

Aus der Klinik für Psychiatrie und Psychotherapie
Direktor: Prof. Dr. Dr. Michael Bauer

Cortisolsekretion während computerassistierter
intravenöser Alkoholselbstverabreichung bei jungen
gesunden sozialen Trinkern

D i s s e r t a t i o n s s c h r i f t

zur Erlangung des akademischen Grades

Doktor der Medizin

Doctor medicinae (Dr. med.)

vorgelegt

der Medizinischen Fakultät Carl Gustav Carus

der Technischen Universität Dresden

von

Alexandra Verena Markovic

aus München

Dresden 2015

2. Blatt (2.Seite)

1.Gutachter:

2.Gutachter:

Tag der mündlichen Prüfung (Verteidigungstermin)

gez.: _____

Vorsitzender der Prüfungskommission

Anmerkung:

Die Eintragung der Gutachter und Tag der mündlichen Prüfung (Verteidigung) erfolgt nach Festlegung von Seiten der Medizinischen Fakultät Carl Gustav Carus der Technischen Universität Dresden. Die oben genannten Eintragungen werden durch die Doktoranden nach der Verteidigung zwecks Übergabe der fünf Pflichtexemplare an die Zweigbibliothek Medizin in gedruckter Form oder handschriftlich vorgenommen.

Inhaltsverzeichnis

Inhaltsverzeichnis	3
Abbildungsverzeichnis	6
Tabellenverzeichnis	7
Abkürzungsverzeichnis	8
1 Einleitung	10
1.1 Alkohol – eine kurze Einführung	10
1.2 Bedeutung des Zusammenhangs von HPA-System und Alkohol	12
1.2.1 Experimentelle Alkoholelbstverabreichung	12
1.2.2 Neuropharmakologie von Alkohol	13
1.2.3 Geschlechtsunterschiede bei der Cortisolsekretion	14
1.2.4 Übelkeit und die Auswirkungen auf die Cortisolsekretion unter Alkoholexposition	15
1.3 Orale Alkoholverabreichung versus intravenöse Alkoholverabreichung	16
1.4 Zielsetzung	19
2 Material und Methoden	20
2.1 Versuchsteilnehmer	20
2.1.1 Einschlusskriterien	20
2.1.2 Ausschlusskriterien	21
2.1.3 Aufnahmeuntersuchung	22
2.2 Versuchsaufbau und Durchführung	22
2.2.1 Versuchsprinzip	23
2.2.2 Versuchsablauf	24
2.2.3 Verwendete Materialien	27
2.2.4 CASE Software	27
2.2.5 Herstellung der 6%igen Alkohol-Infusionslösung	29
2.2.6 Messung der BAK	30
2.2.7 Verwendete Fragebögen und Selbsteinschätzungstests	30
2.3 Blutverarbeitung	31
2.3.1 Blutbehandlung im Labor (Testkit der Firma IBL International GMBH)	32
2.3.1.1 Testprinzip im Labor	32
2.3.1.2 Testdurchführung bei Serumproben	32

2.3.1.3	Testauswertung	33
2.4	Statistische Auswertung	33
3	Ergebnisse	37
3.1	Versuchsteilnehmer	37
3.2	Konfirmatorische Datenanalyse der Cortisolsekretion	38
3.2.1	CASE Ergebnisvariablen	38
3.2.2	Analyse von Baseline Cortisol Tag eins vs. Tag zwei	39
3.2.3	Einfluss von Familienanamnese, Geschlecht und maximalem Blutalkohol auf die Cortisolsekretion	40
3.2.3.1	Beobachtung beider Experimentaltage zusammen	40
3.2.3.2	Getrennte Beobachtung für den ersten Experimentaltag	44
3.2.3.3	Getrennte Beobachtung für den zweiten Experimentaltag	46
3.2.3.4	Einfluss von max BAK Tag zwei auf den prozentualen Anteil der Nettofläche an der Gesamtfläche Tag zwei	48
3.3	Explorative Analyse von potentiellen weiteren Einflussfaktoren	49
3.3.1	Der Effekt von Übelkeit auf die Cortisolsekretion	49
3.3.2	Der Effekt von Rauchen auf die Cortisolsekretion	50
4	Diskussion	52
4.1	Auswahl der CASE Ergebnisvariablen	52
4.2	Unterschiede zwischen dem ersten und zweiten Experimentaltag	53
4.3	Verschiedene Einflüsse auf die Cortisolsekretion	54
4.3.1	Einfluss von Geschlecht	54
4.3.2	Einfluss von max BAK	55
4.3.3	Einfluss von Familienanamnese	55
4.4	Unterschiede zu vorhergehenden Studien	56
4.5	Diskussion der explorativen Datenanalyse	57
4.5.1	Einfluss von Übelkeit auf die Cortisolsekretion	57
4.5.2	Einfluss von Rauchen auf die Cortisolsekretion	58
4.6	Limitation der D-LAYA Studie	59
4.7	Ausblick	60
	Zusammenfassung	61
	Summary	63
	Erklärung über die Eigenständigkeit	65

Erklärung über die Einhaltung der aktuellen gesetzlichen Vorgaben im Rahmen der Dissertation	66
Literaturverzeichnis	67
Lebenslauf	75
Danksagung	77
Anhang	78

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1 Variabilität des zeitlichen Verlaufs der Atemalkoholkonzentration Ramchandani et al. 2009	17
Abbildung 2 Schematischer Ablauf eines Experimentaltages	26
Abbildung 3 Benutzeroberfläche von CASE	28
Abbildung 4 Erläuterungen der Benutzeroberfläche CASE	29
Abbildung 5 AUC Berechnungen	36
Abbildung 6 Vergleich Baseline Cortisol Tag 1/Tag2 für Männer und Frauen	40
Abbildung 7 Interaktion zwischen Zeit und Geschlecht Tag 1 und 2	42
Abbildung 8 Interaktion zwischen Zeit und Tag 1 und 2	43
Abbildung 9 Zeitlicher Verlauf der Cortisolspiegel bei Männern und Frauen Tag 1	45
Abbildung 10 Interaktion zwischen Zeit und Geschlecht Tag 2	47
Abbildung 11 Mittelwerte maximale Übelkeit	50
Abbildung 12 max BAK: Männer Rauchen positiv/negativ; Frauen Rauchen positiv/negativ	51

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1 Zeitpunkte für Cortisolabnahmen	33
Tabelle 2 Kovarianzanalyse	34
Tabelle 3 Zusammensetzung der Probanden	37
Tabelle 4 Korrelationsmatrix über die drei CASE-Outcome Variablen Tag 1	38
Tabelle 5 Korrelationsmatrix über die drei CASE-Outcome Variablen Tag 2	39
Tabelle 6 Baseline Cortisol Mittelwerte	39
Tabelle 7 Paarweise Vergleiche der Cortisolwerte zwischen Männern und Frauen für alle Zeitpunkte	42
Tabelle 8 Deskriptive Statistiken zur Interaktion Zeit x Tag	43
Tabelle 9 Paarweise Vergleiche der Cortisolwerte zwischen Männern und Frauen für alle Zeitpunkte am erster Tag	44
Tabelle 10 Mittelwerte Cortisol in ng/ml zu den Messzeitpunkten Tag 1	45
Tabelle 11 Paarweise Vergleiche der Cortisolwerte zwischen Männern und Frauen für alle Zeitpunkte am zweiten Tag	46
Tabelle 12 Mittelwerte Cortisol in ng/ml zu den Messzeitpunkten Tag 2	47

Abkürzungsverzeichnis

ACTH	adrenocorticotropes Hormon
ALAT	Alanin-Aminotransferase
ASAT	Aspartat-Aminotransferase
AUC	Area Under the Curve
BAES	Biphasic Alcohol Effects Scale
BAK	Blutalkoholkonzentration
Baseline	basaler Cortisolwert ohne Alkoholexposition
„Bestellung“	vom Probanden ausgeführte einzelne Anforderung von Alkoholzufuhr, die zum Anstieg der BAK um einen festen Wert führt
CASE	Computerassistierte Selbstinfusionen von Ethanol
Caucg	Cortisol-Gesamtfläche unter der Kurve
Caucn	Cortisol-Nettofläche (Fläche über der Kurve)
CRH	Corticotropin-releasing Hormon
D-LAYA	Dresden Longitudinal Study on Alcohol Consumption in Young Adults (Dresdner Verlaufsstudie zur Alkoholkwirkung bei jungen Erwachsenen)
DSM-IV-TR	Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, fourth edition, text revision
gGT	γ -Glutamyltransferase
HPA	Hypothalamic-pituitary-adrenal activity (Hypothalamus-, Hypophysen-, Nebennierenrinden-Achse)
ICD-10	International Classification of Diseases, 10th revision
K-S Test	Kolmogorov-Smirnov Test
i.v.	intravenös
Max BAK	maximale Blutalkoholkonzentration
M-CIDI	Münchener-Composite International Diagnostic Interview
Mini-Dips	Diagnostisches Kurz-Interview bei psychischen Störungen
NIAAA	National Institute on Alcohol Abuse and Alcoholism

PBPK-Modell	Physiologically Based Pharmacokinetic Model of Alcohol Elimination and Distribution (Pharmakokinetisches Modell der Alkoholelimination und -Verteilung)
Prozentuale AUC	Caucn/Caucg
PVK	peripherer Venenkatheter
s.c.	sub cutan
Standardalkoholgetränk	Getränkeeinheit mit 12g Ethanol
ZNS	zentrales Nervensystem

1 Einleitung

1.1 Alkohol – eine kurze Einführung

„Alkohol ist die älteste Droge der Menschheit.“ (Lindenmeyer 2011)

Ab ca. 3500 v.Chr. lässt sich eine hochentwickelte Alkoholkultur, begonnen bei den Sumerern und Babyloniern über die Antike hinweg bis zum heutigen Zeitalter geschichtlich aufzeichnen. Soziale Funktionen wie Stärkung des Zusammengehörigkeitsgefühl und Vergessen der Alltagsrealität prägten den gemeinsamen Alkoholgenuss zu jeder Zeit. In den meisten Ländern der Welt gehört Alkoholtrinken als wichtiger Bestandteil zu den Grundmahlzeiten des Tages sowie zur geselligen Abendgestaltung (Room et al. 2002, Lindenmeyer 2011). Weiterhin wird Alkohol eine bedeutende Funktion bei Stammesriten und religiösen Zeremonien zugeschrieben.

Die Weltgesundheitsorganisation veröffentlichte 2014, dass 3,3 Millionen Menschen an den Folgen von Alkohol 2012 weltweit starben (\cong 5,9% aller Todesfälle). Es gibt signifikante Geschlechtsunterschiede. 7,6% der Männer starben 2012 an den Folgen von Alkohol, bei Frauen dagegen lag der Prozentsatz bei 4,0. Alkohol wurde für mehr als 200 Erkrankungen und Verletzungen nach ICD-10 als Teilursache identifiziert (Rehm et al. 2009).

Beispiele für Erkrankungen und Schädigungen, die ursächlich durch Alkohol entstanden sind (WHO 2014):

- neuropsychiatrisch: Alkoholabhängigkeit, häufig auch verbunden mit Depressionen und Angsterkrankungen
- gastrointestinal: akut und chronisch, Pankreatitis und Leberzirrhose
- Tumorerkrankungen: Mund-, Nasopharynx-, Oropharynx-, Oesophageal-, Colon- und Rektumkarzinome; Leber-, Pankreas und Mammakarzinome
- kardiovaskulär: Hypertonie, Vorhofflimmern, hämorrhagische Schlaganfälle
- metabolisch: Diabetes mellitus
- infektiös: allgemeine Schwächung des Immunsystems mit Folgen wie Pneumonie und Tuberkulose

- Verletzungen: erhöhte Suizid- und Unfallgefahr
- Fetales Alkoholsyndrom und Geburtskomplikationen

Weltweit gesehen lag der Konsum bei 6,2 l Reinalkohol pro Kopf (Alter 15+) nach WHO (2010), jedoch besteht eine große geographische Varianz dieser Zahl. Hapke und Kollegen¹ (2013) fanden in einer repräsentativen Studie, dass Deutschland mit einem Konsum von 9,6 l Reinalkohol pro Kopf zu den Hochkonsumländern der Welt gehört. Hier liegt der Konsum bei jungen Erwachsenen im Alter von 19-29 (Männer 54,9%; Frauen 36%) am Höchsten.

Übermäßiger Alkoholkonsum kann in die Alkoholabhängigkeit führen und gehört zu den häufigsten neuropsychiatrischen Erkrankungen unserer Gesellschaft (Spanagel et al. 2013). Es gibt drei allgemeine Faktoren, die zu einer Alkoholabhängigkeit beitragen (Zhou und Kreek, 2014):

1. Umwelteinflüsse (Stress)
2. Direkte Verstärkungseffekte von Alkohol und anhaltende molekulare sowie neurobiologische Veränderungen von Alkohol im ZNS
3. Individuelle genetische Veranlagung

Es stellen sich viele offene Fragen in der Forschung zu der Thematik Alkoholmissbrauch bzw. -abhängigkeit, insbesondere in der Prävention und Intervention von Jugendlichen und jungen Erwachsenen. Hier sind die registrierten vollstationären Behandlungsfälle aufgrund von toxischen Alkoholwirkungen oder psychischen Störungen durch Alkohol der 10-20 Jährigen seit dem Jahr 2000 in Deutschland deutlich angestiegen. Im Jahre 2000 zählte das statistische Bundesamt 9514 Patienten. 2012 stieg die Zahl auf 26673 Patienten.

¹ Aus Gründen der besseren Lesbarkeit wird auf die gleichzeitige Verwendung männlicher und weiblicher Sprachformen verzichtet. Sämtliche Personenbezeichnungen gelten gleichwohl für beiderlei Geschlecht.

1.2 Bedeutung des Zusammenhangs von HPA-System und Alkohol

Das HPA-System ist eine dreigliedrige Hormonachse, die aus dem hypothalamischen Peptidhormon CRH (Corticotropin-Releasing Hormon), dem hypophysären Peptidhormon ACTH (Adrenocorticotropes Hormon) sowie dem Nebennierenrinden-Steroid Cortisol besteht. Die drei sezernierten Hormone bilden mehrere negative Rückmeldeschleifen, um auf allen drei Gewebsebenen eine optimale Regulation der Produktion und Sekretion dieser Botenstoffe gewährleisten zu können (Kirschbaum 2001).

Als Endhormon dieses Regelkreises ist die Messung von Cortisol das entscheidende Hormon zur Beobachtung von Wechselwirkungen zwischen HPA-System und Alkohol. In zahlreichen Veröffentlichungen der Vergangenheit wurden Wechselwirkungen zwischen Cortisolsekretion und Alkoholwirkungen untersucht (Jenkins und Connolly 1968; Spanagel et al. 2014), da ursächliche Zusammenhänge zwischen dem HPA-System und der Entwicklung von Suchterkrankungen vermutet werden. (Piazza und Le Moal 1996; Koob und Kreek 2007; Uhart und Wand 2009). Weiterhin wurde die Persistenz einer Alkoholabhängigkeit sowie die Wahrscheinlichkeit für einen Rückfall in die Alkoholabhängigkeit mit dem Stresssystem einschließlich der HPA-Achse in Bezug gesetzt (Sinha et al. 2011). Ein negativer emotionaler Zustand kann nach Alkoholabstinenz bei Alkoholabhängigen Trinkrückfälle durch erhöhte Aktivität von Stresshormonen des HPA-Systems hervorrufen. (Koob und Volkow 2010)

Die Literatur bietet hier uneinheitliche Ansätze und Interpretationen, ob eine Alkoholexposition die Cortisolsekretion stimuliert, dämpft oder mit keiner Reaktion beantwortet.

1.2.1 Experimentelle Alkoholselbstverabreichung

Alkoholselbstverabreichung bedeutet, dass Probanden aufgefordert werden, sich absichtlich ein wenig zu betrinken. Sie können in gewissen Grenzen (standardisierte Alkohollösungen) selbst entscheiden, wie viel und wie schnell sie trinken möchten. Demzufolge werden hier die Anzahl der konsumierten Getränke ausgewertet. Jedoch konnte mit dieser Methode keine gut zu vergleichenden Ergebnisse gefunden werden. Mit CASE wurde eine Methode für intravenöse Alkoholselbstverabreichung entwickelt, mit der ein wesentlich besserer Vergleich zwischen den Blutalkoholkonzentrationen der

Probanden gewährleistet werden kann. Die Unterschiede zwischen oraler und intravenöser Alkoholselbstverabreichung werden in Kap.1.3 näher erläutert.

27 experimentelle Studien (Mick et al. 2013) beschäftigten sich thematisch mit der oralen standardisierten Alkoholgabe, welche an gesunden, nicht abhängigen sozialen Trinkern durchgeführt wurden.

In diesen Studien wurde beobachtet, dass die HPA-Aktivität bei akuter Alkoholexposition unterschiedlich reguliert bzw. dysreguliert ist. Die HPA-Aktivität unterscheidet sich bei gesunden Nachkommen von alkoholabhängigen Eltern im Gegensatz zu alkoholgesunden Eltern (Schuckit et al. 1987; Schuckit et al. 1988; Lex et al. 1991; Waltman et al.1993; Dai, Thavundayil und Gianoulakis 2002; Zimmermann et al. 2009). Die Familienanamnese beeinflusst die Entwicklung einer späteren Suchterkrankung. Schuckit und Kollegen (1987, 1988) beobachteten, dass die Probanden mit positiver Familienanamnese unter hoher Alkoholexposition niedrigere Cortisollevel aufwiesen als die Probanden mit negativer Familienanamnese. Weiterhin wurden Alkoholauswirkungen auf die Cortisolsekretion unter dem Aspekt der positiven oder negativen Familienanamnese für Alkoholabhängigkeit unterschiedlich in der Literatur beschrieben. Die erhobenen Befunde unterscheiden sich in der Methodik von Alkoholverabreichung. Verschiedene Effekte auf die Cortisolsekretion wurden dosisabhängig in experimentellen Studien der Vergangenheit unter oraler Alkoholgabe gefunden. Niedrige (<0,6 g/kg), mittlere (0,6-0,79 g/kg) und hohe (>0,8 g/kg) Alkoholexpositionen hatten entweder keinen Effekt auf den Cortisolspiegel, wirkten auf das Cortisol dämpfend oder führten zu einem Anstieg des Cortisolspiegels.

1.2.2 Neuropharmakologie von Alkohol

Alkohol besitzt eine komplexe Pharmakologie. Es sind jedoch nur wenige primäre Ziele an Rezeptoren bekannt. Dazu gehören N-Methyl-D-Aspartat- (NMDA-), Gamma-Amino-Buttersäure- (GABAA-), Glycin-, 5-Hydroxytryptamin 3- (5-HT₃ Serotonin) und Nikotin Acetylcholin Rezeptoren (nAChR) sowie L-Typ Ca-Kanäle und G-Protein aktivierte K-Kanäle. Insbesondere wurde eine Aktivierung der GABAA-, ein Antagonismus an NMDA- sowie Agonismus an 5-HT₃ Serotonin und nAChR-Rezeptoren gefunden (Vengeliene et al. 2008). Mögliche Mechanismen, wie Alkohol über das Neurotransmittersystems auf das HPA-System wirkt, wurden von Mick und Kollegen (2013) zusammengefasst.

Alkohol verbessert die GABAerge Übertragung durch erhöhte Ausschüttung von Gamma-Amino-Buttersäure (GABA) an GABA-A Rezeptoren (Criswell und Breese 2005), während ACTH gleichzeitig gehemmt wird (Tuomisto und Mannisto 1985). Des Weiteren erhöht Alkohol endogenes Opiat (EOP) (Herz 1997) und EOP hemmt die hypothalamische CRH-Sekretion, welches als Folge die ACTH-Auschüttung vermindert (Grossmann 1983). Weiterhin hemmt Alkohol die glutamerge Übertragung an N-Methyl-D-Aspartat (NMDA) Rezeptoren (Lovinger, White und Weight 1989), wodurch Glutamat die aktivierende Wirkung auf das HPA-System dämpft (Moghaddam 2002). Die Gabe von Alkohol intravenös erhöht atriales natriuretisches Peptid (ANP) (Gianoulakis et al. 1997), welches die Freisetzung von ACTH hemmt (Jezova et al. 1994).

Die Funktion des 5-HT₃ Rezeptor (Serotonin) in Bezug auf das HPA-System konnte noch nicht ausreichend geklärt werden, ebenso konnten keine Berichte über die Funktion von Nikotin Acetylcholin Rezeptoren (nAChR) sowie von L-Typ Ca Kanälen und G-Protein aktivierten K-Kanälen in Bezug auf das HPA-System gefunden werden. (Mick et al. 2013)

Spanagel und Kollegen (2013) berichten u.a. auch von sekundären Alkoholeffekten. Diese lösen indirekte Reaktionen aus, die an einer Vielzahl von neurochemischen Systemen ansetzen. Insbesondere sind Dopamin, Endocannabinoid- und Opioidsysteme als Trigger- und Belohnungseffekte von Bedeutung. Chronischer Alkoholkonsum führt zu Veränderungen in allen neurobiologischen Systemen. Alkoholkonsum kann zu Modulationen in der Genexpressionsregulierung und zu Veränderungen auf molekularer Ebene führen (synaptisch und zellulär). Infolgedessen kann es zu langanhaltenden Veränderungen in der neuronalen Verknüpfung sowie auf der Ebene des Neurotransmittersystems kommen.

1.2.3 Geschlechtsunterschiede bei der Cortisolsekretion

Die Einnahme oraler Kontrazeptiva kann einige Modulationen im menschlichen Körper verursachen. Speichelkonzentrationen von Cortisol können im Ruhezustand unter der Einnahme von Kontrazeptiva erhöht sein (Roche et al. 2013). Campesi und Kollegen (2012) beobachteten in ihrer Studie, in der sie Frauen mit oraler Einnahme von Kontrazeptiva und ohne verglichen, dass Veränderungen im Hormonsystem insbesondere des HPA-Systems vorliegen. Die Cortisolsekretion stieg bei den Frauen mit oraler Einnahme im Gegensatz zu den Frauen ohne an. Weiterhin konnten durch

die Einnahme von Kontrazeptiva Veränderungen der Lymphozytenanzahl, des Eisenhaushalts, der Blutwerte des Fettstoffwechsels sowie der Entzündungswerte und der Gerinnungsfaktoren (Prothrombin) auftreten. Diese genannten Parameter stiegen ebenfalls an. Prothrombin wurde als einziger Parameter vermindert. Auch Boisseau und Kollegen untersuchten in ihrer Studie (2013) den Einfluss oraler Kontrazeptiva auf den Cortisolspiegel. Sie fanden heraus, dass bei 21 Frauen die Verwendung oraler Kontrazeptiva im Gegensatz zu Frauen ohne zu einem erhöhten Cortisolspiegel in freier Ruhespeichelkonzentration und einer erhöhten Sekretion von Cortisol im Urin führte.

1.2.4 Übelkeit und die Auswirkungen auf die Cortisolsekretion unter Alkoholexposition

Endokrine Veränderungen in der Kombination mit Übelkeit (mit oder ohne Erbrechen) lassen sich in zahlreichen Studien aufweisen. Verschiedene Stresshormone des sympathischen Nervensystems (Adrenalin und Noradrenalin) sowie der HPA- Achse (ACTH und Cortisol) sind Teil einer metabolischen Antwort auf Erkrankungen (Preiser et al. 2014). Akute Übelkeit und Erbrechen sind verbunden mit der vermehrten Sekretion von ACTH und Cortisol (Leach et al. 1988, Drummer et al. 1990, Kohl 1992, Klosterhalfen et al. 2000). Des Weiteren ist bekannt, dass Plasmaspiegel von Stresshormonen mit der Intensität von Übelkeitssymptomen korrelieren (Otto et al. 2006).

Inder und Kollegen (1995) fanden in einer experimentellen Studie, dass gastrointestinale Nebenwirkungen wie Übelkeit und Erbrechen auf akute Alkoholexposition von 0,88 g/kg zu erhöhten Cortisolspiegeln führte. Jedoch die Exposition bei Probanden ohne Nebenwirkungen wie Übelkeit und Erbrechen die Ausschüttung der HPA-Achsen Hormone dämpfte. Sie interpretierten, dass verschiedene Alkohollevel nicht per se zu einer Stimulation des HPA-Systems führen, sondern die gastrointestinalen Beschwerden durch Alkohol ausgelöst werden und somit zu einer HPA-Stimulierung führen. Demzufolge handelte es sich um unspezifische Alkoholeffekte bei Übelkeit und Erbrechen. Auch Mick und Kollegen (2013) erörterten diese Thematik und kamen zu dem Schluss, dass Alkohol dosisabhängig entgegengesetzte Auswirkungen auf die Cortisolsekretion hat: Niedrige und mittlere Alkoholgaben dämpfen das HPA-System, während hohe Alkoholgaben

und alkoholinduzierte Nebenwirkungen das HPA-System stimulieren.

1.3 Orale Alkoholverabreichung versus intravenöse Alkoholverabreichung

Es gibt verschiedene Möglichkeiten der Applikation von Alkohol bei Experimenten.

Die ersten Versuche mit Alkohol wurden oral durchgeführt mit sogenannten „Standardgetränken“. Der Alkoholgehalt wurde dem Gewicht, der Größe und des Alters des jeweiligen Teilnehmers angepasst. Diese Experimente jedoch zeigten erhebliche interindividuelle Unterschiede in den Atemalkoholkonzentrationen.

Die Beispielversuchsreihe mit 44 gesunden männlichen Probanden von Ramchandani und Kollegen zeigte die hohe Variabilität der Atemalkoholkonzentration. (Abbildung1) In diesem Experiment wurden die Probanden aufgefordert 20%igen Alkohol in einem Fruchtsaftgemisch über einen Zeitraum von 10 Minuten zu sich zu nehmen. Die Alkoholmenge entsprach 1g pro Liter Körperwasser und die Experimente fanden zu identischen Bedingungen statt (vorherige Mahlzeit, Tageszeit sowie Experimentalablauf).

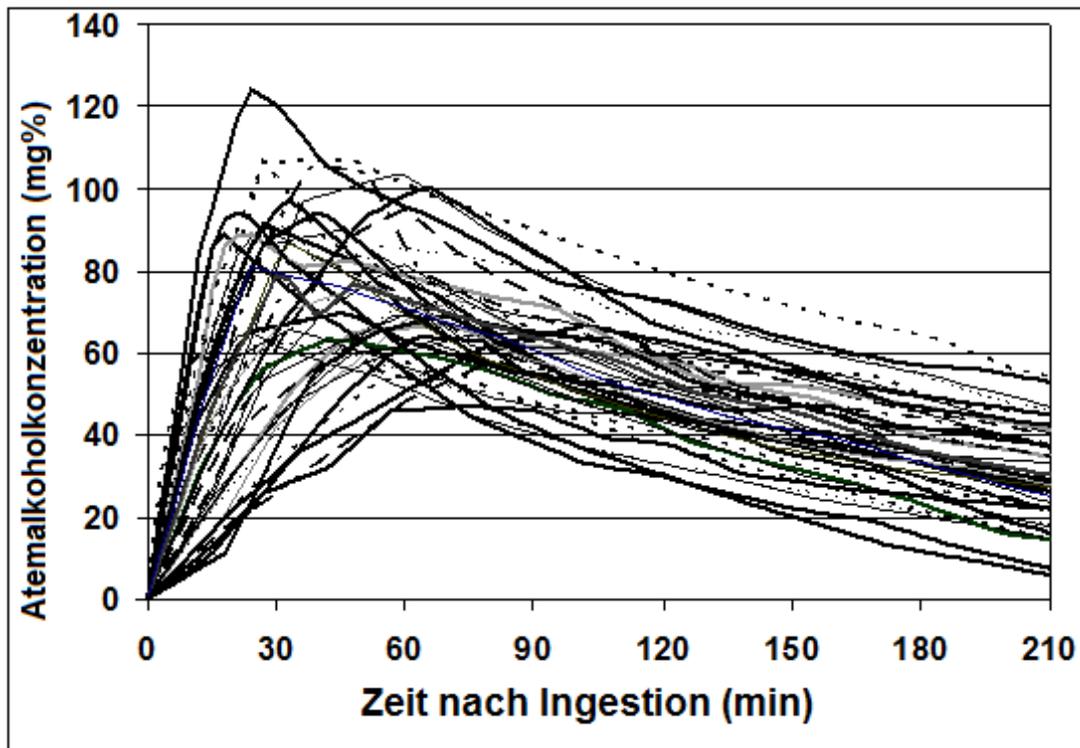


Abbildung 1 Variabilität des zeitlichen Verlaufs der Atemalkoholkonzentration Ramchandani et al. 2009

Die Blutalkoholkonzentration variiert aufgrund von unterschiedlichen Resorptions-, Diffusions- und Eliminationsphasen der jeweiligen Probanden. Diese werden beeinflusst durch physische und psychische Faktoren, wie z.B. Alter, Geschlecht, Größe, Gewicht, Erschöpfung sowie Anflutungs- und Eliminationsphase (Dettmeyer und Verhoff 2011).

Alkohol durchläuft verschiedene Resorptionsphasen im menschlichen Körper. Die erste Phase der Alkoholresorption beginnt in der Mundschleimhaut (2%), die zweite in der Magenschleimhaut (10-20%) und zuletzt gilt das Duodenum und das obere Jejunum als Hauptresorptionsort (Madea 2007).

Es sind folgende Einflussfaktoren bekannt, die die Alkoholresorption beschleunigen sowie verlangsamen können (Dettmeyer und Verhoff 2011):

- Konstitution und aktuelle körperliche Verfassung
- gleichzeitiger Nikotingenuss
- Art des alkoholischen Getränkes (Begleitstoffe und Konzentration)
- Temperatur des alkoholischen Getränkes
- Grad der Magenfüllung

- Art der Nahrungsbestandteile im Magen-Darm-Trakt (pH-Wert, Gewürze, Konsistenz, Fettanteil)
- Magenoperationen und Krankheiten
- Motilität und Durchblutung des Magen-Darm-Traktes sowie die Pylorusaktivität
- Einnahme von Medikamenten

Die intravenöse Alkoholinfusion hat den Vorteil, diese verschiedenen Störfaktoren in den Resorptions-, Diffusions- und Eliminationsphasen der jeweiligen Probanden eliminieren zu können. Eine vollständige Kontrolle über die Blutalkoholkonzentrationen ist durch die i.v.-Gabe gegeben und eine „Verblindung“ über die momentan erreichten Blutalkoholkonzentrationen möglich (Zimmermann et al. 2011). Demzufolge kann eine maximale Blutalkoholkonzentration als Sicherheitsgrenze definiert werden. Weiterhin ist die Möglichkeit gegeben, verschiedene Studiendesigns miteinander zu kombinieren und durchzuführen. Denkbare Beispiele für Studienabläufe könnten (nicht)-lineare ansteigende Blutalkoholkonzentrationen, konstante Alkoholexposition sowie kontrolliert abfallende Blutalkoholkonzentrationen sein. Wegen der unter allen Organen höchsten Durchblutung des Gehirns, kann eine schnelle Equilibrierung des Konzentrationsgefälles zwischen Blut und Gehirn stattfinden. Aufgrund dieser Gegebenheit ist die Blutalkoholkonzentration ein Annäherungsmaß für die Gehirnexposition.

Die Infusionsrate lässt sich so anpassen und berechnen, dass die gleiche Gehirnexposition von Alkohol unabhängig von Geschlecht, Alter, Körpergröße und -gewicht eines jeden Probanden gewährleistet ist. Die ungewohnte Art Alkohol zu konsumieren, lässt keinen Zusammenhang zwischen subjektiver Einschätzung/Erwartungshaltung und bisher konsumierten Mengen von Alkohol für den Probanden herstellen. Die Vorlieben für bestimmte Getränketyper werden umgangen und die fehlenden Alkoholcharakteristika wie Geschmack und Geruch führen zu keiner vorzeitigen Unterscheidung zwischen Alkohol und Placebo.

Ein wichtiger Aspekt für die Sicherheit stellt der stetige Abfall der Blutalkoholkonzentration dar, der sofort nach Beendigung der Alkoholinfusion einsetzt. Bei oraler Alkoholgabe verbleibt ein Restvolumen im Darm, welches die Blutalkoholkonzentration darüber hinaus weiter ansteigen lässt.

1.4 Zielsetzung

Ziel der experimentellen Studie war es, die Cortisolsekretion während computerassistierter intravenöser Alkoholselbstverabreichung zu untersuchen unter dem Einfluss von geschlechtsspezifischen Unterschieden, maximaler Blutalkoholkonzentration und Familienanamnese.

Weiterhin wurde die Frage erörtert, ob unangenehme Nebenwirkungen wie Übelkeit das HPA-System stimulieren und akute Alkoholexposition Auswirkungen auf die Cortisolspiegel für Raucher und Nichtraucher haben.

Bisher bietet die Datenlage vorwiegend Ergebnisse von experimentellen Studien mit oraler Alkoholgabe und vorher festgesetzter Alkoholdosis. Ein Novum dabei war es, die Zielgruppe, junge Erwachsene zu untersuchen in Kombination mit intravenöser freiwählbarer Alkoholexposition (bis zu einer Sicherheitsgrenze von 1,2 Promille), welche über eine spezielle Software (CASE) für Ethanolselfstinfusion gesteuert wurde.

Die folgenden zwei Fragestellungen sollten untersucht werden, um ggf. Hypothesen für nachfolgende Studien generieren zu können:

1. Unterscheiden sich Männer und Frauen hinsichtlich der Cortisolsekretion während Alkoholinfusion?
2. Liegt eine Dosis-Wirkungsbeziehung zwischen der Cortisolsekretion und akuter Alkoholexposition vor?

2 Material und Methoden

Die vorliegenden Daten wurden im Rahmen einer größer angelegten Studie erhoben. Anhand der experimentellen computerassistierten Selbstverabreichung sollen Prädiktoren für die künftige Entwicklung des Trinkverhaltens und für spätere Alkoholstörungen bei jungen Probanden gefunden werden. Es handelt sich um eine Längsschnittstudie, in der Probanden im Alter von 18 Jahren sowie 2 Jahre später mit 20 Jahren im Rahmen der Suchtforschung untersucht wurden (Zeitraum der Untersuchung 2010-2012). D-LAYA ist das Akronym für „Dresden Longitudinal Study on Alcohol Consumption in Young Adults“ (Dresdner Verlaufsstudie zur Alkoholwirkung bei jungen Erwachsenen). Diese Studie wurde von der Ethikkommission der Medizinischen Fakultät Carl Gustav Carus bewilligt.

2.1 Versuchsteilnehmer

Die Rekrutierung der Versuchsteilnehmer erfolgte durch standardisierte Anschreiben aller 18-Jährigen, an die vom Einwohnermeldeamt der Stadt Dresden zur Verfügung gestellten Adressen. In dieser Studie wurden 80 Probanden untersucht, die körperlich und psychisch gesund waren. 48 Probanden (28 männlich, 20 weiblich) konnten mit vollständigem Cortisol-Datensatz für zwei Experimentaltage in den Berechnungen berücksichtigt werden. 32 Datensätze waren aus technischen Gründen nicht auswertbar. Während eines 10-minütigen Telefonscreenings wurden die potentiellen Teilnehmer über den Verlauf des Experimentes aufgeklärt und nach Name, Kontaktdaten, Größe und Gewicht befragt; Ein- und Ausschlusskriterien sowie die Familienanamnese für Alkoholabhängigkeit in der Verwandtschaft wurden unsererseits überprüft. In den darauffolgenden Tagen informierten wir die Interessenten telefonisch und bestellten die Geeigneten zu einer Aufnahmeuntersuchung ein.

2.1.1 Einschlusskriterien

Probanden wurden eingeschlossen, wenn

- ein freiwilliges, schriftliches Einverständnis vorlag
- Männer und Frauen sich im 19. Lebensjahr befanden
- Dresden als Hauptwohnsitz angegeben wurde

- ein bisheriger Alkoholkonsum im Rahmen eines sozialen Trinkers gegeben war, was einem ein- bis dreimaligen Konsum pro Woche entspricht
- diese in der Lage waren für die Dauer des Experimentes auf Zigarettenkonsum zu verzichten
- sie eine Abstinenz von illegalen Drogen für die Studiendauer zusichern konnten
- sie genaue Angaben über das Trinkverhalten der Eltern und Geschwister sowie für vier weitere zweitgradig Verwandte tätigen konnten
- mindestens einmal in ihrem Leben einen Alkoholrausch erlitten hatten mit Filmriss, Erbrechen oder Verkaterung am folgenden Tag
- Frauen eine sichere Verhütung mit Kontrazeptiva, Kondom, Spirale etc. zusichern konnten; dies wurde an jedem Experimentaltag mit einem HCG Urintest zusätzlich überprüft

2.1.2 Ausschlusskriterien

- alle akuten und chronischen körperlichen Erkrankungen, z.B. des Herz-Kreislauf- Systems, des respiratorischen Systems, des Gastrointestinaltraktes, der Leber, der Nieren oder des Endokrinums
- neurologische Erkrankungen, wie z.B. Epilepsie
- positiver Hepatitis- oder HIV-Befund
- psychiatrische Erkrankungen
- bestehende und zurückliegende Suchterkrankungen
- Alkoholabstinenz oder Genuss von weniger als zwei alkoholischen Getränken in der Woche
- Alkoholkonsum am Experimentaltag oder des vorherigen Tages
- bekannte Alkoholunverträglichkeiten
- positives Urinscreening für Cannabinoide, Kokain, Amphetamine, Opiate oder Benzodiazepine
- positiver Schwangerschaftstest (HCG-Testung im Urin), Schwangerschaft bzw. Schwangerschaftswunsch
- mögliche Interaktionen, die pharmakologisch bekannt sind, mit eingenommenen Medikamenten in den letzten 2 Wochen vor der Studienteilnahme

2.1.3 Aufnahmeuntersuchung

Eine einstündige Aufnahmeuntersuchung war für jeden Probanden der Studie verpflichtend. Durch eine genaue Anamneseerhebung konnten somatische und psychiatrische Vorerkrankungen ausgeschlossen werden und dienten der Prüfung der D-LAYA Einschluss- und Ausschlusskriterien bzw. dem Schutz der Gesundheit der Teilnehmer. Diese umfasste eine Bestimmung von Körpergewicht, Größe, Puls, Blutdruck, einen Urindrogentest und ein kleines Blutbild (Serum- und Citratblut mit den Markern ALAT, ASAT, gGT und Lipase). Eine ausführliche Aufklärung, eine Demonstration der Laborräume und die schriftliche Einwilligung rundeten diese Untersuchung ab.

2.2 Versuchsaufbau und Durchführung

Das Labor der D-LAYA-Studie bestand aus zwei voneinander abgetrennten Räumen, dem Versuchsleiterraum sowie dem Probandenraum. Im Versuchsleiterraum befanden sich der Computer mit der CASE-Software und die Infusionspumpen. Die Infusionsleitungen wurden zu dem im Nebenraum sitzenden Probanden geführt. Zur Überwachung des Experimentes insbesondere der Überwachung des Gesundheitszustandes des Teilnehmers wurde eine Kamera im Probandenraum angebracht. Dies diente der Beobachtung des Experimentes in Echtzeit, es wurden keine Aufzeichnungen angefertigt. Im Probandenraum befand sich ein Bildschirm für Statusmeldungen zur Verfolgung des Versuchsablaufes.

Zusätzlich gab es einen Fernseher, über den der Proband aus vorausgewählten Serien (Komödien) sein Unterhaltungsprogramm aussuchen konnte. Die „Alkoholbestellungen“ wurden von dem Probanden angefordert, in dem er auf einen Knopf drückte. Die CASE-Software berechnete daraufhin, wie die Infusionsrate angepasst werden musste (Kap. 2.2.4).

2.2.1 Versuchsprinzip

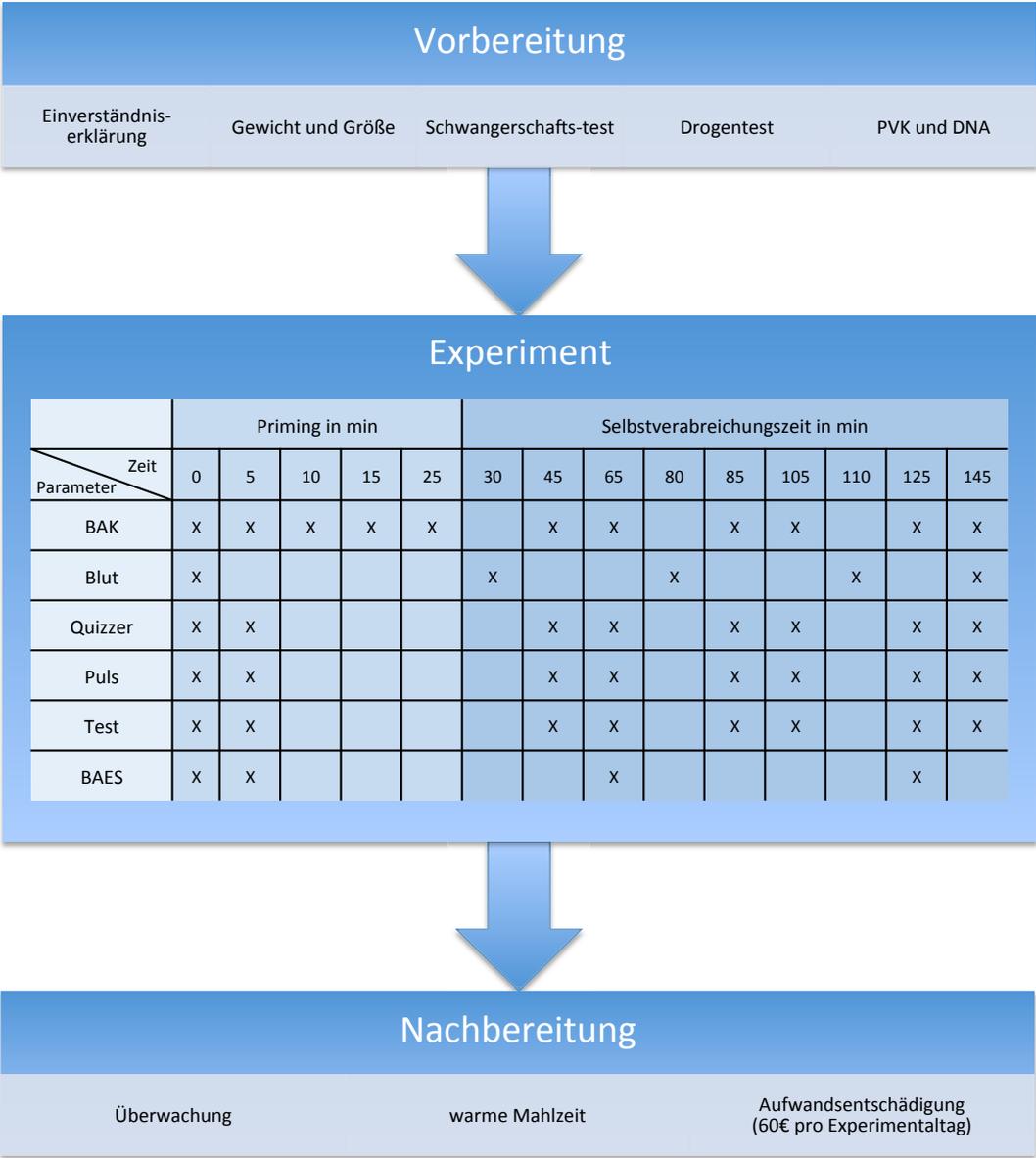
Die Aufgabe des Probanden bestand darin, sich angenehm zu betrinken ohne unangenehme Begleiterscheinungen wie Übelkeit, Erbrechen und Schwindel herbeizuführen. Als Grundidee galt hierbei, ein Gefühl für ein individuelles Wohlfühl-Alkohollevel während des Versuches zu entwickeln. Wir forderten den Teilnehmer auf sich vorzustellen, er wäre auf einer Wochenendparty.

In den ersten zehn Minuten des Experimentes gaben wir vier „Probeschlucke“ als Eingewöhnungsphase in die Alkoholselbstinfusion vor, anschließend hatte der Proband noch 15 Minuten Zeit den Alkohol auf sich wirken zu lassen, um dann für die nächsten zwei Stunden selbst die Kontrolle für den weiteren Verlauf zu übernehmen. Das Sicherheitslimit lag bei 1,2 Promille. Über diesen Punkt hinaus konnte der Proband keinen weiteren Alkohol mehr anfordern. Der Teilnehmer musste erst abwarten bis sein Alkoholspiegel soweit gesunken war, dass eine erneute „Alkoholbestellung“ möglich wurde, ohne dass dadurch die Sicherheitsgrenze überschritten wurde. Die BAK fiel während dieser Zeit aufgrund der Umverteilung in das periphere Verteilungsvolumen wesentlich rascher als durch die hepatische Metabolisierung, nämlich um 1 mg%/min (0,01 Promille/min). Die Wartezeit für eine erneute „Alkoholbestellung“ lag deshalb bei maximal 7,5 Minuten, was einem BAK-Abfall von 7,5 mg% entsprach. Demzufolge ist die Metabolisierung von Alkohol bei intravenöser Alkoholgabe schneller als bei hepatischer Metabolisierung. Es gab keine Hinweise für den Teilnehmer, dass er diese Grenze erreicht hatte. Er wurde zu keinem Zeitpunkt über seinen BAK informiert. Somit konnte er sich unvoreingenommener und mit weniger Schamgefühlen in die Alkoholselbstverabreichung als im Vergleich zu der oralen Alkoholtastung einlassen. Keine äußeren Umstände sollten das Experiment beeinflussen wie z. B. Gedanken „er habe schon zu viel getrunken“ oder die Entwicklung eines „Kampfgeistes, mehr trinken zu müssen“. Erst nach dem zweiten Tag informierten wir den Versuchsteilnehmer über seine BAK-Werte. Eine Testbatterie erfragte alle 20 Minuten während des Experimentes subjektive Einschätzungen zu den momentan erlebten Alkoholeffekten sowie am Ende eines jeden Tages wurde der Proband gebeten, seinen gefühlten BAK-Wert anzugeben. Das Experiment wurde auf zwei identische Versuchstage aufgeteilt, die ein bis maximal 4 Wochen auseinander lagen. Frühere Experimente schienen durch Lernprozesse und Unsicherheiten am ersten Tag mit dem Umgang der Alkoholselbstinfusion geprägt gewesen zu sein (Zimmermann et al. 2008).

2.2.2 Versuchsablauf

Das Experiment startete um 13 Uhr. Zunächst wurde ein Urin-Drogenscreening und ein für Frauen obligatorischen Schwangerschaftstest durchgeführt, anschließend wurde der Proband genau über den Verlauf des Versuches informiert und erhielt grundlegende Instruktionen für seine Aufgabe und Steuerungsmöglichkeit während des Experimentes. Eine Zwischenanamnese folgte, um relevante Daten zu erfahren wie z.B. Medikamenteneinnahmen in der letzten Woche, stattgefundenen körperlichen Anstrengungen oder bedeutsame Ereignisse in den letzten Tagen, Zeitpunkt des letzten Alkoholkonsums sowie Menge und Art der aufgenommenen Nahrung. Nachdem der intravenöse Zugang gelegt wurde und der Proband noch weitere Aufgaben der Vorlaufzeit erledigt hatte, konnte das eigentliche Experiment mit der Alkoholselbstinfusion um ca. 14:30 Uhr starten. Der schematische Ablauf wird in Abbildung 2 verdeutlicht. Der Proband wurde mit der Infusionsleitung verbunden, die CASE-Software wurde gestartet und die Eingewöhnungsphase mit vier vorgegebenen „Probeschlucken“ konnte beginnen. Hier wurde der Proband gebeten den Schalter alle zwei Minuten insgesamt vier Mal zu betätigen, um in der folgenden 15 minütigen Wartephase erste Alkoholwirkungen auf sich wirken zu lassen, vertraut zu werden mit der intravenösen Alkoholgabe sowie ein Gefühl für eine Bestellung zu bekommen. Nach der 25. Minute begann die Selbstverabreichungsphase, d. h. der Proband konnte seine „Bestellungen“ ab diesem Zeitpunkt frei wählen bis zu der vorher festgelegten Höchstgrenze von 1,2 Promille. Das Ampelschema der CASE Software, welches auf dem Probandenmonitor abgebildet wurde, führte diesen durch den gesamten Ablauf der Alkoholselbstinfusion. Das grüne Dia auf dem Bildschirm mit der Information „die Bar hat geöffnet“ bedeutete, dass der Proband eine Bestellung anfordern konnte; das rote Dia mit der Aufschrift „die Bar hat geschlossen“ zeigte, dass im Moment keine weiteren Bestellungen angenommen werden konnten aufgrund einer laufenden Alkoholbestellung. Der Versuchsleiter befand sich im zweiten Raum, von wo aus er den Teilnehmer über die Kamera überwachen konnte. In festen Abständen erkundigte er sich nach dem Wohlbefinden des Probanden und führte Tests, Messungen und Blutabnahmen durch. Speziell wurden Fragen gestellt, ob der Proband sich in die „all you can drink party“ einlassen konnte, er sein Wohlfühllevel schon erreicht hätte oder evtl. gar unangenehme Nebenwirkungen durch zu viel Alkoholfuhr spüre. Nach 145 Minuten wurde dem Probanden der Zugang entfernt und die Ausnüchterungszeit begann mit einer warmen Mahlzeit. Ab einem BAK von unter 0,45 Promille konnte sich der Teilnehmer von einer Vertrauensperson abholen lassen bzw. unter 0,2 Promille

konnte er selbstständig das Labor verlassen. Der Termin für den zweiten Experimentaltag wurde abgesprochen und die Information mitgegeben, dass der Proband zum zweiten Tag die gleiche Zeit im Labor verbringen müsste wie zum ersten, um einer unmotivierten Haltung bzw. uneffizienten Teilnahme vorzubeugen, die die Ergebnisse verfälschen könnten.



- BAK → Blutalkoholkonzentration
- Blut → Blutentnahme (Cortisol)
- Puls → Pulsfrequenz
- Test → Gang- und Standtests
- PVK → peripherer Venenkatheter
- QUIZZER → Selbsteinschätzungstest zum subjektiven Alkoholempfinden

Abbildung 2 Schematischer Ablauf eines Experimentaltages

2.2.3 Verwendete Materialien

Folgende Materialien wurden für diese Studie verwendet:

- Computer Lenovo: Notebook T61p mit zwei Bildschirmen
- Computer Fujitsu: B19-5 ECO
- CASE-Software Version 1.5 entwickelt von Sean O'Connor und Victor Vitvitskiy
- Firma Griffin: Schalter
- Firma Braun: Alkohol-Konzentrat 95%
- Firma Braun: Infusionslösung 0,9% isotonische Kochsalzlösung
- Firma Braun: Infusionspumpe Infusomat® fmS
- Firma Kern: Präzisionswaage 440-47N
- Firma Dräger: Atemalkoholmessgerät Alcotest 6810 med
- Firma Calbiochem: Aprotinin, Bovine Lung, Solution (Kallikrein Inaktivator)
- Firma Polar: Pulsuhr F11
- Firma ökonomed H.Schoofs GmbH: Drogen-Eintauchtest (MTD, MET, BZD, COC, MOR, THC)
- Firma Inverness Medical: Schwangerschaftstest HCG-Combo mit OBC

2.2.4 CASE Software

Die CASE-Software, die in Indianapolis/USA entwickelt wurde und erstmalig 1998 beschrieben wurde (O'Connor et al. 1998), bildet die Grundlage für die computerassistierte Selbstinfusion von Ethanol. Diese basiert auf dem sogenannten PBPK-Modell (physiologically based pharmacokinetic model of alcohol elimination and distribution) (O'Connor et al. 2000, Plawecki et al. 2012). Im Rahmen der CASE gesteuerten Experimente werden im Vergleich zu oralen Selbstverabreichung der Vergangenheit exakte Zielwerte der Blutalkoholkonzentration erreicht.

Das pharmakokinetische Modell beinhaltet die Berechnung, wie viel Alkohol infundiert werden muss, um den BAK-Wert linear ansteigen zu lassen. Dieser soll alle 2,5 Minuten um 0,075‰ ansteigen. Die Probanden benötigen abhängig von der vorherigen Alkoholzufuhr, Eliminationsphysiologie, Alter, Größe und Gewicht eine individuelle Alkoholzufuhr. Nach jeder Alkoholzufuhr ist die Veränderung im Atemalkohol bei jedem Versuchsteilnehmer identisch. Fordert der Proband keinen Alkohol, fällt der Atemalkohol um 0,01‰/min.

Dieses Absinken des Alkoholspiegels wird er im Verlauf „spüren“ können und wird gegebenenfalls animiert sein eine weitere Bestellung zu tätigen um sein Wohlfühllevel

zu erreichen bzw. wiederzuerlangen. CASE berechnet für jede Minute des Experimentes die Infusionsrate, die erforderlich ist, um den angestrebten BAK-Wert zu erzeugen. Alle 20 Minuten wird der von der Software durch Simulation errechnete BAK-Wert mit einem real gemessenen Blutalkoholwert mittels einer Atemalkoholmessung durch die Eingabe in das CASE-System abgeglichen. Anhand dieser nimmt die CASE-Software Korrekturen des individuellen Modells vor und passt die Infusionsrate dementsprechend an. Die Anzahl und Zeitpunkte der „Bestellungen“ sowie die infundierte Alkoholmenge werden graphisch durch CASE dargestellt. (Abbildung 3 und Abbildung 4)

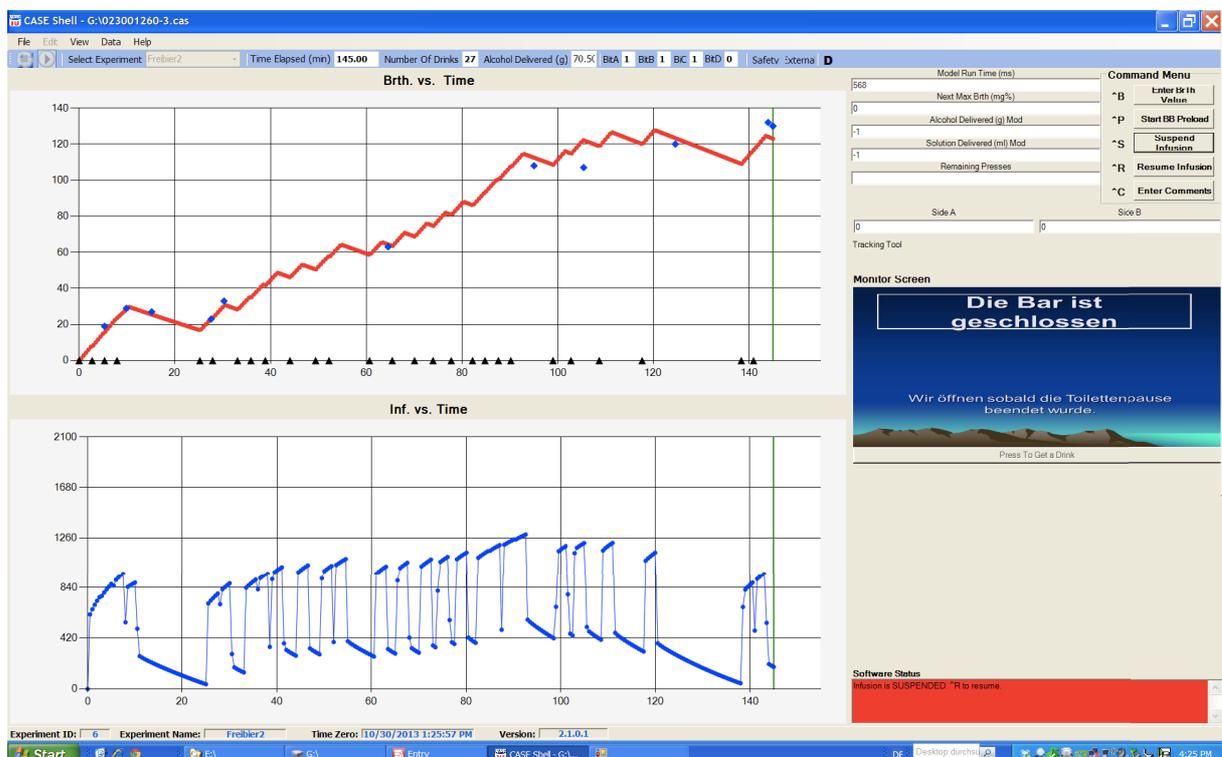


Abbildung 3 Benutzeroberfläche von CASE

Rote Kurve - Verlauf der von der Software stimulierten BAK in mg%

Blaue Kurve - Infusionsrate in ml/h

Schwarze Dreiecke – Bestellung von Alkohol durch den Probanden

Blaue Vierecke – real gemessene BAK in mg%

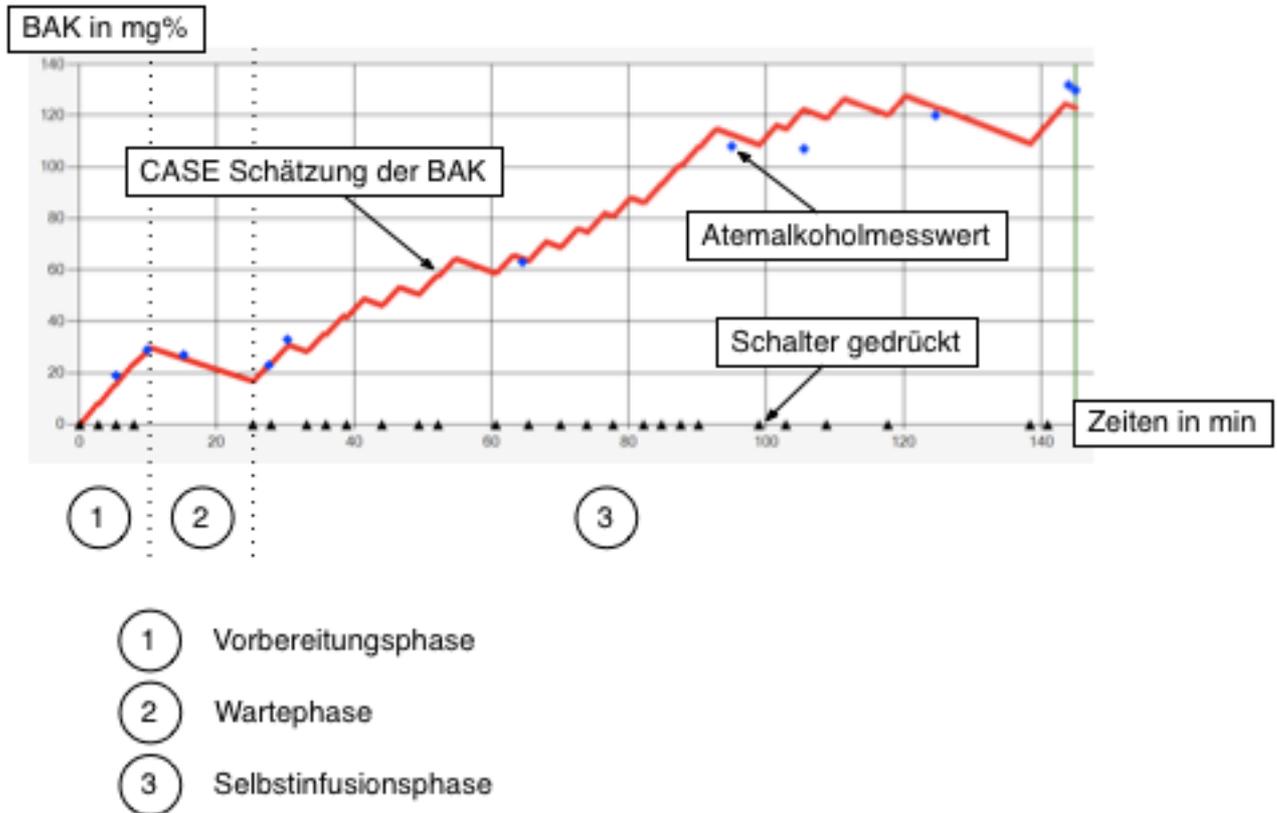


Abbildung 4 Erläuterung der Benutzeroberfläche CASE

2.2.5 Herstellung der 6%igen Alkohol-Infusionslösung

Eine kalibrierte Präzisionswaage (Ablesbarkeit 0,1g) diente der Vorbereitung der Infusionslösung. Zuerst wurde ein Mittelwert aus mehreren geleerten und getrockneten Ein-Liter-Glasflaschen 0,9%iger Kochsalzlösung (Trockengewicht) ermittelt. Der Mittelwert des Trockengewichts lag bei 380g. Anschließend wurde mit Hilfe eines 500ml Messkolben die Dichte der 0,9% Lösung gemessen. Das Ergebnis entsprach der Dichte von 1,0026g/ml pro 1 Liter 0,9% Lösung. Für jedes Experiment waren zwei Flaschen 897,42ml 0,9%iger Kochsalzlösung sowie sechs 20ml Ampullen 95%igen Alkoholkonzentrats erforderlich. Es wurde ein Ausgangsgewicht einer Infusionsflasche von $1287,05 \pm 0,5\text{g}$ benötigt, hierfür wurde die überschüssige Kochsalzlösung entnommen und anschließend 3 Ampullen des 95%igen Alkoholkonzentrats zugesetzt. Diese Prozedur wurde für die zweite Flasche wiederholt. Das Endgewicht einer jeweiligen Mischung betrug exakt $1335,05 \pm 0,5\text{g}$. Dies entsprach der gewünschten 6% Alkoholinfusionslösung.

2.2.6 Messung der BAK

In dieser Studie wurde das Atemalkoholmessgerät so eingestellt, dass es die Atemalkoholkonzentration in ‰ (mg/g) Blutalkohol umrechnet. Wir gehen von der Grundannahme aus, dass die Alkoholkonzentration der Alveolarluft unabhängig vom zeitlichen Verlauf durchschnittlich um den Faktor 2100 unter der Blutalkoholkonzentration liegt. Lindberg und Kollegen (2007) verglichen in einer Studie mit 15 Probanden, die eine standardisierte Alkoholgabe zu sich nahmen, Atemalkohol mit arterieller BAK sowie Atemalkohol mit venöser BAK. Sie fanden in den Untersuchungen heraus, dass Korrelationen von Atemalkohol mit der arteriellen Blutalkoholkonzentration weniger Schwankungen ausgesetzt waren als Korrelationen von Atemalkohol mit venöser Blutalkoholkonzentration. Demzufolge kann Atemalkohol zuverlässig auf arterielle BAK rückgeschlossen werden, die venöse BAK kann unvorhersehbar abweichen. In den CASE Experimenten soll die Gehirnexposition kontrolliert werden, daher ist die arterielle BAK von Wichtigkeit, welche mit einem Atemalkoholgerät gemessen wird. Die venöse Blutalkoholkonzentration ist hier nicht von Bedeutung, es konnte somit auf eine venöse Blutabnahme zur BAK Messung verzichtet werden.

2.2.7 Verwendete Fragebögen und Selbsteinschätzungstests

Während der Aufnahmeuntersuchung dienten folgende standardisierte Fragebögen zur Prüfung der Ein- und Ausschlusskriterien (Kap. 2.1.1 und 2.1.2) sowie zur Datenerhebung:

- M-CIDI (Munich Composite International Diagnostic Interview) Sektion Störung durch Alkoholkonsum: standardisiertes Interview zur Diagnostik und Klassifikation psychischer Störungen nach DSM-IV-TR (Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, fourth edition [American Psychiatric Association 2000]) und ICD-10 (International Classification of Diseases, 10th revision [World Health Organization]) Kriterien (Robins et al. 1988)
- Mini-DIPS Kurzform des diagnostischen Interviews nach DSM-IV-TR und ICD-10 Screening für Psychosen, Substanzabusus, Angst-, affektive, Ess- und somatoforme Störungen (Margraf 1994)
- FHAM (Family History Assessment Module) Erfassungsbogen für psychische Erkrankungen insbesondere Alkoholabhängigkeiten in der Familie (Rice et al.

- 1995)
- FTND (Fagerström Test of Nicotine Dependence) Selbsteinschätzungsskala: Rauchverhalten (Fagerström, Schneider et al. 1989)

Selbsteinschätzungstest während des Experimentes:

- „Quizzer“: Selbsteinschätzung von subjektiv empfundenen positiven wie negativen Alkoholwirkungen in Form eines computerassistierten Fragebogens. Sieben Fragen wurden zu den Minuten 10, 45, 65, 85, 105, 125 und 145 gestellt, die von den Probanden mit Hilfe einer visuellen 100 mm Analogskala auf dem Fernsehbildschirm mit Hilfe einer Maus beantwortet wurden. Frage 3 unangenehme Nebenwirkungen (Übelkeit) war für die Fragestellung dieser Untersuchung von Bedeutung.
 1. Ich spüre im Moment gerade anregende Alkoholwirkungen.
 2. Ich spüre im Moment gerade beruhigende Alkoholwirkungen.
 3. Ich spüre gerade unangenehme/negative Alkoholwirkungen (Übelkeit)
 4. Ich habe jetzt Lust auf noch mehr Alkohol.
 5. Insgesamt fühle ich mich gerade wohl.
 6. Ich fühle mich gerade, als hätte ich Getränke getrunken.
 7. Im Moment gerade fühle ich mich betrunken.

2.3 Blutverarbeitung

Für die Cortisolbestimmung wurden während des Experimentes zu fünf festen Zeitpunkten (Baseline, 30., 80., 110. und 145. Minute) Blut mit jeweils einer 10ml EDTA-Monovette abgenommen. Dieses Blut konnte über die liegende Infusionsleitung mittels eines Drei-Wege-Hahns gewonnen werden, um weitere unnötige invasive Methoden zu vermeiden. Sofort im Anschluss wurden 324µl Aprotinin als Proteaseinhibitor dazugegeben, welches dem Abbau von Proteinen entgegenwirkte und nach mehrmaligen Wenden in ein vorbereitetes Eisbad gestellt wurde. Spätestens nach 90 Minuten wurden die Blutproben zehn Minuten bei 6000 Umdrehungen/min zentrifugiert, um den gewonnenen Überstand in die vorbereiteten Cryoröhrchen zu

pipettieren. Hier wurden 600 µl in jeweils ein Cryoröhrchen pro Zeitpunkt verteilt, was in der Summe für zwei Experimentaltage 10 Proben entsprach. Die Lagerung der Aliquots erfolgte in einer -20 °C Tiefkühltruhe.

2.3.1 Blutbehandlung im Labor (Testkit der Firma IBL International GMBH)

2.3.1.1 Testprinzip im Labor

Die Auswertung der Cortisolproben basiert auf dem Prinzip des kompetitiven Lumineszenz Immunoassay. Es konkurrieren die unbekannte Menge an Antigen (E-Ag) in der Probe und die bekannte Menge an enzymmarkierten Antigen um die Bindungsstellen des Antikörpers auf einem Mikrotiterstreifen. Anschließend wird das nicht gebundene E-Ag nach einer Inkubationszeit durch Waschen entfernt und die Ergebnisse werden mit Hilfe einer Standardkurve bestimmt. Dieser liegt eine umgekehrte Proportionalität zugrunde, d.h. die Intensität der Lumineszenz richtet sich nach der Regel, je mehr Cortisol in der Probe war, desto weniger Lumineszenz wird abgestrahlt.

2.3.1.2 Testdurchführung bei Serumproben

1. Pipettierung von 50µl Standards (Normwerte), Kontrollen (positiv/negativ) und Proben (Patientenprobe) in entsprechende Wells der Mikrotiterplatte
2. Hinzugeben von 100µl Enzymkonjugat (enzymmarkierte Antigene) in jedes Well mit anschließendem Abdecken und Schütteln
3. Inkubationszeit von drei Stunden bei Raumtemperatur (18-25°C)
4. Entfernung der Folie, Verwerfung der Inkubationslösung und Waschung der Platte mit jeweils vier mal 250µl verdünntem Waschpuffer
5. Pipettierung der 50µl vorbereiteten Substratlösung-Mischung in die Wells bei exakter zeitlicher Abfolge
6. Nach zehn Minuten Messung der relativen Lumineszenzeinheiten (RLU) mit dem Luminometer

2.3.1.3 Testauswertung

Zur Testauswertung wird die Lumineszenz von Standards gemessen und gegen die Konzentration der Standards in einem Graphen (logarithmisch) dargestellt. So erhält man eine Standardkurve für Cortisol und kann anhand dieser sowie der gemessenen Lumineszenz der Proben die Konzentration des Cortisols in der Patientenprobe ermitteln. Diese Untersuchungen wurden im Labor für Biopsychologie der TU Dresden durchgeführt.

2.4 Statistische Auswertung

Die statistische Auswertung der D-LAYA Studie wurde mit Hilfe von SPSS (Statistical Package for the Social Sciences) für Mac/Windows Version 22 durchgeführt. Für alle statistischen Verfahren wurde das Signifikanzniveau auf $\alpha=0.05$ festgelegt. Falls nötig, wurde mittels Bonferroni-Korrektur für multiples Testen korrigiert. Die Datenanalyse erfolgte mittels Kovarianzanalyse (ANCOVA) mit Messwiederholung. Als abhängige Variable wurden die Cortisolwerte über fünf feste Zeitpunkte (D1-D5) für den ersten und zweiten Experimentaltag definiert. (Tabelle 1)

Tabelle 1 Zeitpunkte für Cortisolabnahmen

Tag	Zeit	Abhängige Variable
1	1	D1.1
	2	D1.2
	3	D1.3
	4	D1.4
	5	D1.5
2	1	D2.1
	2	D2.2
	3	D2.3
	4	D2.4
	5	D2.5

Die Ergebnisvariablen maximaler Blutalkohol, durchschnittlicher Blutalkohol und Anzahl der Alkoholanforderungen sind in CASE Experimenten das Maß für die

Alkoholwirkung. Der Zusammenhang der drei Variablen wurde mittels Korrelationsanalysen untersucht.

Des Weiteren wurde mit einem gepaarten t-Test für verbundene Stichproben die Baseline-Cortisolspiegel (D1.1/D2.1) getestet.

Für die Kovarianzanalyse mit Messwiederholung wurden als Innersubjektfaktoren Tag und Zeit sowie als Zwischensubjektfaktoren Familienanamnese und Geschlecht in das Modell aufgenommen. Zusätzlich wurden im Verlauf der Berechnung die Kovariaten maximaler Blutalkoholwert sowie explorativ unangenehme Nebenwirkung (z.B. Übelkeit) und der Faktor Rauchen hinzugefügt. (Tabelle 2)

Tabelle 2 Kovarianzanalyse

Innersubjektfaktoren	Tag (2 Stufen)	1. Experimentaltag/ 2. Experimentaltag
	Zeitpunkt (5 Stufen)	D1-D5
Zwischensubjektfaktoren	Familienanamnese (2 Stufen)	positiv/negativ
	Geschlecht (2 Stufen)	männlich/weiblich
	Rauchen (2 Stufen)	positiv/negativ
Kovariaten	Maximaler Blutalkoholwert (max BAK)	intervallskaliert
	Unangenehme Nebenwirkung (max Übel)	intervallskaliert

Die Voraussetzung der Normalverteilung wurde mit dem Kolmogorov-Smirnov-Test und die Homoskedastizität mit dem Levene-Test geprüft.

Die Sphärizität wurde mittels Mauchly-Test überprüft. Bei Verletzung der Sphärizitätsannahme wurden die Ergebnisse mittels Greenhouse-Geisser Korrektur angepasst.

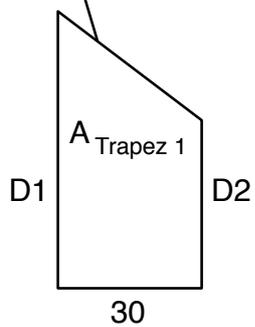
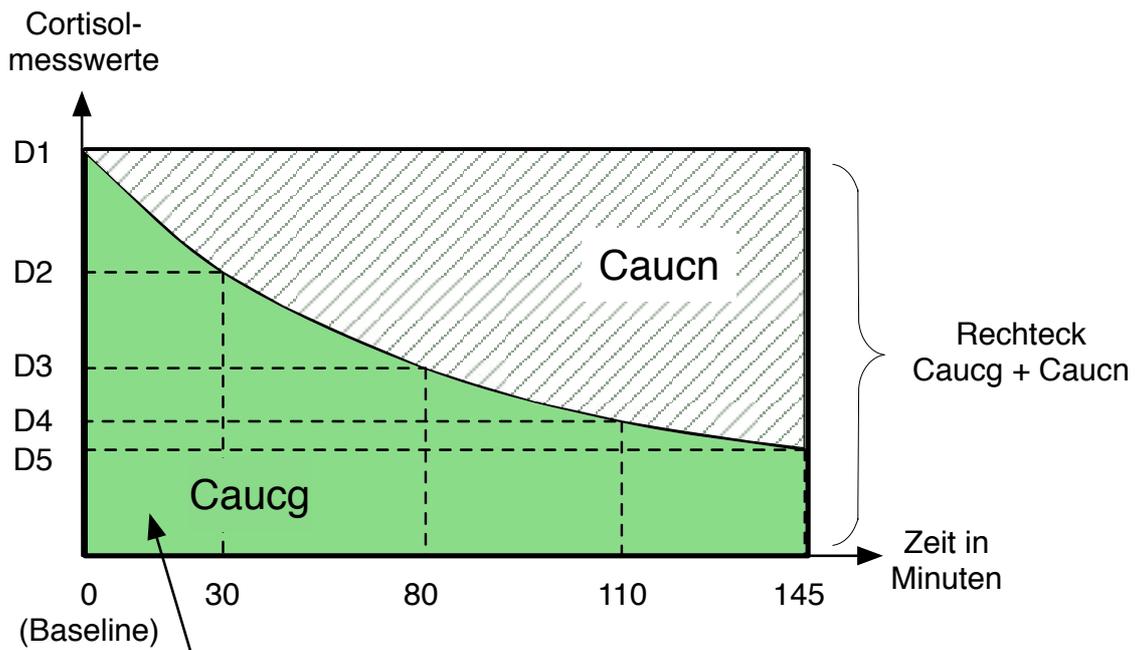
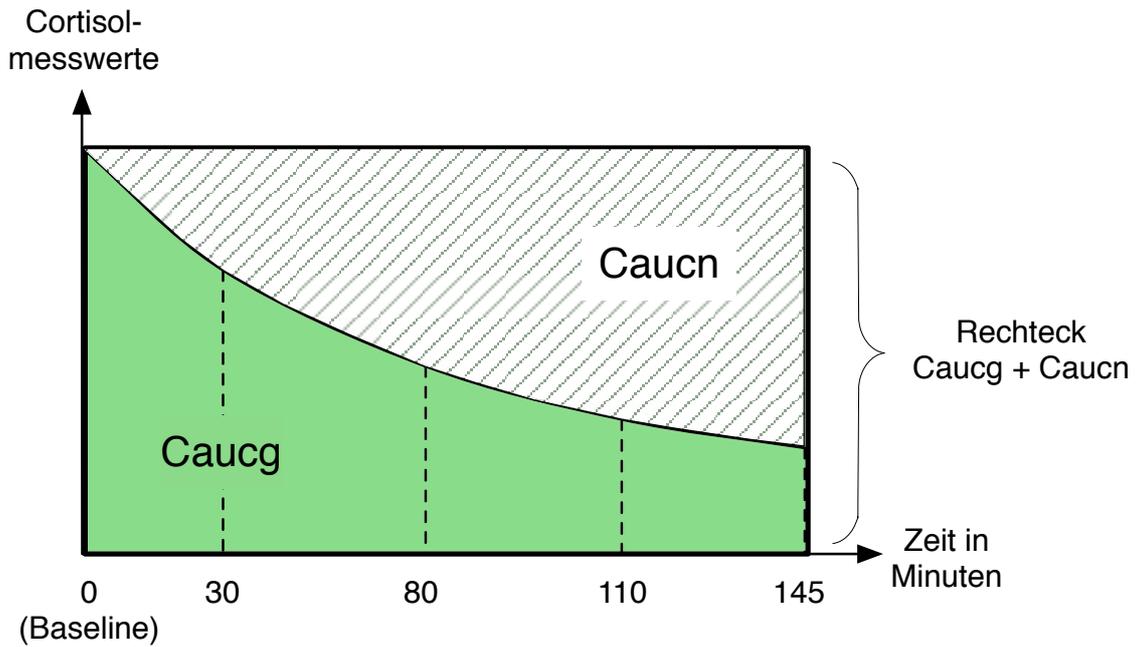
Des Weiteren wurden Korrelationen von den Flächen unter der Konzentrations-Zeit-Kurven (AUC: Area Under the Curve) für die Cortisolsekretion Tag 2 mit max BAK näher betrachtet.

Für die Berechnungen werden folgende Abkürzungen verwendet:

- Caucg = Cortisol-Gesamtfläche unter der Kurve
- Caucn = Cortisol-Nettofläche (Fläche über der Kurve)
- Prozentuale AUC = Caucg/Caucn
- Rechteck = Caucg + Caucn
- D1= 1.Cortisolmesswert
- D2 = 2.Cortisolmesswert
- D3 = 3.Cortisolmesswert
- D4 = 4.Cortisolmesswert
- D5 = 5.Cortisolmesswert

Die AUC wurde als Summe der Flächen von vier Trapezen angenähert, die von den einzelnen Messwerten definiert wurden ($A_{\text{Trapez1}} = (D1 + D2) \cdot 30/2$, $A_{\text{Trapez2}} = (D2 + D3) \cdot 50/2$, $A_{\text{Trapez3}} = (D3 + D4) \cdot 30/2$, $A_{\text{Trapez4}} = (D4 + D5) \cdot 35/2$; $\text{Caucg} = A_{\text{Trapez1}} + A_{\text{Trapez2}} + A_{\text{Trapez3}} + A_{\text{Trapez4}}$). Durch die Subtraktion der Caucg von dem Rechteck ($\text{Caucg} + \text{Caucn}$) resultierte die Caucn ($\text{Caucn} = A_{\text{Rechteck}} - \text{Caucg}$). Die Caucn wurde als prozentuale AUC berechnet, was dem Verhältnis von Caucn zu Caucg entspricht (prozentuale AUC = $\text{Caucn}/\text{Caucg}$).

(Abbildung 5)



$$A_{\text{Trapez 1}} = \frac{D1 + D2}{2} * 30$$

Abbildung 5 AUC Berechnungen

3 Ergebnisse

Die Datenerhebung fand im Rahmen der D-LAYA Studie statt und wurde 2012 erhoben. 48 Probanden konnten in den Berechnungen berücksichtigt werden.

3.1 Versuchsteilnehmer

48 Probanden (Tabelle 3) im Alter von 18 Jahren absolvierten jeweils zwei Experimentaltage. Es wurden für jeden Probanden 5 Cortisolwerte pro Experimentaltag erhoben (Zeitpunkt Baseline, 30., 80., 110. und 145. Minute). Summa Summarum lagen 10 Cortisolwerte pro Proband vor.

Tabelle 3 Zusammensetzung der Probanden

	männlich (28)		weiblich (20)		Gesamt
	positiv	negativ	positiv	negativ	
Familienanamnese	8	20	10	10	48
Raucher	18	10	11	9	
Familienanamnese positiv:	min. ein Verwandter 1.Grades mit Lebenszeitdiagnose Alkoholabhängigkeit				
Familienanamnese negativ:	kein Verwandter 1.Grades mit Lebenszeitdiagnose Alkoholabhängigkeit				
Raucher positiv:	gelegentlicher und regelmäßiger Zigarettenkonsum				
Raucher negativ:	gegenwärtig Nichtraucher				

3.2 Konfirmatorische Datenanalyse der Cortisolsekretion

3.2.1 CASE Ergebnisvariablen

Um einen Überblick über den Datensatz zu erlangen, wurde eine Korrelationsmatrix über die für die Auswertung spezifischen Variablen Cortisolwerte und Alkoholwerte (CASE Ergebnisvariablen) sowie den Flächen unter den Konzentrations-Zeit-Kurven erstellt.

Als Maß, den Einfluss der Alkoholselbstverabreichung auf die Cortisolsekretion zu untersuchen, eigneten sich folgende CASE Ergebnisvariablen:

1. maximale Blutalkoholkonzentration
2. Anzahl der Bestellungen
3. mittlerer Blutalkohol während der Alkoholselbstinfusion

Die drei CASE Ergebnisvariablen zeigten in den Analysen hohe Korrelationen, die im Zeitverlauf beider Tage hoch signifikant waren ($p < 0,001$). Am ersten Tag lagen diese zwischen dem Minimum $r = 0,913$ und dem Maximum $r = 0,979$ (Tabelle 4). Am zweiten Tag zwischen dem Minimum $r = 0,887$ und dem Maximum $r = 0,985$ (Tabelle 5).

Alle drei Variablen haben eine ähnliche hohe Aussagekraft, jedoch spiegelt die höchste Alkoholexposition den höchsten Effekt auf die Cortisolsekretion wider. Demzufolge wurde für die weiteren Berechnungen die maximale Blutalkoholkonzentration (max BAK Tag 1, max BAK Tag 2) als Einflussvariable und als Maß für die Alkoholwirkung auf die Cortisolsekretion ausgewählt.

Tabelle 4 Korrelationsmatrix über die drei CASE-Outcome Variablen Tag 1

Korrelationen nach Pearson	Mittlere BAK Tag 1	Maximale BAK Tag 1
Maximale BAK 1	0,979	
Signifikanz	$p < 0,001$	
Bestellungen Tag 1	0,913	0,928
Signifikanz	$p < 0,001$	$p < 0,001$

Tabelle 5 Korrelationsmatrix über die drei CASE-Outcome Variablen Tag 2

Korrelationen nach Pearson	Mittlere BAK Tag 2	Maximale BAK Tag 2
Maximale BAK 2 Signifikanz	0,985 p<0,001	
Bestellungen Tag 2 Signifikanz	0,887 p<0,001	0,895 p<0,001

3.2.2 Analyse von Baseline Cortisol Tag eins vs. Tag zwei

Mit Hilfe eines gepaarten t-Testes für verbundene Stichproben wurden die Mittelwerte der Baseline Cortisolwerte für Tag eins vs. Tag zwei für Männer und Frauen zusammen untersucht. Hier ergab sich ein signifikanter Unterschied zwischen den Experimentaltagen ($p=0,014$). Beide Geschlechter zeigten am ersten Experimentaltag höhere Cortisolspiegel zur Baseline als am zweiten Experimentaltag. Der t-Test im Vergleich von Frauen und Männern ergab für den ersten Tag einen Trend ($p=0,053$) und am zweiten Tag eine Signifikanz ($p<0,001$). Frauen zeigten höhere Werte als Männer. (Tabelle 6 und Abbildung 6)

Tabelle 6 Baseline Cortisol Mittelwerte

Geschlecht	Anzahl	Tag	Baseline Cortisol MW	Standard- abweichung	Standardfehler Mittelwert
männlich+weiblich	48	1	175,24	81,77	11,80
		2	152,30	52,21	7,54
Männer	28	1	154,12	57,81	10,92
		2	128,79	33,41	6,31
Frauen	20	1	204,81	101,06	22,60
		2	185,22	56,59	12,65

Baseline Cortisol MW: 1.Messzeitpunkt Cortisol Mittelwert vor Alkoholinfusion

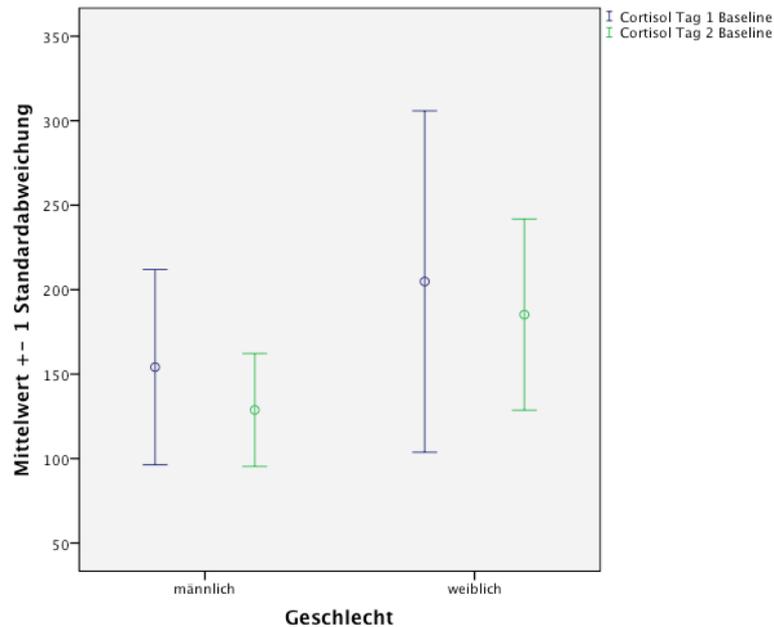


Abbildung 6 Vergleich Baseline Cortisol Tag 1/Tag 2 für Männer und Frauen

3.2.3 Einfluss von Familienanamnese, Geschlecht und maximalem Blutalkohol auf die Cortisolsekretion

3.2.3.1 Beobachtung beider Experimentaltage zusammen

Um die wesentlichen Ergebnisse in den Vordergrund zu stellen, wurden vorangehende Berechnungen wie Levene-Tests und Kolmogorov-Smirnov-Tests für den ersten und den zweiten Experimentaltag in den Anhang gesetzt.

Eine genaue Untersuchung von Einflussfaktoren auf die Cortisolsekretion ist erforderlich. Es resultieren potentielle Unterschiede durch die Einflussfaktoren Geschlecht, Familienanamnese und maximalen Blutalkohol (maximale BAK). Diese drei Einflussfaktoren wurden ausgewählt, da Männer und Frauen unterschiedlich auf Alkohol reagieren sowie die Familienanamnese der Probanden verschiedene Auswirkungen auf Alkohol und Cortisolsekretion hat. Maximaler Blutalkohol war für die hiesige Fragestellung nach dem Dosis-Wirkungsprinzip besonders von Bedeutung. Nähere Erläuterungen zu der Bedeutung der Kovariaten sind in der Einleitung nachzulesen (Kap.1.2.1, Kap.1.3). Die Daten aller eingeschlossenen Teilnehmer wurden mit einer Kovarianzanalyse mit Messwiederholungen mit den Innersubjektfaktoren Tag (erster vs. zweiter Untersuchungstag) und Zeit (5 Zeitpunkte),

den Zwischensubjektfaktoren Familienanamnese (positiv vs. negativ) und Geschlecht sowie den Kovariaten maximaler Blutalkohol (max. BAK 1 vs. max. BAK 2) beider Experimentaltage auf diese Annahme untersucht. Die abhängigen Variablen waren die einzelnen Cortisolmesswerte.

Es ergab sich ein signifikanter Einfluss des Faktors Zeit ($F[2,01; 19,58]=11,823$, $p<0,001$, Greenhouse-Geisser korrigiert) sowie ein signifikanter Einfluss der Interaktion zwischen Zeit und Geschlecht auf die Cortisolsekretion ($F[2,01; 19,58]=4,937$, $p=0,009$, Greenhouse-Geisser korrigiert) (Abbildung 7). Ein Trend ließ sich in der Interaktion zwischen Zeit und maximalen Blutalkohol ($F[2,01; 19,58]=2,951$, $p=0,057$, Greenhouse-Geisser korrigiert) beschreiben. Einen weiteren Trend deutete der Faktor Tag an ($F[1, 42]=3,394$, $p=0,073$, Greenhouse-Geisser korrigiert) sowie die Wechselwirkung zwischen Tag und Zeit ($F[2,37; 23,13]=2,441$, $p=0,083$, Greenhouse-Geisser korrigiert) (Abbildung 8). Ein signifikanter Unterschied konnte zwischen den Geschlechtern ($F[1,42]=7,566$, $p=0,009$) festgestellt werden. Ein Einfluss der Familienanamnese auf die Cortisolsekretion konnte nicht gezeigt werden.

Paarweise Vergleiche der Cortisolwerte einzeln für jeden Zeitpunkt zeigten, dass Frauen zu jedem Zeitpunkt höhere Cortisolspiegel als Männer aufwiesen (Tabelle 7, für alle Zeitpunkte $p<0,001$; Bonferroni korrigiert). Die signifikante Interaktion von Zeit und Geschlecht deutete auf Unterschiede im zeitlichen Verlauf des Cortisolspiegels zwischen Frauen und Männern hin. Die Cortisolwerte fielen für beide Geschlechter in der ersten Hälfte des Experimentes stetig ab. Bei den Männern stagnierten die Cortisolwerte ab dem dritten Messzeitpunkt, während bei den Frauen die Cortisolwerte weiterhin, jedoch langsamer abfielen (Abbildung 7). Deskriptive Statistiken können in Tabelle 8 begutachtet werden.

Der Einfluss des Faktors „Tag“ auf die Cortisolsekretion ist in Abbildung 8 dargestellt. Der Verlauf der Cortisolwerte unterschied sich im Vergleich vom ersten zum zweiten Tag. Diese Unterschiede waren nicht signifikant, zeigten jedoch einen statistischen Trend. Die Cortisolwerte des ersten Tages zeigten einen höheren Ausgangswert des Cortisols und fielen demnach steiler ab im Vergleich zu dem zweiten Tag. Die Cortisolwerte des zweiten Tages stagnierten ab dem dritten Cortisolmesswert auf diesem Cortisollevel. Des Weiteren waren die Baseline Cortisolwerte signifikant unterschiedlich zwischen den Experimentaltagen (Kap.3.2.2). Um Hypothesen für folgende Studien generieren zu können, wurde das Analysemodell der

Kovarianzanalyse mit Messwiederholung mit den gleichen Parametern getrennt für beide Tage gerechnet.

Tabelle 7 Paarweise Vergleiche der Cortisolwerte zwischen Männern und Frauen für alle Zeitpunkte

Zeit	Männer		Frauen		t	p
	MW	SD	MW	SD		
1	137,15	66,551	195,38	60,074	-21,094	< 0,001
2	108,46	59,074	155,08	53,326	-19,023	< 0,001
3	77,35	47,301	116,19	42,695	-19,792	< 0,001
4	74,22	44,189	101,92	39,887	-15,107	< 0,001
5	73,03	42,591	91,50	38,447	-10,455	< 0,001

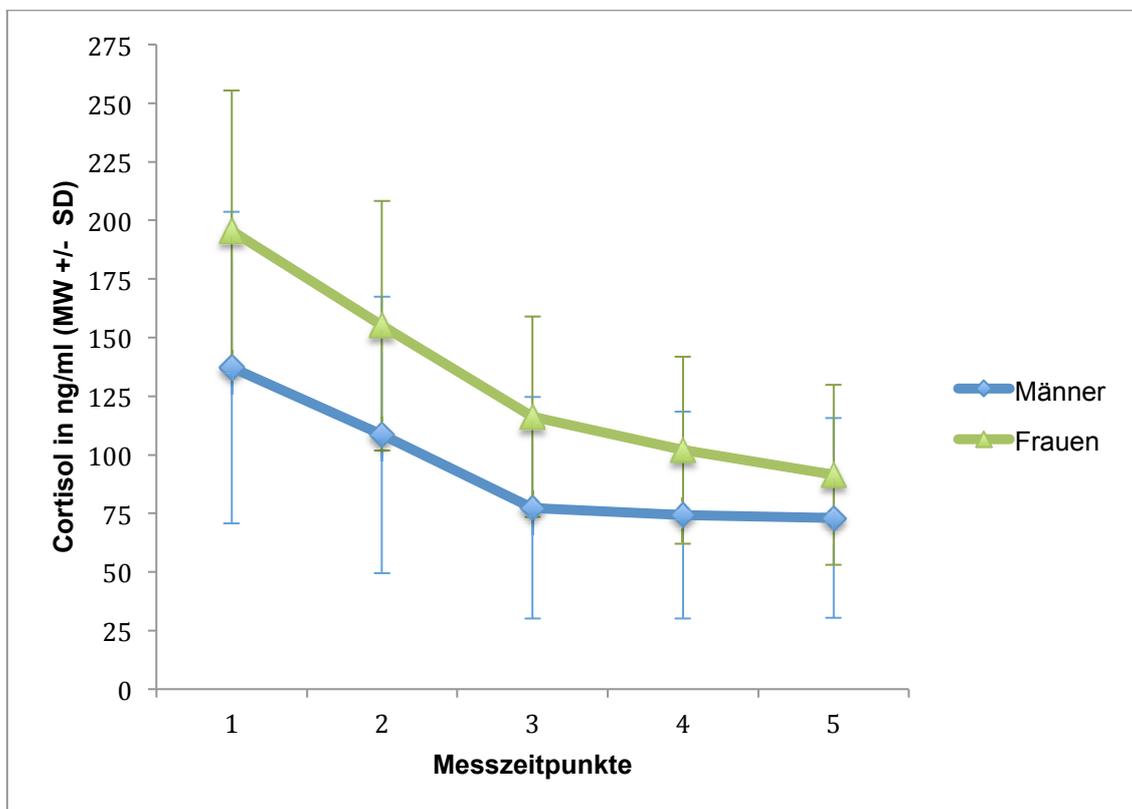


Abbildung 7 Interaktion zwischen Zeit und Geschlecht Tag 1 und 2

Tabelle 8 Deskriptive Statistiken zur Interaktion Zeit x Tag

Zeit	Tag 1		Tag 2		t	p
	48		48			
	MW	SD	MW	SD		
1	177,95	66,334	154,58	30,978	9,921	< 0,001
2	142,30	57,720	121,24	27,915	10,223	< 0,001
3	100,08	38,617	93,47	28,577	4,397	< 0,001
4	89,24	36,316	86,90	27,785	1,640	0,104
5	76,77	32,908	87,76	30,191	-8,003	< 0,001

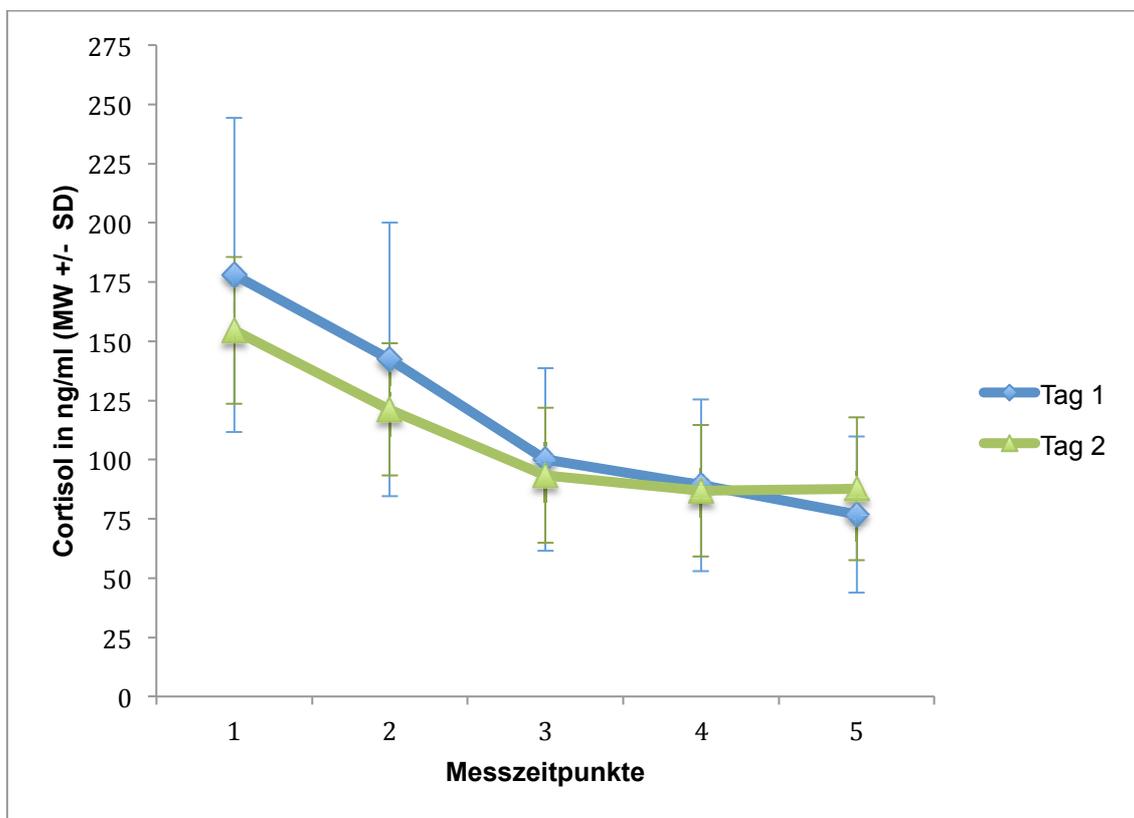


Abbildung 8 Interaktion zwischen Zeit und Tag 1 und 2

3.2.3.2 Getrennte Beobachtung für den ersten Experimentaltag

Um die wesentlichen Ergebnisse in den Vordergrund zu stellen, wurden vorangehende Berechnungen wie Levene-Tests und Kolmogorov-Smirnov-Tests für den ersten Experimentaltag in den Anhang gesetzt.

Die Kovarianzanalyse wurde mit den Parametern Zeit, Geschlecht, Familienanamnese und maximalen Blutalkohol separat für den ersten Tag berechnet. Als abhängige Variable galten die Cortisolwerte.

Es zeigte sich ein signifikanter Einfluss der Faktoren Zeit ($F[2,003; 20,004]=16,394$, $p<0,001$, Greenhouse-Geisser korrigiert) und Geschlecht ($F[1,43]=5,533$, $p=0,023$). Signifikanzen oder Effekte im zeitlichen Verlauf konnten jedoch nicht in den Interaktionen mit Familienanamnese, Geschlecht und maximalen Blutalkohol festgestellt werden. (Abbildung 9).

Wie in der ersten Analyse für beide Tage gemeinsam wiesen Frauen zu jedem Messzeitpunkt signifikant höhere Cortisolspiegel als Männer auf (Tabelle 9, alle p -Werte $<0,001$, Bonferroni-korrigiert).

Tabelle 9 Paarweise Vergleiche der Cortisolwerte zwischen Männern und Frauen für alle Zeitpunkte am ersten Tag

	Männer		Frauen		t	p
	28		20			
Zeit	MW	SD	MW	SD		
1	152,74	91,284	203,14	82,511	-13,303	< 0,001
2	121,85	79,410	162,76	71,778	-12,413	< 0,001
3	81,27	53,703	118,96	48,567	-16,909	< 0,001
4	70,54	50,671	108,02	45,813	-17,820	< 0,001
5	61,69	46,126	91,93	41,703	-15,795	< 0,001

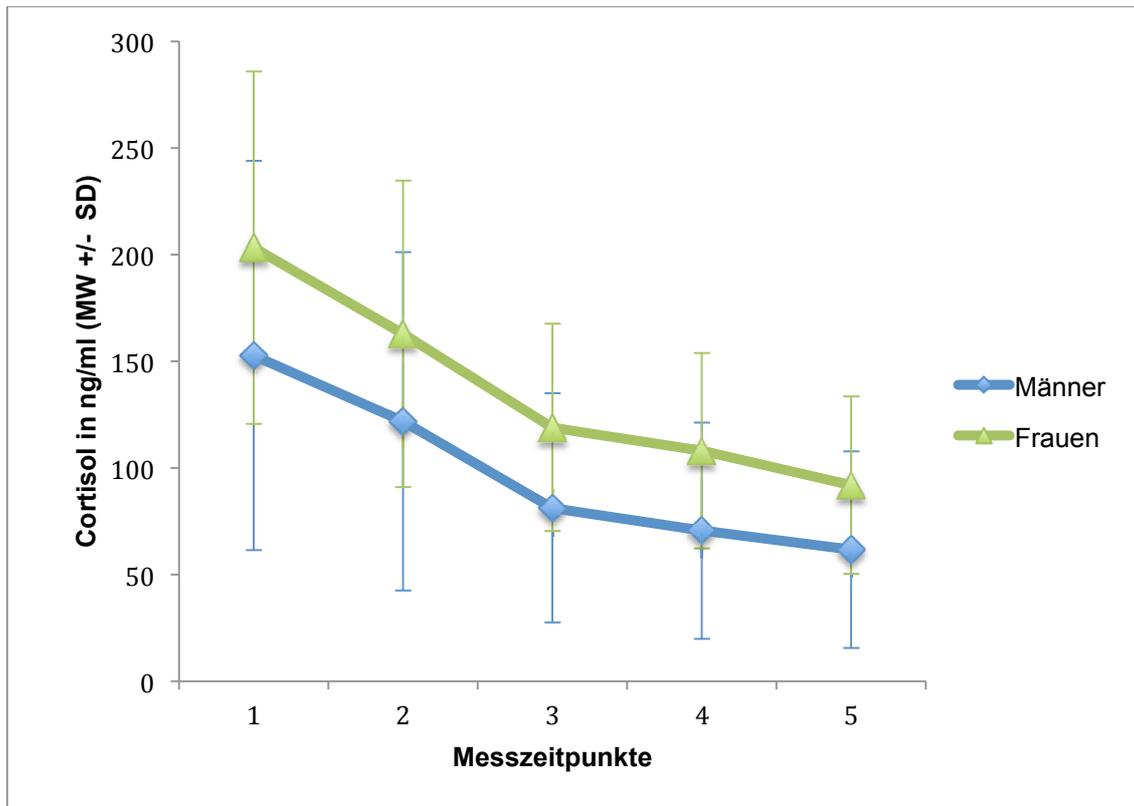


Abbildung 9 Zeitlicher Verlauf der Cortisolspiegel bei Männern und Frauen Tag 1

Des Weiteren wurden die Mittelwerte der fünf Cortisolmesszeitpunkte (Baseline, 30., 80, 110. und 145.Minute) mit ± 1 Standardabweichung für den ersten Experimentaltag für Männer und Frauen zusammen ermittelt. Diese wurden in Tabelle 10 dargestellt. In der ersten Hälfte fielen die Cortisolwerte in der Selbstverabreichung stärker ab als in der zweiten Hälfte.

Tabelle 10 Mittelwerte Cortisol in ng/ml zu den Messzeitpunkten Tag 1

Messzeitpunkte in min	Cortisol Minimum	Cortisol Maximum	Cortisol Mittelwert	Standardabweichung
Baseline	52,93	479,03	175,241	81,7683
30	39,98	422,00	139,466	72,0204
80	30,58	297,65	98,3013	51,0090
110	19,50	286,97	87,0371	49,2543
145	10	217,74	74,7479	43,5137

3.2.3.3 Getrennte Beobachtung für den zweiten Experimentaltag

Um die wesentlichen Ergebnisse in den Vordergrund zu stellen, wurden vorangehende Berechnungen wie Levene-Tests und Kolmogorov-Smirnov-Tests für den zweiten Experimentaltag in den Anhang gesetzt.

Die Kovarianzanalyse mit den obengenannten Parametern wurde anschließend für den zweiten Tag durchgeführt.

Am zweiten Experimentaltag zeigte sich wieder ein signifikanter Einfluss der Faktoren Zeit ($F[2,4; 24]=5,034$, $p=0,005$, Greenhouse-Geisser korrigiert) und Geschlecht ($F[1,43]=10,779$ $p=0,002$) sowie der Interaktion zwischen Zeit und maximalem Blutalkohol ($F[2,4; 24]=3,647$, $p=0,022$, Greenhouse-Geisser korrigiert) und Zeit und Geschlecht ($F[2,4; 24]=7,197$, $p=0,001$, Greenhouse-Geisser korrigiert, Abbildung 10). Interaktionen zwischen Zeit und Familienanamnese konnten nicht gefunden werden.

Auch am zweiten Tag wiesen Frauen zu jedem Zeitpunkt höhere Cortisolspiegel als Männer auf (Tabelle 11, alle p -Werte $<0,001$, Bonferroni korrigiert). Die signifikante Wechselwirkung zwischen Zeit und Geschlecht bedeutet wiederum, dass der zeitliche Verlauf des Cortisols zwischen Frauen und Männern unterschiedlich war. Die Cortisolwerte der Frauen und Männer verliefen bis zu dem 3.Messzeitpunkt ähnlich sinkend. Ab dem 3.Messzeitpunkt verzeichneten die Cortisolwerte der Männer einen leichten Anstieg. Die Cortisolwerte der Frauen dagegen fielen weiterhin ab, jedoch in schwächerer Form (Abbildung 10).

Tabelle 11 Paarweise Vergleiche der Cortisolwerte zwischen Männern und Frauen für alle Zeitpunkte am zweiten Tag

Zeit	Männer		Frauen		t	p
	28		20			
	MW	SD	MW	SD		
1	122,43	51,698	186,68	46,635	-29,966	< 0,001
2	94,68	46,475	147,78	41,940	-27,548	< 0,001
3	71,27	47,576	115,67	42,937	-22,498	< 0,001
4	75,84	46,486	97,90	41,953	-11,441	< 0,001
5	82,26	50,571	93,20	45,638	-5,213	< 0,001

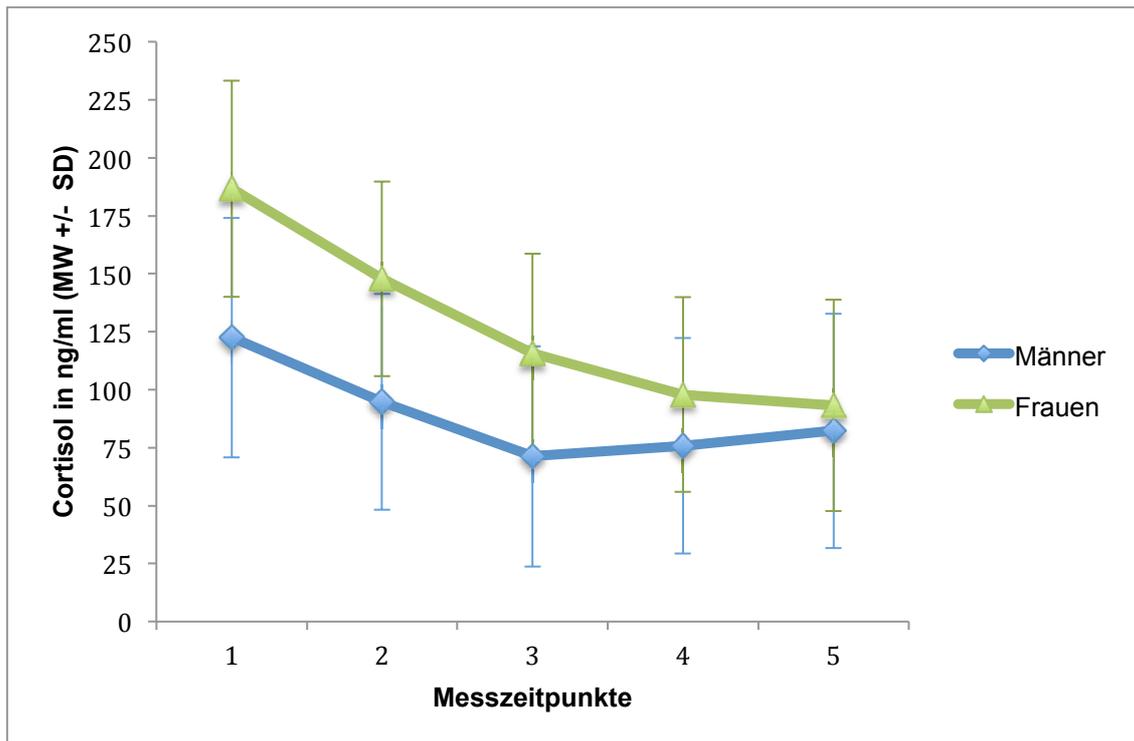


Abbildung 10 Interaktion zwischen Zeit und Geschlecht Tag 2

Weiterhin wurden die Mittelwerte der fünf Cortisolmesszeitpunkte (Baseline, 30., 80, 110. und 145. Minute) mit ± 1 Standardabweichung für den zweiten Experimentaltag für Männer und Frauen zusammen ermittelt. Diese wurden in Tabelle 12 dargestellt. In der ersten Hälfte fielen die Cortisolwerte von einem niedrigeren Ausgangslevel von Cortisol (152,30 ng/ml) als am ersten Tag (175,24ng/ml) in der Selbstverabreichung bis zum vierten Messpunkt kontinuierlich ab und stiegen um 0,96 ng/ml zum fünften Messzeitpunkt wieder an.

Tabelle 12 Mittelwerte Cortisol in ng/ml zu den Messzeitpunkten Tag 2

Messzeitpunkte in min	Cortisol Minimum	Cortisol Maximum	Cortisol Mittelwert	Standardabweichung
Baseline	67,37	286,85	152,303	52,2147
30	50,17	252,75	119,261	46,1400
80	24,56	231,22	90,7642	47,1133
110	26,35	188,83	85,9798	42,6769
145	20,08	108,87	86,9406	44,3603

3.2.3.4 Einfluss von max BAK Tag zwei auf den prozentualen Anteil der Nettofläche an der Gesamtfläche Tag zwei

Für die weitere Analyse der signifikanten Interaktion zwischen Zeit und maximalem Blutalkohol der Cortisolsekretion des zweiten Experimentaltages, eignete sich besonders die AUC (Area Under the Curve) Methode.

Es wurden Korrelationen von der AUC für die Cortisolsekretion an Tag zwei mit dem maximalen Blutalkoholwert berechnet. Um den Einfluss der signifikant unterschiedlichen Baseline Cortisolwerte (Kap.3.2.2) zu berücksichtigen wurde die prozentuale AUC ausgewertet. Hier zeigte die maximale Blutalkoholkonzentration eine geringe negative signifikante Korrelation mit der Cortisolsekretion ($r=-0,291$, $p=0,045$).

Die negative Korrelation bedeutet:

Ein Proband mit einer höheren maximalen Blutalkoholkonzentration zeigte in geringem Maße einen niedrigeren Cortisolwert als ein Proband mit geringerer maximaler Blutalkoholkonzentration.

3.3 Explorative Analyse von potentiellen weiteren Einflussfaktoren

3.3.1 Der Effekt von Übelkeit auf die Cortisolsekretion

Drei Probanden haben sich während des Experimentes erbrochen, ein Proband am ersten Experimentaltag und zwei weitere am zweiten Experimentaltag. Die weibliche Teilnehmerin wie auch die zwei männlichen Teilnehmer waren Familienanamnese positiv.

Unangenehme Nebenwirkungen wie z.B. „Übelkeit“ wurden auch systematisch untersucht. Die Fragen wurden mit Hilfe unseres computerassistierten Fragebogens „Quizzer“ zu acht festgelegten Zeitpunkten gestellt (Zeitpunkt Baseline, 10., 45., 65., 85., 105., 125. und 145. Minute). Die Fragen basierten auf einer visuellen Analogskala (1-100). Es wurde die Kovariate maximale Übelkeit in das oben beschriebene Modell der Kovarianzanalyse für den ersten sowie für den zweiten Tag aufgenommen.

Am ersten Tag ergab sich kein Effekt für das Maß maximale Übelkeit. Signifikanzen oder Effekte im zeitlichen Verlauf in den Interaktionen mit Familienanamnese, Geschlecht und maximalem Blutalkohol konnten nicht festgestellt werden. Die für den ersten Tag beschriebenen Signifikanzen blieben weiter bestehen.

Am zweiten Tag konnte ebenfalls kein Effekt auf die Cortisolsekretion für die Kovariate maximale Übelkeit gefunden werden. Die für den zweiten Tag beschriebenen Signifikanzen und Interaktionen blieben weiter bestehen.

Anschließend wurden deskriptiv die Mittelwerte des maximalen Wertes Übelkeit für jeden Probanden berechnet und nach Tag, Geschlecht und Familienanamnese aufgelistet. In Abbildung 11 können die zugehörigen Daten betrachtet werden.

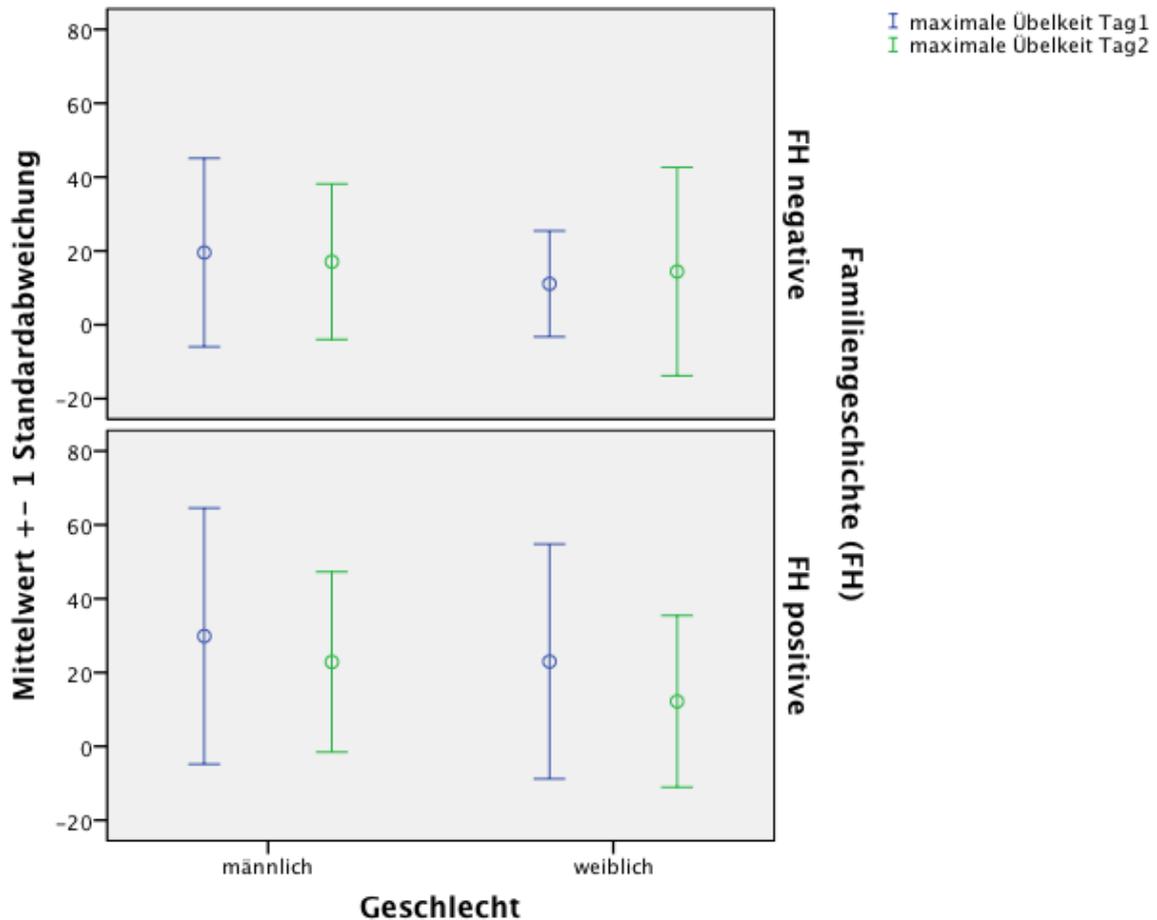


Abbildung 11 Mittelwerte maximale Übelkeit

3.3.2 Der Effekt von Rauchen auf die Cortisolsekretion

Ein weiterer Faktor „Rauchen“ wurde in das Modell der Kovarianzanalyse für den zweiten Experimentaltag eingeführt. Dabei wurde zwischen Raucher positiv und Raucher negativ unterschieden, wobei ersteres den gelegentlichen und regelmäßigen Konsum umfasst und zweiteres gegenwärtig Nichtraucher bezeichnet.

Am zweiten Tag blieben die vorher bestehenden Effekte unverändert bestehen. Es ließ keinen Haupteffekt von „Rauchen“ erkennen und es kam kein neuer Effekt hinzu.

Deskriptiv wurden die Mittelwerte der maximalen Blutalkoholwerte für Tag eins und zwei ermittelt. Diese können in Abbildung 12 betrachtet werden.

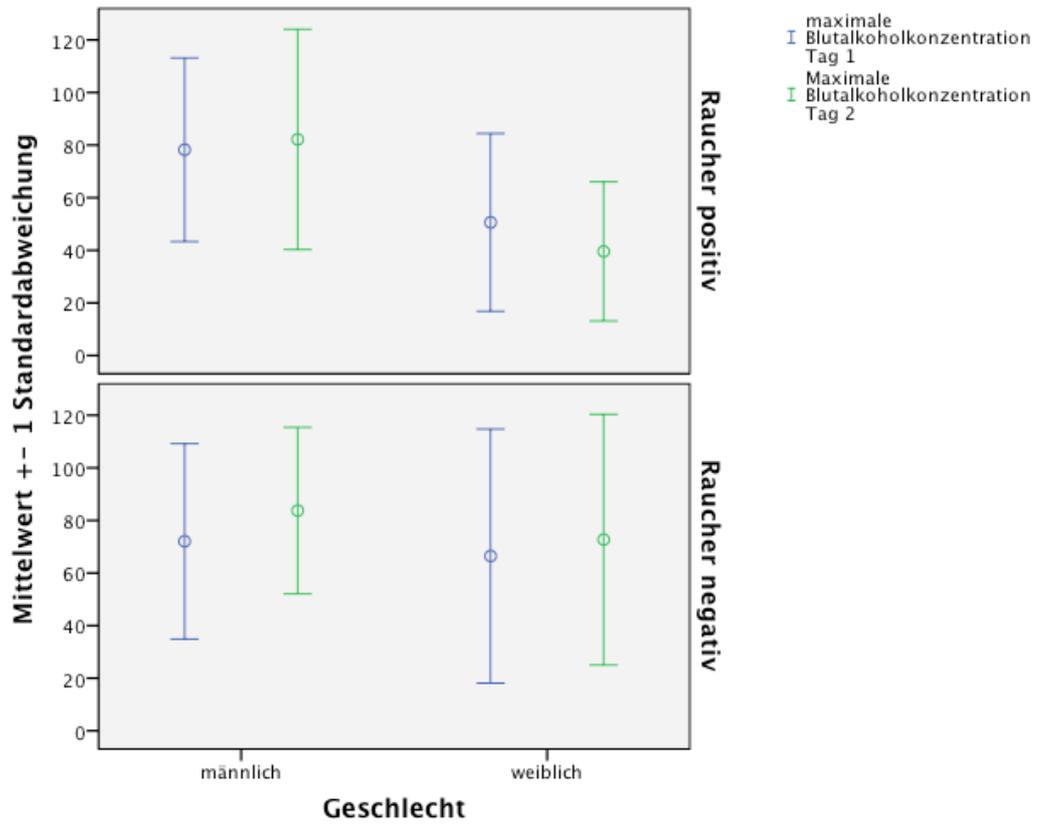


Abbildung 12 max BAK: Männer Rauchen positiv/negativ; Frauen Rauchen positiv/negativ

4 Diskussion

Die Auswertung der Ergebnisse der D-LAYA Studie bestätigt, dass Frauen zur basalen Cortisolmessung sowie unter Alkoholselbstverabreichung höhere Cortisolwerte als Männer aufweisen. Zwischen Tag eins und zwei bestehen unterschiedliche Effekte der maximalen Blutalkoholkonzentration als untersuchte Einflussvariable. An Tag eins konnten keine Auswirkungen der Blutalkoholkonzentration auf das HPA-System festgestellt werden. An Tag zwei zeigte sich eine Dosis-Wirkungs-Beziehung zwischen der Blutalkoholkonzentration und dem HPA-System. Individuell höhere Blutalkoholkonzentrationen führten zu niedrigeren Cortisolwerten im Vergleich zu Probanden mit einer geringeren Blutalkoholkonzentration. In dieser Versuchsreihe konnte keine Beeinflussung der Cortisolsekretion unter Alkoholexposition durch Familienanamnese, Raucheranamnese und unangenehme alkoholinduzierte Nebenwirkungen (Übelkeit) gefunden werden.

4.1 Auswahl der CASE Ergebnisvariablen

Die drei CASE Ergebnisvariablen maximale Blutalkoholkonzentration, Anzahl der Bestellung und mittlerer Blutalkohol der Alkoholselbstinfusion zeigten an beiden Experimentaltagen hochsignifikante Korrelationen untereinander. Demzufolge haben alle drei Variablen eine ähnliche Aussagekraft als Maß für die Alkoholwirkung. Die höchste Alkoholexposition spiegelt jedoch den höchsten Effekt auf die Cortisolsekretion wider. Daher wurde für die Berechnungen der Kovarianzanalysen die maximale Blutalkoholkonzentration als maßgebende Variable für die Alkoholwirkung auf die Cortisolsekretion ausgewählt.

4.2 Unterschiede zwischen dem ersten und zweiten Experimentaltag

Die beiden aufgestellten hypothesengenerierenden Fragestellungen

1. Unterscheiden sich Männer und Frauen hinsichtlich der Cortisolsekretion während Alkoholinfusion?
2. Liegt eine Dosis-Wirkungsbeziehung zwischen akuter Alkoholexposition und der Cortisolsekretion vor?

konnten in den zwei Experimentaltagen untersucht werden.

Die Ergebnisse des ersten Tages konnten die Hypothesen nicht stützen. Die Ergebnisse des zweiten Tages konnten die Hypothesen jedoch stützen. Dies ist damit zu erklären, dass am ersten Experimentaltag die nachfolgend diskutierten unspezifischen Stressfaktoren die Cortisolreaktion sowie die Alkoholselbstverabreichung beeinflussten. Es ist von der Annahme auszugehen, dass diese Störvariablen am zweiten Experimentaltag weniger ausgeprägt sind. Schommer und Kollegen zeigten 2003 in einer Studie, in der sie den Trierer Sozialen Stresstest (TSST) dreimal wiederholten, dass Stresshormone wie Cortisol, Adrenalin und Noradrenalin stärker am ersten Tag der Testdurchführung ausgeschüttet wurden als in den darauffolgenden Wiederholungen. Sie interpretierten, dass eine Gewöhnung an die ungewohnte Situation durch Wiederholung eines identischen Settings in der selben Situation eintritt. Bei Experimenten mit intravenöser Alkoholselbstverabreichung konnten wesentliche Ergebnisabweichungen zwischen dem ersten Experimentaltag und den darauffolgenden Versuchstagen festgestellt werden. Die Experimente schienen durch Lernprozesse und Unsicherheiten am ersten Tag mit dem Umgang der Alkoholselbstinfusion geprägt gewesen zu sein. Probanden zeigten am ersten Tag noch nicht genügend Vertrauen in die intravenöse Selbstverabreichung. Demzufolge waren die Auswertungen erst am zweiten Experimentaltag ergebnisrelevant (Zimmermann et al. 2008).

Die obengenannten Studienergebnisse lassen sich mit den vorliegenden Ergebnissen dieser Arbeit vergleichen. Dies lässt sich daran erkennen, dass das basale Cortisol ohne Alkoholeinwirkung für Männer und Frauen am zweiten Tag wesentlich geringer war. Vermutlich trägt die ungewohnte Situation in einem psychopharmakologischen

Labor, der notwendige Einstich für den intravenösen Zugang sowie eine gewisse ängstliche Erwartungshaltung zu den unspezifischen Stresseffekten am ersten Tag bei. Am ersten Tag starteten die Probanden von einem höheren Cortisollevel und fielen dementsprechend steiler ab. Am zweiten Tag war der basale Cortisolwert geringer. Demzufolge war der Abfall von Cortisol an Tag zwei unter Alkoholexposition nicht so ausgeprägt. Dies konnte in der Abbildung 8 im Vergleich von Tag eins auf Tag zwei dargestellt werden.

Diesen Beobachtungen und Überlegungen folgend, wurde der erste Tag als Eingewöhnungstag deklariert, die Experimentaltage getrennt analysiert und die Konzentration zur Hypothesentestung auf den zweiten Experimentaltag gelegt.

4.3 Verschiedene Einflüsse auf die Cortisolsekretion

4.3.1 Einfluss von Geschlecht

Die vorliegenden Ergebnisse zeigten den erwarteten Geschlechtsunterschied in der Cortisolsekretion. Frauen wiesen zur basalen Cortisolmesszeit und im gesamten Verlauf des Experimentes erhöhte Cortisolwerte gegenüber Männern auf. Infolgedessen wird vermutet, dass die Mehrheit der Probandinnen ein orales Kontrazeptivum während der Experimentalphase einnahm. Die erhöhten Cortisolwerte entsprechen der Aussage von Boisseau und Kollegen (2013), dass die Einnahme von Kontrazeptiva mit einer erhöhten freien Ruhespeichelkonzentration und einer freien Sekretion von Cortisol im Urin verbunden ist. Höhere Cortisolspiegel wurden bei Frauen mit Verwendung von Kontrazeptiva im Vergleich zu Frauen ohne Kontrazeptivaeinnahme ebenfalls in der Studie von Campesi und Kollegen (2012) nachgewiesen.

Die Daten zur oralen Kontrazeption bei Frauen wurden jedoch in der D-LAYA Studie nicht erfasst. Daher kann der Einfluss von Geschlecht auf die Cortisolsekretion an dieser Stelle nicht ausreichend diskutiert werden. In einer weiteren Studie sollten die Kontrazeptionsmethoden mit erhoben werden.

4.3.2 Einfluss von max BAK

In der Berechnung der Kovarianzanalyse des zweiten Tages beeinflusste die maximale Blutalkoholkonzentration signifikant die Cortisolsekretion. An Tag zwei zeigte sich eine signifikante Korrelation der Blutalkoholkonzentration mit der prozentualen AUC. Diese Korrelation bewegte sich gegenläufig. Demzufolge konnte eine Dosis-Wirkungsbeziehung zwischen der Cortisolsekretion und akuter Alkoholexposition beobachtet werden.

Diese Aussage bedeutet, dass sich die Cortisolspiegel von Probanden mit höheren maximalen Blutalkoholkonzentrationen anders entwickelten als bei Probanden mit niedrigeren maximalen Blutalkoholkonzentrationen. Je mehr Alkohol infundiert wurde, desto geringer war die individuelle Cortisolsekretion eines Probanden. Diese Aussage konnte in der vorliegenden Studie erstmalig beobachtet werden. Bis zu diesem Zeitpunkt gab es keine experimentelle Studie, die in einem Studiendesign einer intravenösen Alkoholelbstverabreichung (frei wählbar bis 1,2 Promille) eine Dosis-Wirkungsbeziehung zwischen Cortisolsekretion und Alkohol beobachten konnte. Zusammenhänge zwischen dem HPA-System und der Entwicklung von Suchterkrankungen werden vermutet. (Piazza und Le Moal 1996; Koob und Kreek 2007; Uhart und Wand 2009). Das Ergebnis der D-LAYA Experimente lässt sich mit dieser Aussage verbinden. Die Cortisolsekretion von Probanden unter Placebogabe als Vergleich zur Alkoholgabe wurde hier nicht getestet, daher konnte keine allgemeine Aussage über eine Dämpfung oder einen Anstieg der Cortisolspiegel durch Alkohol getroffen werden.

4.3.3 Einfluss von Familienanamnese

In dieser Studie konnte kein Einfluss von der Familienanamnese auf das HPA-System gefunden werden. Im Gegensatz dazu fanden Schuckit und Kollegen (1987, 1988) Effekte der Familienanamnese. Sie beobachteten, dass sich bei Probanden mit positiver vs. negativer Familienanamnese für Alkoholabhängigkeit die Cortisolsekretion unter akuter Alkoholexposition unterschied. Schuckit und Kollegen (1987, 1988) verwendeten orale mittlere (0,75 ml/kg) und hohe standardisierte Alkoholdosen (1,1 ml/kg) sowie Placebo als Kontrolle. Die Probanden der D-LAYA Studie konnten dagegen ihre jeweilige Alkoholdosis in intravenöser Selbstverabreichung bis 1,2 Promille frei wählen. Infolgedessen kann davon ausgegangen werden, dass die meisten Probanden der vorliegenden Studie dieser Arbeit sich den Dosisbereich der

niedrigen bis mittleren Alkoholdosis auswählten (entsprechend ihrer gestellten Aufgabe, sich so zu betrinken, dass sie sich „wohl fühlen“). Schuckit und Kollegen (1987, 1988) fanden keine Unterschiede in der Cortisolsekretion zwischen Probanden mit positiver vs. negativer Familienanamnese unter Placebogabe. Sie beschrieben jedoch einen Trend unter mittlerer Alkoholexposition in der Cortisolsekretion und insbesondere einen signifikanten Unterschied unter hoher Alkoholexposition bei Probanden mit positiver Familienanamnese vs. negativer Familienanamnese für Alkoholabhängigkeit, nämlich dass die Probanden mit positiver Familienanamnese niedrigere Cortisollevel aufwiesen als die mit negativer. Wahrscheinlich wurden aufgrund der „nur“ niedrigen bis mittleren Alkoholdosen in der D-LAYA Studie keine Haupteffekte der Familienanamnese erkannt.

4.4 Unterschiede zu vorhergehenden Studien

Bisherige Untersuchungen zur Dosis-Wirkungsbeziehung zwischen der Cortisolsekretion und Alkoholexposition unterschieden sich in der Art der Verabreichung und in der Dosierung. Die D-LAYA Studie ist die erste Studie, die eine Dosis-Wirkungsbeziehung aufzeigte. Bis zu diesem Zeitpunkt gab es kein weiteres Experiment, welches mehrere Alkoholdosierungen in einem Setting verwendete und dies unter dem Aspekt des Zusammenhangs von HPA-System und Alkoholexposition untersuchte. Die Probanden konnten in der D-LAYA Studie ihre Alkoholverabreichung frei bis zu der Grenze von 1,2 Promille bestimmen. Vorangegangene Studien, die in der Literaturübersicht von Mick und Kollegen (2013) aufgeführt wurden, arbeiteten im Gegensatz dazu mit oraler Alkoholgabe und festen Standarddosierungen ($<0,6$ g/kg, $0,6-0,79$ g/kg und $>0,8$ g/kg). Der Vorteil der intravenösen Alkoholgabe lag in der genauen Berechnung der Infusionsrate von Alkohol, die unabhängig von Geschlecht, Alter, Körpergröße und –gewicht eines jeden Probanden gewährleistet war. Daher konnten interindividuelle Unterschiede der gastro-intestinalen Absorptionskinetik von oraler Alkoholaufnahme ausgeschlossen werden. Weiterhin konnte durch die intravenöse Alkoholgabe und die separate Testung der Probanden dem Ehrgeiz- und Vergleichsverhalten der Probanden untereinander entgegen gewirkt werden. Infolgedessen war es den Probanden aufgrund der unbekanntem Alkoholmenge nicht möglich, selbst durch zufälligen Austausch untereinander zwischen den Experimenten, sich gegenseitig „anzustacheln“ bzw. zu vergleichen. Dieses Ehrgeiz- und Vergleichsverhalten ist bei oraler Testung und an realen „Wochenendparties“ von

großer Bedeutung. Die ungewohnte Art, Alkohol zu konsumieren, ließ keinen Zusammenhang zwischen subjektiver Einschätzung/Erwartungshaltung und bisher konsumierten Mengen von Alkohol für den Probanden herstellen. Die Vorlieben der Probanden für bestimmte Getränketypen konnten mit der intravenösen Alkoholselbstverabreichung umgangen werden.

Die Alkoholdosierung der Probanden dieser Experimente hing davon ab, wie wohl sich die Teilnehmer in der Alkoholselbstverabreichung fühlten. Infolgedessen konnte von der Annahme ausgegangen werden, dass sich die Probanden individuell auf diesem Wohlfühllevel befanden und dieses Wohlfühllevel auch über den Verlauf der Experimentaldauer hielten. Die Probanden gaben kaum subjektive unangenehme Nebenwirkungen wie z. B. Übelkeit an, welche als Stressreaktionen gewertet werden können. Demzufolge resultierten weniger Stressreaktionen aus der intravenösen Alkoholselbstverabreichung als im Vergleich zu den vorangegangenen Studien mit oraler Alkoholtestung. Dies kann als prinzipieller Unterschied zwischen den beiden Applikationsformen von Alkohol gesehen werden.

Des Weiteren zeichnete sich die Untersuchung durch die Altersstruktur der Probanden aus. Die Experimente beschäftigten sich ausschließlich mit jungen 18-jährigen gesunden sozialen Trinkern. Die einheitliche Altersstruktur ließ einen verbesserten Vergleich für die Datenanalyse zu.

4.5 Diskussion der explorativen Datenanalyse

4.5.1 Einfluss von Übelkeit auf die Cortisolsekretion

Akute Übelkeit und Erbrechen sind verbunden mit der vermehrten Sekretion von ACTH und Cortisol (Leach et al. 1988, Drummer et al. 1990, Kohl 1992, Klosterhalfen et al. 2000). Inder und Kollegen (1995) sprachen davon, dass gastrointestinale Nebenwirkungen wie Übelkeit und Erbrechen in Folge von akuter Alkoholexposition (0,88 g/kg) zu erhöhten Cortisolspiegeln führten. Weiterhin erörterten Mick und Kollegen (2013), dass HPA-Stimulierung überwiegend bei Probanden mit alkohol-induzierten Nebenwirkungen und bei Probanden mit erhöhtem Risiko für alkohol-induzierte Nebenwirkungen beobachtet wurde. Als erhöhtes Risiko wurden hohe Alkoholdosen, niedrige bisherige Trinkgeschichte sowie prädisponierender Genotyp diskutiert.

Infolgedessen wird vermutet, dass alkohol-induzierte Nebenwirkungen in einer Wechselwirkung mit Stress zu erhöhten Cortisolwerten führen.

Die vorliegenden Ergebnisse dieser Studie konnten keinen Einfluss alkohol-induzierter Nebenwirkungen (Übelkeit) auf das HPA-System zeigen. Die Probanden gaben aber auch nur gering empfundene Übelkeitswerte an und es mussten sich nur wenige Probanden (3 von 48) erbrechen.

Die D-LAYA Studie war nicht darauf ausgelegt, die Variable alkohol-induzierte Nebenwirkungen untersuchen zu können. Dafür wäre ein anderes Studiendesign geeignet. Beispielsweise könnte ein hohes Alkohollevel durch CASE konstant geführt werden und alkohol-induzierte Nebenwirkungen als Hauptvariable im Zusammenhang mit der Cortisolsekretion beobachtet werden.

4.5.2 Einfluss von Rauchen auf die Cortisolsekretion

Die Wechselwirkungen zwischen Alkohol und Rauchen sind in der Literatur häufig beschrieben worden. Raucher trinken mehr Alkohol als Nichtraucher. Menschen, die Alkohol trinken, rauchen mehr. (Mintz et al. 1985, Mitchell et al. 1995, Glautier et al. 1996). Weiterhin fanden Smith und Kollegen (1999) in einer Studie mit Ratten, dass Nikotin (s. c. gegeben) 30 Minuten vor oraler Alkoholaufnahme die Appetenz für Alkohol steigert.

In dieser Studie wurde angenommen, dass es bei Rauchern zu einer höheren Selbstverabreichung von Alkohol und infolgedessen zu einer höheren Cortisolsekretion führen würde. Die Analyse der vorliegenden Daten konnten jedoch keinen Einfluss von gelegentlichen und regelmäßigen Rauchern sowie von Nichtrauchern auf die Cortisolsekretion unter Alkoholexposition zeigen. Der letzte Zeitpunkt eines Zigarettenkonsums der Probanden vor der Alkoholselbstinfusion wurde nicht erfasst. Dies könnte in einer weiteren Studie erhoben werden, um den direkten Unterschied zwischen Rauchern und Nichtrauchern auf die freie intravenöse Alkoholaufnahme und den möglichen darauffolgenden Veränderungen in der Cortisolsekretion festzustellen.

4.6 Limitation der D-LAYA Studie

Die aufgestellten Fragen in dieser experimentellen Pilotstudie waren darauf ausgelegt, mögliche Hypothesen zu generieren, die für weitere Studien als Grundlage dienen könnten.

Zum Testen der Voraussetzung der Varianzhomogenität in den Gruppen wurden Levene-Tests berechnet. Diese Tests waren für einige Zellen signifikant, was auf eine Verletzung der Varianzhomogenität hindeutet.

Zur Untersuchung der Normalverteilungsvoraussetzung wurden Kolmogorov-Smirnov-Tests berechnet. Auch diese waren für einige Zellen signifikant, was auf eine Verletzung der Normalverteilungsannahme hindeutet.

Trotz der teilweisen Verletzungen gegen die Normalverteilungs- und Varianzgleichheitsvoraussetzungen habe ich mich entschieden, Kovarianzanalysen zu berechnen, da diese als robust gegenüber derartigen Verletzungen gelten. Meine Ergebnisse habe ich mit der entsprechenden Vorsicht interpretiert.

4.7 Ausblick

In der vorliegenden Arbeit konnte erstmalig eine Dosis-Wirkungsbeziehung zwischen Cortisolsekretion und Alkoholexposition an 48 Probanden beobachtet werden. Daher können mit dieser Aussage Aspekte der Suchtmedizin näher beleuchtet werden. Diese Arbeit leistet einen wichtigen Beitrag für die Forschung, welchen Einfluss Alkohol auf die Cortisolsekretion zeigen könnte. Es konnte festgestellt werden, dass das Stresssystem mit der Verabreichung bzw. mit dem Konsum von Alkohol eng gekoppelt ist und daher voraussichtlich Auswirkungen auf die Entwicklung einer Alkoholabhängigkeit haben kann. Daraus ergeben sich folgende Hypothesen, die in künftigen Studien getestet werden sollten:

1. Frauen haben eine höhere Cortisolsekretion zur Baseline sowie unter Alkoholexposition.
2. Es liegt eine Dosis-Wirkungsbeziehung zwischen Cortisolsekretion und Alkoholexposition vor.

Es handelt sich wie bereits oben beschrieben um ein Experiment, in dem die Probanden ihre individuelle Alkoholdosis intravenös frei wählen konnten. Diese Methodik kombiniert mit den zwei neu aufgestellten Hypothesen könnten in weiteren Studien mit größeren Probandenzahlen überprüft werden. Weiterhin sollten dabei zwei Experimentaltage angesetzt werden. Der erste Tag würde den Probanden als Eingewöhnungsphase in die intravenöse Alkoholtastung dienen. Der zweite Tag sollte für die Hypothesentestung verwendet werden. Die orale Kontrazeption bei weiblichen Probanden sollte mit erfasst werden, um genauere Daten über Cortisolsekretion bei Frauen als in der vorliegenden Studie erzielen zu können. Es wäre möglich, den Raucherstatus entweder als ein weiteres Einschlusskriterium zu definieren (z.B. nur Familienanamnese negative männliche Nichtraucher zu untersuchen) oder entsprechend mehr Probanden einzuschließen. Weiterhin sollten die Probanden nach Familienanamnese und Geschlecht getrennt untersucht und analysiert werden. Unangenehme alkoholinduzierte Nebenwirkungen wie Übelkeit müssten unter einem konstant geführten Alkohollevel separat untersucht werden, jedoch wäre es ethisch natürlich bedenklich, Probanden absichtlich unangenehmen Nebenwirkungen auszusetzen. Des Weiteren könnte der Einfluss von Nikotinkonsum direkt vor der freien Alkoholselbstinfusion untersucht werden, um die Fragen nach der Appetenzsteigerung und der möglichen darauffolgenden Cortisolsekretion näher zu beleuchten.

Zusammenfassung

Hintergrund

Studien mit experimenteller Alkoholverabreichung bieten uneinheitliche Ansätze und Interpretationen, in welcher Form eine akute Alkoholexposition das HPA-System und die Cortisolsekretion beeinflusst. Bisher publizierte Alkoholexperimente unterscheiden sich anhand der Applikationsform, der Möglichkeit einer freien Alkoholselfverwaltung und des Alters der Probanden.

Fragestellung

Wird Cortisolsekretion während Alkoholinfusion durch Geschlecht modifiziert? Liegt eine Dosis-Wirkungsbeziehung zwischen Cortisolsekretion und akuter Alkoholexposition vor? Haben Familienanamnese, Rauchstatus und alkoholinduzierte Nebenwirkungen wie Übelkeit Einfluss auf das HPA-System unter Alkoholexposition?

Material und Methode

48 18-jährige Probanden nahmen an zwei identischen Sitzungen teil, an denen sie ihre maximale Blutalkoholkonzentration bis zu einem Sicherheitslimit von 1,2 Promille frei wählen konnten. Das Experiment wurde über eine spezielle Software für Ethanolselfinfusion gesteuert (CASE) und führte den Probanden durch das zweieinhalbstündige Experiment. CASE beruht auf einem validierten pharmakokinetischen Modell und beinhaltet die Berechnung, wie viel Alkohol infundiert werden muss, um den BAK-Wert linear ansteigen zu lassen. Dieser steigt nach jeder Alkoholanforderung um 0,075‰ innerhalb von zweieinhalb Minuten; fordert der Proband keinen Alkohol, fällt die Blutalkoholkonzentration um 0,01‰/min. Durch die Berechnung der Infusionsrate können interindividuelle Unterschiede ausgeschlossen werden.

Die Cortisolwerte wurden jeweils zu fünf Zeitpunkten, zur basalen Messung und vier weiteren festen Zeitpunkten während der Alkoholselfinfusion von Probanden mit zwei vollständig abgeschlossenen Alkoholexperimenten erhoben. Als geeignetes Maß, den Einfluss der Alkoholselfverabreichung auf die Cortisolsekretion zu untersuchen, wurde die maximale Blutalkoholkonzentration ermittelt. Zusätzlich wurde der Experimentaltag, das Geschlecht und die Familienanamnese berücksichtigt sowie explorativ maximale Übelkeit und Rauchstatus untersucht.

Ergebnisse:

Zusammenfassend bestätigte sich, dass Frauen zur basalen Cortisolmessung sowie unter Alkoholselbstverabreichung höhere Cortisolwerte als Männer aufweisen. Zwischen Experimentaltag eins und zwei bestehen unterschiedliche Effekte der maximalen Blutalkoholkonzentration als untersuchte Einflussvariable. An Experimentaltag eins konnten keine Auswirkungen der Blutalkoholkonzentration auf das HPA-System festgestellt werden. An Experimentaltag zwei zeigte sich eine Dosis-Wirkungs-Beziehung zwischen der Blutalkoholkonzentration und dem HPA-System. Individuell höhere Blutalkoholkonzentrationen führten zu niedrigeren Cortisolwerten als im Vergleich zu Probanden mit einer geringeren Blutalkoholkonzentration. In dieser Versuchsreihe konnte keine Beeinflussung der Cortisolsekretion unter Alkoholexposition durch Familienanamnese, Raucheranamnese und unangenehme alkoholinduzierte Nebenwirkungen (Übelkeit) gefunden werden.

Schlussfolgerungen:

Die hier vorliegenden Ergebnisse lassen darauf schließen, dass Alkoholexperimente bei jungen sozialen Trinkern die Cortisolsekretion beeinflussen. Dies konnte in der vorliegenden Studie erstmalig beobachtet werden. Bis zu diesem Zeitpunkt gab es keine experimentelle Studie, die in einem Studiendesign einer intravenösen Alkoholselbstverabreichung eine Dosis-Wirkungsbeziehung zwischen Cortisol und Alkohol untersucht und ausgewertet hat. Es kann davon ausgegangen werden, dass sich der erste Experimentaltag als Eingewöhnungsphase aufgrund von unspezifischen Störfaktoren eignet. Der zweite Experimentaltag eignet sich in einem identischen Setting zur Hypothesentestung. Im Einklang zu früheren Studien stehen die erhöhten Cortisolwerte von Frauen im Vergleich zu Männern. Es fand sich kein Hinweis darauf, dass Familienanamnese, Rauchen und unangenehme alkoholinduzierte Nebenwirkungen Einfluss auf die Cortisolsekretion haben.

Summary

Background:

Studies with experimental administration of alcohol offer inconsistent approaches and interpretations in which ways an acute alcohol exposure affects the HPA-system and the cortisol secretion. So far published alcohol experiments differ in alcohol application, the possibility of alcohol self-administration at the subjects own discretion as well as the age of the participants.

Question:

Is cortisol secretion modified by gender during alcohol infusion?

Do men and women show different cortisol levels under alcohol exposure when compared to the baseline? Is there a dose-response relationship between cortisol secretion and acute alcohol exposure? Have family history, smoking habits and alcohol induced side effects like nausea an influence on the cortisol secretion under alcohol exposure?

Materials and methods:

48 18 year old subjects participated in two identical sessions in which they were able to regulate their maximum blood alcohol concentration up to a safety limit of 1.2 ‰ (i.e., 0.12%). The experiment was conducted by using a special software for self-infusion of ethanol (CASE) which guided the participants through a two and a half hours long experiment. CASE is founded on a validated physiologically-based pharmacokinetic model and involves calculating the infusion volume needed to increase the blood alcohol concentration in a linear manner. The BAC increases after each alcohol request by 0,075 ‰ (i.e., 0.0075%) within in two and a half minutes. If the subject infuses no alcohol the blood alcohol concentration will decrease by 0.01 ‰ (i.e., 0.001%) per minute. Through the precise calculation of the infusion rate, individual differences can be eliminated.

Cortisol levels were measured at five time points: an initial baseline measurement and four measurements at fixed time points during the alcohol self-administration of subjects with two completed alcohol experiments. As an appropriate measure to examine the effect of alcohol self-administration on cortisol secretion, the maximum blood alcohol concentration was determined. In addition the day of experiment, gender

and family history were observed as well as exploratory maximum nausea and smoking habits.

Results:

In conclusion, the results confirmed that women have higher cortisol levels than men at baseline and under alcohol influence. Blood alcohol concentration as examined influencing variable was shown to have different effects on the HPA system on day one and two. On the first day of experimentation there was no effect of blood alcohol concentration on the HPA system. On the second day a dose-response relationship could be identified between cortisol secretion and acute alcohol exposure.

Individually higher blood alcohol concentrations attenuated cortisol stronger in comparison to subjects with lower blood alcohol concentrations. Family history, smoking habits and unpleasant side effects (nausea) did not affect the cortisol secretion under alcohol exposure in this series of experiments.

Conclusions:

Current data suggests that alcohol experiments affect the cortisol secretion in young social drinkers. These findings could be detected for the first time. Up to this point there has not been an experimental study that investigated and evaluated the dose-effect relationship between cortisol secretion and alcohol in a study design which uses intravenous alcohol self-administration. It can be theorized that the first day of experimentation is suitable as a settling-in phase due to unspecific confounding factors, whereas the second day can be considered, in an identical setting, apt for hypothesis testing. The increased cortisol level in women when compared to men is consistent with previous studies and there was no indication that family history, smoking habits and alcohol induced unpleasant side effects have an influence on cortisol secretion.

**Technische Universität Dresden
Medizinische Fakultät Carl Gustav Carus
Promotionsordnung vom 24. Juli 2011**

Erklärungen zur Eröffnung des Promotionsverfahrens

1. Hiermit versichere ich, dass ich die vorliegende Arbeit ohne unzulässige Hilfe Dritter und ohne Benutzung anderer als der angegebenen Hilfsmittel angefertigt habe; die aus fremden Quellen direkt oder indirekt übernommenen Gedanken sind als solche kenntlich gemacht.

2. Bei der Auswahl und Auswertung des Materials sowie bei der Herstellung des Manuskripts habe ich Unterstützungsleistungen von folgenden Personen erhalten:
..Prof. Dr. med. Ulrich S. Zimmermann, .. Dipl.- Biomath. Cathrin Sauer.....
.....
.....
.....
.....
.....

3. Weitere Personen waren an der geistigen Herstellung der vorliegenden Arbeit nicht beteiligt. Insbesondere habe ich nicht die Hilfe eines kommerziellen Promotionsberaters in Anspruch genommen. Dritte haben von mir weder unmittelbar noch mittelbar geldwerte Leistungen für Arbeiten erhalten, die im Zusammenhang mit dem Inhalt der vorgelegten Dissertation stehen.

4. Die Arbeit wurde bisher weder im Inland noch im Ausland in gleicher oder ähnlicher Form einer anderen Prüfungsbehörde vorgelegt.

5. Die Inhalte dieser Dissertation wurden in folgender Form veröffentlicht:
..Keine Veröffentlichung bislang.....
.....
.....

6. Ich bestätige, dass es keine zurückliegenden erfolglosen Promotionsverfahren gab.
.....

7. Ich bestätige, dass ich die Promotionsordnung der Medizinischen Fakultät der Technischen Universität Dresden anerkenne.

8. Ich habe die Zitierrichtlinien für Dissertationen an der Medizinischen Fakultät der Technischen Universität Dresden zur Kenntnis genommen und befolgt.

Ort, Datum

Unterschrift des Doktoranden

(Diese Erklärungen sind an das Ende der Arbeit einzubinden) Formblatt 1.2.1, Seite 1-1, erstellt 18.10.2013

Hiermit bestätige ich die Einhaltung der folgenden aktuellen gesetzlichen Vorgaben im Rahmen meiner Dissertation

- das zustimmende Votum der Ethikkommission bei Klinischen Studien, epidemiologischen Untersuchungen mit Personenbezug oder Sachverhalten, die das Medizinproduktegesetz betreffen
Aktenzeichen der zuständigen Ethikkommission ... 333 122 008

- die Einhaltung der Bestimmungen des Tierschutzgesetzes
Aktenzeichen der Genehmigungsbehörde zum Vorhaben/zur Mitwirkung

- die Einhaltung des Gentechnikgesetzes
Projektnummer

- die Einhaltung von Datenschutzbestimmungen der Medizinischen Fakultät und des Universitätsklinikums Carl Gustav Carus.

Ort, Datum

Unterschrift des Doktoranden

Literaturverzeichnis

American Psychiatric Association (2000) Diagnostic and statistical manual of mental disorders: DSM-IV-TR, 4th edn. American Psychiatric Association, Washington, DC.

Boisseau N, Enea C, Diaz V, Dugue B, Corcuff JB, Duclos M. 2013. Oral contraception but not menstrual cycle phase is associated with increased free cortisol levels and low hypothalamo-pituitary-adrenal axis reactivity. *J Endocrinol Invest* 36:955-964.

Campesi I, Sanna M, Zinellu A, Carru C, Rubattu L, Bulzomi P, Seghieri G, Tonolo G, Palermo M, Rosano G, Marino M, Franconi F. 2012. Oral contraceptives modify DNA methylation and monocyte-derived macrophage function. *Biol Sex Differ* 3:4-6410-3-4.

Criswell HE, Breese GR. 2005. A conceptualization of integrated actions of ethanol contributing to its GABA-mimetic profile: A commentary. *Neuropsychopharmacology* 30:1407-1425.

Dai X, Thavundayil J, Gianoulakis C. 2002. Response of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis to stress in the absence and presence of ethanol in subjects at high and low risk of alcoholism. *Neuropsychopharmacology* 27:442-452.

Davis JR, Jeffcoate WJ. 1983. Lack of effect of ethanol on plasma cortisol in man. *Clin Endocrinol (Oxf)* 19:461-466.

Dettmeyer R, Verhoff MA. (2011) *Forensische Alkoholologie und Toxikologie*. Springer Berlin Heidelberg, Berlin, Heidelberg.

Drummer C, Strohmeyer H, Riepl RL, König A, Strollo F, Lang RE, Maass H, Rucker L, Gerzer R. 1990. Hormonal Changes during parabolic flight: implications on the development of motion sickness. *Aviation Space Environmental Medicine* 61: 821-828.

Fagerstrom KO, Schneider NG. 1989. Measuring nicotine dependence: A review of the fagerstrom tolerance questionnaire. *J Behav Med* 12:159-182.

Gianoulakis C, Guillaume P, Thavundayil J, Gutkowska J. 1997. Increased plasma atrial natriuretic peptide after ingestion of low doses of ethanol in humans. *Alcohol Clin Exp Res* 21:162-170.

Glautier S, Clements K, White JAW, Taylor C, Stolerman IP. 1996. Alcohol and the reward value of cigarette smoking. *Behav Pharmacol* 7:144–154.

Grossmann A. 1983. Brain opiates and neuroendocrine function. *Clinical Endocrinology and Metabolism*, 12:725-746.

Hapke U, v dL, Gaertner B. 2013. Riskanter Alkoholkonsum und Rauschtrinken unter Berücksichtigung von Verletzungen und der Inanspruchnahme alkoholspezifischer medizinischer Beratung. *Bundesgesundheitsblatt - Gesundheitsforschung - Gesundheitsschutz* 56:809-813.

Herz A. 1997. Endogenous opioid systems and alcohol addiction. *Psychopharmacology (Berl)* 129:99-111.

Inder WJ, Joyce PR, Wells JE, Evans MJ, Ellis MJ, Mattioli L, Donald RA. 1995. The acute effects of oral ethanol on the hypothalamic-pituitary-adrenal axis in normal human subjects. *Clin Endocrinol (Oxf)* 42:65-71.

Jenkins, JS, Connolly J. 1968. Adrenocortical response to ethanol in man. *Br. Med. J.* 2, 804e805.

Jezova D, Guillaume V, Jurankova E, Carayon P, Oliver C. 1994. Studies on the physiological role of ANF in ACTH regulation. *Endocr Regul* 28:163-169.

Kirschbaum C. 2001. Das Stresshormon Cortisol – Ein Bindeglied zwischen Psyche und Soma ?. *Jahrbuch der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf 2001*. Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf, Düsseldorf 150-156.

Klosterhalfen S, Ruttgers A, Krumrey E, Otto B, Stockhorst U, Riepl RL, Probst T, Enck P. 2000. Pavlovian conditioning of taste aversion using a motion sickness paradigm. *Psychosom Med* 62:671-677.

Koob G, Kreek MJ. 2007. Stress, dysregulation of drug reward pathways, and the transition to drug dependence. *Am J Psychiatry* 164:1149-1159.

Koob GF, Volkow ND. 2010. Neurocircuitry of addiction. *Neuropsychopharmacology* 35:217-238.

Leach CS, Johnson PC, Cintron NM. 1988. The endocrine system in space flight. *Acta Astronaut* 17: 161-166.

Lex BW, Ellingboe JE, Teoh SK, Mendelson JH, Rhoades E. 1991. Prolactin and cortisol levels following acute alcohol challenges in women with and without a family history of alcoholism. *Alcohol* 8:383-387.

Lindberg L, Brauer S, Wollmer P, Goldberg L, Jones AW, Olsson SG. 2007. Breath alcohol concentration determined with a new analyzer using free exhalation predicts almost precisely the arterial blood alcohol concentration. *Forensic Sci Int* 168:200-207.

Lindenmeyer J. 2011. Alkoholmissbrauch und -abhängigkeit. In: Wittchen H, Hoyer J, editors. Springer Berlin Heidelberg. p 743-766.

Lovinger DM, White G, Weight FF. 1989. Ethanol inhibits NMDA-activated ion current in hippocampal neurons. *Science* 243:1721-1724.

Madea, B. 2007. Praxis Rechtsmedizin/ Befunderhebung, Rekonstruktion, Begutachtung. Springer, Berlin.

Margraf J. 1994. Mini-DIPS. Springer, Berlin.

Martin CS, Earleywine M, Musty RE, Perrine MW, Swift RM. 1993. Development and validation of the biphasic alcohol effects scale. *Alcohol Clin Exp Res* 17:140-146.

Mick I, Spring K, Uhr M, Zimmermann US. 2013. Alcohol administration attenuates hypothalamic-pituitary-adrenal (HPA) activity in healthy men at low genetic risk for alcoholism, but not in high-risk subjects. *Addict Biol* 18:863-871.

Mintz J, Boyd G, Rose JE, Charuvastra VC, Jarvik ME. 1985. Alcohol increases cigarette smoking: A laboratory demonstration. *Addict Behav* 10:203-207.

Mitchell SH, deWit H, Zacny J.P. 1995. Effects of varying ethanol dose on cigarette consumption in healthy normal volunteers. *Behav Pharmacol* 6:359–365.

Moghaddam B. 2002. Stress activation of glutamate neurotransmission in the prefrontal cortex: Implications for dopamine-associated psychiatric disorders. *Biol Psychiatry* 51:775-787.

O'Connor S, Morzorati S, Christian J, Li TK. 1998. Clamping breath alcohol concentration reduces experimental variance: Application to the study of acute tolerance to alcohol and alcohol elimination rate. *Alcohol Clin Exp Res* 22:202-210.

O'Connor S, Ramchandani VA, Li TK. 2000. PBPK modeling as a basis for achieving a steady BrAC of 60 +/- 5 mg% within ten minutes. *Alcohol Clin Exp Res* 24:426-427.

Otto B, Riepl RL, Klosterhalfen S, Enck P. 2006. Endocrine correlates of acute nausea and vomiting. *Auton Neurosci* 129:17-21.

Piazza PV, Le Moal ML. 1996. Pathophysiological basis of vulnerability to drug abuse: Role of an interaction between stress, glucocorticoids, and dopaminergic neurons. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 36:359-378.

Plawecki MH, Zimmermann US, Vitvitskiy V, Doerschuk PC, Crabb D, O'Connor S. 2012. Alcohol exposure rate control through physiologically based pharmacokinetic modeling. *Alcohol Clin Exp Res* 36:1042-1049.

Preiser JC, Ichai C, Orban JC, Groeneveld AB. 2014. Metabolic response to the stress of critical illness. *Br J Anaesth* .

Ramchandani VA, Plawecki M, Li TK, O'Connor S. 2009. Intravenous ethanol infusions can mimic the time course of breath alcohol concentrations following oral alcohol administration in healthy volunteers. *Alcohol Clin Exp Res* 33:938-944.

Rehm J, Mathers C, Popova S, Thavorncharoensap M, Teerawattananon Y, Patra J. 2009. Global burden of disease and injury and economic cost attributable to alcohol use and alcohol-use disorders. *Lancet* 373:2223-2233.

Rice JP, Reich T, Bucholz KK, Neumann RJ, Fishman R, Rochberg N (1995) Comparison of direct interview and family history diagnoses of alcohol dependence. *Alcohol Clin Exp Res* 19:1018-1023.

Robins LN, Wing J, Wittchen HU, Helzer JE, Babor TF, Burke J, Farmer A, Jablenski A, Pickens R, Regier DA. 1988. The composite international diagnostic interview. an epidemiologic instrument suitable for use in conjunction with different diagnostic systems and in different cultures. *Arch Gen Psychiatry* 45:1069-1077.

Roche DJ, King AC, Cohoon AJ, Lovallo WR. 2013. Hormonal contraceptive use diminishes salivary cortisol response to psychosocial stress and naltrexone in healthy women. *Pharmacol Biochem Behav* 109:84-90.

Room R, Jernigan D, Carlini-Marlatt B, Gureje O, Mäkelä K, Marshall M, Medina-Mora ME, Monteiro M, Parry C, Partanen C, Riley L, Saxena S. 2002. Alcohol and developing societies: a public health approach. Helsinki: Finnish Foundation for Alcohol Studies and Geneva: World Health Organization.

Schommer NC, Hellhammer DH, Kirschbaum C. 2003. Dissociation between reactivity of the hypothalamus-pituitary-adrenal axis and the sympathetic-adrenal-medullary system to repeated psychosocial stress. *Psychosom Med* 65:450-460.

Schuckit MA, Gold E, Risch C. 1987. Plasma cortisol levels following ethanol in sons of alcoholics and controls. *Arch Gen Psychiatry* 44:942-945.

Schuckit MA, Risch SC, Gold EO. 1988. Alcohol consumption, ACTH level, and family history of alcoholism. *Am J Psychiatry* 145:1391-1395.

Sinha R, Fox HC, Hong KI, Hansen J, Tuit K, Kreek MJ. 2011. Effects of adrenal sensitivity, stress- and cue-induced craving, and anxiety on subsequent alcohol relapse and treatment outcomes. *Arch Gen Psychiatry* 68:942-952.

Smith BR, Horan JT, Gaskin S, Amit Z. 1999. Exposure to nicotine enhances acquisition of ethanol drinking by laboratory rats in a limited access paradigm. *Psychopharmacology (Berl)* 142:408-412.

Sobell LC, Sobell MB. 2003. Alcohol Consumption Measures. In: Allen JP (eds) *Assesing alcoholproblems. A Guide for Clinicians and Researchers Second Edition*. National Institute on Alcohol Abuse and Alcoholism, Bethesda, MD, pp 75-99.

Soderpalm AH, de Wit H. 2002. Effects of stress and alcohol on subjective state in humans. *Alcohol Clin Exp Res* 26:818-826.

Spanagel R. 2009. Alcoholism: A systems approach from molecular physiology to addictive behavior. *Physiol Rev* 89:649-705.

Spanagel R, Durstewitz D, Hansson A, Heinz A, Kiefer F, Kohr G, Matthaus F, Nothen MM, Noori HR, Obermayer K, Rietschel M, Schloss P, Scholz H, Schumann G, Smolka M, Sommer W, Vengeliene V, Walter H, Wurst W, Zimmermann US, Addiction GWAS Resource Group, Stringer S, Smits Y, Derks EM. 2013. A systems medicine research approach for studying alcohol addiction. *Addict Biol* 18:883-896.

Spanagel R, Noori HR, Heilig M. 2014. Stress and alcohol interactions: Animal studies and clinical significance. *Trends Neurosci* 37:219-227.

Tuomisto J, Mannisto P. 1985. Neurotransmitter regulation of anterior pituitary hormones. *Pharmacol Rev* 37:249-332.

Uhart M, Wand GS. 2009. Stress, alcohol and drug interaction: An update of human research. *Addict Biol* 14:43-64.

Vengeliene V, Bilbao A, Molander A, Spanagel R. 2008. Neuropharmacology of alcohol addiction. *Br J Pharmacol* 154:299-315.

Waltman C, Blevins LS,Jr, Boyd G, Wand GS. 1993. The effects of mild ethanol intoxication on the hypothalamic-pituitary-adrenal axis in nonalcoholic men. *J Clin Endocrinol Metab* 77:518-522.

WHO (World Health Organization). 2014. Global status report on alcohol and health 2014 ed.

Woicik, PA, Stewart, S. H., Pihl, R. O. & Conrod, P. J. 2009. The substance use risk profile scale: A scale traits linked to reinforcement-specific substance use profiles. *Addictive Behaviors*, 34, 1042-1055.

World Health Organization. 1991. Tenth Revision of the International Classification of Diseases, Chapter V (F:) Mental and behavioural disorders (including disorders of psychological development). Clinical Descriptions and Diagnostic Guidelines. WHO, Geneva.

Zhou Y, Kreek MJ. 2014. Alcohol: A stimulant activating brain stress responsive systems with persistent neuroadaptation. *Neuropharmacology*.

Zimmermann US, O'Connor S, Ramchandani VA. 2011. Modeling Alcohol Self-Administration in the Human Laboratory. *Curr Top Behav Neurosci* [Epub ahead of print] DOI: 10.1007/7854_2011_149.

Zimmermann US, Buchmann AF, Spring C, Uhr M, Holsboer F, Wittchen HU. 2009. Ethanol administration dampens the prolactin response to psychosocial stress exposure in sons of alcohol-dependent fathers. *Psychoneuroendocrinology* 34:996-1003.

Zimmermann US, Mick I, Laucht M, Vitvitskiy V, Plawecki MH, Mann KF, O'Connor S. 2009. Offspring of parents with an alcohol use disorder prefer higher levels of brain alcohol exposure in experiments involving computer-assisted self-infusion of ethanol (CASE). *Psychopharmacology (Berl)* 202:689-697.

Zimmermann US, Mick I, Vitvitskiy V, Plawecki MH, Mann KF, O'Connor S. 2008. Development and pilot validation of computer-assisted self-infusion of ethanol (CASE): A new method to study alcohol self-administration in humans. *Alcohol Clin Exp Res* 32:1321-1328.

Zimmermann US, O'Connor S, Ramchandani VA. 2013. Modeling alcohol self-administration in the human laboratory. *Curr Top Behav Neurosci* 13:315-353.

Lebenslauf

Name Alexandra Verena Markovic
 Geburtsdatum 08.10.1979
 Geburtsort München

Schulbildung

1985 – 1989 Grundschule in Unterschleißheim bei München
 1989 – 1998 Camerloher-Gymnasium Freising
 (Musisches Gymnasium)
 allgemeine Hochschulreife

Studium (Musik)

1996 – 1998 Jungstudium am „Richard–Strauss“ Konservatorium/
 Musikhochschule München im Fach Klavier
 (Klasse Prof. Olaf Dressler), zusätzlich Ausbildung im Fach
 Violine
 1998 – 1999 Musikstudium (künstlerischer Studiengang Klavier)
 am „Richard–Strauss Konservatorium/Musikhochschule
 München
 1999 – 2005 Studium Klavier an der Musikhochschule „Carl Maria von
 Weber“ Dresden (Klasse Prof. Winfried Apel)
 2005 Abschluss als Diplom–Pianistin

Studium (Medizin)

2006 Zweitstudium Medizin an der Universität Leipzig
 seit 2007 Medizinstudium an der TU Dresden "Carl Gustav Carus"
 2009 1. Ärztliche Prüfung „Physikum“
 seit 2010 Doktorand Uniklinikum Dresden "Carl Gustav Carus"
 AG Neuroendokrinologie und Sucht
 (Prof. Dr. med U. S. Zimmermann)
 März/April 2010 Auslandsfamulaturen u.a. in Pfäfers, Kanton St.Gallen/Schweiz
 Aug./Sept. 2011 Ndolage Hospital, Tansania, Ostafrika
 02.2013 – 06.2013 PJ Uniklinikum Dresden (Psychiatrie)

06.2013 – 10.2013	PJ Texas Heart Institute, Houston, USA (Chirurgie)
10.2013 – 01.2014	PJ St.Joseph-Stift Dresden (Innere Medizin)
2014	2. Ärztliche Prüfung
18.06.2014	Approbation

Musikalische Erfolge

1989 – 2006	Teilnahme an verschiedenen Wettbewerben <ul style="list-style-type: none">– mehrfache Preisträgerin bei „Jugend musiziert“ erste Preise in der Wertung Soloklavier, Kammermusik und Begleitung– mehrfache Preisträgerin „Pianohaus Lang“ München internationaler Wettbewerb– Preisträgerin Robert Schumann Wettbewerb Zwickau
	Konzerte in Europa und in den USA als Solist und Kammermusikpartner in verschiedenen Besetzungen

Meisterkurse

Amadeus Webersinke, Rudolf Kehrler, Hamish Milne, Kalle Randalu, Andrew Ball

Stipendien

Organon, Pianohaus Lang München

Ehrenamtliche Tätigkeiten

seit 2005	Mitglied des Deutschen Roten Kreuzes Ausbildung und Weiterbildung in Erster Hilfe und Sanitätsausbildung Rettungsschwimmerausbildung DRK-Wasserwacht Sanitätsdienste in der Bereitschaft des Katastrophenschutzes (Elbehochwasser Dresden 2006 und 2013, Evakuierungen von Krankenhäusern und Pflegeheimen, Leipzig Fußball WM 2006)
-----------	---

Danksagung

Ganz herzlichen Dank gilt Herrn Prof. Dr. med. U.S. Zimmermann für die Überlassung des Themas und die vorbildliche Betreuung. Seine konstruktive Kritik und menschliche Unterstützung trugen entscheidend zum Gelingen dieser Arbeit bei.

Ich möchte mich bei Prof. Dr. Kirschbaum und seinem Labor für die Messung des Cortisols bedanken, ohne die die aufgestellten Hypothesen nicht getestet hätten werden können.

Allen Mitarbeitern des Labors für experimentelle Psychopharmakologie möchte ich für die ausgezeichneten Arbeitsbedingungen danken, durch ihren Enthusiasmus und Teamgeist wäre die Aufstellung des Versuchsplanes und Durchführung der komplexen Experimente nicht möglich gewesen.

Großen Dank möchte ich auch den Probanden für ihre Teilnahme an der Studie aussprechen.

Weiterhin danke ich Herrn MD Sean O'Connor und Herrn Victor Vitvitskiy für die Entwicklung der CASE-Software, welche unerlässlich für diese Studie war.

Ein besonderer Dank gilt Cathrin Sauer, Martin Schrader und Alexander Keuk für Ihre unermüdliche Hilfsbereitschaft, technische sowie menschliche Unterstützung und Diskussionsbereitschaft.

Schließlich möchte ich mich bei Thomas Jahn für seine immerwährende Unterstützung bedanken, der mich offenen Ohres auch durch kritische Situationen begleitet hat.

Anhang

	F	df1	df2	Sig.
Cortisol Tag 1.1	2,158	3	44	,107
Cortisol Tag 1.2	1,300	3	44	,286
Cortisol Tag 1.3	2,547	3	44	,068
Cortisol Tag 1.4	5,777	3	44	,002
Cortisol Tag 1.5	3,982	3	44	,014
Cortisol Tag 2.1	2,976	3	44	,042
Cortisol Tag 2.2	1,379	3	44	,262
Cortisol Tag 2.3	5,658	3	44	,002
Cortisol Tag 2.4	,842	3	44	,478
Cortisol Tag 2.5	,273	3	44	,845

Levene-Tests auf Gleichheit der Fehlervarianzen für beide Experimentaltage

		D1.1	D1.2	D1.3	D1.4	D1.5	D2.1	D2.2	D2.3	D2.4	D2.5
Männer, FH negativ	N	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20
	Statistik für Test	,182	,176	,097	,136	,144	,150	,122	,132	,175	,100
	Asymptotische Signifikanz (2-seitig)	0,082	0,107	0,200	0,200	0,200	0,200	0,200	0,200	0,110	0,200
Männer, FH positiv	N	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8
	Statistik für Test	,205	,185	,245	,154	,427	,161	,263	,254	,211	,225
	Asymptotische Signifikanz (2-seitig)	0,200	0,200	0,172	0,200	0,000	0,200	0,109	0,139	0,200	0,200
Frauen, FH negativ	N	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
	Statistik für Test	,196	,194	,170	,147	,253	,133	,182	,265	,187	,205
	Asymptotische Signifikanz (2-seitig)	0,200	0,200	0,200	0,200	0,070	0,200	0,200	0,045	0,200	0,200
Frauen, FH positiv	N	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
	Statistik für Test	,183	,247	,198	,205	,147	,139	,247	,212	,189	,130
	Asymptotische Signifikanz (2-seitig)	0,200	0,085	0,200	0,200	0,200	0,200	0,084	0,200	0,200	0,200

K-S-Tests der Residuen für beide Experimentaltage

	F	df1	df2	Sig.
Cortisol Tag 1.1	2,118	3	44	,112
Cortisol Tag 1.2	1,312	3	44	,283
Cortisol Tag 1.3	2,322	3	44	,088
Cortisol Tag 1.4	5,157	3	44	,004
Cortisol Tag 1.5	3,756	3	44	,017

Levene-Tests auf Gleichheit der Fehlervarianzen für den ersten Experimentaltag

		D1.1	D1.2	D1.3	D1.4	D1.5
Männer, FH negativ	N	20	20	20	20	20
	Statistik für Test	,173	,181	,106	,100	,193
	Asymptotische Signifikanz (2-seitig)	0,119	0,085	0,200	0,200	0,049
Männer, FH positiv	N	8	8	8	8	8
	Statistik für Test	,207	,181	,256	,162	,315
	Asymptotische Signifikanz (2-seitig)	0,200	0,200	0,131	0,200	0,019
Frauen, FH negativ	N	10	10	10	10	10
	Statistik für Test	,189	,199	,145	,160	,316
	Asymptotische Signifikanz (2-seitig)	0,200	0,200	0,200	0,200	0,006
Frauen, FH positiv	N	10	10	10	10	10
	Statistik für Test	,187	,251	,184	,201	,181
	Asymptotische Signifikanz (2-seitig)	0,200	0,075	0,200	0,200	0,200

K-S-Tests der Residuen für den ersten Experimentaltag

	F	df1	df2	Sig.
Cortisol Tag 2.1	2,784	3	44	,052
Cortisol Tag 2.2	1,344	3	44	,272
Cortisol Tag 2.3	5,724	3	44	,002
Cortisol Tag 2.4	,726	3	44	,542
Cortisol Tag 2.5	,216	3	44	,885

Levene-Tests auf Gleichheit der Fehlervarianzen für den zweiten Experimentaltag

		D2.1	D2.2	D2.3	D2.4	D2.5
Männer, FH negativ	N	20	20	20	20	20
	Statistik für Test	,147	,124	,136	,145	,122
	Asymptotische Signifikanz (2-seitig)	0,200	0,200	0,200	0,200	0,200
Männer, FH positiv	N	8	8	8	8	8
	Statistik für Test	,168	,266	,247	,264	,230
	Asymptotische Signifikanz (2-seitig)	0,200	0,100	0,163	0,108	0,200
Frauen, FH negativ	N	10	10	10	10	10
	Statistik für Test	,149	,180	,268	,196	,220
	Asymptotische Signifikanz (2-seitig)	0,200	0,200	0,040	0,200	0,185
Frauen, FH positiv	N	10	10	10	10	10
	Statistik für Test	,154	,249	,214	,166	,143
	Asymptotische Signifikanz (2-seitig)	0,200	0,079	0,200	0,200	0,200

K-S-Tests der Residuen für den zweiten Experimentaltag