

1. Einleitung

1.1 Vom Stress zum Corticotropin-Releasing Factor

1.1.1 Stress: Historie und Definition

Der Terminus „Stress“ wurde vor mehr als 60 Jahren von dem Mediziner Hans Selye geprägt. Er beschrieb damit die pathophysiologischen Veränderungen, die bei Versuchstieren als Folge von physikalischen, chemischen oder emotionalen Stimuli auftraten [1]. Selye erkannte schon früh den Zusammenhang zwischen Stress und Krankheit und charakterisierte die Stress-Antwort eines Organismus als Reaktionsabfolge in drei Phasen [2]. Die erste Phase dieser als „Allgemeines Anpassungssyndrom“ bezeichneten Reaktionsabfolge ist unabhängig von der Natur des Stress-Faktors und durch einen Abfall des Blutdrucks, der Körpertemperatur und des Muskel-Tonus charakterisiert („Schock-Stadium“). In der zweiten Phase versucht der Organismus durch zumeist spezifische Adaptionsmechanismen die Stress-Situation zu kompensieren („Widerstands-Stadium“). In der dritten Phase kann persistierender, d.h. langanhaltender Stress das Anpassungsvermögen des Körpers überschreiten, was zu einer nachhaltigen Beeinträchtigung des Gesundheitszustandes führen kann („Erschöpfungs-Stadium“). Bereits 1955 korrelierte Selye spezifische neuroendokrine Mechanismen mit der Pathogenese entzündlicher Erkrankungen [3].

Nach heutiger Definition entsteht Stress immer dann, wenn der Organismus an äußere Einwirkungen nicht ausreichend adaptiert ist [4]. Psychischer Stress wird dabei infolge einer Diskrepanz zwischen spezifischen Anforderungen und subjektiver Bewertung des eigenen Bewältigungspotentials hervorgerufen. Davon unabhängig gibt es auch unbewussten Stress, der durch endogene Reize wie Infektionen oder Tumorwachstum ausgelöst wird. Unzureichende oder zu exzessive Adaptionsmechanismen führen zu sogenannten Anpassungskrankheiten. Es kann zur Ausbildung von physischen und psychischen Störungen kommen, die sowohl kardiovaskuläre und gastrointestinale Krankheiten als auch psychiatrische Störungen wie pathologische Angstzustände oder Depression umfassen.

1.1.2 Physiologie der Stress-Antwort

Die Stress-Antwort des Organismus verläuft über zwei unterschiedliche Reaktionswege unter Beteiligung des autonomen Nervensystems und des neuroendokrinen Systems [5]. In Gefahrensituationen wird zunächst der sympathische Teil des autonomen Nervensystems aktiviert [6]. Die Erhöhung des Sympathikotonus stimuliert das Nebennierenmark zur vermehrten Ausschüttung von Adrenalin (Abb. 1.1). Dieses Notfallsystem versetzt den Organismus durch eine erhöhte Sauerstoff- und Energieversorgung in die Lage, sofort zu reagieren. Die neuroendokrine Stress-Antwort des Organismus verläuft in einer Signalkaskade vom Hypothalamus über die Hypophyse (Hirnanhangdrüse) zur Nebennierenrinde (Abb. 1.1) [7]. Dieser Reaktionsweg wird als HPA-Achse bezeichnet (engl.: hypothalamus-pituitary-adrenals). Bei der Aktivierung der HPA-Achse sezernieren neurosekretorische Zellen des *Nucleus paraventricularis* im Hypothalamus das Peptid Corticotropin-Releasing Factor (CRF) in das lokale Pfortadersystem, das in Säugetieren die Verbindung zur Adenohypophyse herstellt. Diese setzt daraufhin das glandotrope Hormon Corticotropin (synonym: adrenocorticotropes Hormon, ACTH) in den allgemeinen Blutkreislauf frei, was wiederum für die Nebennierenrinden das Signal zur Ausschüttung von Glucocorticoiden ist. Im Menschen wird dabei vorwiegend das Glucocorticoid Cortisol ausgeschüttet. Cortisol macht als Stress-Hormon des Organismus eine breite Spanne von Stress-Anpassungen möglich. Die Stimulation metabolischer Prozesse wie Gluconeogenese, Proteolyse und Lipolyse dienen dabei der Energiebereitstellung. Ein Überschießen der hormonellen Stress-Reaktion wird durch einen negativen Rückkopplungsmechanismus des Cortisol auf den Ebenen der Adenohypophyse, des Hypothalamus und des übergeordneten limbischen Systems verhindert (Abb. 1.1). Bei der Aktivierung der HPA-Achse über das limbische System, das bei der Konsolidierung von Gedächtnis eine wichtige Rolle spielt, können Umwelteindrücke und psychische Faktoren einfließen. Dem Organismus wird so eine exakte Abstimmung der Auslösung, Amplitude und Dauer der Stress-Antwort auf die Natur, Intensität und zeitliche Ausdehnung des Stress-Faktors ermöglicht.

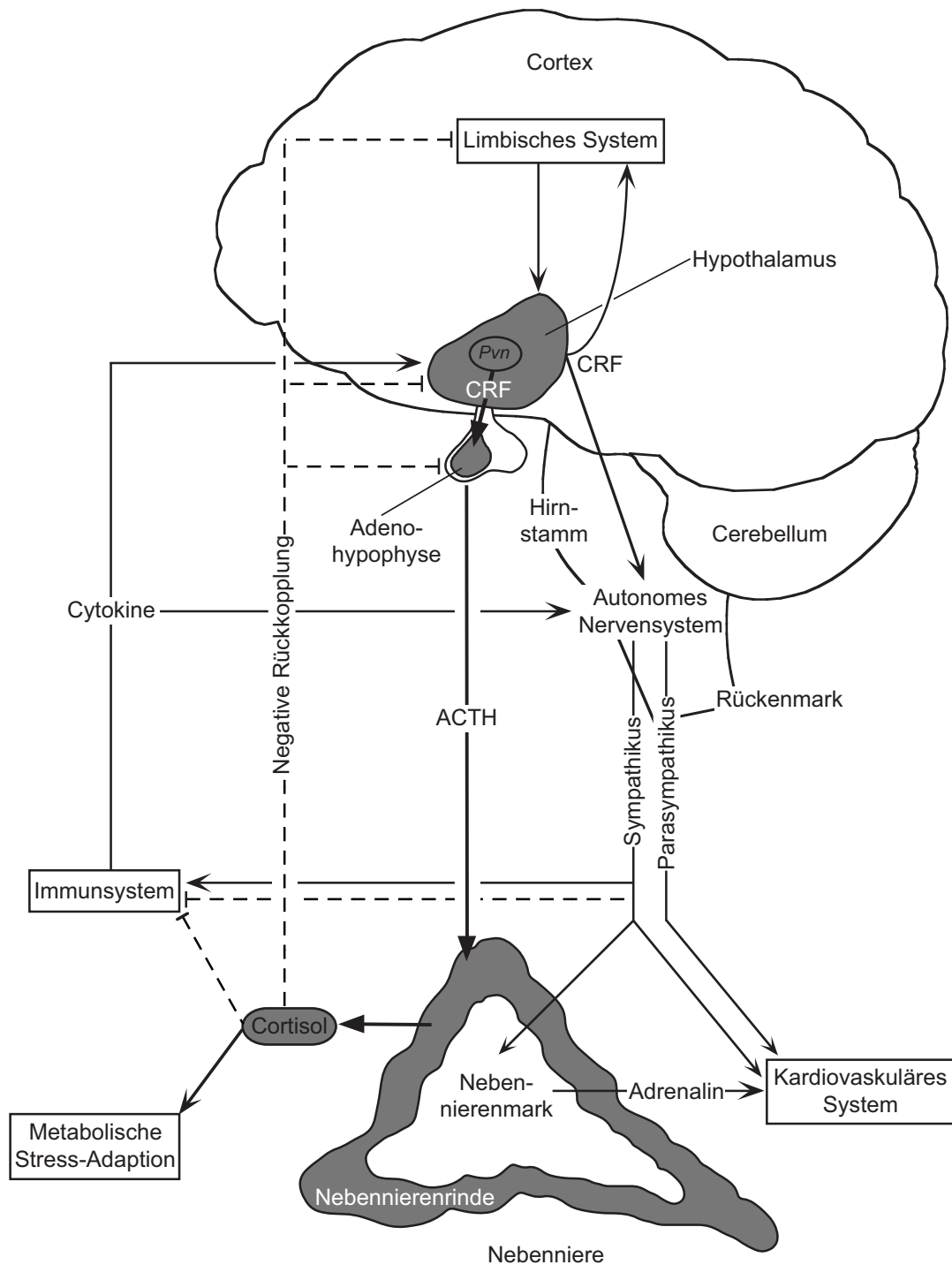


Abb. 1.1: Schematische Darstellung der Stress-Reaktionswege

Aktivierende Effekte sind durchgezogen, inhibierende gestrichelt gezeichnet. Die Komponenten der HPA-Achse sind dunkel unterlegt. CRF = Corticotropin-Releasing Factor; ACTH = Adrenocorticotropes Hormon; Pvn = *Nucleus paraventricularis*. Modifiziert nach Holsboer [4].

Sowohl innerhalb des Sympathikus-Nebennierenmark-Systems als auch innerhalb der HPA-Achse fungiert der Hypothalamus als Schaltstelle zwischen dem zentralen Nervensystem (ZNS) und der peripheren Hormonregulation. Dabei wird dem CRF eine Schlüsselrolle innerhalb der autonomen und endokrinen Integration der Stress-Antwort zugewiesen. Zusätzlich zu seiner Funktion als prinzipieller Regulator der HPA-Achse beeinflusst CRF auch das autonome Nervensystem. Über die genauen Mechanismen, durch die das zentrale CRF-System die Aktivität des Sympathikus bzw. Parasympathikus moduliert, liegen allerdings noch keine gesicherten Erkenntnisse vor. Des Weiteren können sich das Stress-System und das Immunsystem gegenseitig in ihrer Aktivität beeinflussen [8]. Das Immunsystem wird über die sympathische Innervierung der Immunorgane moduliert. Weiterhin wirkt Cortisol immunsuppressiv und entzündungshemmend. Die Rückmeldung des Immunsystems verläuft über die von Immunzellen produzierten Cytokine. Diese gelangen über den Blutkreislauf zum Gehirn oder aktivieren afferente Nervenbahnen und können somit hypothalamische Neuronen und Regionen des Hirnstamms stimulieren (Abb. 1.1).

1.2 Das Corticotropin-Releasing Factor-System

1.2.1 Corticotropin-Releasing Factor: Peptidfamilie und Rezeptoren

CRF wurde erstmals 1981 aus dem Hypothalamusextrakt von Schafen isoliert und in seiner hormonalen Wirkung charakterisiert [9]. Die Aufklärung der Primärstruktur im gleichen Jahr ergab, dass das CRF des Schafes (ovine CRF, oCRF) ein lineares Peptid aus 41 Aminosäuren mit einem amidierten C-terminus ist [10]. oCRF unterscheidet sich in sieben Aminosäuren vom CRF des Menschen und der Ratte, die einander identisch sind (human/rat CRF, h/rCRF; Abb. 1.2) [11,12]. CRF ist bis heute in zahlreichen Säugetierspezies, in verschiedenen Fischarten und im Krallenfrosch *Xenopus laevis* nachgewiesen worden [13]. Die Sequenzhomologie der einzelnen Peptide beträgt mehr als 75 %. Zusätzlich zum CRF sind weitere homologe Peptide mit ähnlichen biologischen Eigenschaften bekannt. Dazu gehören das Sauvagine (Svlg) [14] aus der Haut des Frosches *Phyllomedusa sauvagei* und das Urotensin-I [15] aus der Urophyse des Fisches *Catostomus commersoni* (Abb. 1.2). Die

Beobachtung einer Urotensin-ähnlichen Immunoreaktivität im Gehirn der Ratte führte zur Identifizierung und Klonierung des Säugetier-Analogons Urocortin (Ucn) [13,16], das eine höhere Sequenzhomologie zum Urotensin-I (63 %) als zum humanen CRF (44 %) aufweist (Abb. 1.2).

<u>Peptid</u>	<u>Spezies</u>	<u>Aminosäuresequenz</u>	<u>Homologie</u>
CRF	Mensch/Ratte	SEEPPI⁵ISLD¹⁰LT¹⁵FHLL²⁰REVLE²⁵MARAEQLA³⁰QQAHS³⁵NRKLMEI⁴⁰I■	100 %
CRF	Schaf	-Q-----TK-D-----LD-A■	83 %
Urotensin-I	Fisch	NDD----I-----NMI----I-NERE--GL--KYLDEV■	61 %
Urocortin	Ratte	DD--L-I-----TL--L--TQSQRER-EQ--IIFDSV■	44 %
Sauvagine	Frosch	ZG----I--SLE---KMI-IEKQ-KEK---AN--L-LDT-■	44 %

Abb. 1.2: Die CRF Peptidfamilie

Aminosäuresequenzvergleich verschiedener CRF-ähnlicher Peptide mit humanem CRF. Homologe Aminosäurereste sind durch Striche dargestellt. Die Quadrate kennzeichnen die C-terminale Amidierung. Z = Pyroglutamat.

Die neuroanatomische Verteilung von CRF und Ucn wurde am ausführlichsten in der Ratte untersucht. CRF ist in weiten Teilen des ZNS vom Cortex bis zum Rückenmark zu finden [17,18]. Die Immunoreaktivität korreliert dabei zumeist mit der Detektion der mRNA [19]. Die Gehirnregionen mit der intensivsten CRF-Produktion sind die *Commissura anterior* des Cortex, die zentrale Amygdala, der Hypothalamus und einige Bereiche des Hirnstamms. Immunoreaktivität für Ucn wird hauptsächlich in Teilen des Septums und des Hypothalamus sowie im *Edinger-Westphal Nucleus* des Mittelhirns gefunden [20]. Die mRNA für Ucn kann hingegen auch in Regionen ohne Immunoreaktivität detektiert werden [21]. Dabei ist noch unklar, ob die Synthese von Ucn in diesen Bereichen nur unter bestimmten Bedingungen erfolgt. Die weite Verteilung von CRF und Ucn im Gehirn weist auf eine Funktion dieser Peptide als Neurotransmitter hin. Durch ihre neuropharmakologischen Wirkungen beeinflussen CRF und Ucn Verhaltensweisen wie Lernen, Angstreaktion, Bewegungsaktivität und Nahrungsaufnahme [22-24]. CRF und Ucn kommen auch in der Peripherie vor und sind dort an physiologischen Vorgängen wie der kardiovaskulären Regulation [25] und der

Immunmodulation [26] beteiligt. Des Weiteren wird im Rahmen der Schwangerschaft beim Menschen ein Zusammenhang zwischen der Plasmakonzentration von plazentalem CRF und der Auslösung des Geburtsvorganges vermutet [27].

CRF und Ucn vermitteln ihre biologischen Wirkungen durch Bindung an G-Protein-gekoppelte Rezeptoren. Innerhalb der Familie der G-Protein-gekoppelten Rezeptoren werden die CRF-Rezeptoren der Unterfamilie der Sekretin-Rezeptor-ähnlichen Rezeptoren zugeordnet [28]. Diese Rezeptoren, die mit sieben Transmembranregionen in der Zellmembran verankert sind, stimulieren vorwiegend den Adenylatzyklase-Signaltransduktionsweg. Bei den CRF-Rezeptoren sind die beiden Subtypen CRFR1 und CRFR2 bekannt. CRFR1 wurde ursprünglich aus dem Menschen [29,30], aus der Maus [30], sowie aus der Ratte [31,32] kloniert und ist inzwischen in einer Vielzahl verschiedenartiger Spezies identifiziert worden [33]. In der Ratte kommt CRFR1 sowohl in der Hypophyse als auch in weiten Teilen des Gehirns vor. Die Gehirnregionen mit der höchsten Rezeptordichte liegen im Cortex, im Cerebellum und im Hirnstamm [34]. CRFR1 kommt weiterhin auch in der Peripherie vor und ist dort unter anderem in den Gonaden und in Immunzellen nachgewiesen worden [24,33]. Von CRFR2 sind drei funktionelle Spleiß-Varianten bekannt, die sich ausschließlich in der Aminosäuresequenz ihrer aminoterminalen extrazellulären Domäne unterscheiden. Die Varianten CRFR2 α und CRFR2 β wurden erstmalig aus Ratte und Maus kloniert [35-38]. Später wurden im Menschen sowohl die humanen Analoga dieser Rezeptorvarianten [39,40] als auch eine dritte Spleiß-Variante (CRFR2 γ) [41] beschrieben. CRFR2 kommt im ZNS und in der Peripherie mit einer unterschiedlichen Gewebeverteilung der Spleiß-Varianten vor. Im Gehirn der Ratte liegen die Regionen mit der höchsten Rezeptordichte im Septum und im Hypothalamus [42], wobei hier Rezeptoren des Typs CRFR2 α überwiegen. CRFR2 β hingegen ist der dominierende Subtyp in der Peripherie und wurde dort hauptsächlich in der Herz- und Skelettmuskulatur sowie im Gefäß-System nachgewiesen [43]. Im Gegensatz zur Gewebeverteilung in der Ratte kommt CRFR2 α im Menschen sowohl im Gehirn als auch in der Peripherie vor, wohingegen CRFR2 β und CRFR2 γ überwiegend im Gehirn gefunden werden [40,41].