündliche Erkrankungen
- sonstige schwere chronische Erkrankungen
- Teilnahme an einer weiteren Studie
- Gruppe C: Klinische Diagnose oder subjektive Beschreibung von Ohrgeräuschen

2.1.7. Studienablauf

Den Teilnehmern wurde zu den unten genannten Zeitpunkten zwischen 8:00 und 9:30 zwei Monovetten (Nativblut: S-Monovette Z, 9ml, Ammonium-Heparin: S-Monovette AH, 5,5ml, beide von Sarstedt; Nümbrecht, D) Vollblut aus einer oberflächlichen Armvene entnommen (Perfusionsbesteck Micro-Flo, DKS LOVERSAN; VA, Italy). Zudem füllten sie eine Reihe psychometrischer Fragebögen aus, siehe 2.4. Psychometrische Erhebung. Die Termine zu t₀, t₁ und t₂ erfolgten per Patient entsprechend dem Gruppensdesign jeweils am gleichen Wochentag um auch den Einfluss möglicher wochentagsabhängiger Schwankungen der zu bestimmenden Parameter zu minimieren.

Gruppe A (Tinnitus & TRT)

t0: am Aufnahmetag

t1: am letzten Tag der Intervention

t2: 8 Wochen nach Beendigung der Intervention

Gruppe B (Tinnitus & PMR)

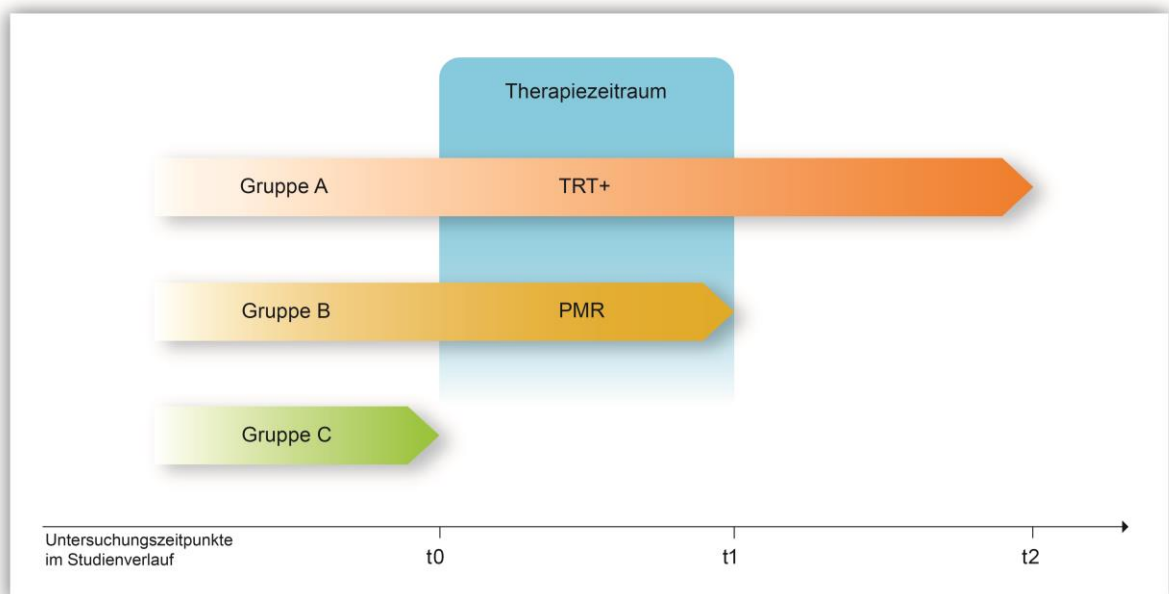
t0: zu Beginn des Entspannungstrainings

t1: 1 Woche nach Ende des achtwöchigen ambulanten Entspannungstrainings

Gruppe C (gesund ohne Therapie)

t0: an einem Tag von Montag bis Donnerstag

Abb.3 Studienverlauf



2.2. Bearbeitung und Messung der Blutproben

Die Blutproben wurden innerhalb von 60 min nach der Entnahme bearbeitet.

2.2.1. Chemikalien und Sonstige Materialien

- Aim-V-Medium, Serum-free; Gibco Invitrogen, Auckland, New Zealand (Prod.Nr. 12055-09)
- PMA (Phorbol 12-myristate 13-acetate); Sigma, MI, USA (Prod.Nr. P 8139)
- Ionomycin aus *Streptomyces conglobatus*; Sigma, MI, USA (Prod.Nr. I9657)
- Biocoll separating solution, isotonic, density 1,077g/ml; Biochrom, Berlin, D (Cat.Nr. L 6113)
- Dubecco's PBS® without Ca and Mg, Lab; Dubecco, Stuttgart, D (Cat.Nr. HI5-002)
- Aqua dest. Ampuwa; Fresenius Kabi, Bad Homburg, D (Zul.Nr. 40676.00.00)
- Isotone NaCl-Lösung 0,9%, B.Braun; Melsungen, D (Zul.Nr. 6726174.00.00)
- Reagiergefäße: Safe Lock Tubes 2,0ml; Eppendorf; Hamburg, D (Best.Nr.0030.120.094)
- Reagierröhrchen: Falcon Blue Max® conical tube, polypropylene, 50ml / 15ml; Becton Dickinson Labware, NJ, USA (Cat.Nr. 352070/ 352096)
- sterile Mikrotiterplatten: Tissue Culture Plate 96 Well Round Bottom, Sterile; Sarstedt Inc. Newton, NC, USA (Best.Nr. 83.1837)
- Transferpipetten 3,5ml; Sarstedt Numbrecht, D (Best.Nr. 86.1171.001)
- Eppendorfpipetten; Research variabel 0,5-10µl/ 20-200µl/ 100-1000µl; Eppendorf; Hamburg, D (Best.Nr. 3111000.122/ 3111000.157/ 3111000.165)
- Pipettenspitzen EP Tips® 2-200µl/ 50-1000µl; Eppendorf; Hamburg, D (Best.Nr. 105973061/ 105973100)
- Zentrifuge für Reagiergefäße: Multifuge 1L-R; Heraeus Holding GmbH, Hanau, D (Fabr.Nr. 40438138)
- Zentrifuge für Mikrotiterplatten und 15ml Reagierröhrchen: Centrifuge 5417R; Eppendorf, Hamburg, D (Best.Nr. 0018150)
- Sterilbank: Laminarflow®; Heraeus Holding GmbH, Hanau, D (Best.Nr. HBB 2448)

2.2.2. Herstellung der Stimulationslösungen

Wie in Kapitel 1.2.4.3. erläutert mussten die Leukozyten zur Ausschüttung der intrazellulären Zytokine stimuliert werden um das immunologische Potenzial zu bestimmen.

Bei der verwendeten Stimulationslösung PMI handelt es sich um ein gleichteiliges Gemisch aus dem antibiotischen und lösungsstabilisierenden Ionomycin und dem Proteinkinase-C-Aktivator PMA. Die Stocklösung des Lectins aus *Phaseolus vulgaris* (PMA) von 5mg/ml wurde 1:200 mit AIM V verdünnt, von der entstandenen 25µg/ml-Lösung wurden Aliquots a 400µl hergestellt und zur späteren Stimulation der Leukozyten bei -20°C zwischengelagert. Zur Stimulationskontrolle wurden ebenfalls 400µl- Aliquots ausschließlich mit AIM V hergestellt und zusammen mit den PMI-Aliquots zwischengelagert.

2.2.3. Probenbearbeitung des Serumblutes

Die Serummonovetten wurden stets zuerst bearbeitet. Nach 10-minütiger Zentrifugation bei 2500 Umdrehungen mit eingeschalteter Bremse bei 4 °C wurden aus dem abpipettierten Serum Aliquots von je 500µl hergestellt und bei -80 °C eingefroren, um zu einen späteren Zeitpunkt die Konzentration von NGF, BDNF, Substanz P und Kortisol zu bestimmen.

2.2.3.1. Kortisol und Substanz P Immunoassay

2.2.3.1.1. Funktionsweise des kompetitiven Immunoassay

Bei dem für Kortisol und SP verwendeten kompetitiven Immunoassay konkurriert der unmarkierte zu bestimmende Analyt der Proben mit einem mit Meerrettichperoxidase konjugierten aber ansonsten strukturell ähnlichen Kompetitor um eine festgelegte Anzahl Antikörperbindungsstellen von an eine feste Phase gebundenen Antikörpern. Der Anteil des gebundenen Kompetitors ist äquivalent zur Enzymaktivität, diese wird nach Stopp der Reaktion mit dem Umsatz eines Farbstoffes sichtbar gemacht. Die optische Dichte der Lösung ist also umgekehrt proportional zur Analytkonzentration der Proben und wird photometrisch bestimmt.

2.2.3.1.2. Bestandteile der Kortisol Assay Kits

Es handelt sich um das Assay-Kit „Parameter Cortisol“ (Best.Nr. SKGE008) der Firma R&D Systems; MN, USA. Dieses enthält folgendes Material:

- eine mit monoklonalen Anti-Maus Antikörpern (von der Ziege) beschichtete Mikrotiter-Platte mit 96 Wells
- Mit Meerrettich-Peroxidase konjugiertes Kortisol (HRP-kortisol-Konjugat)
- Kortisol-Standard, gepuffert mit Konservierungsstoffen
- Waschlösung, 25-fach konzentrierter gepufferter Surfactant-Faktor mit Konservierungsstoffen
- Primäre Antikörperlösung, 6ml monoklonaler Kortisol-Antikörper von der Maus
- Kalibratorflüssigkeit RD-5-43, gepufferte Proteinbase mit Konservierungsstoffen
- Farbreagenz A: Hydrogenperoxidase
- Farbreagenz B: Chromogen (TMB – 3,3'-5,5' Tetramethylbenzidin)
- Stopp-Lösung (H₂SO₄)

2.2.3.1.3. Durchführung des Kortisol Immunoassay

Zunächst wurde 500ml Waschpuffer aus dem mitgelieferten Konzentrat und Aqua bidest. hergestellt, Die Farbreagenzien A und B gemischt und der Kortisol-Standard mit 1ml Aqua bidest. verdünnt, um eine Basiskonzentration von 100ng/ml zu erhalten. Von diesem Standard wurde eine Verdünnungsreihe in Kalibratorflüssigkeit hergestellt mit der Konzentration von 10 ng/ml bis 0,156 ng/ml.

Die beschichtete Mikrotiter-Platte wurde im Doppelansatz mit 100µl der Kortisolstandards/ Serumproben beschickt, auch je zwei Wells mit 100µl Kalibratorflüssigkeit RD-5-43 Nullstandard (B₀) und mit 150µl Kalibratorflüssigkeit RD-5-43 (NSB). Die Plattenbelegung wurde so gewählt, jede 96-Well-Platte mit Proben der Gruppen A, B und C beschickt wurde. Im nächsten Schritt wurde zu jedem Well 50µl HRP-Kortisol-Konjugat und anschließend mit Ausnahme der NSB-Wells 50µl primäre Antikörperlösung zugegeben. Nach Inkubation der unbedeckten Platte für 2h bei Raumtemperatur (RT) auf einem Horizontalrührer (Fisher Vortex Genie 2 Model G 560, Scientific Industries; NY, USA) mit 500rpm wurde die Platte viermal mit 400µl Waschlösung gewaschen. 200µl der Chromogen/Substrat-Lösung wurde in jedes Well pipettiert, und die Platte bei RT lichtgeschützt für 30min inkubiert. Die Reaktion wurde durch Zugabe von 50µl Stopp-Lösung beendet.

Die optische Dichte wurde nach kurzem Warten innerhalb von 30min. im Microplate-Reader (Bio-Kinetics® Reader, Microplate, EL 312, BioTek Instruments; Winooski, VT) ermittelt. Über die Standarddeichkurve wurden die Konzentrationen der Proben berechnet.

2.2.3.1.4. Bestandteile der Substanz P Assay Kits

Es handelt sich um das Assay-Kit „Parameter Substanz P“ (Best.Nr. SKGE007) der Firma R&D Systems; MN, USA. Dieses enthält folgendes Material:

- eine mit einem monoklonalen anti-Maus Antikörpern (von der Ziege) beschichtete 96-Well Mikrotiter-Platte
- Mit Meerrettich-Peroxidase konjugierte SP (HRP-SP-Konjugat)
- SP -Standard, gepuffert, mit Konservierungsstoffen.
- Waschlösung, 25-fach konzentrierter gepufferter Surfactant-Faktor mit Konservierungsstoffen
- Primäre Antikörperlösung, 6ml monoklonaler SP-Antikörper von der Maus
- Kalibratorflüssigkeit RD-5-45, gepufferte Proteinbase mit Konservierungsstoffen
- Farbreagenz A: Hydrogenperoxidase
- Farbreagenz B: Chromogen (TMB – 3,3´-5,5´ Tetramethylbenzidin)
- Stopp-Lösung (H₂SO₄)

2.2.3.1.5. Durchführung des Substanz P Assay

Die Durchführung des SP Assay entspricht der des oben beschriebenen Kortisol Assay mit Verwendung der entsprechenden Reagenzien des SP Assay Kits und mit folgenden Ausnahmen:

- Die Verdünnungsreihe des SP-Standards reicht von 2500 bis 39 pl/ml
- Die NSB Wells wurden mit 100µl und Nullstandard Wells mit 50µl Kalibratorflüssigkeit bestückt.
- Bei der Bestückung wurden nur 50µl des Standards/ der Serumproben verwendet
- Die Inkubation auf dem Horizontalrührer erfolgte 3 statt 2 Stunden

2.2.3.2. NGF ELISA und BDNF ELISA

2.2.3.2.1. Funktionsweise des Sandwich-Elisas

Beim Sandwich-ELISA handelt es sich ebenfalls um ein immunologisches Nachweisverfahren eines gesuchten Moleküls mittels einer enzymatischen Farbreaktion. Der Unterschied zu dem unter 2.2.3.1. beschriebenen kompetitiven Immunoassay besteht darin, dass kein Analytkompetitor verwendet wird und zusätzlich zu dem ersten, an die feste Phase gebundenen, Capture-AK noch ein weiterer AK verwendet wird. Dieser bildet ebenfalls Antigen-AK-Komplexe mit dem Analyt und bindet das Enzym Meerrettichperoxidase, er wird daher auch Detektions-AK genannt. Daraufhin wird ebenfalls die Enzymaktivität mittels Farbstoffumsetzung und Photometrie bestimmt, die optische Dichte der Lösung ist allerdings direkt proportional zur Analytkonzentration der Proben.

2.2.3.2.2. Bestandteile der NGF und BDNF Elisa Development Systems

Die Sets „DuoSet® ELISA Development System human β -NGF“ (best.Nr. DY256) und „DuoSet ELISA Development System human BDNF“ (best.Nr. DY248) von der Firma R&D Systems, MN, USA, enthalten folgendes Material:

- Primäre Capture-Antikörperlösung, monoklonaler Antikörper von der Maus anti-human-NGF/BDNF, 360g/ml nach Lösung in 1ml PBS
- Biotinylierte anti-human-NGF/BDNF Detektionsantikörper von der Ziege 9g/ml (NGF) bzw. 4,5g/ml (BDNF) nach Lösung in 1ml Reagenzlösungsmittel

- Human- NGF/BDNF Standard, nach Dilution in 0,5ml Reagenzlösungsmittel 130 ng/mL (NGF) bzw. 110 ng/mL (BDNF)
- Streptavidin-konjugierte Meerrettich-Peroxidase, 1ml

2.2.3.2.3. weiteres Material bei NGF und BDNF Elisa

Zusätzlich wurden die folgenden von R&D Systems empfohlenen Materialien von R&D Systems verwendet:

- Waschpufferkonzentrat 1:25 (Best.Nr. WA126)
- Mikrotitrierplatten (Best.Nr. DY990)
- Stopp-Lösung 2N H₂SO₄ (Best.Nr. DY994)
- Reagenzlösungsmittel 1% BSA5 in PBS (Best.Nr. DY995)
- Substratlösung 1:1 Mischung von Farbreagenz A (H₂O₂) und B (Tetramethylbenzidine) (Best.Nr. DY999)

2.2.3.2.4. Durchführung der NGF ELISA und BDNF ELISA

Die Durchführung des NGF ELISA sowie auch des BDNF ELISA unterschied sich von den SP und Cortisol Assays auch darin, dass anstatt gebrauchsfertiger Komplettkits ELISA-Entwicklungssets verwendet wurden, bei denen die Capture-AK zunächst an die Platten gebunden werden mussten. Die Capture-AK wurden also in PBS gelöst und sofort 100µl in jedes Well der Mikrotitrierplatte pipetiert. Die Platten wurden über Nacht bei RT inkubiert. Nach dreifacher Waschung (jeweils Aspirierung und Auffüllung mit 400µl Waschpuffer per Well, nach der letzten Waschung leichtes Abklopfen gegen ein Papiertuch) wurden die Platten geblockt durch Zugabe von 300µl Reagenzlösungsmittel, einstündlicher Inkubation bei RT und zweifacher Waschung (s.o.). Die Reagentien wurden wie in 2.2.3.3.1. beschrieben gelöst. Vom Standard wurde eine Verdünnungsreihe in Reagenzlösungsmittel hergestellt mit der Konzentration von 2000 pg/ml bis 31,25 pg/ml.

Die beschichtete Mikrotiter-Platte wurde im Doppelansatz mit 100µl der Standards/ Serumproben beschickt, 2 Stunden in RT inkubiert und 2 mal gewaschen (s.o.). Nach zugabe von 100µl Detektionsantikörper per Well wurde erneut 2 Stunden in RT inkubiert und 2 mal gewaschen (s.o.) Anschließend folgte die Zugabe von Streptavidin-konjugierter Meerrettich-Peroxidase (100µl/Well) und zugedeckte, lichtgeschützte Inkubation für 20 Minuten in RT mit anschließender zweifacher Waschung (s.o.). Dieser

Schritt wurde mit 100µl Substratlösung/Well anstatt Peroxidase wiederholt. 50µl Stopp-Lösung wurden per Well hinzugefügt, durch vorsichtiges Antippen der Platte wurde ausreichende Mischung sichergestellt. Sofort danach wurde die Optische Dichte bei 450nm im SpectraMax® M2 Microplate Reader (Molecular Devices; CA, USA, Fabr.Nr.CA94089-408747-1700) bestimmt und über die Standarddeichkurve die Konzentrationen der Proben berechnet.

2.2.4. Leukozytenstimulation Heparinmonovette

Die Bearbeitung erfolgte unter der Sterilbank. Das heparinisierte Blut wurde aus der Monovette in einen 50 ml Falcon-tube überführt und mit sterilem PBS auf 12ml aufgefüllt. In zwei 15 ml Falcon-tubes wurden je 3 ml sterilen Biocolls in RT vorgelegt und dieses mittels Transferpipetten vorsichtig mit je 6 ml Blut/PBS Gemisch überschichtet. Bei 2400 Umdrehungen wurden die Tubes 20 min bei RT ohne Bremse zentrifugiert und die durch den Dichtegradienten entstandenen Interphaseringe mit sterilen Transferpipetten in ein neues 15 ml Falcon-tube überführt und anschließend gewaschen (Auffüllung mit sterilem PBS auf ca. 12ml und 10-minütige Zentrifugation bei 1800 rpm bei RT, Abpipettierung des Überstandes). Das entstandene Pellet wurde mit 1 ml sterilem AIM V resuspendiert.

Nach Durchflusszytometrie wurde die Konzentration der Leukozyten mittels Verdünnung mit AIM V auf $1,25 \times 10^6$ /µl eingestellt. 4 Wells einer sterilen Mikrotiterplatte wurden mit jeweils 160µl der Leukozytenlösung und 40µl der oben beschriebenen Stimulationen, 2x PHA und 2X AIM V bestückt. Die Platten wurden 24h im CO₂-Inkubator bei 37°C und einer CO₂-Konzentration von 5% stimuliert (CO₂-Incubator MCO-19AIC, Sanyo, IL, USA) und die Überstände am Folgetag nach Plattenzentrifugation aliquotiert und zur späteren Bestimmung der Zytokine IL-2, IL-4, IL-6, IL-10, TNFα und IFN-gamma bei - 80°C eingefroren.

2.2.4.1. Cytometric Bead Array (CBA)

Das Cytometric Bead Array (CBA) ist eine Methode zur Quantifizierung von löslichen Substanzen, wie Zytokinen aus Zellüberstand oder Serum. Für jedes Zytokin gibt es eine Population von Capture-Beads (Polymerkügelchen) mit unterschiedlicher Fluoreszenzintensität. Der Zytokin- Capture Bead- Komplex bindet wiederum einen spezifischen Detektionsantikörper mit einer anderen Fluoreszenzintensität. Das Prinzip ähnelt dem oben beschriebenen ELISA, der Capture-Antikörper bindet jedoch nicht an

einer Mikrotiterplatte, sondern ist an Polymerkügelchen (Beads) gekoppelt. Die Messung erfolgt über die Durchflusszytometrie.

Für die Zytokinbestimmung wurde das CBA-Kit „Human Th1/Th2 Cytokine Kit II“ der Firma BD Biosciences; San Diego, USA, verwendet.

2.2.4.2. Bestandteile des CBA-Kits

- Human Cytokine Capture Beads, für die jeweiligen 6 Interleukine spezifische Capture Beads, je 0,8ml
- Cytometer Setup Beads, 1.5 ml
- Konjugierte Anti-Human- IL-2, IL-4, IL-6, IL-10, TNF α , und IFN γ Antikörper
- Human-Zytokin Standards, lyophilisiert
- PE Detektionsreagenz, FITC Detektionsreagenz, konjugierte Antikörper
- Waschpuffer, 130 ml PBS (phosphate buffered saline solution)
- Lösungsmittel für Zytokinstandard, 30ml, gepufferte Proteinlösung
- Anreicherungspuffer, 10 ml, ist mit den Capture Beads zu mischen, wenn Serum oder Plasmaproben gemessen werden. Dieser Puffer wurde in dieser Arbeit nicht benötigt, da Stimulationsüberstände aus Zellkultur als Substrat verwendet wurden.

2.2.3.3. Durchführung des CBA

Zunächst wurde eine Verdünnungsreihe der Zytokinstandards von 5ng/ml bis 20pg/ml erstellt. Hierfür wurde lyophilisierter humaner Th1/Th2 Zytokinstandard mit 200 μ l Lösungsmittel für Zytokinstandard rekonstituiert und nach Inkubation von 15 Minuten ein Topstandard mit Lösungsmittel für Zytokinstandard mit einer Konzentration von 5ng/ml hergestellt. Es folgte das Anlegen einer Verdünnungsreihe bis 1:256 und einer Negativ-Kontrolle. Für die Präparation der Studienproben wurden zuerst 50 μ l des Mastermix aus je 10 μ l der einzelnen Capture Beads hergestellt. Danach wurden je 50 μ l der Proben hinzupipettiert und für 90min. im Dunkeln inkubiert. Nach Hinzugabe von je 50 μ l PE-Detektionsreagenz erfolgte eine erneute Inkubation für 90min. Die Proben wurden dann mit 1 ml Waschpuffer gewaschen und abzentrifugiert. Zum Messen wurden nochmals 300 μ l Waschpuffer hinzugegeben.

3.2.3.4. FACS-Analyse

Die Messung der gelösten Analyten erfolgte in einem "multiplexed, particle-based immunoassay" mittels FACS ("fluorescence activated cell sorter"). Verwendet wurde das Gerät BD FACSCalibur Flow Cytometer von BD Biosciences (Best.Nr.: XEUR 0067-02). Damit konnten die sechs Cytokine gleichzeitig aus einer kleinen Probenmenge quantifiziert werden. Die FACS Analyse entspricht in der Funktionsweise einer Durchflusszytometrie. Hierbei fließen die Zellen durch einen Lichtstrahl und geben in Abhängigkeit vom Zelltyp und der Probenmarkierung charakteristische Signale ab, die mittels Photodetektoren nachgewiesen werden. Durch die Partikelgröße entsteht ein Vorwärtsstreulicht (FSC), durch die Granularität bzw. Komplexität ein Seitwärtsstreulicht (SSC) und die spezifische Fluoreszenz eine entsprechende Fluoreszenzintensität. Anhand dieser gemessenen Parameter sind unter Zuhilfenahme der BD CBA Analysis Software die charakteristischen Verteilungen der Zellen reproduziert worden.

2.3. Psychometrische Erhebung

2.3.1. Der Tinnitusfragebogen nach Goebel und Hiller (TF)

Zur subjektiven Evaluation der Tinnitusbelastung, die sich aus vielen sich z.T. gegenseitig beeinflussenden Faktoren zusammensetzt, existieren verschiedene Fragebögen, unter anderen hat der Tinnitusfragebogen nach Goebel und Hiller (1998) eine breite wissenschaftliche Anerkennung. Er dient der Erfassung von emotionaler, kognitiver und psychosozialer Belastung, Penetranz des Tinnitus, von Schlafstörungen, Hörproblemen und somatischen Beschwerden und wird diagnostisch, aber auch indirekt zur Therapieevaluation verwendet. Der TF erlaubt eine Differenzierung des Schweregrades der Tinnitusbelastung. Mittels Gesamtscores wird der globale Belastungsgrad in leichte (bis 30 Punkte), mittlere (31–46 Punkte), schwere (47–59 Punkte) und sehr schwere Belastung (60–84 Punkte) eingeteilt. Desweiteren ist eine Einteilung in kompensierten (<47 Punkte) und dekompenzierten Tinnitus (47-84 Punkte) möglich [181],[182]. Aufgrund der relativ geringen Patientenzahl erfolgte in der vorliegenden Studie letztere Differenzierung. Die Reliabilität dieses Testes und des verwendeten Cutoff-Levels wurden in zahlreichen Studien bestätigt [183],[184],[185],[186]. Unter Anderem durch die Anwendung dieses Fragbogens wurde klar, dass die schwere des Tinnitus mit der Belastung des resultierenden Stresses korreliert.

2.3.2 Messung von Stress - Der Perceived Stress Questionnaire (PSQ)

Um das Ausmaß des Stresses zu beurteilen wurde der etablierte Perceived Stress Questionnaire verwendet. Der 1993 von Levenstein et al. entwickelte und 2001 von Fliege et al. ins Deutsche übersetzte PSQ misst den subjektiv empfundenen Stress, unabhängig von einer spezifischen oder objektivierbaren Situation. Die klinische Anwendbarkeit und Validität wurden vielfach bewiesen [187],[179],[190]. In dieser Studie wurde eine Version mit 30 Items verwendet. Auf einer 4-Punkte-Skala soll angegeben werden, ob die Aussage fast nie, manchmal, oft oder normalerweise zutrifft. Aus allen Items wird ein Stress-Score zwischen 0 und 1 errechnet [9], für den Gesamtscore hat sich ein cut-off von $>0,45$ für mittelgeradigen bis schweren Stress als sinnvoll erwiesen [191]. Zudem werden aus den Items vier Subskalen errechnet: „Sorgen“ erfasst Zukunftsängste, Besorgnis, Gefühle der Einsamkeit, Verzweiflung und Frustration. Die Skala „Anspannung“ beinhaltet Items zu Unruhe, Erschöpfung und Mangel an Entspannung. Die dritte Skala „Freude“ erfragt Gefühle von Kraft und Sicherheit, positive Gefühle der Herausforderung Lebensfreude. Die Skala „Anforderungen“ ermittelt wahrgenommene externe Anforderungen wie Zeitnot, Termindruck und Überlastung. Zur besseren Anschaulichkeit wurden in der vorliegenden Arbeit alle PSQ- und PSQ-Subscores mit 100 multipliziert.

2.3.3 Messung von Ängstlichkeit - Generalized Anxiety Disorder (GAD7)

Der GAD-7-Fragebogen ist eine eindimensionale Skala zur Erfassung der Symptome der Generalisierten Angsstörung entsprechend der DSM-IV-Klassifikation. Erfragt wird die Beeinträchtigung durch verschiedene Zustände in den vergangenen zwei Wochen. Die sieben Items reichen von 0 (überhaupt nicht) bis 3 (beinahe jeden Tag), die Werte aller Items ergeben addiert den Gesamtscore von 0 bis 21. Es wird in vier Schweregrade unterschieden, der Cut-off für generalisierte Angststörung von 10 Punkten entspricht einer Aufteilung der Schweregrade „minimal oder keine Angst“/„leichte Angst“ und „moderate Angst“/„schwere Angst“. Die erfragten Symptome wie Angst, Sorgen, Unruhe, Enspannungsschwierigkeiten und Reizbarkeit sind nicht spezifisch für die generalisierte Angststörung und allein ein Score über 10 erlaubt einen Hinweis aber keine Diagnose einer solchen. Sie sind aber ein guter Indikator für Ängstlichkeit und in dem Sinne für erhöhten Stress. Validiert wurde dieser Fragebogen unter Anderem im Vergleich zum Angstfragebogen Hamilton Anxiety Scale (HAM-A)

($r=0.852$, $p<0.001$), die Schweregerade korrelierten auch mit den Werten der WHO Disability Scale (WHO-DAS-II) ($F(3,208)=25.4$, $p<0.001$) [192].

2.3.4. Messung von Depressivität - Allgemeine Depressionsskala (ADS-L)

Die ADS-L ist die deutsche Version des weltweit eingesetzten Fragebogens CES-D (Center for Epidemiological Studies Depression Scale). Sie wurde von Martin Hautzinger und Maja Bailer deutschen Verhältnissen angepasst. Erfragt wird die Beeinträchtigung durch depressive Stimmung, körperliche Beschwerden und negative Denkmuster in der vergangenen Woche, für die insgesamt 20 Items stehen vier Antwortmöglichkeiten von 0 (selten oder überhaupt nicht) bis 3 (meistens, die ganze Zeit) zur Auswahl. Sie ist ein zuverlässiges und validiertes Screeninginstrument bei Gruppen ohne psychiatrisch-diagnostische Abklärung wie Allgemeinbevölkerung und bei Patientengruppen mit anderen psychiatrischen, psychosomatischen, neurologischen oder allgemeinmedizinischen Erkrankungen [193]. Ein Gesamtscore >23 deutet auf eine ernsthafte depressive Störung hin [194]. Zusätzlich zu der Screeningfunktion wird die ADS-L bei Patienten mit bekannter Depression zur Krankheitsevaluation verwendet. Die Höhe des ADS-Wertes sagt etwas über die Tiefe oder Schwere der depressiven Symptomatik aus, entsprechend lassen Verlaufsveränderungen des ADS-Wertes (beispielsweise durch Behandlung) Rückschlüsse auf Veränderungen der depressiven Beeinträchtigung zu.

2.3.5. Messung von Copingfähigkeit - COPE

Der von Carver et al. (1989) entwickelte COPE Fragebogen enthält in seiner jetzigen Version 15 Subskalen mit insgesamt 60 Items zum Bewältigungsverhalten [195]. Aufgrund der Vielzahl von auszufüllenden Fragebögen wurde in dieser Studie eine seit 1997 bestehende Kurzform, der Brief COPE, verwendet, der 28 Items enthält [196],[197]. Aus diesem wurden die Skalen „ausweichen“ (evasive coping), „Unterstützung suchen“ (support coping), „positiv denken“ (focus on positive) und „aktive Problembewältigung“ (active coping) errechnet. Der COPE hat gegenüber anderen Coping-Skalen den Vorteil, auf dem Selbstregulationsmodell von Carver und Scheier (1981) und dem oben beschriebenen transaktionalen Stressmodell von Lazarus zu basieren. COPE wie auch Brief COPE sind vielfach validiert worden und werden weltweit für die Ermittlung der Copingfähigkeit bei verschiedensten Pathologien eingesetzt [197],[198],[199],[200],[201].

2.4. Statistische Auswertung

Die statistische Auswertung der Daten erfolgte mittels PASW Statistics 18 (SPSS).

Da die Werte größtenteils keiner Normalverteilung folgen, wurde der Mann-Whitney-U-Test für unverbundene Stichproben zum Vergleich der baseline-Werte und der Wilcoxon-Signed-Ranks-Test für verbundene Stichproben zum Vergleich der Parameter im Verlauf von baseline (t0), t1 und follow-up (t2) angewendet. Zur Berechnung der Korrelationen wurde Spearmans Rangkorrelationstest verwendet.

Das Signifikanzniveau wurde auf $P < 0,05$ festgelegt und ist in den Tabellen, wenn zutreffend, grafisch durch einen Stern, bzw. $P < 0,01$ durch zwei Sterne gekennzeichnet. Die Daten wurden als Minimum (Min.), Maximum (Max.), Mittelwert (MW), Standardabweichung (SE) und die Korrelationen durch den Korrelationskoeffizienten (r) dargestellt.

3. Beschreibung der Ergebnisse

Die Gruppe A (TRT+) enthielt 11 Normalhörige (per Definition mit maximalem Hörverlust von 20dB), 2 Patienten mit rechts-, 4 mit links- und 29 mit beidseitigem Hörverlust. Der höchste Hörverlust ergab sich links bei 6kHz (M=40,2kHz; SE=24,2; Range 5-110) und rechts bei 8kHz (M=33,6dB; SE=25,7; Range 0-90). Die Höhe des mittleren Hörverlustes korrelierte mit dem Alter der Patienten ($r=0,55$; $P<0,01$, $N=44$).

Nach Einteilung mittels TF stellten sich 11 TRT+-Patienten als dekompenziert und 36 als kompensiert dar. 18 Patienten der A-Gruppe waren laut PSQ-Score leicht oder gar nicht gestresst während 28 mittelgeradigen bis schweren Stress hatten.

In der Gruppe B (PMR) hatte 1 Patient einen rechtsseitigen, 2 einen linksseitigen und 30 einen beidseitigen Hörverlust. 10 Patienten waren normalhörig. Der höchste Hörverlust wurde bei beiden Seiten bei 8kHz erfasst (links: M=40,4dB; SE=24,6; Range 0-95), (rechts: M=37,9kHz; SE=23,4; Range 0-85). Der mittlere Hörverlust korrelierte auch bei den PMR-Patienten mit dem Alter ($r=0,61$; $P<0,01$, $N=43$)

Laut TF-score waren 12 der Patienten dekompenziert und 36 kompensiert. 22 lagen unter dem cutoff-Level des PSQ während 26 sich als mittelgeradig bis schwer gestresst erwiesen. In der C-Gruppe (Kontrollen) lag dieses Verhältnis bei 36 zu 10.

Abb.4.: Gruppe A (Tinnitus & TRT+) Hörverlust

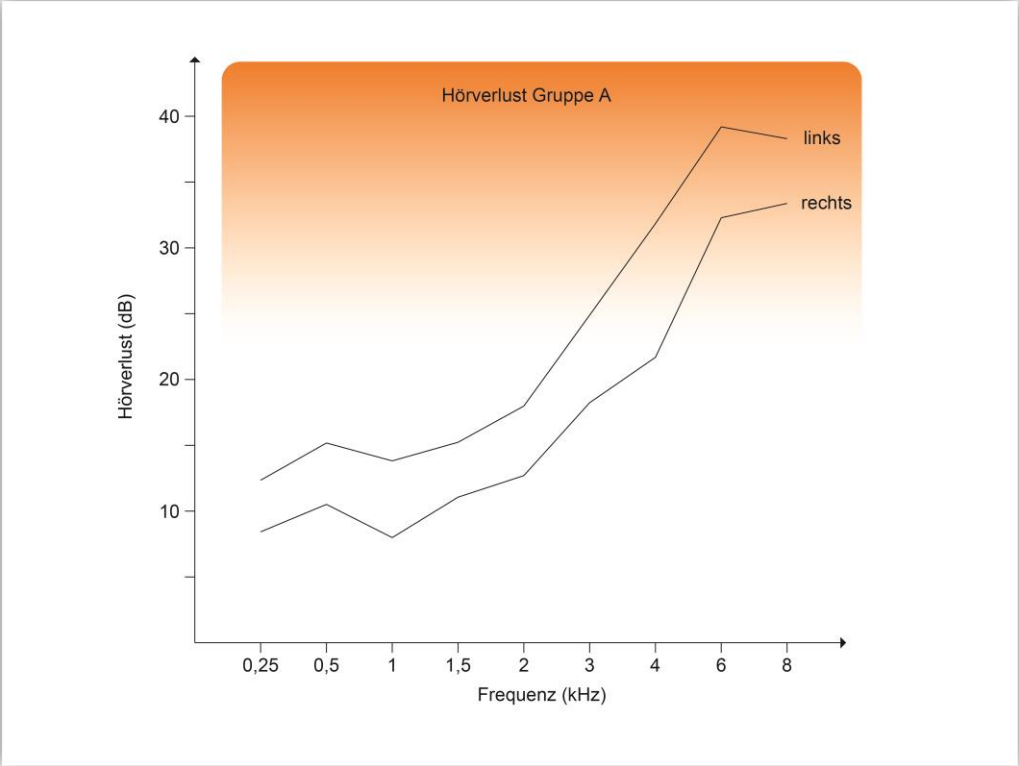
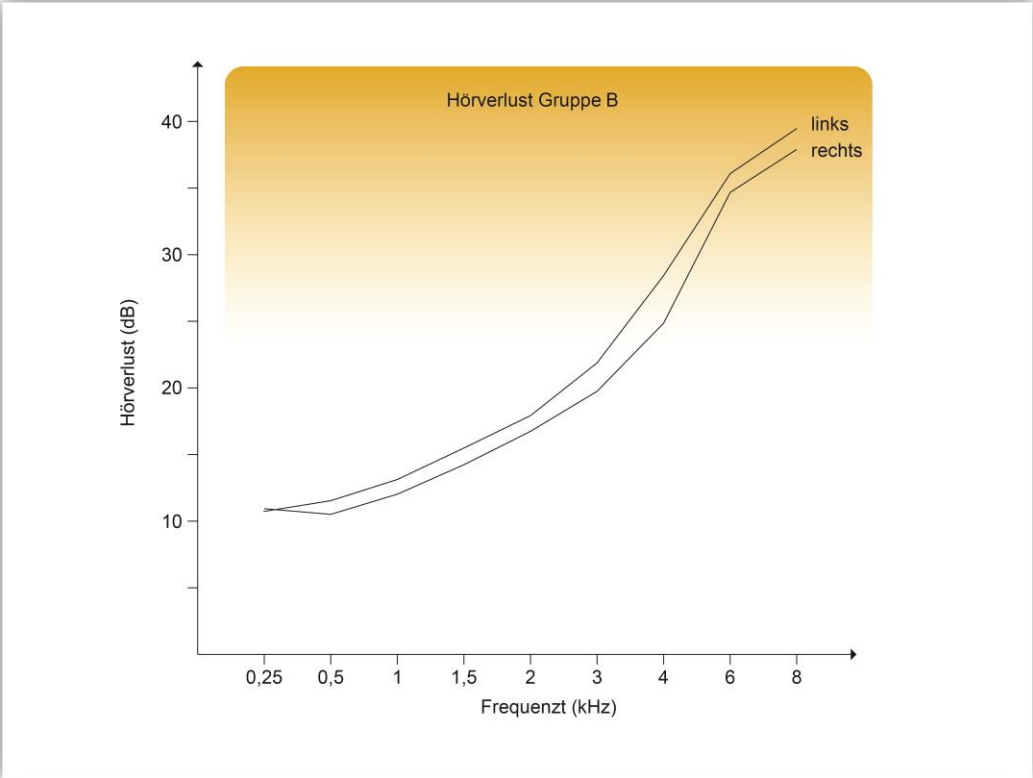


Abb.5.: Gruppe B (Tinnitus & PMR) Hörverlust



3.1 Baseline-Vergleich der Gruppen

3.1.1. Gruppe A (Tinnitus & TRT+)

3.1.1.1. Neuroimmunologische Parameter der Gruppen A vs. C

Die Konzentrationen von Kortisol und BDNF waren bei der A-Gruppe (TRT+) signifikant vermindert, während die der Zytokine IL-4, IL-6, IL-10, TNF α und IFN γ signifikant höher waren als bei den Kontrollen, siehe auch Abb.6.

Abb.6.: neuroimmunologische Parameter bei t0, Gruppe A (TRT+) vs. Kontrollgruppe C

	Gruppe	N	Min.	Max.	MW	SE
Kortisol ng/ml *	C	47	12,1	150,5	59,7	29,6
	A	49	2,1	124,6	47,9	23,9
IL 2 ng/ml	C	46	0,0	20,2	9,8	4,8
	A	49	6,4	20,7	11,6	3,0
IL 4 pg/ml *	C	46	0,0	740,1	145,1	157,4
	A	49	9,0	1619,2	254,7	297,4
IL 6 ng/ml **	C	46	0,0	6,2	1,8	1,7
	A	48	0,2	1,4	2,6	1,6
IL 10 pg/ml **	C	46	0,0	852,3	90,0	164,9
	A	48	6,7	1005,6	191,8	231,0
TNF α ng/ml **	C	46	0,0	10,1	2,9	2,4
	A	49	0,5	15,9	5,8	3,8
IFN γ ng/ml **	C	41	0,0	170,9	46,9	40,6
	A	42	13,3	278,4	119,3	87,5
NGF pg/ml	C	49	0,0	1879,1	87,3	293,7
	A	48	0,0	1124,1	79,3	220,2
BDNF ng/ml *	C	48	1,4	5,2	2,9	0,8
	A	47	0,9	4,5	2,5	0,7
SP pg/ml	C	46	39,9	1211,1	274,3	199,7
	A	44	26,2	431,6	206,6	110,2

Mann-Whitney-U-Test * p<0,05 ** p<0,01

3.1.1.2. Psychometrische Parameter der Gruppen A vs. C

Signifikant bei den TRT+ Patienten erhöht war der ADSL-, GAD-7- und PSQ-Score sowie die PSQ-Subskalen „Sorgen“, „Anspannung“ und „Anforderung“, während die Subskala „Freude“ signifikant vermindert war, siehe auch Abbildung 7.

Abb.7.: psychometrische Parameter bei t0, Gruppe A (TRT+) vs. Kontrollgruppe C

	Gruppe	N	Min.	Max.	MW	SE
Alter	C	47	26	74	54,8	12,9
	A	49	18	67	47,0	11,8
PSQ**	C	46	4	70	30,9	16,9
	A	46	13	93	48,8	16,5
PSQ Sorgen**	C	46	0	87	25,2	22,0
	A	46	0	100	48,3	21,4
PSQ Anspannung**	C	46	0	80	33,9	22,3
	A	46	13	100	59,8	21,7
PSQ Freude*	C	46	7	100	58,8	25,3
	A	46	0	100	49,5	20,1
PSQ Anforderung**	C	46	7	93	34,5	18,0
	A	46	7	100	51,8	24,6
COPE EC	C	46	6	18	11,3	2,7
	A	46	6	20	12,4	3,4
COPE SC	C	46	6	20	12,1	3,2
	A	46	6	24	13,1	3,6
COPE FP	C	46	6	24	14,1	4,0
	A	46	6	22	13,0	3,9
COPE AC	C	46	4	16	11,5	2,7
	A	46	4	15	10,8	2,4
GAD7**	C	46	0	19	5,8	5,1
	A	45	1	20	8,5	4,3
ADSL**	C	46	0	35	12,4	8,5
	A	45	2	51	19,3	11,0

Mann-Whitney-U-Test * p<0,05 ** p<0,01

3.1.2. Gruppe B (Tinnitus & PMR)

3.1.2.1. Neuroimmunologische Parameter der Gruppen B vs. C

Im Vergleich zu den Gesunden waren TNF α und IFN γ bei der B-Gruppe (PMR) signifikant erhöht.

Abb.8.: neuroimmunologische Parameter bei t₀, Gruppe B (PMR) vs. Kontrollgruppe C

	Gruppe	N	Min.	Max.	MW	SE
Kortisol ng/ml	C	47	12,1	150,5	59,7	29,6
	B	50	18,5	125,1	62,3	26,1
IL 2 ng/ml	C	46	0,0	20,2	9,8	4,8
	B	50	0,0	21,0	11,3	4,3
IL 4 pg/ml	C	46	0,0	740,1	145,1	157,4
	B	49	0,0	1152,3	165,1	200,8
IL 6 ng/ml	C	46	0,0	6,2	1,8	1,7
	B	49	0,1	7,9	1,8	1,7
IL 10 pg/ml	C	46	0,0	852,3	90,0	164,9
	B	50	0,0	685,0	123,6	153,6
TNFα ng/ml *	C	46	0,0	10,1	2,9	2,4
	B	50	0,0	12,8	4,1	3,0
IFNγ ng/ml **	C	41	0,0	170,9	46,9	40,6
	B	40	0,0	272,6	111,1	83,5
NGF pg/ml	C	49	0,0	1879,1	87,3	293,7
	B	48	0,0	1090,9	51,4	188,7
BDNF ng/ml	C	48	1,4	5,2	2,9	0,8
	B	49	0,7	4,4	2,9	0,9
SP pg/ml	C	46	39,9	1211,1	274,3	199,7
	B	47	141,3	2268,6	383,6	387,8

Mann-Whitney-U-Test * p<0,05 ** p<0,01

3.1.2.2. Psychometrische Parameter der Gruppen B vs. C

Signifikant bei den PMR Patienten erhöht war der ADSL-, GAD-7- und PSQ-Score, die COPE-Skala „focus on positive“ sowie die PSQ-Subskalen „Sorgen“, „Anspannung“ und „Anforderung“, während die Subskala „Freude“ signifikant vermindert war, siehe auch Abbildung 9.

Abb.9.: psychometrische Parameter bei t0, Gruppe B (PMR) vs. Kontrollgruppe C

	Gruppe	N	Min.	Max.	MW	SE
Alter	C	47	26	74	54,8	12,9
	B	50	23	72	52,4	14,3
PSQ**	C	46	4	70	30,9	16,9
	B	48	9	70	43,8	15,4
PSQ Sorgen**	C	46	0	87	25,2	22,0
	B	48	7	87	38,4	19,6
PSQ Anspannung**	C	46	0	80	33,9	22,3
	B	48	13	100	54,6	19,7
PSQ Freude*	C	46	7	100	58,8	25,3
	B	48	13	100	47,2	23,4
PSQ Anforderung**	C	46	7	93	34,5	18,0
	B	48	0	87	46,9	21,9
COPE EC	C	46	6	18	11,3	2,7
	B	48	6	20	11,5	3,4
COPE SC	C	46	6	20	12,1	3,2
	B	48	6	22	12,5	3,7
COPE FP*	C	46	6	24	14,1	4,0
	B	48	6	20	12,1	3,4
COPE AC	C	46	4	16	11,5	2,7
	B	48	4	16	10,9	3,0
GAD7**	C	46	0	19	5,8	5,1
	B	48	0	16	7,4	3,7
ADSL*	C	46	0	35	12,4	8,5
	B	48	1	33	16,9	8,7

Mann-Whitney-U-Test * p<0,05 ** p<0,01

3.1.3. Vergleich der Gruppen A und B

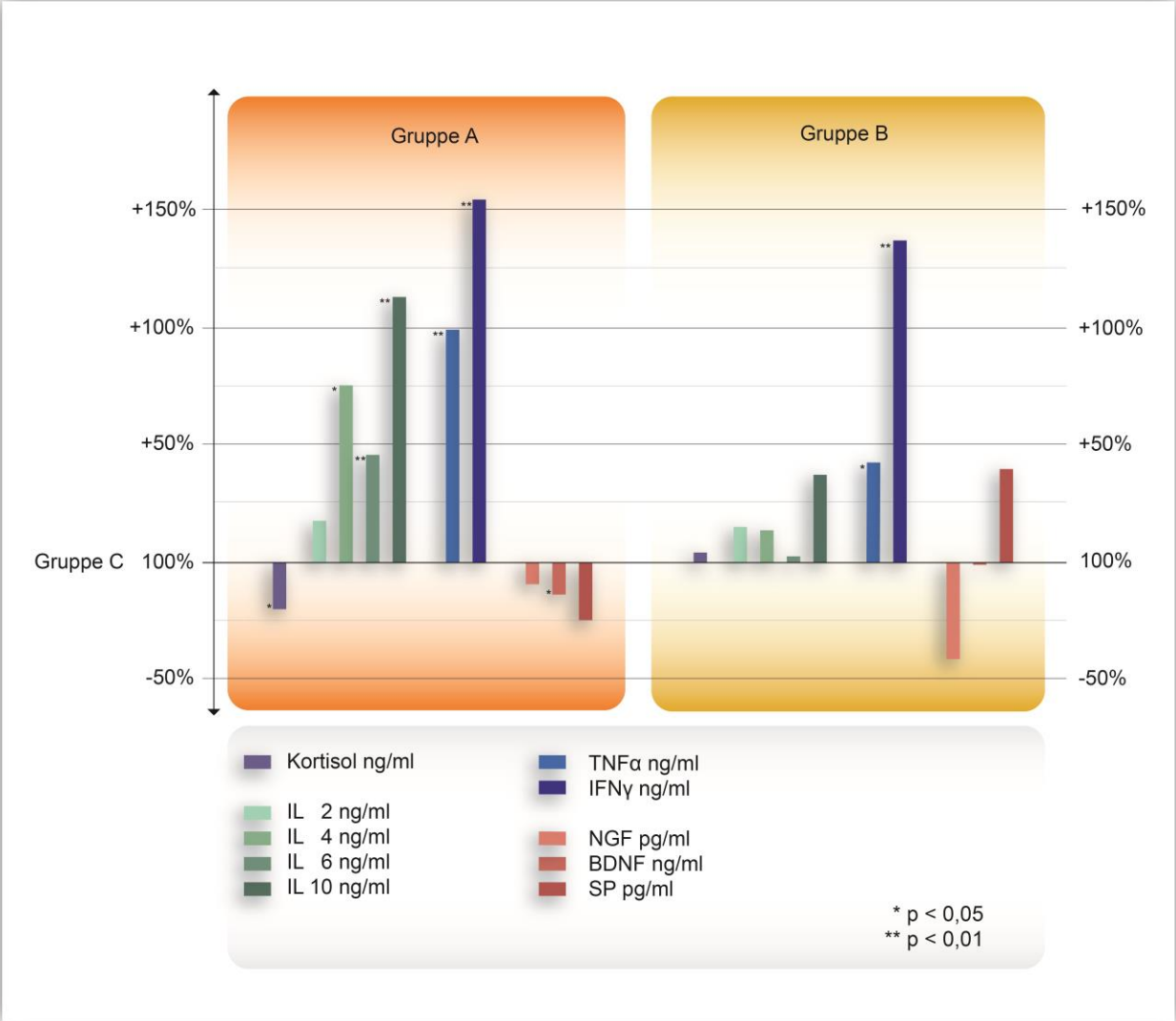
Der Vergleich der beiden Tinnitusgruppen A (TRT+) und B (PMR) ergab, dass die Konzentrationen von Kortisol, Substanz P und BDNF bei der A-Gruppe signifikant niedriger und IL-6, TNF α und NGF signifikant höher waren, siehe auch Abb.10

Abb.10.: Neuroimmunparameter bei t0, Gruppe A (TRT+) vs. Gruppe B (PMR)

	Gruppe	N	Min.	Max.	MW	SE
Kortisol ng/ml *	A	49	2,1	124,6	47,9	23,9
	B	50	18,5	125,1	62,3	26,1
IL 2 ng/ml	A	49	6,4	20,7	11,6	3,0
	B	50	0,0	21,0	11,3	4,3
IL 4 pg/ml	A	49	9,0	1619,2	254,7	297,4
	B	49	0,0	1152,3	165,1	200,8
IL 6 ng/ml **	A	48	0,2	14,3	2,6	1,6
	B	49	0,1	7,9	1,8	1,7
IL 10 pg/ml	A	48	6,7	1005,6	191,8	231,0
	B	50	0,0	685,0	123,6	153,6
TNF α ng/ml *	A	49	0,5	15,9	5,8	3,8
	B	50	0,0	12,8	4,1	3,0
IFN γ ng/ml	A	42	13,3	278,4	119,3	87,5
	B	40	0,0	272,6	111,1	83,5
NGF pg/ml *	A	48	0,0	1124,1	79,3	220,2
	B	48	0,0	1090,9	51,4	188,7
BDNF ng/ml *	A	47	0,9	4,5	2,5	0,7
	B	49	0,7	4,4	2,9	0,9
SP pg/ml **	A	44	26,2	431,6	206,6	110,2
	B	47	141,3	2268,6	383,6	387,8

Mann-Whitney-U-Test * p<0,05 ** p<0,01

Abb.11.: Neuroimmunparameter der Tinnitusgruppen A (TRT+) und B (PMR) vor Intervention im Vergleich zur gesunden Kontrollgruppe C



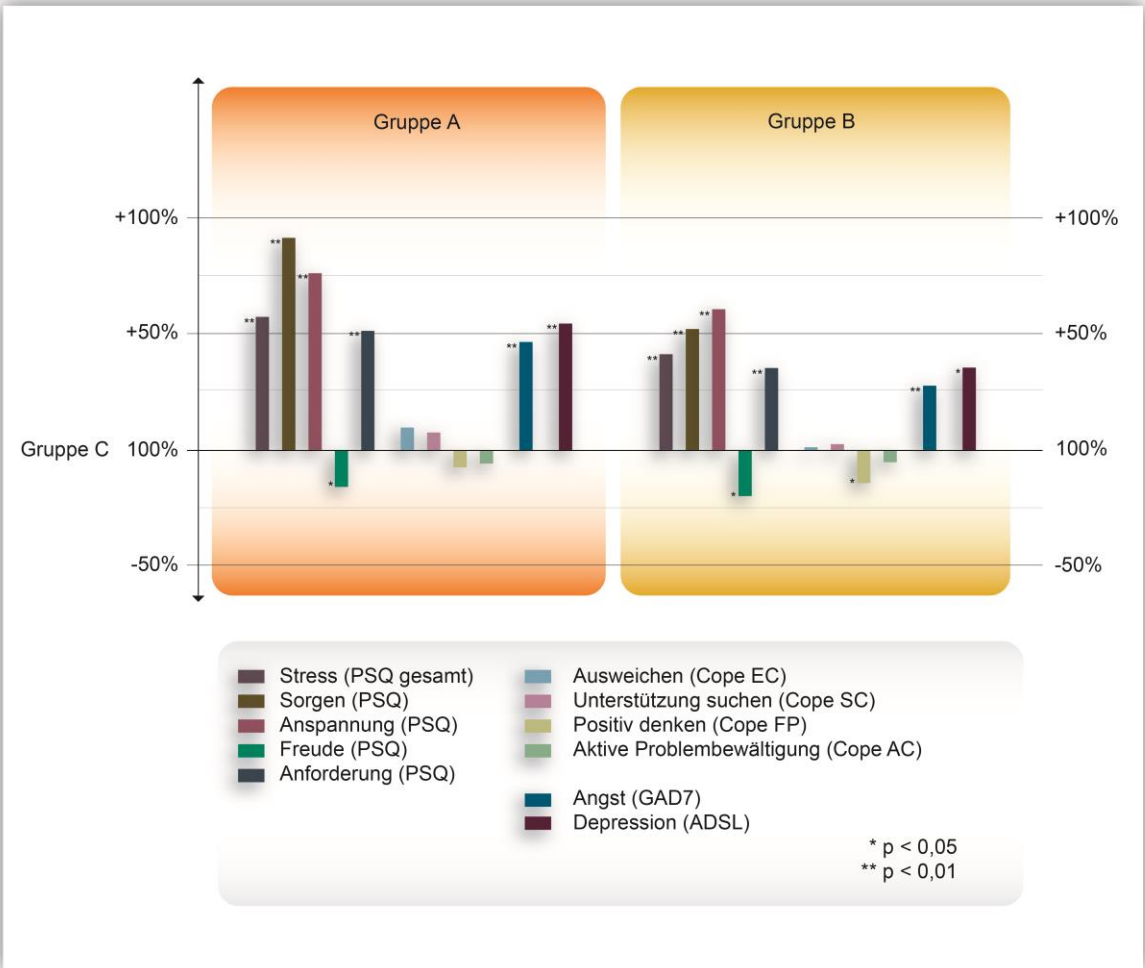
Signifikante Unterschiede der psychometrisch ermittelten Daten fanden sich ausschließlich bei der PSQ-Subskala „Sorgen“

Abb.12.: psychometrische Parameter bei t0, Gruppe A (TRT+) vs. Gruppe B (PMR)

	Gruppe	N	Min.	Max.	MW	SE
Alter	A	49	18	67	47,0	11,8
	B	50	23	72	52,4	14,3
TF	A	45	4	76	35,7	18,2
	B	48	5	69	32,5	16,9
PSQ	A	46	13	93	48,8	16,5
	B	48	9	70	43,8	15,4
PSQ Sorgen*	A	46	0	100	48,3	21,4
	B	48	7	87	38,4	19,6
PSQ Anspannung	A	46	13	100	59,8	21,7
	B	48	13	100	54,6	19,7
PSQ Freude	A	46	0	100	49,5	20,1
	B	48	13	100	47,2	23,4
PSQ Anforderung	A	46	7	100	51,8	24,6
	B	48	0	87	46,9	21,9
COPE EC	A	46	6	20	12,4	3,4
	B	48	6	20	11,5	3,4
COPE SC	A	46	6	24	13,1	3,6
	B	48	6	22	12,5	3,7
COPE FP	A	46	6	22	13,0	3,9
	B	48	6	20	12,1	3,4
COPE AC	A	46	4	15	10,8	2,4
	B	48	4	16	10,9	3,0
GAD7	A	45	1	20	8,5	4,3
	B	48	0	16	7,4	3,7
ADSL	A	45	2	51	19,3	11,0
	B	48	1	33	16,9	8,7

Mann-Whitney-U-Test * p<0,05 ** p<0,01

Abb.13.: Psychometrische Parameter der Tinnitusgruppen A (TRT+) und B (PMR) vor Intervention im Vergleich zur gesunden Kontrollgruppe C



3.1.4. Neuroimmunologische Parameter bei kompensiertem vs. dekompenziertem Tinnitus

Die 95 Patienten mit vollständigem Tinnitus-Fragebogen wurden mittels cutoff-Level in die Gruppen ‚kompensiert‘ und ‚dekompenziert‘ eingeteilt. Erstere bestand demnach aus 70 Patienten, während 23 Patienten mit einem TF-Score von über 46 Punkten die Gruppe der dekompenzierten bildete. Die Gruppen A und B in dieser Fragestellung getrennt zu betrachten ließ die geringe Anzahl der Dekompenzierten nicht zu.

Es zeigten sich keine signifikanten Unterschiede in den neuroimmunologischen Parametern zwischen den laut Tinnitusfragebogen kompensierten und dekompenzierten Tinnituspatienten.

Bei Dekompenzierten erhöht waren die PSQ Subskalen „Freude“ und „Anforderung“ sowie COPE-Score „focus on positive“, GAD-7- und ADSL-Wert ($p < 0,05$).

3.2. Korrelationen - baseline

3.2.1. Korrelation der neuroimmunologischen und psychometrischen Parameter

Die große Mehrheit der neuroimmunologischen Parameter korreliert innerhalb keiner der Gruppen mit den psychometrisch erhobenen Daten. Bei den Gesunden (C-Gruppe) korrelieren IL-2, IL-4, IL-6, IL-10, TNF α und IFN γ mit der PSQ-Subskala „Freude“ und, abgesehen von IL-2, negativ mit dem ADSL-Score. Die Anzahl der jeweils miteinander verglichenen Stichproben und, bei zutreffender Signifikanz, die Korrelationskoeffizienten r sind in den Abbildungen 14 bis 16 dargestellt.

Abb.14.: neuroimmunologische und psychometrische Parameter der Gruppe A (Tinnitus & TRT+) zu t_0

		Alter	TF	PSQ	PSQ Sor.	PSQ Ansp.	PSQ Freu.	PSQ Anf.	COPE EC	COPE SC	COPE FP	COPE AC	GAD7	ADSL
Kort.	r	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
	N	49	45	46	46	46	46	46	46	46	46	46	45	45
IL-2	r	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
	N	49	45	46	46	46	46	46	46	46	46	46	45	45
IL-4	r	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
	N	49	45	46	46	46	46	46	46	46	46	46	45	45
IL-6	r	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
	N	46	43	44	44	44	44	44	44	44	44	44	43	43
IL-10	r	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
	N	48	44	45	45	45	45	45	45	45	45	45	44	44
TNF α	r	,300*	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
	N	49	45	46	46	46	46	46	46	46	46	46	45	45
IFN γ	r	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
	N	42	38	39	39	39	39	39	39	39	39	39	38	38
NGF	r	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	,381**	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	-,360*
	N	48	45	46	46	46	46	46	46	46	46	46	45	45
BDNF	r	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	-,297*	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
	N	47	44	45	45	45	45	45	45	45	45	45	44	44
SP	r	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	,350*	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	-,316*	n.s.	,334*	n.s.
	N	44	41	42	42	42	42	42	42	42	42	42	41	41

Spearman's Rangkorrelationstest * $p < 0,05$ ** $p < 0,01$

Abb.15.: neuroimmunologische und psychometrische Parameter der Gruppe B
(Tinnitus & PMR) zu t0

		Alter	TF	PSQ	PSQ Sor.	PSQ Ansp.	PSQ Freu.	PSQ Anf.	COPE EC	COPE SC	COPE FP	COPE AC	GAD7	ADSL
Kort.	r	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
	N	50	48	48	48	48	48	48	48	48	48	48	48	48
IL-2	r	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	,341*	n.s.	n.s.
	N	50	48	48	48	48	48	48	48	48	48	48	48	48
IL-4	r	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
	N	49	47	47	47	47	47	47	47	47	47	47	47	47
IL-6	r	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
	N	49	47	47	47	47	47	47	47	47	47	47	47	47
IL-10	r	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	,291*	n.s.	n.s.
	N	50	48	48	48	48	48	48	48	48	48	48	48	48
TNF α	r	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
	N	50	48	48	48	48	48	48	48	48	48	48	48	48
IFN γ	r	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
	N	40	38	38	38	38	38	38	38	38	38	38	38	38
NGF	r	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
	N	48	46	46	46	46	46	46	46	46	46	46	46	46
BDNF	r	n.s.	n.s.	n.s.	-,301*	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	-,291*	n.s.
	N	49	47	47	47	47	47	47	47	47	47	47	47	47
SP	r	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
	N	47	45	45	45	45	45	45	45	45	45	45	45	45

Spearman's Rangkorrelationstest * p<0,05 ** p<0,01

Abb.16.: neuroimmunologische und psychometrische Parameter der gesunden Kontrollgruppe C zu t0

		Alter	PSQ	PSQ Sor.	PSQ Ansp.	PSQ Freu.	PSQ Anf.	COPE EC	COPE SC	COPE FP	COPE AC	GAD7	ADSL
Kort.	r	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	,413**	n.s.	n.s.
	N	45	44	44	44	44	44	44	44	44	44	44	44
IL-2	r	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	,324*	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
	N	44	43	43	43	43	43	43	43	43	43	43	43
IL-4	r	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	,396**	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	-,326*
	N	44	43	43	43	43	43	43	43	43	43	43	43
IL-6	r	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	,434**	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	-,321*
	N	44	43	43	43	43	43	43	43	43	43	43	43
IL-10	r	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	,387*	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	-,340*
	N	44	43	43	43	43	43	43	43	43	43	43	43
TNF α	r	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	,356*	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	-,447**
	N	44	43	43	43	43	43	43	43	43	43	43	43
IFN γ	r	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	,309*	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	-,310*
	N	40	41	41	41	41	41	41	41	41	41	41	41
NGF	r	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	-,356*	n.s.
	N	47	46	46	46	46	46	46	46	46	46	46	46
BDNF	r	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
	N	46	45	45	45	45	45	45	45	45	45	45	45
SP	r	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	,347*	n.s.	,412**	n.s.	,300*	n.s.
	N	44	44	44	44	44	44	44	44	44	44	44	44

Spearman's Rangkorrelationstest * $p < 0,05$ ** $p < 0,01$

3.2.2. Korrelationen innerhalb der Neuroimmunologischen Parameter

Bei jeder Gruppe korrelieren IL-2, IL-4, IL-6, IL-10 und TNF α in allen Kombinationen miteinander. bei der Kontrollgruppe C stehen alle bestimmten Zytokine in Korrelation zueinander.

Kortisol korriert in der A-Gruppe (Tinnitus & TRT+) negativ mit IL-6 und in der C-Gruppe positiv mit IFN γ .

Abb.17.: Neuroimmunologische Parameter innerhalb der Gruppe A (TRT+) zu t0

		Kort.	IL-2	IL-4	IL-6	IL-10	TNF α	IFN γ	NGF	BDNF	SP
Kort.	r	1									
	N	49									
IL-2	r	n.s.	1								
	N	49	49								
IL-4	r	n.s.	,712**	1							
	N	49	49	49							
IL-6	r	-,410**	,363*	,547**	1						
	N	46	46	46	46						
IL-10	r	n.s.	,683**	,848**	,601**	1					
	N	48	48	48	46	48					
TNF α	r	n.s.	,493**	,717**	,504**	,744**	1				
	N	49	49	49	46	48	49				
IFN γ	r	n.s.	-,392*	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	1			
	N	42	42	42	39	41	42	42			
NGF	r	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	1		
	N	48	48	48	45	47	48	41	48		
BDNF	r	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	,365*	n.s.	n.s.	n.s.	1	
	N	47	47	47	44	46	47	40	47	47	
SP	r	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	1
	N	44	44	44	41	43	44	38	44	43	44

Spearman's Rangkorrelationstest * p<0,05 ** p<0,01

Abb.18.: Neuroimmunologische Parameter innerhalb der Gruppe B (PMR) zu t0

		Kort.	IL-2	IL-4	IL-6	IL-10	TNF α	IFN γ	NGF	BDNF	SP
Kort.	r	1									
	N	50									
IL-2	r	n.s.	1								
	N	50	50								
IL-4	r	n.s.	,787**	1							
	N	49	49	49							
IL-6	r	n.s.	,777**	,743**	1						
	N	49	49	48	49						
IL-10	r	n.s.	,861**	,841**	,822**	1					
	N	50	50	49	49	50					
TNF α	r	n.s.	,720**	,775**	,624**	,823**	1				
	N	50	50	49	49	50	50				
IFN γ	r	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	1			
	N	40	40	39	39	40	40	40			
NGF	r	n.s.	n.s.	n.s.	,335*	n.s.	n.s.	n.s.	1		
	N	48	48	47	47	48	48	38	48		
BDNF	r	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	-,357*	n.s.	1	
	N	49	49	48	48	49	49	39	48	49	
SP	r	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	,314*	-,365*	1
	N	47	47	47	46	47	47	38	45	46	47

Spearman's Rangkorrelationstest * p<0,05 ** p<0,01

Abb.19.: Neuroimmunologische Parameter innerhalb der gesunden Gruppe C zu t0

		Kort.	IL-2	IL-4	IL-6	IL-10	TNF α	IFN γ	NGF	BDNF	SP
Kort.	r	1									
	N	47									
IL-2	r	n.s.	1								
	N	44	46								
IL-4	r	n.s.	,688**	1							
	N	44	46	46							
IL-6	r	n.s.	,746**	,746**	1						
	N	44	46	46	46						
IL-10	r	n.s.	,762**	,759**	,906**	1					
	N	44	46	46	46	46					
TNF α	r	n.s.	,725**	,711**	,702**	,780**	1				
	N	44	46	46	46	46	46				
IFN γ	r	,350*	,721**	,674**	,613**	,642**	,742**	1			
	N	39	41	41	41	41	41	41			
NGF	r	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	1		
	N	47	46	46	46	46	46	41	49		
BDNF	r	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	1	
	N	46	45	45	45	45	45	40	48	48	
SP	r	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	-,519**	n.s.	n.s.	1
	N	44	43	43	43	43	43	40	46	45	46

Spearman's Rangkorrelationstest * $p < 0,05$ ** $p < 0,01$

3.2.3. Korrelationen innerhalb der Psychometrischen Parameter

Bei den Kontrollprobanden (Gruppe C) korrelieren, von den COPE-Scores abgesehen, alle Fragebogenscores miteinander. Die beiden Tinnitusgruppen unterscheiden sich hiervon dahingehend, dass PSQ-„Anforderungen“ bei der Gruppe A (TRT+) nicht mit dem ADSL-Score und bei Gruppe B (PMR) nicht mit ADSL-, GAD-7- und PSQ-„Freude“ korreliert. Bei beiden Tinnitusgruppen besteht ein Zusammenhang zwischen dem TF-Score und GAD-7- sowie ADSL-Score, TF- und PSQ-Werte zeigen dagegen keine Korrelation. Bei Gruppe A korreliert TF zudem mit PSQ-„Anspannung“, bei Gruppe B mit PSQ-„Sorgen“ und –„Freude“. Siehe auch Abb. 20-22.

Abb.20.: psychometrische Parameter innerhalb der Gruppe A (TRT+) zu t0

		Alter	TF	PSQ	PSQ Sor.	PSQ Ansp.	PSQ Freu.	PSQ Anf.	COPE EC	COPE SC	COPE FP	COPE AC	GAD7	ADSL
Alter	r	1												
	N	49												
TF	r	n.s.	1											
	N	45	45											
PSQ	r	n.s.	n.s.	1										
	N	46	45	46										
PSQ Sor.	r	n.s.	n.s.	,778**	1									
	N	46	45	46	46									
PSQ Ansp.	r	n.s.	,383**	,864**	,584**	1								
	N	46	45	46	46	46								
PSQ Freu.	r	n.s.	n.s.	-,737**	-,605**	-,663**	1							
	N	46	45	46	46	46	46							
PSQ Anf.	r	-,349*	n.s.	,653**	,361*	,467**	-,324*	1						
	N	46	45	46	46	46	46	46						
COPE EC	r	n.s.	,300*	n.s.	n.s.	,294*	n.s.	n.s.	1					
	N	46	45	46	46	46	46	46	46					
COPE SC	r	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	,627**	1				
	N	46	45	46	46	46	46	46	46	46				
COPE FP	r	-,339*	n.s.	n.s.	n.s.	-,316*	,307*	n.s.	n.s.	,305*	1			
	N	46	45	46	46	46	46	46	46	46	46			
COPE AC	r	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	1		
	N	46	45	46	46	46	46	46	46	46	46	46		
GAD7	r	-,333*	,464**	,635**	,468**	,691**	-,533**	,341*	,408**	n.s.	n.s.	n.s.	1	
	N	45	45	45	45	45	45	45	45	45	45	45	45	
ADSL	r	n.s.	,399**	,643**	,545**	,565**	-,617**	n.s.	,347*	n.s.	n.s.	n.s.	,692**	1
	N	45	45	45	45	45	45	45	45	45	45	45	45	45

Spearman's Rangkorrelationstest * p<0,05 ** p<0,01

Abb.21.: psychometrische Parameter innerhalb der Gruppe B (PMR) zu t0

		Alter	TF	PSQ	PSQ Sor.	PSQ Ansp.	PSQ Freu.	PSQ Anf.	COPE EC	COPE SC	COPE FP	COPE AC	GAD7	ADSL
Alter	r	1												
	N	50												
TF	r	n.s.	1											
	N	48	48											
PSQ	r	-,339*	n.s.	1										
	N	48	48	48										
PSQ Sor.	r	n.s.	,429**	,770**	1									
	N	48	48	48	48									
PSQ Ansp.	r	n.s.	n.s.	,713**	,529**	1								
	N	48	48	48	48	48								
PSQ Freu.	r	n.s.	-,371**	-,753**	-,559**	-,521**	1							
	N	48	48	48	48	48	48							
PSQ Anf.	r	-,548**	n.s.	,619**	,306*	,304*	n.s.	1						
	N	48	48	48	48	48	48	48						
COPE EC	r	n.s.	,352*	,388**	,595**	n.s.	n.s.	n.s.	1					
	N	48	48	48	48	48	48	48	48					
COPE SC	r	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	,436**	n.s.	n.s.	1				
	N	48	48	48	48	48	48	48	48	48				
COPE FP	r	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	1			
	N	48	48	48	48	48	48	48	48	48	48			
COPE AC	r	n.s.	n.s.	-,286*	n.s.	n.s.	,437**	n.s.	n.s.	,548**	,413**	1		
	N	48	48	48	48	48	48	48	48	48	48	48		
GAD7	r	n.s.	,408**	,643**	,685**	,735**	-,461**	n.s.	,398**	n.s.	n.s.	n.s.	1	
	N	48	48	48	48	48	48	48	48	48	48	48	48	
ADSL	r	n.s.	,589**	,629**	,652**	,579**	-,703**	n.s.	,357*	-,340*	n.s.	-,338*	,671**	1
	N	48	48	48	48	48	48	48	48	48	48	48	48	48

Spearman's Rangkorrelationstest * p<0,05 ** p<0,01

Abb.22.: psychometrische Parameter innerhalb der gesunden Kontrollgruppe C zu t0

		Alter	PSQ	PSQ Sor.	PSQ Ansp.	PSQ Freu.	PSQ Anf.	COPE EC	COPE SC	COPE FP	COPE AC	GAD7	ADSL
Alter	r	1											
	N	47											
PSQ	r	n.s.	1										
	N	45	46										
PSQ Sor.	r	n.s.	,794**	1									
	N	45	46	46									
PSQ Ansp.	r	n.s.	,856**	,664**	1								
	N	45	46	46	46								
PSQ Freu.	r	n.s.	-,775**	-,614**	-,700**	1							
	N	45	46	46	46	46							
PSQ Anf.	r	n.s.	,678**	,473**	,511**	-,307*	1						
	N	45	46	46	46	46	46						
COPE EC	r	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	1					
	N	45	46	46	46	46	46	46					
COPE SC	r	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	,468**	1				
	N	45	46	46	46	46	46	46	46				
COPE FP	r	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	,342*	n.s.	1			
	N	45	46	46	46	46	46	46	46	46			
COPE AC	r	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	,293*	1		
	N	45	46	46	46	46	46	46	46	46	46		
GAD7	r	,376*	,588**	,558**	,614**	-,492**	,312*	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	1	
	N	45	46	46	46	46	46	46	46	46	46	46	
ADSL	r	n.s.	,688**	,600**	,697**	-,651**	,448**	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	,546**	1
	N	45	46	46	46	46	46	46	46	46	46	46	46

Spearman's Rangkorrelationstest * p<0,05 ** p<0,01

3.3. Korrelationen – postinterventionell und follow up

3.3.1. Korrelation der neuroimmunologischen und psychometrischen Parameter

Auch zum Zeitpunkt der follow-up-Untersuchung (t2 bei der TRT+-Gruppe A) bzw. postinterventionell (t1 bei der PMR-Gruppe B) korrelieren die meisten Blutwerte nicht mit Psychometrischen Daten. Im Vergleich zu t0 korreliert bei Gruppe A (TRT+) die Kortisolkonzentration mit PSQ-„Sorgen“ und bei B (PMR) IL-2 mit dem TF-Score. Siehe Abb. 23 und 24.

Abb.23.: neuroimmunologische und psychometrische Parameter der Gruppe A (TRT+) zu t2 (follow-up)

		Alter	TF	PSQ	PSQ Sor.	PSQ Ansp.	PSQ Freu.	PSQ Anf.	COPE EC	COPE SC	COPE FP	COPE AC	GAD7	ADSL
Kort.	r	n.s.	n.s.	n.s.	,313*	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
	N	43	41	41	41	41	41	41	41	41	41	41	41	41
IL-2	r	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	-,323*	n.s.	n.s.
	N	42	40	40	40	40	40	40	40	40	40	40	40	40
IL-4	r	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
	N	42	40	40	40	40	40	40	40	40	40	40	40	40
IL-6	r	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
	N	42	40	40	40	40	40	40	40	40	40	40	40	40
IL-10	r	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
	N	42	40	40	40	40	40	40	40	40	40	40	40	40
TNF α	r	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
	N	41	39	39	39	39	39	39	39	39	39	39	39	39
IFN γ	r	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
	N	35	33	33	33	33	33	33	33	33	33	33	33	33
NGF	r	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	-,350*
	N	41	39	39	39	39	39	39	39	39	39	39	39	39
BDNF	r	n.s.	,427**	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	-,319*	n.s.	,316*	n.s.
	N	42	40	40	40	40	40	40	40	40	40	40	40	40
SP	r	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
	N	41	39	39	39	39	39	39	39	39	39	39	39	39

Spearman's Rangkorrelationstest * p<0,05 ** p<0,01

Abb.24.: neuroimmunologische und psychometrische Parameter der Gruppe B(PMR)
zu t1 (postinterventionell)

		Alter	TF	PSQ	PSQ Sor.	PSQ Ansp.	PSQ Freu.	PSQ Anf.	COPE EC	COPE SC	COPE FP	COPE AC	GAD7	ADSL
Kort.	r	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
	N	42	39	39	39	39	39	39	39	39	39	39	39	38
IL-2	r	n.s.	,352*	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
	N	40	37	37	37	37	37	37	37	37	37	37	37	36
IL-4	r	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
	N	40	36	36	36	36	36	36	36	36	36	36	36	35
IL-6	r	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
	N	42	39	39	39	39	39	39	39	39	39	39	39	38
IL-10	r	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
	N	41	37	37	37	37	37	37	37	37	37	37	37	36
TNF α	r	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
	N	42	39	39	39	39	39	39	39	39	39	39	39	38
IFN γ	r	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
	N	34	31	31	31	31	31	31	31	31	31	31	31	30
NGF	r	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
	N	40	37	37	37	37	37	37	37	37	37	37	37	36
BDNF	r	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
	N	40	37	37	37	37	37	37	37	37	37	37	37	36
SP	r	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
	N	39	37	37	37	37	37	37	37	37	37	37	37	36

Spearman's Rangkorrelationstest * p<0,05 ** p<0,01

3.3.2. Korrelationen innerhalb der Neuroimmunologischen Parameter

Im Vergleich zu den Messungen vor der Therapie sind die meisten Korrelationen unverändert. Bei Gruppe A (TRT+) korreliert zu t2 zudem IFN γ mit IL-2, während Kortisol nicht mit IL-6, stattdessen aber mit IFN γ korreliert. Nach der Therapie korreliert bei den PMR-Patienten ebenfalls IFN γ und IL-2.

Abb.25.: neuroimmunologische Parameter innerhalb der Gruppe A (TRT+) zu t2 (follow-up)

		Kort.	IL-2	IL-4	IL-6	IL-10	TNF α	IFN γ	NGF	BDNF	SP
Kort.	r	1									
	N	43									
IL-2	r	n.s.	1								
	N	42	42								
IL-4	r	n.s.	,745**	1							
	N	42	42	42							
IL-6	r	n.s.	,379*	,463**	1						
	N	42	42	42	42						
IL-10	r	n.s.	,749**	,834**	,648**	1					
	N	42	42	42	42	42					
TNF α	r	n.s.	,605**	,745**	,499**	,744**	1				
	N	41	41	41	41	41	41				
IFN γ	r	,446**	-,429*	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	1			
	N	35	35	35	35	35	35	35			
NGF	r	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	1		
	N	41	40	40	40	40	39	33	41		
BDNF	r	,373*	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	1	
	N	42	41	41	41	41	40	34	41	42	
SP	r	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	-,472**	n.s.	n.s.	1
	N	41	40	40	40	40	39	33	40	41	41

Spearman's Rangkorrelationstest * p<0,05 ** p<0,01

Abb.26.: neuroimmunologische Parameter innerhalb der Gruppe B (PMR)
zu t1 (postinterventionell)

		Kort.	IL-2	IL-4	IL-6	IL-10	TNF α	IFN γ	NGF	BDNF	SP
Kort.	r	1									
	N	42									
IL-2	r	n.s.	1								
	N	40	40								
IL-4	r	n.s.	,751**	1							
	N	39	38	40							
IL-6	r	n.s.	,788**	,731**	1						
	N	42	40	39	42						
IL-10	r	n.s.	,735**	,831**	,816**	1					
	N	40	39	40	40	41					
TNF α	r	n.s.	,647**	,821**	,712**	,730**	1				
	N	42	40	39	42	40	42				
IFN γ	r	n.s.	-,394*	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	1			
	N	34	32	32	34	33	34	34			
NGF	r	,331*	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	1		
	N	40	38	37	40	38	40	32	40		
BDNF	r	n.s.	n.s.	,386*	n.s.	n.s.	n.s.	-,367*	n.s.	1	
	N	40	38	37	40	38	40	32	40	40	
SP	r	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	1
	N	39	37	36	39	37	39	31	39	39	39

Spearman's Rangkorrelationstest * p<0,05 ** p<0,01

3.4. Therapieeffekte im Verlauf

3.4.1. Effekte der TRT+

3.4.1.1. Effekt der TRT+ auf psychometrische Parameter

Eine signifikante Verminderung der Gesamtscores der vier Fragebögen TF, PSQ, GAD7 und ADSL wurde zu t1 sowie zu t2 beobachtet, an Subkategorien des PSQ verringerten sich langfristig nur „Sorgen“ und „Anspannung“, siehe Abb.27.

Von t0 zu t1 verringerte sich auch der Wert „Ausweichendes Coping“, der im Langzeitvergleich zu t2 keine signifikante Veränderung zeigte, siehe Abb.28.

Abb.27.: psychometrischer Verlauf der Gruppe A (TRT+)

	t0			t1			t0 vs. t1	t2			t0 vs. t2
	N	MW	SE	N	MW	SE	p	N	MW	SE	p
TF	45	35,7	18,2	46	27,8	17,0	<0,01	43	28,8	18,8	<0,01
PSQ	46	48,8	16,5	47	42,3	19,0	<0,01	43	40,3	18,2	<0,01
PSQ Sorgen	46	48,3	21,4	47	39,8	22,6	<0,01	43	37,8	20,7	<0,01
PSQ Anspannung	46	59,8	21,7	47	46,7	23,9	<0,01	43	43,2	24,2	<0,01
PSQ Freude	46	49,5	20,1	47	51,5	25,2	n.s.	43	53,4	23,9	n.s.
PSQ Anforderung	46	51,8	24,6	47	45,5	22,4	<0,05	43	45,2	23,3	n.s.
COPE EC	46	12,4	3,4	47	11,5	3,1	<0,01	43	11,8	3,0	n.s.
COPE SC	46	13,1	3,6	47	13,5	3,4	n.s.	43	13,8	3,7	n.s.
COPE FP	46	13,0	3,9	47	13,3	3,8	n.s.	43	13,8	4,0	n.s.
COPE AC	46	10,8	2,4	47	11,3	2,6	n.s.	43	11,2	2,2	n.s.
GAD7	45	8,5	4,3	47	7,0	4,9	<0,05	43	6,0	3,2	<0,01
ADSL	45	19,3	11,0	46	12,1	10,3	<0,01	42	15,4	10,0	<0,05

Wilcoxon-Signed-Ranks-Test

3.4.1.2. Effekt der TRT+ auf neuroimmunologische Parameter

Die Kortisolkonzentration von t0 (MW= 47,89; SE=23,87) zeigte nach der Therapie zu t1 (MW= 59,1+-30,9ng/ml) eine signifikante mittlere Zunahme ($p<0,05$), die sich bis zur follow-up-Untersuchung bei t2 (MW t2= 69,9+-38,61ng/ml) im Mittel um weitere 10,8 ng/ml fortsetzte ($p<0,05$). Von Beginn der Therapie bis zu t2 stieg die mittlere Kortisolkonzentration um 45,96% ($p<0,01$).

Für alle weiteren immunologischen Parameter konnten keine signifikanten Veränderungen nachgewiesen werden. Siehe auch Abb.28.

Abb.28: neuroimmunologischer Verlauf innerhalb der Gruppe A (TRT+)

		t0			t1			t0 vs. t1	t2			t0 vs. t2
		N	MW	SE	N	MW	SE	p	N	MW	SE	p
Kortisol	ng/ml	49	47,9	23,9	46	59,1	30,9	<0,05	43	69,9	38,6	<0,01
IL-2	ng/ml	49	11,6	3,0	47	11,5	3,5	n.s.	42	12,0	3,8	n.s.
IL-4	pg/ml	48	226,2	223,4	45	219,2	224,5	n.s.	41	201,9	189,1	n.s.
IL-6	ng/ml	46	2,6	1,6	45	2,7	1,8	n.s.	42	3,2	2,2	n.s.
IL-10	pg/ml	47	174,5	199,5	41	117,0	128,8	n.s.	40	147,2	156,1	n.s.
TNF α	ng/ml	49	5,8	3,8	46	5,5	3,8	n.s.	41	5,0	3,3	n.s.
IFN γ	ng/ml	42	119,3	87,5	39	126,4	82,9	n.s.	35	118,1	86,8	n.s.
NGF	pg/ml	48	79,3	220,2	46	80,3	220,4	n.s.	41	91,1	241,3	n.s.
BDNF	ng/ml	47	2,5	0,7	45	2,7	0,7	n.s.	42	2,7	0,7	n.s.
SP	pg/ml	44	206,6	110,2	45	201,2	110,2	n.s.	42	195,5	121,5	n.s.

Wilcoxon-Signed-Ranks-Test

3.4.2. Effekte der PMR

3.4.2.1. Effekt der PMR auf Psychometrische Parameter

Die bei der Gruppe B durchgeführte PMR bewirkte eine signifikante Verminderung der Scores der Fragebögen TF, PSQ, und ADSL und der Subkategorien des PSQ „Sorgen“, „Anspannung“, und „Anforderung“, siehe Abb.29.

Abb.29.: psychometrischer Verlauf innerhalb der Gruppe B (PMR)

	t0			t1			t0 vs. t1 p
	N	MW	SE	N	MW	SE	
TF	48	32,5	16,9	39	31,0	20,7	<0,05
PSQ	48	43,8	15,4	39	34,7	17,0	<0,01
PSQ Sorgen	48	38,4	19,6	39	32,7	20,3	<0,05
PSQ Anspannung	48	54,6	19,7	39	41,1	19,0	<0,01
PSQ Freude	48	47,2	23,4	39	53,7	24,9	n.s.
PSQ Anforderung	48	46,9	21,9	39	39,5	19,9	<0,05
COPE EC	48	11,5	3,4	39	11,0	3,1	n.s.
COPE SC	48	12,5	3,7	39	12,1	3,7	n.s.
COPE FP	48	12,1	3,4	39	12,7	3,5	n.s.
COPE AC	48	10,9	3,0	39	11,0	3,3	n.s.
GAD7	48	7,4	3,7	39	5,8	3,6	n.s.
ADSL	48	16,9	8,7	38	14,6	11,1	<0,05

Wilcoxon-Signed-Ranks-Test

3.4.2.2. Effekt der PMR auf Neuroimmunologische Parameter

IL-2 nahm von t0 zu t1 von 11,3 +-4,3 ng/ml auf 11,9+-4,6 ng/ml zu. Es wurden keine weiteren signifikanten Veränderungen im Verlauf beobachtet. Siehe auch Abb.30.

Abb.30.: neuroimmunologischer Verlauf innerhalb der Gruppe B (PMR)

		t0			t1			t0 vs. t1
		N	MW	SE	N	MW	SE	p
Kortisol	ng/ml	50	62,3	26,1	42	57,8	22,5	n.s.
IL-2	ng/ml	50	11,3	4,3	40	11,9	4,6	<0,05
IL-4	pg/ml	48	144,5	141,5	37	145,6	140,9	n.s.
IL-6	ng/ml	49	1,8	1,7	42	2,1	2,2	n.s.
IL-10	pg/ml	49	112,2	131,8	37	108,4	138,5	n.s.
TNFα	ng/ml	50	4,1	3,0	42	4,3	3,1	n.s.
IFNγ	ng/ml	40	111,1	83,5	34	114,4	89,1	n.s.
NGF	pg/ml	48	51,4	188,7	41	18,4	73,5	n.s.
BDNF	ng/ml	49	2,9	0,9	41	2,9	0,8	n.s.
SP	pg/ml	45	308,7	144,0	38	281,5	109,6	n.s.

Wilcoxon-Signed-Ranks-Test

4. Diskussion

4.1. Interpretation der Ergebnisse

4.1.1. Erkenntnisse über das Krankheitsgeschehen bei Tinnitus

4.1.1.1. Psychometrische Veränderungen bei Tinnitus

Die vorliegenden psychometrischen Ergebnisse decken sich mit der bereits erläuterten Studienlage über die Belastung und das Stressempfinden von Tinnituspatienten. Dabei sind nicht nur die Patienten schwer belastet, für die eine intensive TRT+ unumgänglich erschien, sondern auch solche, bei denen das Erlernen eines Entspannungsverfahrens als ausreichende Therapie erachtet wurde. Zwischen diesen beiden Gruppen A und B bestanden nur geringfügige Differenzen der Psychometricscores; lediglich die PSQ-Subskala „Sorgen“ war bei der PMR-Gruppe B signifikant niedriger. Möglicherweise hat diese Manifestation von Stress einen Einfluss auf die Entscheidung des Patienten und/oder die Einschätzung des Therapeuten, welche Intensität von Therapie erforderlich ist. Verglichen mit den Kontrollen zeigt die B-Gruppe (PMR) in allen weiteren psychometrischen Parametern ein sehr ähnliches Belastungsprofil wie die A-Gruppe (TRT+). Eine erhöhte psychische Komorbidität bei Tinnitus im Sinne von Depressivität und Angst konnte bestätigt werden. Die vorliegende Studie zeigt ebenfalls, dass „Sorgen“ und „Anspannung“, die als interne Belastungsfaktoren betrachtet werden können, sowie auch „Anforderung“, welche externe Stressoren repräsentiert, bei Tinnituspatienten signifikant erhöht sind und dass von Tinnitus betroffene Menschen eine deutlich geringere Lebensfreude verspüren.

4.1.1.2. Neuroimmunologischer Status der Gruppe B

Wenn auch die psychometrischen Parameter der Gruppen A und B, abgesehen vom PSQ-Subscore „Sorgen“, kaum Unterschiede zeigen, spiegelt sich der unterschiedliche Therapiebedarf durchaus in den Laborparametern wieder. Die Kortisolkonzentration der Gruppe-B-Patienten unterscheidet sich nicht signifikant von der der Gesunden, ist aber tendenziell leicht erhöht. Da bekannt ist, dass chronischer Stress bei anderen lang andauernden Erkrankungen wie PTSD, Chronic Fatigue Syndrom oder Fibromyalgie die Serumkortisolkonzentration verringert [57], und bei schwer belasteten Tinnituspatienten der morgentliche Kortisol-Peak verringert ist, ist es möglich, dass die Patienten der B-

Gruppe im Durchschnitt nicht chronisch gestresst sind, sondern sich unter ihnen vermehrt Menschen im akuten Stresszustand befinden. Die Psychometrie zeigt eine erhebliche Stressbelastung der B-Gruppe auf. Akuter Stress kann mit einer vermehrten Kortisolausschüttung einhergehen. Zudem sind bei der B- im Vergleich zur der gesunden C-Gruppe IFN γ und TNF α signifikant erhöht, laut Matalka et al. (2003) ist ein Anstieg dieser beiden TH1-Zytokine, neben einer Leukozytose und vorübergehenden Erhöhung von CD8+ und NK-Zellen, eine typische Reaktion auf kurz andauernden Stress, während die Th2-Zytokine IL-10 und IL-4 keine Veränderung zeigen [202].

Diese Beobachtung überrascht von daher, dass die B-Patienten durchaus unter chronischem Tinnitus leiden und laut PSQ größtenteils erheblich gestresst waren. So wären endokrine Veränderungen entsprechend chronischen Stresses anzunehmen gewesen, die B-Gruppe weist aber ein typisches Profil von akutem Stress auf. Gegen eine schwere Dekompensation spricht auch der geringere Behandlungsbedarf. Betrachtet man den chronischen Tinnitus und seine sich gegenseitig verstärkende Wechselwirkung mit psychischem Stress als progredient verlaufende Abwärtsspirale, so scheint sich unsere B-Gruppe weiter am Anfang dieser Tinnitus-Stress-Kaskade zu befinden. In diesem Stadium scheint sich das Morgenkortisol und die proinflammatorischen Zytokine IL-6 und IL-10 noch nicht wesentlich verändert zu haben, und ein TH2-Shift noch nicht statt zu finden. Die Patienten fühlen sich dennoch gestresst, haben auch mehr Angst und Depressionssymptome und suchen Hilfe zur Stressreduktion. Depressive Symptome bestehen zwar (siehe ADSL-Scores), es scheinen allerdings noch keine manifesten Depressionen zu bestehen, die laut einer Metaanalyse von Dowlati et al. mit IL-6-Erhöhungen einhergehen würden [203]. Interessanterweise ist dagegen TNF α depressionstypisch erhöht. Auch IFN γ ist bei der B-Gruppe erhöht und in einer klinischen Studie entwickelten 45% der mit IFN therapierten Patienten eine depressive Symptomatik die sich nach Therapieende zurückbildete [204].

Zusammenfassend lässt sich das Zytokinprofil der B-Gruppe als aktivierten Zustand beschreiben, der dem des akuten Stresses ähnelt, aber viele Veränderungen nicht aufweist, die bei Patienten mit schwerem Behandlungsbedarf zu beobachten sind.

Bei Chronischem Tinnitus scheint TNF α dauerhaft erhöht zu sein, und das bereits in einem Stadium, in dem andere neuroendokrine Veränderungen noch nicht stattgefunden haben. hier könnte sich der Pathomechanismus für die häufige affektive

Komorbidität bei Tinnitus verbergen. In der vorliegenden Studie erbrachte eine erfolgreiche Reduktion der Stresswahrnehmung mittels PMR keine signifikante Senkung von TNF α , obwohl auch Angst und Depressivität gesenkt wurden. Bei einer Studie von Weber et al. wurde dagegen eine TNF α -Abnahme nach 10-wöchigem Relaxationstraining beobachtet [169]. Möglicherweise befanden sich diese 26 untersuchten Patienten in einer noch früheren Ebene der Tinnitus-Stress-Kaskade und es wäre ein Teil des Chronifizierungsgeschehens, dass sich die Zytokinverschiebungen im Sinne eines immunologischen Gedächtnisses nicht mehr entgegengesetzt beeinflussen ließen. Eine längerfristige TNF α -Erhöhung ohne entsprechende Infektion als Ursache stellt jedenfalls eine ernstzunehmende Schiefelage des zellulären Immunsystems dar. Physiologisch liegt ein TNF α -Anstieg nur während akutem Stress vor, der definitionsgemäß vorübergehend und kurzzeitig auftritt. Es spielt jedoch im Krankheitsgeschehen zahlreicher langfristiger Erkrankungen wie beispielsweise M.Crohn, chronischer Polyarthrit, Psoriasis und Alzheimer [205] eine zentrale Rolle, fördert die Insulinresistenz bei Diabetes Mellitus [206] und die Osteoklastenaktivität [207], was zu Osteoporose führen kann, und verstärkt entzündliche Prozesse und TH-2-Shift zugunsten IL-6 und IL-10 [208]. Auch in der vorliegenden Studie korreliert TNF α in allen Gruppen mit den Interleukinen 2,4,6 und 10. In Gruppe A korreliert es zudem positiv mit dem Alter der Patienten. Da es zudem mit typischen Erkrankungen des hohen Alters in Verbindung gebracht wurde, könnte man von einer beschleunigten endokrinologischen Alterung durch Tinnitus sprechen. Da TNF α bereits in der leicht belasteten B-Gruppe erhöht ist und in der A-Gruppe signifikant noch höher liegt, bei der dann auch die im folgenden diskutierten weiteren Veränderungen auftreten, lässt sich vermuten, dass dieses Zytokin auch beim fortschreiten der Tinnitus-Stress-Kaskade eine bedeutende Rolle spielt. Hier könnte sich ein neuer Therapeutischer Ansatz erschließen. TNF α -Antagonisten werden seit über 15 Jahren zur Behandlung oben genannter entzündlicher Erkrankungen eingesetzt [209] und die vorliegende Studie zeigt, dass auch chronisch-dekompensiertem Tinnitus eine entzündliche Komponente beinhaltet.

4.1.1.3. Neuroimmunologischer Status der Gruppe A

Die A-Gruppe (TRT+) zeigt sowohl im Gegensatz zu den Gesunden als auch zur Gruppe B eine deutlich verminderte Morgenkortisolkonzentration, wie sie auch bei PTSD [210], chronic fatigue syndrome, Fibromyalgie, Rheumatoider Arthritis und Asthma [211] zu beobachten ist. Hier muss zwischen Ursache und Wirkung unterschieden werden. Bei Asthma wurde eine Th2-Zytokin-vermittelte eosinophile Entzündung als ursächlicher Pathomechanismus identifiziert. [212] Und auch autoimmune Erkrankungen scheinen eher durch überschießende Immunreaktion aufgrund von Kortisolmangel mitbedingt zu sein, obwohl die Krankheit selbst durch chronischen Stress den Hypokortisolismus weiter verstärken kann. Der PTSD dagegen liegt individuell eine definitive Ursache in Form eines stressvollen Events zugrunde und auch bei Tinnitus ist der Hauptstressor klar zu identifizieren. Zudem kommt, dass, wie die B-Gruppe (PMR) der vorliegenden Studie zeigt, nicht alle Tinnituspatienten einen Kortisolmangel aufweisen, sondern sich dieser erst in der fortgeschrittenen Tinnitus-Stress-Kaskade manifestiert. An diesem späteren Punkt sind auch die Zytokine IL-4, IL-6 und IL-10 im Vergleich zu den Kontrollen signifikant erhöht, was einem bei chronischem Stress typischen TH-2-Shift entsprechen könnte.

Allerdings sind die TH-1-Zytokine TNF α und IFN γ nicht TH-2-Shift-typisch vermindert, sondern, im Gegenteil, signifikant erhöht. Hier zeigt sich eine Parallele zur Depression, die sich bereits in der B-Gruppe andeutete. Im Vergleich zu dieser liegt TNF α bei der A-Gruppe sogar noch höher, die Manifestation eines depressionsartigen Zustandes ist scheinbar weiter fortgeschritten.

Der Verdacht, dass es wie bei Depression als auch bei chronischem Stress im Tiermodell auch bei Tinnitus zu einem BDNF-Mangel kommen kann, hat sich in der vorliegenden Studie bestätigt. Während die B-Gruppe diesbezüglich keine Veränderungen zeigte, wies die A-Gruppe eine erhebliche und signifikante Verminderung von BDNF im Serum auf. Dies könnte darauf hinweisen, dass es bei Tinnitus ähnliche neurologische Veränderungen wie bei Depression gibt. Wie es zum BDNF-Mangel kommt, ist für Tinnitus unbekannt. Theoretisch kommt der gleiche Pathomechanismus wie bei chronischem Stress in Frage. Stress führt zu einer Glutamatausschüttung z.B. in Frontalhirn [213] und Amygdala [214] und auch zur Aktivierung von Glutamat-NMDA-Rezeptoren im Hippocampus [90],[89]. Glutamat stimuliert CA3-Neurone des Hippocampus, nach längerfristiger Stimulation wirkt es jedoch neurotoxisch und führte bei Ratten zu einer Abnahme des

Hippocampusvolumens [91], also der Struktur, die maßgeblich für BDNF-Ausschüttung verantwortlich ist und die höchste Kortisolkonzentration und Dichte an Mineral- und Glukokortikoidrezeptoren aller ZNS-Strukturen aufweist [45],[63]. Der BDNF-Verminderung könnte also eine Hippocampusschädigung oder sogar -atrophie zugrunde liegen. Es sollte in weiteren Studien überprüft werden ob Tinnitus tatsächlich zu derartigen degenerativen Effekten führt. Sollte sich dieser dringende Verdacht bestätigen, wäre es sinnvoll, diese bei Betroffenen frühzeitig zu erkennen und entsprechende Interventionen einzuleiten. Eine Atrophie von Teilen des Limbischen Systems könnte Verbesserungschancen bei Tinnitus erheblich mindern, da dieses sowohl in der Stressbewertung im Sinne von Lazarus [42], als auch der Modulation der Tinnituswahrnehmung [4] und der Reorganisation beim Tinnitus-Retraining eine zentrale Rolle spielt. Ein weiterer möglicher Verursacher der BDNF-Reduktion könnte in der durch den beobachteten Hypokortisolismus bedingten Kortisol-Unterstimulation liegen. Datson et al. zeigten bereits 2001, dass 70-100 Gene im Hippocampus je nach Kortisolkonzentration unterschiedlich stark exprimiert werden [48], die Wirkungsweise dieser Gene und die mit ihnen verbundenen Mechanismen sind trotz intensiver Forschung in diesem Gebiet noch größtenteils unklar. Da sich aber abzeichnet, dass Kortison einen Schlüsselregulator der neuronalen Plastizität bei Stress darstellt, und das Hippocampus dessen Hauptziel im ZNS ist [215], ist anzunehmen, dass Hypokortisolismus und Kortisolrezeptor-Downregulation, wie sie ja physiologisch nicht auftreten, erhebliche genomische wie auch nichtgenomische Effekte am Hippocampus auslösen können und über diese eine Hauptrolle im Pathomechanismus chronischer Stresserkrankungen spielen. In diesem Sinne wäre eine Kortisolsubstitutionstherapie denkbar, sobald das Stadium des Hypokortisolismus auftritt.

Ein weiterer denkbarer Mechanismus könnte ein bislang unbekanntes negatives Feedback sein. BDNF verstärkt die glutamaterge synaptische Übertragungsrate in Hippocampus-Zellkulturen [99]. Wenn die glutamaterge Stimulation ein neurotoxisches Level erreicht wäre eine verminderte BDNF-Ausschüttung oder auch eine verminderte ACTH/CRH-Produktion als eine Art Schutzreflex denkbar.

Auch wenn noch keine medikamentöse Therapie für das dekompensierte Stadium des Hypokortisolismus existiert wie auch eine Kortisolsubstitution in diesem Stadium unerprobt ist, erscheint die routinemäßige Bestimmung des Morgenkortisollevels bei Tinnituspatienten aus verschiedenen Gründen denkbar sinnvoll. Zum einen gibt es Auskunft über den aktuellen Stand des Patienten in der Stress-Tinnitus-

Chronifizierungskaskade. Da ein verminderter Kortisolspiegel parallel zu der BDNF-Verminderung bei Gruppe A, jedoch nicht bei Gruppe B auftrat, könnte es Hinweise auf einen ebenfalls bestehenden BDNF-Mangel liefern, der wie bereits erwähnt, frühzeitig erkannt werden sollte. Im Vergleich zur BDNF-Bestimmung ist die Kortisolquantifizierung kostengünstiger, in weitaus mehr Studien erprobt und durch die Möglichkeit der Speichelmessung nichtinvasiv. Eine hohe Therapiebedürftigkeit ging in der vorliegenden Studie signifikant mit verringerter Kortisolkonzentration einher. Eine Korrelation zu den erhobenen Psychometrischen Daten besteht für Kortisol nicht, es liefert also Informationen, die nicht psychometrisch zu ermitteln sind. Zum anderen könnte es die Verlaufskontrolle verbessern, also sowohl Verschlechterung des Zustands und endokrine Erschöpfung anzeigen als auch zur Beurteilung von Therapieerfolgen dienen, wie am Beispiel der A-Gruppe nach TRT+ zu erkennen. Bei Chronischer Depression geht Hypokortisolismus mit erheblich erhöhten Rückfallquoten einher [216]. Da viele Parallelen zur Depression aufgezeigt wurden, wäre es möglich, dass diese prädiktive Komponente auch für Tinnitus zutrifft.

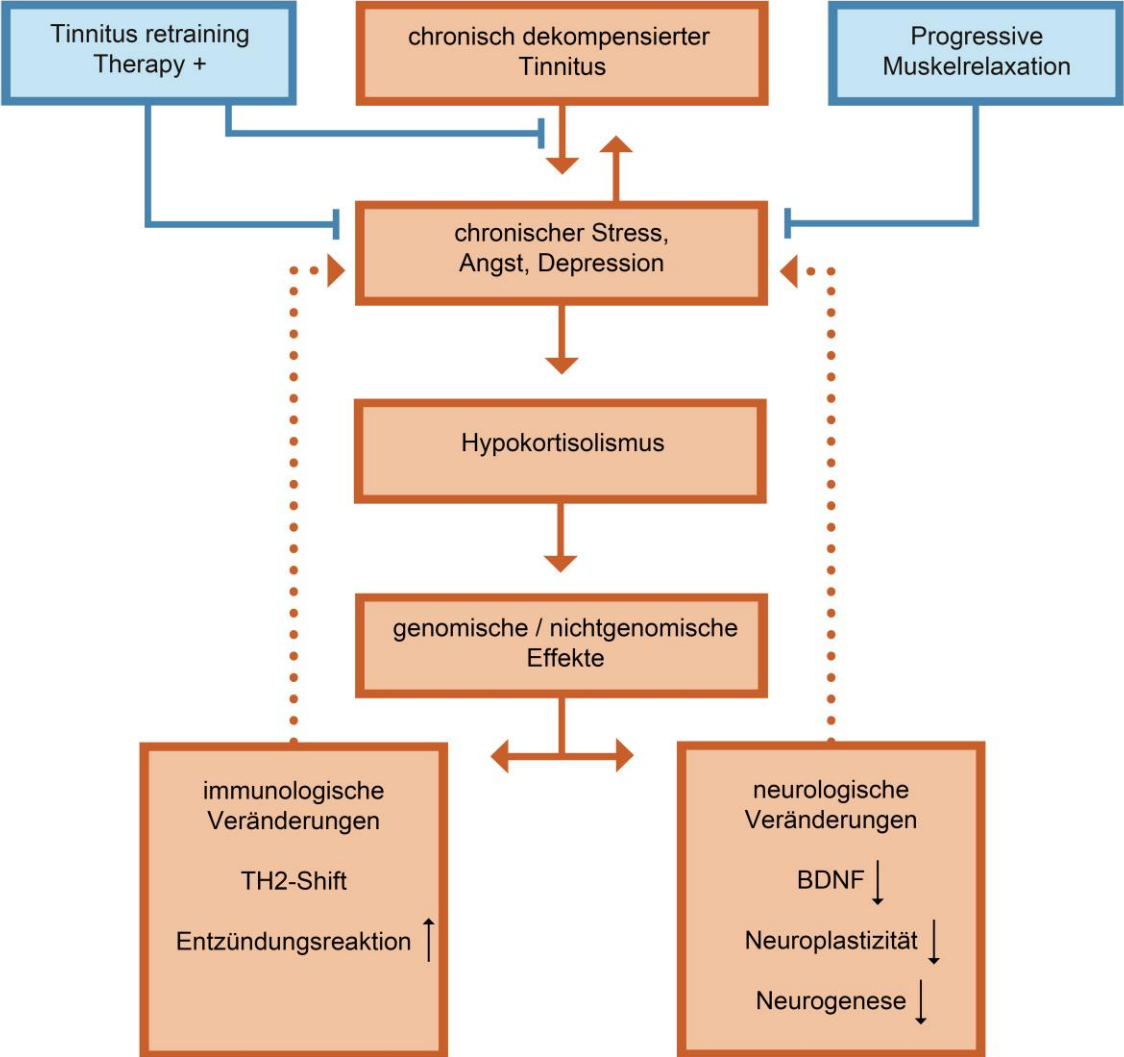
Interessant ist, dass die durchgeführte TRT+ einen erheblichen Effekt auf die Kortisolkonzentration hatte, alle übrigen neuroimmunologischen Parameter jedoch nahezu unverändert blieben. So war der Hypokortisolismus direkt nach Therapieende behoben, der Mittelwert war fast auf Niveau der Gesunden gestiegen und stieg bis zur Follow-Up-Untersuchung sogar über den Mittelwert der Kontrollen. Scheinbar wurde der chronische Stress während der Therapie durchbrochen, und es konnte eine endokrine Erholung stattfinden. Nach der Therapie war der Stress zwar vermindert, wie die Psychometrie zeigt, stieg aber wieder leicht an, was sich jedoch nicht sofort in Richtung Hypokortisolismus sondern eher in Richtung akuten Stress manifestierte. Auch möglich ist, dass die Kortisolrezeptor-Downregulation wie sie ja bei chronischem Stress vermutet wird, dazu geführt hat, dass für eine definierte Sollaktivität nach längerer Stressphase eine höhere Gesamtkonzentration erforderlich ist.

Wie die neurologischen Veränderungen ist auch ein Teil der immunologischen Geschehnisse bei schwerem Tinnitus scheinbar nicht durch intensive Therapie rückgängig zu beeinflussen. Möglicherweise braucht die Auswirkung der Stressreduktion und Kortisolnormalisierung auf die humoralen Veränderungen aber auch länger als den in der vorliegenden Studie beobachteten Zeitraum und eine Reduktion des TH2-Shifts könnte durch eine spätere Follow-Up-Untersuchung erst

erkannt werden. Für kommende Studien ist also ein längerer Beobachtungszeitraum zu empfehlen.

TH2-Shift und Hypokortisolismus verstärken die humorale Immunantwort und Entzündungsprozesse, so dass stark belastete Tinnituspatienten vermutlich einer höheren Gefahr ausgesetzt sind, Erkrankungen wie Asthma Bronchiale, Atopische Dermatitis oder Rheumatoide Arthritis zu entwickeln. Theoretisch erhöht die mit dem TH2-Shift einhergehende TH1-Hemmung die Vulnerabilität gegen Lepra, TBC und Viruserkrankungen wie z.B. Grippe, Erkältung, Zoster und Virushepatitiden, könnte also sowohl die Häufigkeit solcher Erkrankungen vermehren als auch schwerere Verläufe dieser verursachen.

Abb.31. Hypothetische Darstellung möglicher Tinnitus-Stress-Kaskade



4.1.2. Erkenntnisse über die Psychometrischen Parameter bei Tinnitus

Im Vergleich mit Gesunden liefern die verwendeten psychometrischen Fragebögen durchaus die zu erwartenden Ergebnisse. Paradox erscheint jedoch, dass die PMR-Patienten (B-Gruppe) ein wesentlich geringeres Therapiebedürfnis als die TRT+-Patienten (A-Gruppe) hatten, sich dieses aber nicht signifikant in der Psychometrie widerspiegelt. Da auch die oben diskutierten Ergebnisse der neuroimmunologischen Messungen für eine erhebliche Mehrbelastung der TRT+-Patienten sprechen, drängt sich der Verdacht auf, dass Tinnitusfragebogen wie auch Percieved Stress Questionnaire nicht geeignet sind, um den tatsächlichen Therapiebedarf oder den Chronifizierungsstatus bei Tinnitus zu ermitteln. Die Fragen des PSQ richten sich nach den vergangenen vier Wochen, das Chronifizierungsgeschehen von Tinnitus spielt sich jedoch in vielen Monaten bis Jahren ab. Der PSQ vermag scheinbar nicht, akuten von chronischem Stress zu unterscheiden. Entsprechend korrelieren die PSQ-Scores auch nicht mit den Kortisolmessungen, die eine recht zuverlässige Aussage über die Differenzierung von akutem zu chronischem Stress zulassen, wie der Vergleich zwischen den drei Gruppen sowie auch zahlreiche vorausgegangene Studien zeigen (siehe Einleitung). Die Erweiterung des PSQ um Items zu Verlauf und Dauer des Stresses wäre zwar ein denkbarer Lösungsansatz, erscheint jedoch dadurch limitiert, dass die akute Befindlichkeit des Patienten auch seine momentane Einschätzung von vergangenen Erlebnissen beeinflusst. Vor diesem Hintergrund erscheint die ärztliche Exploration im direkten Patientengespräch zur Feststellung des Therapiebedarfs als eminent wichtig. Die in der vorliegenden Studie anhand solcher Gespräche erfolgte Einteilung in die Gruppen A und B erscheint durch die Baseline-Korrelationen mit dem immunologischen Status als äußerst aussagekräftig.

Da chronischer im Gegensatz zu akutem Stress maßgeblich zur Pathogenese von chronisch-dekompensiertem Tinnitus beiträgt, wäre es für kommende Studien wichtig, diese beiden Zustände zu differenzieren. Dies könnte anhand einer initialen Kortisolmessung erfolgen. Die individuelle Beurteilung durch Therapeuten hat sich in vorliegender Studie zwar bewährt, es mangelt dieser Methode aber an Objektivität und Wiederholbarkeit. Möglicherweise wäre auf dessen Basis die Entwicklung eines neuen Stressmessinstruments in Form eines guided Interviews möglich.

Ähnliches gilt für die Einteilung in kompensierten und dekompensierten Tinnitus anhand des TF-Scores. Auch hier bestehen erhebliche Differenzen zu der

Therapeutenentscheidung. Laut TF befand sich in der B-Gruppe (PMR) sogar ein dekompensierter Patient mehr als in der A-Gruppe (TRT+), während in letzterer 36 Patienten unter dem TF-cutoff-Level lagen und dennoch intensivster Therapie bedurften. Vor diesem Hintergrund erscheint es obsolet, anhand von Psychometriebestimmungen eine Therapieentscheidung bei Tinnituspatienten zu fällen, was in hochspezialisierten Tinnituseinrichtungen wie der Charité nicht vorkommt; In der hausärztlichen Praxis sowie in weniger spezialisierten Kliniken ist dies aber durchaus denkbar, zumal der Tinnitusfragebogen nach Goebel und Hiller einen Cut-off-Level zur vermeintlichen Differenzierung kompensierter und dekompensierter Formen beinhaltet. PSQ, TF, GAD7 und ADSL haben sich dennoch für den individuellen Vergleich einzelner Patienten zu verschiedenen Zeitpunkten, wie zum Beispiel im Therapieverlauf, auch in der vorliegenden Studie bewährt, ihre Verwendung ist also für solchartige Zwecke weiterhin zu empfehlen. Zur objektiven Differenzierung von niedrigem zu hohem Behandlungsbedarf bei Tinnitus wie auch zur Einteilung von chronischem zu akutem Stress in der Forschung wäre dagegen die Entwicklung neuer Instrumente notwendig. Auch einige in der vorliegenden Arbeit zitierte Studien haben Stress mithilfe von psychometrischen Fragebögen gemessen. Unter Berücksichtigung der nun vorliegenden Daten müssen diese Ergebnisse dieser Untersuchungen kritisch hinterfragt werden. Hier könnte auch eine Ursache der variierenden Studienergebnisse in der Stressforschung liegen. Eine neue Validierung der Fragebögen mithilfe von objektiven Messparametern wie Kortisol- oder Katecholaminbestimmungen erscheint notwendig.

4.2. Kritische Betrachtung der eigenen Ergebnisse

4.2.1. unvollständige Daten

Da nicht alle Teilnehmer/-innen zu allen Terminen erschienen, nicht ausnahmslos alle Fragebögen vollständig und eindeutig ausgefüllt wurden und aus labortechnischen Gründen einzelne Messwerte verloren gingen, sind nicht alle Werte bei allen Studienteilnehmern/-innen vorhanden, so dass die betrachteten Gruppen unterschiedlich zusammengesetzt und nicht immer gleich groß sind. Diese Tatsache muss berücksichtigt werden, jedoch schränkt sie die Aussagekraft der Ergebnisse aus statistischer Sicht nur geringfügig ein.

4.2.2. Limitationen der Psychometrie

Die psychometrische Erfassung über eine Selbsteinschätzung bezieht lediglich bewusste Teile des Belastungserlebens mit ein und auch wenn, wie beispielsweise im PSQ, gezielt nach einem vergangenen Zeitraum gefragt wird, stellt sie immer eine Momentaufnahme dar und ist einer kaum erfassbaren Vielzahl von Störfaktoren ausgesetzt. In zahlreichen Studien zur Validierung der verwendeten Fragebögen (siehe 2.3.) konnten derartige Confounder jedoch auch nicht ausgeschlossen werden, diese Limitation scheint also geringfügig zu sein.

4.2.3. Limitationen der Laborparameter

Auch wenn stets mit größter Konzentration und Sorgfalt, unter Supervision und nur nach gründlicher Einarbeitung durch Fachpersonal gearbeitet wurde, ist die Möglichkeit menschlicher Fehler nicht absolut auszuschließen. Ein möglicherweise größeres Fehlerpotential stellt die Tatsache dar, dass einige der untersuchten Parameter bislang unzureichend auf Einflussfaktoren untersucht wurden und viele endokrine und immunologische Zusammenhänge ungeklärt sind, sodass eine Einschätzung der Confoundereinflüsse schwierig ist. Wo es bekannte Störgrößen gab, wurde versucht diese zu minimieren, wie beispielsweise den zirkadiären Rhythmus des Kortisols durch gleichbleibende Messzeiten.

4.2.3.1. NGF

180 von 252 NGF-Messungen ergaben unter Doppelbestimmung Messwerte unter der Nachweisgrenze, ein Phänomen das bereits in anderen Humanstudien auftrat [217] und offensichtlich eine Limitation durch die Messtechnik darstellt. Ein Ausschluss von Extremwerten wurde unter diesen Umständen nicht für sinnvoll erachtet.

4.2.4. Limitationen der Kontrollgruppe

Ursprünglich war als weitere Kontrollgruppe eine Wartegruppe von Tinnituspatienten geplant. Da im Verlauf der Studie die Wartezeiten der Patienten auf eine Therapie gesenkt werden konnten, wurde die Wartegruppe eingestellt, da die schnellstmögliche Therapie der Patienten Vorrang hatte.

Eine größere Aussagekraft hätte die Studie wenn ein Vergleich mit den gesunden Kontrollen über alle Zeitpunkte durchgeführt worden wäre, dieses Vorhaben wurde von der Ethikkommission der Charité abgelehnt.

4.3. Ausblick

Tinnitus ist eine Krankheit, die weltweit und häufiger auftritt als jede andere Erkrankung der Hals-Nasen-Ohrenheilkunde. Für eine kaum erfassbare Zahl an Menschen stellt die chronisch dekompenzierte Form und der mit ihr vergesellschaftete psychische Stress eine erhebliche Einschränkung ihrer Lebensqualität und sozialen Kapazitäten bishin zur existenziellen Bedrohung dar.

Wie auch die individuellen soziokulturellen und volkswirtschaftlichen Auswirkungen von Tinnitus lange Zeit unterschätzt wurden, so stellt sich auch sein Pathomechanismus als immer komplexer heraus. Die vorliegende Studie bestätigt, dass neben der audiologischen und der Stresskomponente auch erhebliche Veränderungen im Immunsystem und Nervensystem vorliegen, und dass die Pathogenese der Tinnitus-Stress-Kaskade in Stadien verläuft, in denen diese Neuroimmunologischen Veränderungen Schritt für Schritt auftreten. Konkret konnte gezeigt werden, dass in einem früheren Stadium, in dem die Patienten bereits unter schwerem Stress leiden, aber nach Therapeuteneinschätzung keiner Maximaltherapie bedürfen, nach Leukozytenstimulation erhöhte Werte für TNF α und IFN γ auftraten. Im späteren Verlauf der Kaskade steigt TNF α scheinbar weiter an und es treten Veränderungen auf wie Hypokortisolismus, TH2-Shift, BDNF-Reduktion und Substanz-P-Verminderung, welche bereits bei anderen schweren chronischen Erkrankungen gezeigt wurden. Möglicherweise entstehen letztere beide durch die Stressüberstimulation der Glutamatausschüttung auf neurotoxische Konzentrationen und daraus resultierende Zellschäden an Strukturen wie dem Hippocampus, oder/ und durch Hypokortisolismus veränderte genomische Effekte, Unterstimulation und dadurch bedingte depressionsartige Veränderungen. Jedenfalls scheint die synaptische Plastizität und Neurogenese herabgesetzt und die Heilungschance in diesem Stadium weiter vermindert zu sein, zumal die Mehrzahl der Therapieansätze auf Lernprozessen beruhen.

Da die Patientengruppe ohne Hypokortisolismus auch keine SP- und BDNF-Veränderungen aufwies und bei Depression bereits Zusammenhänge zwischen Kortisol und BDNF vermutet werden, kann es sein, dass eine frühzeitige Behebung eines eintretenden Kortisolmangels einen wichtigen Pfad der Neuro-Pathogenese bei Tinnitus unterbrechen könnte. Dies umzusetzen würde regelmässige Kortisolkontrollen bei

chronischen Tinnituspatienten und eine rasche Intervention bei beginnendem Hypokortisolismus erforderlich machen. Letztere könnte eine TRT+ darstellen, bei Nonrespondern wäre möglicherweise auch eine Kortisolsubstitutionstherapie denkbar. Präventiv erscheint das Erlernen eines Entspannungsverfahrens wie der PMR als unbedingt sinnvoll um die Entstehung von chronischem Stress sowie resultierenden Kortisolsenkungen und neurotoxischen Glutamatkonzentrationen zu verhindern. So konnte die mit relativ geringem Aufwand verbundene PMR die Belastung durch den Tinnitus und die Begleitsymptomatik Stress, Angst und Depressivität erheblich mindern. Zitierte Studie von Weber et al. zeigte, dass die PMR bei manchen Patienten auch zu einer Verminderung von TNF α führen kann.

Zur Behandlung des Hypokortisolismus hat sich die TRT+ als hochwirksam erwiesen. In längerfristigen Beobachtungen muss nun getestet werden, ob eine Kortisolnormalisierung im späteren Verlauf auch eine Verbesserung des TH2-Shifts und der neurologischen Veränderungen bewirkt, hierzu würde sich eine weitere Follow-Up-Studie mit den vorliegenden Gruppen anbieten. Falls dies nicht zutreffen sollte, wäre es angezeigt, 1.: die genauen Ursachen der neuroendokrinen Schiefelage zu identifizieren und 2.: Mögliche Therapieergänzungen zur TRT+ zu suchen. Hierzu bietet die vorliegende Studie folgende Ansätze: Da IFN γ und TNF α bereits bei den leicht eingeschränkten Patienten erhöht ist und TNF α mit den Zytokinen des TH2-Shiftes korreliert könnte eine Reduktion dessen, beispielsweise mithilfe monoklonaler Antikörper, möglicherweise den Chronifizierungsprozess einschränken.

Zur objektiven Ermittlung des neuroendokrinen Zustandes von Tinnituspatienten ist die Entwicklung und Etablierung neuer Diagnostik notwendig, auch hier scheint die Kortisolquantifizierung sinnvoll. Auf den verschiedenen Stufen der Tinnitus-Stress-Kaskade zeigen die Patienten im Therapeutengespräch ein unterschiedliches Therapiebedürfnis, das sich mit dem tatsächlichen Therapiebedarf deckt, der z.B. an einem Hypokortisolismus oder BDNF-Mangel sichtbar ist. Die eingesetzten Fragebögen TF, PSQ, COPE, GAD7 und ADSL konnten zu dieser Ermittlung nicht eingesetzt werden. Dass ein scheinbar so viel subjektiveres Arzt-Patienten-Gespräch der valider wirkenden Psychometrie in der Ermittlung des Therapiebedarfs so hoch überlegen war, setzt ein deutliches Signal an den sich in vielen Fachrichtungen fortschreitenden Trend, sich mehr und mehr auf durch Patienten ausgefüllte Fragebögen zu verlassen.

5. Referenzen

- 1 Jastreboff PJ, Jastreboff MM. Tinnitus retraining therapy: a different view on tinnitus. *ORL J. Otorhinolaryngol. Relat. Spec.* 2006;68:23-9.
- 2 Jastreboff PJ. Tinnitus retraining therapy. *Prog. Brain Res.* 2007;166:415–23.
- 3 Shargorodsky J, Curhan GC, Farwell WR. Prevalence and characteristics of tinnitus among US adults. *Am J Med* 2010;123:711–8.
- 4 Rauschecker JP, Leaver AM, Muhlau M. Tuning out the noise: limbic-auditory interactions in tinnitus. *Neuron* 2010;66:819–26.
- 5 Seidman MD, Jacobson GP. Update on tinnitus. *Otolaryngol Clin North Am* 1996;29:455–65.
- 6 Demeester K, van WA, Hendrickx JJ, *et al.* Prevalence of tinnitus and audiometric shape. *B-ENT* 2007;3 Suppl 7:37–49.
- 7 Coles RR. A survey of tinnitus management in National Health Service hospitals. *Clin Otolaryngol Allied Sci* 1992;17:313–6.
- 8 Axelsson A, Ringdahl A. Tinnitus--a study of its prevalence and characteristics. *Br J Audiol* 1989;23:53–62.
- 9 Cirulli F, Alleva E. The NGF saga: from animal models of psychosocial stress to stress-related psychopathology. *Front Neuroendocrinol* 2009;30:379–95.
- 10 Nagel D, Drexel MK. Epidemiologic studies of tinnitus aurium. *Auris Nasus Larynx* 1989;16 Suppl 1:S23-31.
- 11 Holgers KM, Erlandsson SI, Barrenas ML. Predictive factors for the severity of tinnitus. *Audiology* 2000;39:284–91.
- 12 Ma WL, Hidaka H, May BJ. Spontaneous activity in the inferior colliculus of CBA/J mice after manipulations that induce tinnitus. *Hear Res* 2006;212:9–21.
- 13 Vernon JA. Masking of tinnitus through a cochlear implant. *J Am Acad Audiol* 2000;11:293–4.
- 14 Helms J, Beck C, Naumann HH. *Oto-Rhino-Laryngologie in Klinik und Praxis*, in 3 Bänden Hrsg. Hans Heinz Naumann; Bd. 1. Stuttgart: Thieme, 1994
- 15 Eggermont JJ. Central tinnitus. *Auris Nasus Larynx* 2003;30S:S7-12.
- 16 Jastreboff PJ, Hazell JW. A neurophysiological approach to tinnitus: clinical implications. *Br J Audiol* 1993;27:7–17.

- 17 Gopinath B, McMahon CM, Roachtchina E, Karpa MJ, Mitchell P. Risk factors and impacts of incident tinnitus in older adults. *Ann Epid* 2010;20:129–35.
- 18 Fischer C, Joyeux O, Haguenaer JP, Mauguiere F, Schott B. Deafness and tinnitus in flare-ups in 10 cases of multiple sclerosis]. *Rev Neurol Paris* 1984;140:117–24.
- 19 Stypulkowski PH. Mechanisms of salicylate ototoxicity. *Hear Res* 1990;46:113–45.
- 20 Lee CA, Mistry D, Uppal S, Coatesworth AP. Otologic side effects of drugs. *J Laryngol Otol* 2005;119:267–71.
- 21 Zenner HP. Eine Systematik für Entstehungsmechanismen von Tinnitus. *HNO* 1998; 46: 699-711, 1998.
- 22 Mazurek B, Haupt H, Georgiewa P, Klapp BF, Reissbauer A. A model of peripherally developing hearing loss and tinnitus based on the role of hypoxia and ischemia. *Med Hypotheses* 2006;67:892–9.
- 23 Rodriguez-Casero MV, Mandelstam S, Kornberg AJ, Berkowitz RG. Acute tinnitus and hearing loss as the initial symptom of multiple sclerosis in a child. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol* 2005;69:123–6.
- 24 Mazurek B, Stover T, Haupt H, Gross J, Szczepek A. The role of cochlear neurotransmitters in tinnitus]. *HNO* 2007;55:964–71.
- 25 Weisz N, Moratti S, Meinzer M, Dohrmann K, Elbert T. Tinnitus perception and distress is related to abnormal spontaneous brain. *PLoS Med* 2005;2:e153.
- 26 Salvi RJ, Wang J, Ding D. Auditory plasticity and hyperactivity following cochlear damage. *Hear Res* 2000;147:261–74.
- 27 Kaltenbach JA, Afman CE. Hyperactivity in the dorsal cochlear nucleus after intense sound exposure and its resemblance to tone-evoked activity: a physiological model for tinnitus. *Hear Res* 2000;140:165–72.
- 28 Muhnickel W, Elbert T, Taub E, Flor H. Reorganization of auditory cortex in tinnitus. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1998;95:10340–3.
- 29 Kadner A, Viirre E, Wester DC, *et al.* Lateral inhibition in the auditory cortex: an EEG index of tinnitus? *Neuroreport* 2002;13:443–6.
- 30 Kral A, Majernik V. On lateral inhibition in the auditory system. *Gen Physiol Biophys* 1996;15:109–27.
- 31 De Ridder D., van der Loo E., Van dKK, Menovsky T, van dHP, Moller A. Theta, alpha and beta burst transcranial magnetic stimulation: brain modulation in tinnitus. *Int J Med Sci* 2007;4:237–41.

- 32 Kleinjung T, Steffens T, Langguth B, *et al.* Treatment of chronic tinnitus with neuronavigated repetitive Transcranial Magnetic Stimulation (rTMS)]. HNO 2006;54:439–44.
- 33 Lockwood AH, Salvi RJ, Coad ML, Towsley ML, Wack DS, Murphy BW. The functional neuroanatomy of tinnitus: evidence for limbic system links and neural plasticity. Neurology 1998;50:114–20.
- 34 Eichhammer P, Hajak G, Kleinjung T, Landgrebe M, Langguth B. Functional imaging of chronic tinnitus: the use of positron emission tomography. Prog Brain Res 2007;166:83–8.
- 35 Shulman A, Goldstein B, Strashun AM. Final common pathway for tinnitus: theoretical and clinical implications of neuroanatomical substrates. Int Tinnitus J 2009;15:5–50.
- 36 El Refaie A., Davis A., Kayan A., Baskill J., Lovell E., Owen V. A questionnaire study of the quality of life and quality of family life of individuals complaining of tinnitus pre-and post-attendance at a tinnitus clinic. Int J Audiol 2004;43:410–6.
- 37 Hiller W, Goebel G. A psychometric study of complaints in chronic tinnitus. J Psychosom Res 1992;36:337–48.
- 38 G. Goebel UF. Pilot study to evaluate psychiatric co-morbidity in tinnitus patients with and without hyperacusis, 2008.
- 39 Goebel G, Decot E, Marek A. Decision aids in diagnosis and choice of psychological treatment methods]. HNO 2001;49:1036–46.
- 40 Seefeldt D. Stress: Verstehen, erkennen, bewältigen ; mit praktischen Übungen für jeden. 1 ed. Leipzig: Urania-Verl., 1989
- 41 Pedrosa GF. Current aspects of psychosomatic and endocrine stress research]. Dtsch Med Wochenschr 2005;130:102–6.
- 42 Lazarus RS. Psychological stress and coping in adaptation and illness. Int J Psychiatry Med 1974;5:321–33.
- 43 Schmidt RF, Thews G, Lang F, Schmidt-Thews-Lang. Physiologie des Menschen: Mit 96 Tabellen. 28 ed. Springer-Lehrbuch. Berlin: Springer, 2000
- 44 Herman JP, Cullinan WE. Neurocircuitry of stress: central control of the hypothalamo-pituitary-adrenocortical axis. Trends Neurosci 1997;20:78–84.
- 45 Dallman MF. Stress update Adaptation of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis to chronic stress. Trends Endocrinol Metab 1993;4:62–9.
- 46 de Kloet ER, Joels M, Holsboer F. Stress and the brain: from adaptation to disease. Nat Rev Neurosci 2005;6:463–75.

- 47 Zuo J, Curtis LM, Yao X, *et al.* Glucocorticoid receptor expression in the postnatal rat cochlea. *Hear Res* 1995;87:220–7.
- 48 Datson NA, van dPJ, de KER, Vreugdenhil E. Identification of corticosteroid-responsive genes in rat hippocampus using serial. *Eur J Neurosci* 2001;14:675–89.
- 49 Chrousos GP, Kino T. Intracellular glucocorticoid signaling: a formerly simple system turns stochastic. *Sci STKE* 2005;2005:pe48.
- 50 Yamori Y, Matsumoto M, Yamabe H, Okamoto K. Augmentation of spontaneous hypertension by chronic stress in rats. *Jpn Circ J* 1969;33:399–409.
- 51 Hadcock JR, Malbon CC. Regulation of beta-adrenergic receptors by "permissive" hormones: glucocorticoids increase steady-state levels of receptor mRNA. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1988;85:8415–9.
- 52 al'Absi M, Arnett DK. Adrenocortical responses to psychological stress and risk for hypertension. *Biomed Pharmacother* 2000;54:234–44.
- 53 de Kloet ER, Vreugdenhil E, Oitzl MS, Joels M. Brain corticosteroid receptor balance in health and disease. *Endocr Rev* 1998;19:269–301.
- 54 Strohle A. The neuroendocrinology of stress and the pathophysiology and therapy of depression and anxiety]. *Nervenarzt* 2003;74:279-91; quiz 292.
- 55 Kiyohara YB, Tagao S, Tamanini F, *et al.* The BMAL1 C terminus regulates the circadian transcription feedback loop. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2006;103:10074–9.
- 56 Reul JM, de KER. Two receptor systems for corticosterone in rat brain: microdistribution and differential occupation. *Endocrinology* 1985;117:2505–11.
- 57 Maes M, Lin A, Bonaccorso S, *et al.* Increased 24-hour urinary cortisol excretion in patients with post-traumatic. *Acta Psychiatr Scand* 1998;98:328–35.
- 58 Dronjak S, Gavrilovic L, Filipovic D, Radojic MB. Immobilization and cold stress affect sympatho-adrenomedullary system and pituitary-adrenocortical axis of rats exposed to long-term isolation and. *Physiol Behav* 2004;81:409–15.
- 59 Hougaard KS, Andersen MB, Hansen AM, Hass U, Werge T, Lund SP. Effects of prenatal exposure to chronic mild stress and toluene in rats. *Neurotoxicol Teratol* 2005;27:153–67.
- 60 Koenig JI, Elmer GI, Shepard PD, *et al.* Prenatal exposure to a repeated variable stress paradigm elicits behavioral and. *Behav Brain Res* 2005;156:251–61.

- 61 Filipovic D, Gavrilovic L, Dronjak S, Demajo M, Radojcic MB. Liver glucocorticoid receptor and heat shock protein 70 levels in rats exposed to. *Physiol Res* 2008;57:205–13.
- 62 Fries E, Hesse J, Hellhammer J, Hellhammer DH. A new view on hypocortisolism. *Psychoneuroendocrinology* 2005;30:1010–6.
- 63 Holsboer F, Spengler D, Heuser I. The role of corticotropin-releasing hormone in the pathogenesis of Cushing's disease, anorexia nervosa, alcoholism, affective disorders and dementia. *Prog Brain Res* 1992;93:385–417.
- 64 Friedman TC, Mastorakos G, Newman TD, *et al.* Carbohydrate and lipid metabolism in endogenous hypercortisolism: shared features with metabolic syndrome X and NIDDM. *Endocr J* 1996;43:645–55.
- 65 Herman JP, Wiegand SJ, Watson SJ. Regulation of basal corticotropin-releasing hormone and arginine vasopressin messenger ribonucleic acid expression in the paraventricular nucleus: effects of selective hypothalamic deafferentations. *Endocrinology* 1990;127:2408–17.
- 66 Fink G, Dow RC, Casley D, *et al.* Atrial natriuretic peptide is a physiological inhibitor of ACTH release: evidence. *J Endocrinol* 1991;131:R9-12.
- 67 Scott LV, Dinan TG. Vasopressin and the regulation of hypothalamic-pituitary-adrenal axis function. *Life Sci* 1998;62:1985–98.
- 68 Magarinos AM, McEwen BS. Stress-induced atrophy of apical dendrites of hippocampal CA3c neurons. *Neuroscience* 1995;69:89–98.
- 69 Kyrou I, Tsigos C. Stress mechanisms and metabolic complications. *Horm Metab Res* 2007;39:430–8.
- 70 Capuron L, Ravaut A, Miller AH, Dantzer R. Baseline mood and psychosocial characteristics of patients developing depressive symptoms during interleukin-2 and/or interferon-alpha cancer therapy. *Brain Behav Immun* 2004;18:205–13.
- 71 de Kloet ER, de Jong IE, Oitzl MS. Neuropharmacology of glucocorticoids: focus on emotion, cognition and cocaine. *Eur J Pharmacol* 2008;585:473–82.
- 72 Desai S, Khanani S, Shad MU, Brown ES. Attenuation of amygdala atrophy with lamotrigine in patients receiving corticosteroid therapy. *J Clin Psychopharmacol* 2009;29:284–7.
- 73 Frodl TS, Koutsouleris N, Bottlender R, *et al.* Depression-related variation in brain morphology over 3 years: effects of stress? *Arch Gen Psychiatry* 2008;65:1156–65.
- 74 Sheline YI, Gado MH, Kraemer HC. Untreated depression and hippocampal volume loss. *Am J Psychiatry* 2003;160:1516–8.

- 75 Nieuwenhuys R. Chemoarchitecture of the brain. Berlin: Springer, 1985; ISBN 978-3-540-15349-8.
- 76 Dahlstroem A, Fuxe K. Evidence for the existence of monoamine-containing neurons in the central nervous system. *Acta Physiol Scand Suppl* 1964;SUPPL 232:1-55.
- 77 Flugge G. Regulation of monoamine receptors in the brain: dynamic changes during stress. *Int Rev Cytol* 2000;195:145–213.
- 78 Aston-Jones G, Rajkowski J, Kubiak P, Valentino RJ, Shipley MT. Role of the locus coeruleus in emotional activation. *Prog Brain Res* 1996;107:379–402.
- 79 Valentino RJ, Foote SL, Page ME. The locus coeruleus as a site for integrating corticotropin-releasing factor and noradrenergic mediation of stress responses. *Ann N Y Acad Sci* 1993;697:173–88.
- 80 Parsons CG, Danysz W, Quack G. Glutamate in CNS disorders as a target for drug development: an update. *Drug News Perspect* 1998;11:523–69.
- 81 Meeker RB, Greenwood RS, Hayward JN. Glutamate receptors in the rat hypothalamus and pituitary. *Endocrinology* 1994;134:621–9.
- 82 Darlington DN, Miyamoto M, Keil LC, Dallman MF. Paraventricular stimulation with glutamate elicits bradycardia and pituitary responses. *Am J Physiol* 1989;256:R112-9.
- 83 Brann DW. Glutamate: a major excitatory transmitter in neuroendocrine regulation. *Neuroendocrinology* 1995;61:213–25.
- 84 Mason GA, Bissette G, Nemeroff CB. Effects of excitotoxic amino acids on pituitary hormone secretion in the rat. *Brain Res* 1983;289:366–9.
- 85 Terry LC, Epelbaum J, Martin JB. Monosodium glutamate: acute and chronic effects on rhythmic growth hormone and prolactin secretion, and somatostatin in the undisturbed male rat. *Brain Res* 1981;217:129–42.
- 86 van den Pol AN, Wuarin JP, Dudek FE. Glutamate, the dominant excitatory transmitter in neuroendocrine regulation. *Science* 1990;250:1276–8.
- 87 Lang CH, Ajmal M. Metabolic, hormonal, and hemodynamic changes induced by metabotropic excitatory amino acid agonist (1S,3R)-ACPD. *Am J Physiol* 1995;268:R1026-33.
- 88 McEwen BS. Central effects of stress hormones in health and disease: Understanding the protective and damaging effects of stress and stress mediators. *Eur J Pharmacol* 2008;583:174–85.

- 89 Kim JJ, Foy MR, Thompson RF. Behavioral stress modifies hippocampal plasticity through N-methyl-D-aspartate receptor activation. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1996;93:4750–3.
- 90 Kole MH, Swan L, Fuchs E. The antidepressant tianeptine persistently modulates glutamate receptor currents of the hippocampal CA3 commissural associational synapse in chronically stressed rats. *Eur J Neurosci* 2002;16:807–16.
- 91 Magarinos AM, Verdugo JM, McEwen BS. Chronic stress alters synaptic terminal structure in hippocampus. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1997;94:14002–8.
- 92 Puel JL, Saffiedine S, Gervais dC, Eybalin M, Pujol R. Synaptic regeneration and functional recovery after excitotoxic injury in the guinea pig cochlea. *C R Acad Sci III* 1995;318:67–75.
- 93 Xie HS, Song WM, Shanguan DH, *et al.* Level of glutamate on the auditory pathway of inferior colliculus after exposure to noise observed by microdialysis in vivo]. *Beijing Da Xue Xue Bao* 2007;39:409–11.
- 94 Peng BG, Li QX, Ren TY, *et al.* Group I metabotropic glutamate receptors in spiral ganglion neurons contribute to excitatory neurotransmissions in the cochlea. *Neuroscience* 2004;123:221–30.
- 95 Bothwell M. Functional interactions of neurotrophins and neurotrophin receptors. *Annu Rev Neurosci* 1995;18:223–53.
- 96 Conover JC, Yancopoulos GD. Neurotrophin regulation of the developing nervous system: analyses of knockout mice. *Rev Neurosci* 1997;8:13–27.
- 97 Lu B, Figurov A. Role of neurotrophins in synapse development and plasticity. *Rev Neurosci* 1997;8:1–12.
- 98 Kang H, Schuman EM. Long-lasting neurotrophin-induced enhancement of synaptic transmission in the adult hippocampus. *Science* 1995;267:1658–62.
- 99 Li YX, Zhang Y, Lester HA, Schuman EM, Davidson N. Enhancement of neurotransmitter release induced by brain-derived neurotrophic factor in cultured hippocampal neurons. *J Neurosci* 1998;18:10231–40.
- 100 Michalski B, Fahnstock M. Pro-brain-derived neurotrophic factor is decreased in parietal cortex in Alzheimer's disease. *Brain Res* 2003;111:148–54.
- 101 Howells DW, Porritt MJ, Wong JY, *et al.* Reduced BDNF mRNA expression in the Parkinson's disease substantia nigra. *Exp Neurol* 2000;166:127–35.
- 102 Begliuomini S, Lenzi E, Ninni F, *et al.* Plasma brain-derived neurotrophic factor daily variations in men: correlation with cortisol circadian rhythm. *J Endocrinol* 2008;197:429–35.

- 103 Castren E, Zafra F, Thoenen H, Lindholm D. Light regulates expression of brain-derived neurotrophic factor mRNA in rat visual cortex. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1992;89:9444–8.
- 104 Neeper SA, Gomez-Pinilla F, Choi J, Cotman CW. Physical activity increases mRNA for brain-derived neurotrophic factor and nerve growth factor in rat brain. *Brain Res* 1996;726:49–56.
- 105 Reis HJ, Nicolato R, Barbosa IG, Teixeira dPP, Romano-Silva MA, Teixeira AL. Increased serum levels of brain-derived neurotrophic factor in chronic institutionalized patients with schizophrenia. *Neurosci Lett* 2008;439:157–9.
- 106 Hock C, Heese K, Muller-Spahn F, *et al.* Increased CSF levels of nerve growth factor in patients with Alzheimer's disease. *Neurology* 2000;54:2009–11.
- 107 Blasko I, Lederer W, Oberbauer H, *et al.* Measurement of thirteen biological markers in CSF of patients with Alzheimer's disease and other dementias. *Dement Geriatr Cogn Disord* 2006;21:9–15.
- 108 Hellweg R, Gericke CA, Jendroska K, Hartung HD, Cervos-Navarro J. NGF content in the cerebral cortex of non-demented patients with amyloid-plaques and in symptomatic Alzheimer's disease. *Int J Dev Neurosci* 1998;16:787–94.
- 109 Ebert AD, Svendsen CN. A new tool in the battle against Alzheimer's disease and aging: ex vivo gene therapy. *Rejuvenation Res* 2005;8:131–4.
- 110 Castren E, Rantamaki T. The role of BDNF and its receptors in depression and antidepressant drug action: Reactivation of developmental plasticity. *Dev Neurobiol* 2010;70:289–97.
- 111 Nibuya M, Morinobu S, Duman RS. Regulation of BDNF and trkB mRNA in rat brain by chronic electroconvulsive seizure and antidepressant drug treatments. *J Neurosci* 1995;15:7539–47.
- 112 Smith MA, Makino S, Kvetnansky R, Post RM. Stress and glucocorticoids affect the expression of brain-derived neurotrophic factor and neurotrophin-3 mRNAs in the hippocampus. *J Neurosci* 1995;15:1768–77.
- 113 Gorgulu Y, Caliyurt O. Rapid antidepressant effects of sleep deprivation therapy correlates with serum BDNF changes in major depression. *Brain Res Bull* 2009;80:158–62.
- 114 Shi Y, You J, Yuan Y, Zhang X, Li H, Hou G. Plasma BDNF and tPA are associated with late-onset geriatric depression. *Psychiatry Clin Neurosci* 2010;64:249–54.
- 115 Okamoto T, Yoshimura R, Ikenouchi-Sugita A, *et al.* Efficacy of electroconvulsive therapy is associated with changing blood levels of homovanillic acid and brain-derived neurotrophic factor (BDNF) in refractory depressed patients: a pilot study. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 2008;32:1185–90.

116 Dicou E, Lee J, Brachet P. Synthesis of nerve growth factor mRNA and precursor protein in the thyroid and parathyroid glands of the rat. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1986;83:7084–8.

117 Nisoli E, Tonello C, Benarese M, Liberini P, Carruba MO. Expression of nerve growth factor in brown adipose tissue: implications for thermogenesis and obesity. *Endocrinology* 1996;137:495–503.

118 Kerschensteiner M, Gallmeier E, Behrens L, *et al.* Activated human T cells, B cells, and monocytes produce brain-derived neurotrophic factor in vitro and in inflammatory brain lesions: a neuroprotective role of inflammation? *J Exp Med* 1999;189:865–70.

119 Lommatzsch M, Braun A, Mannsfeldt A, *et al.* Abundant production of brain-derived neurotrophic factor by adult visceral epithelia. Implications for paracrine and target-derived Neurotrophic functions. *Am J Pathol* 1999;155:1183–93.

120 Lakshmanan J. Nerve growth factor levels in mouse serum: variations due to stress. *Neurochem Res* 1987;12:393–7.

121 Hadjiconstantinou M, McGuire L, Duchemin AM, Laskowski B, Kiecolt-Glaser J, Glaser R. Changes in plasma nerve growth factor levels in older adults associated with chronic stress. *J Neuroimmunol* 2001;116:102–6.

122 Aloe L, Bracci-Laudiero L, Alleva E, Lambiase A, Micera A, Tirassa P. Emotional stress induced by parachute jumping enhances blood nerve growth factor levels and the distribution of nerve growth factor receptors in lymphocytes. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1994;91:10440–4.

123 Lindsay RM, Harmar AJ. Nerve growth factor regulates expression of neuropeptide genes in adult sensory neurons. *Nature* 1989;337:362–4.

124 Katsanos GS, Anogeianaki A, Orso C, *et al.* Impact of substance P on cellular immunity. *J Biol Regul Homeost Agents* 2008;22:93–8.

125 Bozic CR, Lu B, Hopken UE, Gerard C, Gerard NP. Neurogenic amplification of immune complex inflammation. *Science* 1996;273:1722–5.

126 Grimsholm O, Rantapaa-Dahlqvist S, Forsgren S. Levels of gastrin-releasing peptide and substance P in synovial fluid and serum correlate with levels of cytokines in rheumatoid arthritis. *Arthritis Res Ther* 2005;7:R416-26.

127 Toyoda M, Nakamura M, Makino T, Hino T, Kagoura M, Morohashi M. Nerve growth factor and substance P are useful plasma markers of disease activity in atopic dermatitis. *Br J Dermatol* 2002;147:71–9.

128 Castellani ML, Galzio RJ, Felaco P, *et al.* VEGF, substance P and stress, new aspects: a revisited study. *J Biol Regul Homeost Agents* 2010;24:229–37.

- 129 Ebner K, Rupniak NM, Saria A, Singewald N. Substance P in the medial amygdala: emotional stress-sensitive release and modulation of anxiety-related behavior in rats. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2004;101:4280–5.
- 130 Mello DM, Marcinichen DR, Madruga D, Branco R, Paschoalini MA, De LTC. Involvement of NK1 receptors in metabolic stress markers after the central administration of substance P. *Behav Brain Res* 2007;181:232–8.
- 131 Fu J, Liu B, Liu P, *et al.* Substance P is Associated with the Development of Obesity, Chronic Inflammation and Type 2 Diabetes Mellitus. *Exp Clin Endocrinol Diabetes* 2010
- 132 Li L, Gao X, Zhao J, Ji X, Wei H, Luo Y. Plasma and cerebrospinal fluid substance P in post-stroke patients with depression. *Psychiatry Clin Neurosci* 2009;63:298–304.
- 133 Bondy B, Baghai TC, Minov C, *et al.* Substance P serum levels are increased in major depression: preliminary results. *Biol Psychiatry* 2003;53:538–42.
- 134 Lieb K, Ahlvers K, Dancker K, *et al.* Effects of the neuropeptide substance P on sleep, mood, and neuroendocrine measures in healthy young men. *Neuropsychopharmacology* 2002;27:1041–9.
- 135 Janeway C, Murphy KP. *Janeway Immunologie*. 7 ed. Heidelberg: Spektrum, Akad. Verl, 2009
- 136 Mosmann TR, Coffman RL. TH1 and TH2 cells: different patterns of lymphokine secretion lead to different functional properties. *Annu Rev Immunol* 1989;7:145–73.
- 137 Fernandez-Botran R, Sanders VM, Mosmann TR, Vitetta ES. Lymphokine-mediated regulation of the proliferative response of clones of T helper 1 and T helper 2 cells. *J Exp Med* 1988;168:543–58.
- 138 Sternberg EM. Neuroendocrine regulation of autoimmune/inflammatory disease. *J Endocrinol* 2001;169:429–35.
- 139 Tausk F, Elenkov I, Moynihan J. Psychoneuroimmunology. *Dermatol Ther* 2008;21:22–31.
- 140 Schubert C, Schussler G. Psychoneuroimmunology: an update. *Z Psychosom Med Psychother* 2009;55:3–26.
- 141 Eskandari F, Webster JI, Sternberg EM. Neural immune pathways and their connection to inflammatory diseases. *Arthritis Res Ther* 2003;5:251–65.
- 142 D. E. Rooney. *Human cytogenetics*. 3 ed. Oxford: IRL Press, 2001

- 143 Schulz KH, Gold S. Psychological stress, immune function and disease development. The psychoneuroimmunologic perspective]. Bundesgesundheitsblatt Gesundheitsforschung Gesundheitsschutz 2006;49:759–72.
- 144 Segerstrom SC, Miller GE. Psychological stress and the human immune system: a meta-analytic study of 30 years of inquiry. Psychol Bull 2004;130:601–30.
- 145 Girndt M, Sester U, Kaul H, Hunger F, Kohler H. Glucocorticoids inhibit activation-dependent expression of costimulatory molecule B7-1 in human monocytes. Transplantation 1998;66:370–5.
- 146 Barnes PJ. Anti-inflammatory actions of glucocorticoids: molecular mechanisms. Clin Sci (Lond) 1998;94:557–72.
- 147 Adcock IM, Ito K. Molecular mechanisms of corticosteroid actions. Monaldi Arch Chest Dis 2000;55:256–66.
- 148 Umland SP, Schleimer RP, Johnston SL. Review of the molecular and cellular mechanisms of action of glucocorticoids for use in asthma. Pulm Pharmacol Ther 2002;15:35–50.
- 149 Bellinger DL, Brouxhon SM, Lubahn C, *et al.* Strain differences in the expression of corticotropin-releasing hormone immunoreactivity in nerves that supply the spleen and thymus. Neuroimmunomodulation 2001;9:78–87.
- 150 Katzenell U, Segal S. Hyperacusis: review and clinical guidelines. Otol Neurotol 2001;22:321-6; discussion 326-7.
- 151 Juhn SK, Ikeda K, Morizono T, Murphy M. Pathophysiology of inner ear fluid imbalance. Acta Otolaryngol Suppl 1991;485:9–14.
- 152 Stobik C, Weber RK, Munte TF, Frommer J. Psychosomatic stress factors in compensated and decompensated tinnitus]. Psychother Psychosom Med Psychol 2003;53:344–52.
- 153 Dauman R, Bouscau-Faure F. Assessment and amelioration of hyperacusis in tinnitus patients. Acta Otolaryngol 2005;125:503–9.
- 154 Olderog M, Langenbach M, Michel O, Brusis T, Kohle K. Predictors and mechanisms of tinnitus distress - a longitudinal analysis]. Laryngorhinootologie 2004;83:5–13.
- 155 Harter M, Maurischat C, Weske G, Laszig R, Berger M. Psychological stress and impaired quality of life in patients with tinnitus]. HNO 2004;52:125–31.
- 156 D'Amelio R, Archonti C, Scholz S, Falkai P, Plinkert PK, Delb W. Psychological distress associated with acute tinnitus]. HNO 2004;52:599–603.
- 157 Scott B, Lindberg P, Melin L, Lyttkens L. Predictors of tinnitus discomfort, adaptation and subjective loudness. Br J Audiol 1990;24:51–62.

- 158 Kadner A, Pressimone VJ, Lally BE, Salm AK, Berrebi AS. Low-frequency hearing loss in prenatally stressed rats. *Neuroreport* 2006;17:635–8.
- 159 Canlon B, Erichsen S, Nemlander E, *et al.* Alterations in the intrauterine environment by glucocorticoids modifies the developmental programme of the auditory system. *Eur J Neurosci* 2003;17:2035–41.
- 160 de Kloet ER. About stress hormones and resilience to psychopathology. *J Neuroendocrinol* 2008;20:885–92.
- 161 Juhn SK, Li W, Kim JY, Javel E, Levine S, Odland RM. Effect of stress-related hormones on inner ear fluid homeostasis and function. *Am J Otol* 1999;20:800–6.
- 162 Muchnik C, Sahartov E, Peleg E, Hildesheimer M. Temporary threshold shift due to noise exposure in guinea pigs under emotional stress. *Hear Res* 1992;58:101–6.
- 163 Paz Z, Freeman S, Horowitz M, Sohmer H. Prior heat acclimation confers protection against noise-induced hearing loss. *Audiol Neurootol* 2004;9:363–9.
- 164 Gagnon PM, Simmons DD, Bao J, Lei D, Ortmann AJ, Ohlemiller KK. Temporal and genetic influences on protection against noise-induced hearing loss by hypoxic preconditioning in mice. *Hear Res* 2007;226:79–91.
- 165 Savastano M, Celadin M, Pittoni M, Plebani M, Marioni G. Western blot immunoassay for HSP-70 antibodies in idiopathic tinnitus: a preliminary report. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 2006;115:243–6.
- 166 Altschuler RA, Fairfield D, Cho Y, *et al.* Stress pathways in the rat cochlea and potential for protection from acquired deafness. *Audiol Neurootol* 2002;7:152–6.
- 167 Canlon B, Meltser I, Johansson P, Tahera Y. Glucocorticoid receptors modulate auditory sensitivity to acoustic trauma. *Hear Res* 2007;226:61–9.
- 168 Seydel C, Georgiewa P, Reissauer A, Klapp BF, Mazurek B. Group therapeutic concept for chronic tinnitus]. *HNO* 2008;56:332–9.
- 169 Weber C, Arck P, Mazurek B, Klapp BF. Impact of a relaxation training on psychometric and immunologic parameters in tinnitus sufferers. *J Psychosom Res* 2002;52:29–33.
- 170 So H, Kim H, Lee JH, *et al.* Cisplatin cytotoxicity of auditory cells requires secretions of proinflammatory cytokines via activation of ERK and NF-kappaB. *J Assoc Res Otolaryngol* 2007;8:338–55.
- 171 Tornabene SV, Sato K, Pham L, Billings P, Keithley EM. Immune cell recruitment following acoustic trauma. *Hear Res* 2006;222:115–24.

172 Thai-Van H, Bounaix MJ, Fraysse B. Meniere's disease: pathophysiology and treatment. *Drugs* 2001;61:1089–102.

173 Dayal VS, Ellman M, Sweiss N. Autoimmune inner ear disease: clinical and laboratory findings and treatment outcome. *J Otolaryngol Head Neck Surg* 2008;37:591–6.

174 Mazurek B, Georgiewa P, Seydel C, *et al.* Integrated intensive treatment of tinnitus: method and initial results]. *Gesundheitswesen* 2005;67:485–91.

175 Mazurek B, Fischer F, Haupt H, Georgiewa P, Reissbauer A, Klapp BF. A modified version of tinnitus retraining therapy: observing long-term outcome and predictors. *Audiol Neurootol* 2006;11:276–86.

176 Elenkov IJ, Chrousos GP. Stress Hormones, Th1/Th2 patterns, Pro/Anti-inflammatory Cytokines and Susceptibility to Disease. *Trends Endocrinol Metab* 1999;10:359–68.

177 Jastreboff PJ, Hazell JW. A neurophysiological approach to tinnitus: clinical implications. *Br J Audiol* 1993;27:7–17.

178 Bauer CA, Brozoski TJ. Effect of Tinnitus Retraining Therapy on the Loudness and Annoyance of Tinnitus: A Controlled Trial. *Ear Hear* 2010

179 Kohl F. Moderne Entspannungsverfahren Teil 2: Die progressive Muskelentspannung nach Jacobson. *Psych. Pflege heute, Fachzeitschrift für die psychiatrische Pflege* 2004;10:26-30

180 Raap U, Deneka N, Bruder M, Kapp A, Wedi B. Differential up-regulation of neurotrophin receptors and functional activity of neurotrophins on peripheral blood eosinophils of patients with allergic rhinitis, atopic dermatitis and nonatopic subjects. *Clin Exp Allergy* 2008;38:1493–8.

181 Goebel H. Qualitätsmanagement in der Therapie des chronischen Tinnitus. *Otorhinolaryngol Nova* 2000;10:260–268

182 Goebel G, Hiller W. The tinnitus questionnaire. A standard instrument for grading the degree of tinnitus. Results of a multicenter study with the tinnitus questionnaire]. *HNO* 1994;42:166–72.

183 Kam AC, Cheung AP, Chan PY, *et al.* Psychometric properties of a Chinese (Cantonese) version of the Tinnitus Questionnaire. *Int J Audiol* 2009;48:568–75.

184 Meeus O, Blaivie C, van dHP. Validation of the Dutch and the French version of the Tinnitus Questionnaire. *B-ENT* 2007;3 Suppl 7:11–7.

185 Baguley DM, Humphriss RL, Hodgson CA. Convergent validity of the tinnitus handicap inventory and the tinnitus questionnaire. *J Laryngol Otol*

2000;114:840–3.

186 Goebel G, Hiller W. The tinnitus questionnaire. A standard instrument for grading the degree of tinnitus. Results of a multicenter study with the tinnitus questionnaire]. *HNO* 1994;42:166–72.

187 Levenstein S, Prantera C, Varvo V, *et al.* Development of the Perceived Stress Questionnaire: a new tool for psychosomatic research. *J Psychosom Res* 1993;37:19–32.

188 Sanz-Carrillo C, Garcia-Campayo J, Rubio A, Santed MA, Montoro M. Validation of the Spanish version of the Perceived Stress Questionnaire. *J Psychosom Res* 2002;52:167–72.

189 Fliege H, Rose M, Arck P, *et al.* The Perceived Stress Questionnaire (PSQ) reconsidered: validation and reference values from different clinical and healthy adult samples. *Psychosom Med* 2005;67:78–88.

190 Consoli SM, Taine P, Szabason F, Lacour C, Metra PC. Development and validation of a perceived stress questionnaire recommended as a follow-up indicator in occupational medicine. *Encephale* 1997;23:184–93.

191 Kocalevent RD, Levenstein S, Fliege H, *et al.* Contribution to the construct validity of the Perceived Stress Questionnaire from a population-based survey. *J Psychosom Res* 2007;63:71–81.

192 Ruiz MA, Zamorano E, García-Campayo J, Pardo A, Freire O, Rejas J. Validity of the GAD-7 scale as an outcome measure of disability in patients with generalized anxiety disorders in primary care. *Journal of affective disorders* 2011;128(3):277-86.

193 Hautzinger M, Meyer TD. Diagnostik affektiver Störungen. Kompendien psychologische Diagnostik, Vol 3. Göttingen: Hogrefe Verl. für Psychologie, 2002

194 Hautzinger M, Bailer M. ADS - Allgemeine Depressionsskala. Beltz Test. Göttingen: Beltz, 2003

195 Carver CS, Scheier MF, Weintraub JK. Assessing coping strategies: a theoretically based approach. *J Pers Soc Psychol* 1989;56:267–83.

196 Carver CS. You want to measure coping but your protocol's too long: consider the brief COPE. *Int J Behav Med* 1997;4:92–100.

197 Knoll N, Scholz U, Rieckmann N, Knoll-Scholz-Rieckmann. Einführung in die Gesundheitspsychologie: Mit 5 Tabellen. UTB Psychologie, Gesundheitswissenschaften, Vol 2650. München: Reinhardt, 2005

198 Muller L, Spitz E. Multidimensional assessment of coping: validation of the Brief COPE among French population]. *Encephale* 2003;29:507–18.

- 199 Lyne K, Roger D. A psychometric re-assessment of the COPE questionnaire. *Personality and Individual Differences* 2000;29:321–35.
- 200 Eisengart SP, Singer LT, Kirchner HL, *et al.* Factor structure of coping: two studies of mothers with high levels of life stress. *Psychol Assess* 2006;18:278–88.
- 201 Fillion L, Kovacs A, Gagnon P, Endler N. Validation of the shortened cope for use with breast cancer patients undergoing radiation therapy. *Current Psychology* 2002;21:17–34.
- 202 Matalka KZ. Neuroendocrine and cytokines-induced responses to minutes, hours, and days of mental stress. *Neuro Endocrinol Lett* 2003;24:283–92.
- 203 Dowlati Y, Herrmann N, Swardfager W, *et al.* A meta-analysis of cytokines in major depression. *Biol Psychiatry* 2010;67:446–57.
- 204 Quan N, Banks WA. Brain-immune communication pathways. *Brain Behav Immun* 2007;21:727–35.
- 205 Swardfager W, Lanctot K, Rothenburg L, Wong A, Cappell J, Herrmann N. A meta-analysis of cytokines in Alzheimer's disease. *Biol Psychiatry* 2010;68:930–1.
- 206 Koulmanda M, Bhasin M, Awdeh Z, *et al.* The role of TNF-alpha in mice with type 1- and 2- diabetes. *PLoS ONE* 2012;7:e33254.
- 207 Xia L, Zhang D, Wang C, Wei F, Hu Y. PC-PLC is involved in osteoclastogenesis induced by TNF-alpha through upregulating IP3R1 expression. *FEBS Lett* 2012.
- 208 Hayley S, Scharf J, Anisman H. Central administration of murine interferon-alpha induces depressive-like behavioral, brain cytokine and neurochemical alterations in mice: A mini-review and original experiments. *Brain Behav Immun*. 2012 Aug 4. [Epub ahead of print]
- 209 Louis E, Reenaers C, Meuwis MA, *et al.* Fifteen years of use of anti-TNF antibodies in moderate to severe Crohn's disease: how to make the best of this experience. *Rev Med Liege* 2012;67:8–13.
- 210 Bicanic IAE, Postma RM, Sinnema G, *et al.* Salivary cortisol and dehydroepiandrosterone sulfate in adolescent rape victims with post traumatic stress disorder. *Psychoneuroendocrinology* 2012.
- 211 Heim C, Ehler U, Hellhammer DH. The potential role of hypocortisolism in the pathophysiology of stress-related bodily disorders. *Psychoneuroendocrinology* 2000;25:1–35.
- 212 Desai D, Brightling C. Cytokines and cytokine-specific therapy in asthma. *Adv Clin Chem* 2012;57:57–97.

213 Musazzi L, Milanese M, Farisello P, *et al.* Acute Stress Increases Depolarization-Evoked Glutamate Release in the Rat Prefrontal/Frontal Cortex: The Dampening Action of Antidepressants. PLoS ONE 2010;5:e8566.

214 Reznikov LR, Grillo CA, Piroli GG, *et al.* Acute stress-mediated increases in extracellular glutamate levels in the rat amygdala: differential effects of antidepressant treatment. Eur J Neurosci. 2007 May;25(10):3109-14.

215 Polman JAE, Hunter RG, Speksnijder N, *et al.* Glucocorticoids Modulate the mTOR Pathway in the Hippocampus: Differential Effects Depending on Stress History. Endocrinology 2012; 10.1210/en.2012-1255.

216 Bockting C, Lok A, Visser I, Assies J, Koeter M, Schene A. Lower cortisol levels predict recurrence in remitted patients with recurrent depression: A 5.5 year prospective study. Psychiatry Res. 2012 Dec 30;200(2-3):281-7.

217 Joachim RA, Noga O, Sagach V, *et al.* Correlation between immune and neuronal parameters and stress perception in allergic asthmatics. Clin Exp Allergy 2008;38:283–90.

6. Erklärung an Eides Statt

Ich, Jendrik Steffin, erkläre, dass ich die vorgelegte Dissertation mit dem Thema: *„Einfluss von Stress auf Neuroimmunparameter bei Tinnitus“* selbst verfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel benutzt, ohne die (unzulässige) Hilfe Dritter verfasst und auch in Teilen keine Kopien anderer Arbeiten dargestellt 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

7. Curriculum vitae

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

8. Danksagung

An erster Stelle richtet sich mein Dank an meine Doktormutter Prof. Dr. med. Birgit Mazurek für das Überlassen des Themas sowie an Dr. Agnieszka J. Szczepek und Dr. med. Ricarda Joachim. Ihre engagierte Betreuung und fachliche Unterstützung haben wesentlich zum Gelingen der vorliegenden Arbeit beigetragen.

Mein Dank gilt weiterhin der gesamten Arbeitsgruppe Mazurek, insbesondere den Mitarbeiterinnen des Labors, Petra Busse, Olga Hegend, Julia Fuchs und Astrid Machulik für die Einarbeitung in die Methodik und das herzliche Arbeitsklima.

Ich danke meinen treuen Freunden, allen voran Felix-Werner Gans und Rosa Grützmann.

Für die liebevolle Unterstützung auf allen Ebenen danke ich meiner Familie, insbesondere meiner Freundin Elea Muhr, meiner Mutter Simone Steffin, meinem Vater Christian Wolters und meinen Großeltern Helga Steffin, Manfred Büttner, Hildegund Wolters und Prof. Dr. Karl Wolters.