

## 4 Diskussion

Hinsichtlich Cortisol bedingter Konzentrationsveränderungen wurden in dieser Arbeit signifikante Unterschiede zwischen den beiden Untersuchungsbedingungen Cortisol und Placebo bei einigen Metaboliten beobachtet. So finden sich, entsprechend den bekannten neurodegenerativen Effekten von Cortisol und die primäre Forschungshypothese zunächst stützend, Verringerungen der NAA Konzentration im linken Hippocampus und in der frontalen weißen Substanz. Weiterhin wurde eine verminderte Konzentration von CRE im linken Hippocampus und der weißen Substanz beobachtet. Auch mINS zeigte im linken Hippocampus unterschiedliche Konzentrationsveränderung unter Cortisol und Placebobedingung.

In fast allen Fällen ist allerdings neben einer Konzentrationsveränderung unter Cortisol auch eine deutliche Veränderung der Metabolitenkonzentration während der Placebobedingung zu beobachten. Diese Placeboveränderungen sind unerwartet und bedingen zumindest teilweise die statistisch signifikanten Unterschiede zwischen beiden Untersuchungsbedingungen. Ein möglicher Placeboeffekt auf die Metabolitenkonzentrationen kann zwar nicht ausgeschlossen werden, erscheint aber unter Berücksichtigung der Meßwertvariabilität auch zwischen den Pre-Medikationsmessungen eher unwahrscheinlich.

Die vorliegende Arbeit hat somit keinen eindeutigen und überzeugenden Beleg für Cortisol bedingte Konzentrationsveränderungen der magnetresonanztomographisch erfassbaren neuronalen Metaboliten liefern können.

Zu betonen ist, dass die in dieser Arbeit ermittelten Metaboliten-Konzentrationen mit den in der Literatur beschriebenen Konzentrationen, inklusive regionaler Unterschiede weitgehend übereinstimmen [28, 119, 120].

Durch das in der Arbeit gewählte Design und die zusätzliche Bestimmung der Ausgangskonzentrationen konnte eine sehr gute Überprüfung intraindividuelle Meßwertvariabilität erreicht werden. Die deutlichen Konzentrationsveränderungen unter der Placebobedingung müssen am ehesten auf eben diese Variabilität zurückgeführt werden, da es zunächst keine plausible physiologische Erklärung für diesen gemessenen Placeboeffekt existiert. Die Arbeit kann somit auch keine der bisher beobachteten und beschriebenen

Cortisol bedingten Effekte auf neuronale Metabolitenkonzentrationen replizieren oder unterstützen. Im Vergleich mit den bisher in der Literatur veröffentlichten Ergebnissen ergibt sich in der Zusammenschau kein einheitliches Bild. So weisen die Arbeiten von Brown et al. [15] und Khiat et al. [82] einander widersprechende Ergebnisse auf.

Khiat et al. haben in drei unterschiedlichen Vorarbeiten eine Cortisol bedingte Verringerung der CHV Konzentration beschrieben. Untersucht wurden in diesen drei Arbeiten mit identischen Messprotokollen frontale weisse Substanz, thalamische und temporale Hirnregionen der linken Hemisphäre.

In der Arbeit von 1999 wurden 13 Patientinnen mit endogenem M. Cushing untersucht. Die Ergebnisse wurden mit denen einer Gruppe von 40 gesunden Kontrollpersonen verglichen [81]. In der Gruppe der Cushing-Patienten fand sich eine signifikante Reduktion der frontalen und thalamischen CHV/CRE Konzentration. Keine signifikanten Ergebnisse ergaben die Vergleiche der Konzentrationsmessungen in der temporalen Hirnregion. Die NAA/CRE-Konzentrationsverhältnisse in allen drei untersuchten Hirnregionen waren ebenfalls nicht unterschiedlich. 2000 berichtete Khiat [80] über die Nachuntersuchung von 10 der 13 oben genannten Cushing-Patienten und fand eine Reversibilität der verringerten CHV-Konzentrationen. Nach Korrektur des Hypercortisolismus konnte kein Unterschied zu einer gesunden Kontrollgruppe mehr gefunden werden. Khiat verwendete in der älteren Arbeit CRE als Referenz für die Berechnung von Metabolitenverhältnissen. In der jüngeren Arbeit wurde die nicht unterdrückte Wasserresonanz als interne Referenz verwendet. Auch die Untersuchung von 2001 an Patienten, die an einem exogenen M. Cushing unter Corticosteroid-Therapie (Mittelwert 15 mg Prednison über 8,5 Jahre) erkrankt waren, ergab sehr ähnliche Ergebnisse, obwohl die Unterschiede hier keine statistische Signifikanz erreichten [82]. Zusammengefasst beschreiben Khiat et al. in allen Arbeiten eine Reduktion der CHV-Konzentration durch Cortisol. Darüberhinaus zeigen diese Arbeiten keine Cortisol bedingten Konzentrationsveränderungen.

Gegensätzliche Ergebnisse beschreiben Brown et al. [15]. Die hier untersuchten Patienten nahmen ebenfalls im Mittel 15 mg Prednisolon aufgrund rheumatischer Erkrankungen ein, im Durchschnitt seit 7,5 Jahren.

Trotz der Ähnlichkeit der Untersuchungskollektive beider Arbeiten weichen die berichteten Ergebnisse deutlich voneinander ab. Brown et al. haben sich auf Messungen im rechten und linken Hippocampus beschränkt und dabei allein eine Veränderung der NAA-Konzentration, jedoch keine Veränderung der CHV Konzentration gefunden. Brown et al. führen die Diskrepanz der Befunde auf die Verwendung unterschiedlicher

Referenzen der Konzentrationsbestimmung zurück. Khiat et al. hatten in den jüngeren Arbeiten die Konzentration aus der Relation zum nicht-unterdrückten Wassersignal errechnet. Brown et al. beschrieben, dass auch in ihren Daten für das NAA/H<sub>2</sub>O Verhältnis keine signifikanten Unterschiede vorhanden waren. Sie argumentieren, dass sich das Wassersignal in der Untersuchung von Cortisoleffekten nicht als Referenz eignet, da durch die Cortisolexposition Veränderungen des intrazerebralen Wasserhaushaltes zu erwarten sind. Eine Reduktion der Wasserpeakhöhe in peritumorösen Gewebe nach Dexamethason-Behandlung wurde von Chumas et al. beschrieben [29]. Allerdings verwenden Khiat et. al in der älteren Arbeit [81] ebenfalls CRE und nicht die Wasserresonanz als Referenz, ohne dabei einen signifikanten Unterschied des NAA/CRE-Konzentrationsverhältnisses zu beobachten. Desweiteren müsste es bei einer Abnahme des Wasserreferenzsignals eher zu einer Erhöhung des Verhältnisses Metabolit/H<sub>2</sub>O kommen und nicht wie von Khiat beschrieben zu einer Reduktion. Die vorliegende Arbeit hat den Einfluss von Cortisol auf die Höhe der nicht unterdrückten Wasserresonanz untersucht. Es konnte dabei kein signifikanter Einfluss auf die Höhe des Wassersignals gezeigt werden.

Auer et al. beschreiben in neun Patienten, die aufgrund einer Multiplen Sklerose einmalig mit hohen Dosierungen von Methylprednisolon (500 mg) behandelt wurden, eine Reduktion des mINS/CRE Verhältnisses in der weißen Substanz. Veränderungen anderer Metabolite konnten hier nicht nachgewiesen werden [1].

In den tierexperimentellen Arbeiten an *Tupaia belangeri* [104, 33] wurde zur Konzentrationsbestimmung keine interne Referenz, sondern mit LCModel, die im Einleitungsteil beschriebene absolute Quantifizierungsmethode verwendet. Michaelis et al. wiesen in dieser Arbeit auf geschlechtsspezifische Effekte der Cortisoleffekte hin, da für weibliche Tiere kein Effekt der Cortisolexposition auf die Konzentration neuronaler Metabolite beobachtet werden konnte [104]. Für männliche Tiere hingegen wurden sowohl durch orale Cortisolgabe als auch durch psychosozialen Stress geringere Konzentrationen von NAA, CHV und CRE beobachtet [33].

Während also Khiat et al. nur Konzentrationsveränderungen von CHV, Brown et al. nur Konzentrationsveränderungen von NAA und Auer et al. nur mINS-Konzentrationsveränderungen beschreiben, finden sich in den tierexperimentellen Arbeiten Veränderungen von NAA, CHV und CRE, bei unverändertem mINS.

Die Diskrepanz der bisherigen Ergebnisse in der Literatur erklärt sich sicher zum Teil durch die verschiedenen Messprotokolle und Messmethoden (STEAM, PRESS) bei

unterschiedlichen Feldstärken, die Verwendung unterschiedlicher Software mit jeweils eigenen Analysemethoden und Konzentrationsberechnungen.

Bis auf die tierexperimentellen Arbeiten, die einen 2,35 Tesla Tier-MR-Scanner der Firma Bruker mit starken Gradienten verwendet haben, wurden alle bisherigen Untersuchungen an Geräten mit einer Feldstärke von 1,5 Tesla durchgeführt. In dieser Arbeit konnte durch die Verwendung eines 3-Tesla Gerätes eine entscheidende Erhöhung des Signal zu Rausch Verhältnisses erreicht werden. Erst hiermit konnten die relativ geringen Volumina von 1,7 ml in den Hippocampusarealen realisiert werden. Die Untersuchungsvolumina der bisherigen humanexperimentellen Arbeiten lagen sämtlich bei etwa 8 ml. Bei dieser Größe sind Hippocampus spezifische Messungen nicht zu realisieren.

Die Voxel in den tierexperimentellen Untersuchungen an *Tupaia belangeri* waren mit  $7 \times 5 \times 7 \text{ mm}^3$  (0,25 ml) im Vergleich sehr klein. Untersuchungsvolumina dieser Größe lassen sich aktuell nur an Tier-MR-Scanner mit extrem starken Gradientenfeldern realisieren. Allerdings war hier auch die Größe des Gehirns sehr klein und daher umfasste der Untersuchungsvoxel sehr verschiedene Hirnstrukturen (Neocortex und angrenzende weisse Substanz, Basalganglien, Thalamus und Hippocampus).

Auch die verwendeten Messparameter könnten Unterschiede in den bisherigen Arbeiten erklären. Insbesondere die Arbeit von Brown et. al [15] verwendet deutlich andere Repetitions- und Echozeiten ( $TR = 1500 \text{ ms}$  und  $TE = 144 \text{ ms}$ ). Damit ergeben sich für die Arbeit von Brown erhebliche Beeinflussung der Messergebnisse sowohl durch T1- als auch durch T2-Effekte. Aus diesem Grund kann zum Beispiel mit diesen Parametern myo-Inosit (T2-Relaxationszeit etwa 100 ms) nicht bestimmt werden.

Die vorliegende Arbeit hat mit einer langen Repititionszeit ( $TR = 6000 \text{ ms}$ ) weitgehend vollrelaxierte Messungen durchgeführt und konnte aufgrund der kurzen Echozeit ( $TE = 30 \text{ ms}$ ) auch die Konzentration von Metaboliten mit kurzer T2-Zeit zuverlässig bestimmen.

Insgesamt konnte durch die gewählten Parameter gesichert werden, dass trotz kleinem Untersuchungsvolumen ein ausreichend hohes Signal-Rausch-Verhältnis erreicht wurde. Durch sorgfältige Positionierung der Untersuchungsvolumina und durch strenge Qualitätskriterien an die Daten wurde darüberhinaus versucht die Konzentrationsbestimmung so exakt wie möglich durchzuführen.

Leider wurde von keinem der Autoren Angaben zu den von ihnen verwendeten Qualitätskriterien der spektroskopischen Messungen und Analysen gemacht. Diese Angaben

sind aber notwendig, um eine Einschätzung der Genauigkeit und damit Reliabilität der Messungen vornehmen zu können.

In den oben genannten Arbeiten ist der überwiegende Teil der untersuchten Patienten weiblich. Ob dies eine weitere mögliche Erklärung für die diskrepanten Befunde ist, kann nur durch Berücksichtigung geschlechtsspezifischer Unterschiede in den zukünftigen Untersuchungen überprüft werden.

In der vorliegenden Arbeit wurde versucht, ein für Veränderungen möglichst sensitives Untersuchungsdesign zu wählen und durch die Rekrutierung einer relativ homogenen Untersuchungsgruppe zusätzliche Variabilitätsursachen zu minimieren. So wurden aufgrund der nicht sicher auszuschließenden geschlechtsspezifischen Reaktionen nur männliche Probanden in die Untersuchung eingeschlossen.

Als ein Grund für den fehlenden eindeutigen Nachweis Cortisol bedingter Konzentrationsänderungen in der vorliegenden Arbeit kommt die relativ kurze Dauer der Cortisolexposition in Frage.

Die vorgenommene Cortisol-Konzentrationserhöhung ist mit 4 Tagen im Vergleich zu den anderen genannten Arbeiten sehr kurz. Khiat hatte darüberhinaus in seinen Untersuchungen eine Korrelation zwischen Konzentrationsverringerung und Dauer und Höhe der Prednison-Behandlung beschrieben [82]. Die Patienten, die von Brown beziehungsweise Khiat untersucht wurden, nahmen im Durchschnitt seit 7,5 beziehungsweise 8,5 Jahren eine mittlere Tagesdosis von etwa 15 mg Prednisolon ein, was bei einer vierfach höheren glukokortikoiden Potenz von Prednisolon etwa 60 mg Cortisol entspricht. Die in dieser Arbeit verwendete Dosis von 160 mg/d Cortisol liegt damit zwar deutlich höher, aber offenbar reichte diese höhere Dosis dennoch nicht aus, um eindeutig spektroskopisch nachweisbare Konzentrationsveränderungen zu verursachen. Demnach wäre eine Gabe über einen längeren Zeitraum erforderlich. Dies ist aufgrund zu erwartender Nebenwirkungen bei gesunden Probanden allerdings ethisch nicht vertretbar.

Neben der im Vergleich geringen Cortisolexposition ist die Sensitivität der spektroskopischen Messungen und die damit einhergehende Meßwertvariabilität eine mögliche Ursache dafür, dass Cortisol bedingte Veränderungen der Metabolitenkonzentrationen nicht nachgewiesen werden konnten. Zusammenfassend finden sich die stabilsten Konzentrationsbestimmungen in den Messungen des Gyrus cinguli posterior. Die Meßwerte der Hippocampus-Regionen weisen im Vergleich dazu eine deutlich breitere Streuung auf. Zum einen resultiert dies aus der deutlich kleineren Voxelgröße (1,7 ml im Vergleich zu 4,1 ml) und der damit einhergehenden Abnahme des Signal-Rausch-Verhältnisses um

den Faktor 2,3. Zum anderen sind die Messungen im Hippocampus aufgrund der relativen Nähe zu Schädelbasis und Nebenhöhlen stärker durch Magnetfeldinhomogenitäten belastet. Diese Magnetfeldinhomogenitäten bewirken eine Verbreiterung der Resonanzlinien und verringern die Genauigkeit der Konzentrationsbestimmung. Ebenfalls können Pulsationsbewegungen in der Nähe der Arteriae carotae beziehungsweise der Arteriae cerebri mediales ursächlich für eine höhere Streuung der Meßwerte sein. Eine Möglichkeit hierfür zu korrigieren wären EKG-getriggerte Messungen.

Die strengen Qualitätskriterien, die an die Spektren gestellt wurden (FWHM  $< 0.1$  ppm und Cramer-Rao-Bounds  $< 20\%$ ) korrigieren zum Teil für diese Artefakte, da qualitativ schlechte Spektren nicht in die statistische Analyse einbezogen wurden, allerdings reduzierten sich dadurch auch die Anzahl der zur Verfügung stehenden Messwerte für die statistische Analyse.

Bei Berücksichtigung der Stichprobengröße und der in dieser Arbeit ermittelten Standardabweichungen konnten bei einer angestrebten statistischen Power von 80% und dem üblichen Signifikanzniveau von 0,05 für NAA, CRE, CHV und mINS Unterschiede im Bereich von 0,5-0,8 mmol/l nachgewiesen werden. Für die Gesamtkonzentration von Glutamin und Glutamat hätte der Konzentrationsunterschied aufgrund der deutlich höheren Standardabweichung etwa 2 mmol/l betragen müssen, um statistisch signifikant nachgewiesen werden zu können.

Für zukünftige magnetresonanzspektroskopische Untersuchungen der Wirkung von Cortisol auf neuronale Metabolite sind zum einen die Hinweise auf geschlechtsspezifische Effekte zu berücksichtigen. Zum anderen sollte eine ausreichend lange und hohe Cortisolexposition gewährleistet sein, da Konzentrationsveränderungen möglicherweise mit den aktuell zur Verfügung stehenden magnetresonanzspektroskopischen Bestimmungsmethoden erst nach deutlich längerer Exposition nachweisbar werden.

Durch weitere Erhöhung der Feldstärken und damit Verbesserung der lokalen Auflösung, der Genauigkeit der Messung und Verkürzungen der Messzeiten kann man in der Zukunft auf eine regionale Kartographierung des neuronalen Zellstoffwechsel hoffen und durch noch bessere spektrale Auflösung auch Metabolitenkonzentrationen bestimmen, die mit den bisherigen Methoden noch nicht messbar sind, um eine noch größere Aussagekraft dieser einzigartigen Methode zu erreichen.