

Michał Siek, Sonia Kaniuka, Łukasz Obołończyk, Piotr Wiśniewski, Krzysztof Sworczak  
Klinika Endokrynologii i Chorób Wewnętrznych Akademii Medycznej w Gdańsku

# Wpływ jednorazowej, wieczornej dawki estazolamu na poranne stężenie kortyzolu u osób bez patologii osi podwzgórzowo-przysadkowo-nadnerczowej

*The influence of the single evening dose of estazolam on serum cortisol morning level in population without hypothalamic-pituitary-adrenal axis pathology*

## Abstract

**Introduction.** The hypothalamic neurohormones: corticoliberin and vasopressin and the negative feedback mechanism are responsible for neuronal control of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis (HPA). In regulation of that axis participate also other neuropeptides and neurotransmitters among which gamma-aminobutyric acid (GABA) plays significant role. An increasing interest of this neuromediator is mainly caused by widespread usage of benzodiazepines' derivatives in therapeutics.

The aim of the study was to estimate the influence of estazolam on serum cortisol concentration in population of young, healthy people.

**Material and methods.** The study group consisted of 30 people above 18 years old, who have never used benzodiazepines before. Those who might have had incorrect cortisol secretion were excluded. Every person had their blood taken twice (at 8 a.m. before taking benzodiazepine and at 8 a.m. the following day after taking at 10 p.m. of the previous day 2 mg of estazolam). The cortisol level in serum was determined by immunoenzymatic method using commercial kit. The data were statistically analyzed using Wilcoxon and ANOVA tests.

**Results.** The mean level of cortisol in study group before taking 2 mg of estazolam was 549.64 nmol/l (SD 221.51), while after taking the drug was 472.26 nmol/l (SD 223.63). The difference was statistically significant with  $p = 0.004$ . There was no statistically significant difference in decrease of serum cortisol level after estazolam administration between women and men.

**Conclusions.** Using 2 mg of estazolam before sleep have caused statistically significant decrease of serum cortisol level in population of young people without pathology of the HPA axis. **Psychiatry 2008; 5: 37–42**

**key words:** estazolam, cortisol, hypothalamic-pituitary-adrenal axis

Adres do korespondencji:  
lek. med. Michał Siek  
Klinika Endokrynologii i Chorób Wewnętrznych AMG  
ul. Dębinki 7, 80–211 Gdańsk  
tel.: (0 58) 349 28 46  
faks: (0 58) 349 29 41  
e-mail: michal-siek@wp.pl

## Wstęp

Neuronalna kontrola osi podwzgórzowo-przysadkowo-nadnerczowej (PPN) odbywa się głównie przy udziale dwóch podwzgórzowych neurohormonów: korty-

koliberyny (CRH, *corticotropin-releasing hormone*) i wazopresyny (ADH, *antidiuretic hormone*), a także za pomocą mechanizmu ujemnego sprzężenia zwrotnego, w którym pośredniczy kortyzol. Ponadto w neuroendokrynej regulacji osi PPN uczestniczą również inne neuropeptydy i neurotransmitery [1]. Wśród nich coraz większą uwagę zwraca się na rolę kwasu gamma-aminomasłowego (GABA, *gamma-aminobutyric acid*). Rosnące zainteresowanie tym neuromediatozem wynika z powszechnego stosowania pochodnych benzodwiazepiny (BDA) w leczeniu [2].

Te stosunkowo nowe anksjolityki należą do grupy najbezpieczniejszych leków psychotropowych. Ich toksyczność ogólna i neurotoksyczność jest wyraźnie mniejsza niż trójpierścieniowych leków przeciwdepresyjnych czy neuroleptyków. Podstawowy mechanizm działania pochodnych BDA jest ściśle związany z aktywacją ośrodkowego receptora benzodiazepinowego (BDA-R), który jest komponentą receptora GABA<sub>A</sub>. Po związaniu ze swoistym receptorem następuje otwarcie kanału chlorowego i hiperpolaryzacja błon komórkowych prowadząca do hamowania aktywności neuronów w ośrodkowym układzie nerwowym (OUN) [3]. Poza ośrodkowymi BDA-R istnieją również benzodiazepinowe receptory obwodowe, które różnią się budową i funkcją od BDA-R, ale podobnie jak i one występują także w OUN, zarówno na komórkach nerwowych, glijowych, jak i w przednim płacie przysadki mózgowej [2]. Znaczną liczbę obwodowych receptorów benzodiazepinowych wykazano także w komórkach kory nadnerczy. Są one zlokalizowane zarówno w błonach komórkowych, jak i na błonie mitochondrialnej, co wskazuje na ich bezpośrednią rolę w procesie steroidogenezy [4, 5].

Oba typy receptorów BDA aktywowane są przez naturalnie występujące w organizmie człowieka peptydy zwane endozepinami, pośredniczące w wielu procesach biologicznych, w tym także w regulacji neuroendokrynej osi PPN. Podobną rolę odgrywają także syntetycznie uzyskiwane pochodne BDA [2].

Pochodne BDA stanowią jednorodną co do mechanizmu ich działania grupę leków. Z klinicznego punktu widzenia różnią się jednak znacznie profilem działań psychotropowych. Wyróżnia się 4 główne grupy tych leków z uwagi na ich zastosowanie terapeutyczne: nasenne (np. estazolam, triazolam, flurazepam), przeciwdrgawkowe (diazepam, klonazepam), uspokajająco-przeciwłękowe (np. alprazolam, oksazepam, lorazepam) oraz stosowane w premedykacji chirurgicznej (midazolam) [3]. Większość badań poświęconych wpływowi pochodnych BDA na oś PPN dotyczy leków o profilu głównie uspokajająco-przeciwłękowym, szczególnie alprazolamu. Niewiele natomiast jest doniesień do-

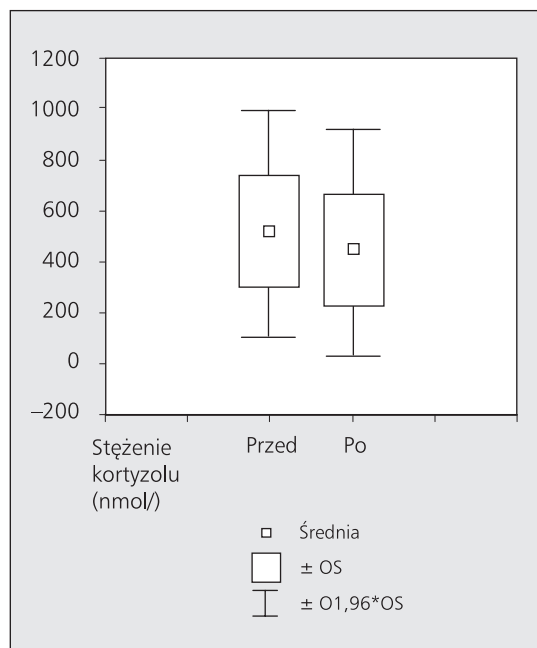
tyczących tego działania pochodnych BDA o właściwościach nasennych, podczas gdy ich zużycie wykazuje tendencje wzrostowe w krajach rozwijających się [7]. W związku z coraz szerszym zastosowaniem leków nasennych, a także faktem, że znaczną część pacjentów, u których wykonuje się badania diagnostyczne w kierunku zaburzeń osi PPN, stanowią ludzie w wieku 20–40 lat, interesującym jest, w jaki sposób pochodne BDA o takim właśnie profilu wpływają na poranne stężenie kortyzolu w populacji zdrowych, młodych ludzi.

## Materiał i metody

Badanie przeprowadzono w okresie od stycznia do kwietnia 2006 roku w grupie losowo dobranych 30 osób w wieku 20–40 lat z terenu województwa pomorskiego, które dobrowolnie wyraziły chęć udziału w projekcie. Kryteria wyłączenia z badania:

- wiek poniżej 20 i powyżej 40 lat;
- jawna klinicznie patologia osi PPN lub wywiady ją sugerujące;
- przyjmowanie leków mogących wpływać na oś PPN;
- podejrzenie nieprawidłowej sekrecji kortyzolu:
  - a) otyłość;
  - b) nadużywanie alkoholu;
  - c) cechy zespołu depresyjnego;
- dodatni wywiad w kierunku wcześniejszego stosowania pochodnych BDA.

W pracy przebadano 30 osób, w tym 20 kobiet i 10 mężczyzn. Wszystkie osoby spełniały kryteria włączenia do badania. Średnia i zakres wieku w badanej populacji wyniosły odpowiednio 24,7 roku (20–30), w tym wśród kobiet 24,4 roku (20–30) i wśród mężczyzn 25,4 roku (23–27). Każda z osób została poinformowana o celu i sposobie przeprowadzenia badania, a także o działaniach niepożądanych i ryzyku związanym z podaniem 2 mg estazolamu. Wszyscy uczestnicy wyrazili dobrowolną, pisemną zgodę na udział w projekcie. Badanie zostało przeprowadzone zgodnie z zasadami zawartymi w Deklaracji Helsińskiej oraz zaakceptowane przez Niezależną Komisję Bioetyczną do Spraw Badań Naukowych przy Akademii Medycznej w Gdańsku. U badanych, po 40-minutowym odpoczynku, pobierano 2 ml krwi z żyły łokciowej w celu oznaczeń stężenia kortyzolu w surowicy krwi. U każdego probanta badanie przeprowadzono dwukrotnie. Pierwszy raz o 8.00 rano przed przyjęciem leku, drugi raz o 8.00 rano dnia następnego, po zażyciu o godzinie 22.00 pierwszego dnia badania 2 mg estazolamu. Krew pobierano do oznaczonych wirowniczych próbek na skrzep, próbkę wirowano w 3000 G przez 10 min i oddzielano surowicę. Następnie zamrażano ją w temperaturze –20°C do późniejszych oznaczeń. Stężenie



**Rycina 1.** Stężenie kortyzolu przed i po wieczornym podaniu 2 mg estazolamu

**Figure 1.** Serum cortisol level before and after 2 mg estazolam evening administration

kortyzolu oznaczano metodą polaryzacji immunofluorescencji (FPIA, *fluorescence polarization immunoassay*) przy użyciu zestawu AxSYM Cortisol firmy Abbott AXSYM System w Centralnym Laboratorium Akademickiego Centrum Klinicznego AM w Gdańsku. Wartości referencyjne stężenia kortyzolu przy błędzie analitycznym dla powyższego zestawu wynoszącym 10% mieściły się pomiędzy 115,9 nmol/l a 1059,8 nmol/l. Analizę statystyczną przeprowadzono za pomocą programu Statistica 6.0. Dane epidemiologiczne w odpowiednich paragrafach przedstawiono jako średnie z odchyleniami standardowymi przy 95-procentowym przedziale ufności. Różnice pomiędzy stężeniami kortyzolu w badanej populacji zostały zbadane za pomocą testu nieparametrycznego par Wilcozona. Poziom istotności ( $p \leq 0,05$ ) został przyjęty jako graniczna wartość akceptowalnego poziomu błędu.

### Wyniki

U wszystkich uczestników badania porównano stężenie kortyzolu przed i po podaniu 2 mg estazolamu. Średnie stężenie kortyzolu przed podaniem 2 mg estazolamu wyniosło w badanej populacji 549,64 nmol/l (zakres wartości 212,3–1089 nmol/l; OS 221,51), natomiast po zażyciu leku 472,26 nmol/l (zakres wartości 197,9–1069,8 nmol/l; OS 226,63). Różnica ta była istotna statystycznie ( $p = 0,004$ ) (ryc. 1). Nie wykazano statystycznie istotnej różnicy w spadku stę-

żenia kortyzolu po podaniu estazolamu pomiędzy populacją kobiet i mężczyzn.

### Dyskusja

Rosnące zastosowanie pochodnych BDA zarówno w leczeniu szpitalnym, jak i ambulatoryjnym, powoduje wzrost zainteresowania wpływem tej stosunkowo nowej grupy leków anksjolitycznych na funkcjonowanie organizmu człowieka [8]. Działanie pochodnych BDA, uznanych za jedne z najbezpieczniejszych wśród środków psychotropowych, nie ogranicza się jednak tylko do wpływu na czynność OUN. Leki te w wyraźny sposób modyfikują metabolizm ustroju, zwłaszcza poprzez wpływ na procesy neurohumoralne. Wykazano wpływ alprazolamu na pulsacyjne wydzielanie hormonu lutemizującego (LH) u zdrowych kobiet [9]. Alprazolam w istotny sposób obniżał częstość pulsacyjnego wydzielania LH i jednocześnie zwiększała amplitudę głównego wyrzutu LH u zdrowych kobiet we wczesnej fazie folikularnej cyklu miesiączkowego. Wpływu takiego nie zaobserwowano jednak u kobiet w środku fazy lutealnej. Stwierdzono, że krótkotrwałe zastosowanie diazepamu stymuluje sekrecję hormonu wzrostu (GH, *growth hormone*) oraz hamuje indukowane tyreoliberyną (TRH, *thyrotropin-releasing hormone*) uwalnianie prolaktyny (PRL) [10]. Stosunkowo najwięcej badań poświęcono działaniu pochodnych BDA na oś PPN. Sugeruje się bezpośredni ich wpływ na jej regulację, a większość badaczy postuluje hamujący efekt pochodnych BDA. Wykazano to zarówno w badaniach na zwierzętach, jak i przeprowadzonych u ludzi. Postuluje się, że wpływ ten wywołany jest poprzez hamujące działanie pochodnych BDA na podwzgórzową sekrecję CRH oraz, że koreluje on ze skutecznością leczenia zaburzeń lękowych i depresji [2]. Stosunkowo najwięcej doniesień poświęcono wpływowi alprazolamu na oś PPN [11]. Wykazano istotne obniżenie stężenia kortyzolu po 2,5 godzinach od podania 0,5 mg alprazolamu w porównaniu z placebo w populacji ludzi starszych (60–83 lata) w trakcie 3-tygodniowej terapii [12]. Podobny efekt uzyskali inni autorzy [13]. Badanie to dotyczyło krótkotrwałego leczenia alprazolamem grupy chorych z zawałem serca, a stężenie kortyzolu oznaczano w ślinie. W innej pracy taki sam efekt uzyskano w populacji zdrowych kobiet, jak również u kobiet z zaburzeniami owulacji [9]. Poza pracami z alprazolamem, również w badaniach dotyczących innych pochodnych BDA wykazano supresyjny wpływ tej grupy leków na oś PPN. Porównywano efekt działania oxazepamu na popołudniowe stężenie kortyzolu u zdrowych ludzi i chorych na depresję. W obu grupach wykazano istotne statystycz-

**Tabela 1.** Porównanie działania różnych pochodnych BDA na oś PPN**Table 1.** The comparison of different benzodiazepines' derivatives action on HPA axis

Autorzy	Badana populacja	Zastosowana pochodna BDA	Efekt działania leku na oś PPN	Czas od podania leku, po którym obserwowano zmianę stężenia kortyzolu	Główny profil działania klinicznego z zastosowanej poch. BDA
1. Pomara i wsp. [12]	Zdrowi ochotnicy	Alprazolam	Stężenie kortyzolu w surowicy	2,5 godziny	P/lękowe i uspokajające
2. Gram i Christensen [14]	Zdrowi ochotnicy	Oxazepam	Stężenie kortyzolu w surowicy	2–3 godziny	P/lękowe i uspokajające
3. Adam i wsp. [15]	Osoby cierpiące na bezsenność	Loprazolam	Stężenie kortyzolu w nocnej zbiórce moczu	12 godzin	Nasenne
4. Adam i wsp. [15]	Osoby cierpiące na bezsenność	Triazolam	Stężenie kortyzolu w nocnej zbiórce moczu	12 godzin	Nasenne
5. Beary i wsp. [16]	Zdrowi ochotnicy (kobiety)	Temazepam	Stężenie kortyzolu w surowicy	3 godziny	P/lękowe uspokajające
6. Christensen i wsp. [17]	Zdrowi ochotnicy (mężczyźni)	Oxazepam	Stężenie kortyzolu w surowicy	3 godziny	P/lękowe uspokajające
7. Christensen i wsp. [17]	Zdrowi ochotnicy (mężczyźni)	Nitrazepam	Stężenie kortyzolu w surowicy	3 godziny	Nasenne
8. Siek i wsp.	Zdrowi ochotnicy	Estazolam	Stężenie kortyzolu w surowicy	10 godzin	Nasenne

nie i zależne od dawki leku obniżenie stężenia kortyzolu w surowicy krwi. Efekt ten utrzymywał się kilka godzin u badanych chorych na depresję, podczas gdy w grupie kontrolnej trwał on zaledwie 2–3 godziny [14]. Podobne wyniki uzyskali inni autorzy. W badaniach przeprowadzonych w grupie chorych cierpiących z powodu bezsenności stwierdzono istotne obniżenie się stężenia kortyzolu mierzonego w nocnej zbiórce moczu zarówno po podaniu loprazolamu, jak i triazolamu [15]. W kolejnej pracy wykazano w podwójnie ślepej, randomizowanej próbie przeprowadzonej u zdrowych kobiet istotne obniżenie stężenia kortyzolu w surowicy po 40 min od podania 20 mg temazepamu. Efekt ten utrzymywał się do 3 godzin [16]. Stwierdzono także hamujący wpływ oxazepamu i nitrazepamu na oś PPN, nie wykazując przy tym żadnej różnicy w czasie trwania supresji obu leków [17].

Wykazano dodatkowo, że efektu takiego nie wywołują inne anksjolityki z grupy agonistów receptora serotoninowego 5HT<sub>1A</sub>. Leki te podawane w większych dawkach mogą nawet stymulować wydzielanie hormonu adrenokortykotropowego (ACTH, *adrenocorticotrophic hormone*), a co za tym idzie — powodować wzrost stężenia kortyzolu w surowicy [18].

Jak pokazano w tabeli 1., uzyskane przez autorów tej pracy wyniki badań z estazolamem są podobne do wyników szeregu prac oceniających inne niż estazolam leki z grupy BDA. Można też stwierdzić, że profil klinicznego działania poszczególnych pochodnych BDA nie ma znaczenia, jeżeli chodzi o rodzaj wpływu na oś PPN. W większości prac obniżenie stężenia kortyzolu obserwowano w krótkim czasie od podania leku, a badania dotyczyły głównie pochodnych BDA o działaniu przeciwlękowym i uspokajającym [12, 14, 16, 17]. Brakuje natomiast do-

niesień o wpływie pochodnych BDA o działaniu głównie nasennym na oś PPN w populacji ludzi młodych i przy jednorazowym ich zastosowaniu. Osoby w wieku 20–40 lat to populacja najczęściej poddawana badaniom diagnostycznym w kierunku zaburzeń tej osi. Jedynie Adam i wsp. wykazali zmniejszenie stężenia kortyzolu w nocnej zbiórce moczu po pochodnych BDA o działaniu głównie nasennym (loprazolam i triazolam), ale w dłuższym okresie ich stosowania. Badanie to dotyczyło populacji osób starszych (średnio 61 lat) i cierpiących z powodu bezsenności [15]. Niniejsza praca jest pierwszym w piśmiennictwie światowym doniesieniem, że także estazolam ma podobny wpływ na stężenie kortyzolu u zdrowych ludzi jak inne pochodne BDA.

Przyjmowanie pochodnych BDA może w istotny sposób modyfikować wyniki stężeń kortyzolu u pacjentów poddanych diagnostyce osi PPN z różnych przyczyn. Potwierdzeniem tego faktu jest praca Korbonitisa i wsp. [19]. Autorzy oceniali wpływ 20 mg temazepamu podanego doustnie na wyniki testu stymulacyjnego z dożylnym podaniem 100 µg CRH w grupie ludzi zdrowych oraz chorych z rozpoznaniem zespołem Cushinga. W badaniu tym potwierdzono istotny hamujący wpływ temazepamu na stężenie ACTH i kortyzolu po stymulacji CRH u zdrowych ochotników, natomiast nie udało się wykazać takiej zależności w grupie z zespołem Cushinga.

Postulowany w licznych pracach hamujący wpływ pochodnych BDA na oś PPN nie jest jednak jedynie prostą korelacją odnoszącą się do wszystkich leków z tej grupy, a działanie supresyjne nie musi dotyczyć wszystkich hormonów produkowanych w korze nadnerczy. Mikkelsen i wsp. [20] opisali paradoksalny wzrost stężenia kortykosteronu po wysokich dawkach pochodnych BDA. Efekt ten uzyskali po podaniu zolpidemu, który jest selektywnym agonistą podjednostki  $\alpha_1$  BDA-R, natomiast nie wykazali takiej zależności po zastosowaniu agonistów nieselektywnych: zopiclonu i diazepamu. Prawdopodobnie uzyskane wyniki są efektem różnego wpływu pochodnych BDA na oś PPN zależnego od składu podjednostek BDA-R, do których przyłączają się poszczególne leki.

### Wnioski

Reasumując, w wynikach naszej pracy potwierdzają się dotychczasowe doniesienia o hamującym wpływie pochodnych BDA na oś PPN. Już jednorazowe, doustne podanie 2 mg estazolamu, popularnego w Polsce leku o działaniu głównie nasennym, może doprowadzić do zmniejszenia wydzielania kortyzolu u młodych, zdrowych ludzi. Jest to istotna informacja dla właściwej interpretacji wyników badań u osób poddanych diagnostyce w kierunku zaburzeń czynności kory nadnerczy.

### Streszczenie

**Wstęp.** Za neuronalną kontrolę osi podwzgórzowo-przysadkowo-nadnerczowej (PPN) odpowiedzialne są przede wszystkim 2 podwzgórzowe neurohormony: kortykoliberyna i wazopresyna oraz mechanizm ujemnego sprzężenia zwrotnego. W neuroendokrynej regulacji osi PPN uczestniczą również inne neuropeptydy i neurotransmitery, wśród których coraz większą uwagę zwraca się na rolę kwasu gamma-aminomasłowego (GABA). Rosnące zainteresowanie tym neuromediatorem jest głównie spowodowane powszechnym stosowaniem pochodnych benzodwuzepiny (BDA) w leczeniu.

Celem pracy była ocena wpływu jednorazowej dawki estazolamu na poranne stężenie kortyzolu w populacji ludzi młodych bez patologii osi podwzgórzowo-przysadkowo-nadnerczowej.

**Materiał i metody.** Grupę badanych stanowiło 30 osób (20 kobiet i 10 mężczyzn) w wieku powyżej 18 lat nigdy nie stosujących preparatów BDA. U każdej osoby, która brała udział w badaniu, dwukrotnie została pobrana krew żylna w celu oznaczenia stężenia kortyzolu w surowicy. Pierwszy raz o godzinie 8.00 rano przed przyjęciem BDA, drugi raz o 8.00 rano dnia następnego po zażyciu o godzinie 22.00 2 mg estazolamu. Stężenie kortyzolu w surowicy oznaczone zostało metodą immunoenzymatyczną. Wyniki badania opracowano statystycznie przy użyciu nieparametrycznego testu par Wilcozona.

**Wyniki.** Średnie stężenie kortyzolu przed podaniem 2 mg estazolamu wyniosło 549,64 nmol/l (OS 221,51), natomiast po zażyciu leku 472,26 nmol/l (OS 223,63). Różnica ta była istotna statystycznie ( $p = 0,004$ ). Nie wykazano statystycznie istotnej różnicy w obniżeniu się stężenia kortyzolu po podaniu estazolamu pomiędzy populacją kobiet i mężczyzn.

**Wnioski.** Podanie estazolamu w dawce 2 mg przed snem istotnie obniża poranne stężenie kortyzolu we krwi w populacji młodych ludzi bez patologii osi PPN. **Psychiatria 2008; 5: 37–42**

**słowa kluczowe:** estazolam, kortyzol, oś podwzgórzowo-przysadkowo-nadnerczowa

## PIŚMIENICTWO

1. Giordano R., Grottoli S., Brossa P. i wsp. Alprazolam (a benzodiazepine activating GABA receptor) reduces the neuroendocrine responses to insulin-induced hypoglycaemia in humans. *Clin. Endocrinol.* 2003; 59: 314–320.
2. Arvat E., Giordano R., Grottoli S., Ghigo E. Benzodiazepines and anterior pituitary function. *J. Endocrinol. Invest.* 2002; 25: 735–747.
3. Sep-Kowalikowa B., Nowicki Z. Benzodiazepines in general practice — benefits and risks. *Sen* 2003; 3: 41–47.
4. Thomson I., Fraser R., Kenyon C.J. Regulation of adrenocortical steroidogenesis by benzodiazepines. *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.* 1995; 53: 75–79.
5. Papadopoulos V., Brown A.S. Role of the peripheral — type benzodiazepine receptor and the polypeptide diazepam binding inhibitor in steroidogenesis. *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.* 1995; 53: 103–110.
6. Fries E., Hellhammer D.H., Hellhammer J. Attenuation of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis responsivity to the Trier Social Stress Test by the benzodiazepine alprazolam. *Psychoneuroendocrinology* 2006; 31: 1278–1288.
7. Divac N., Tosevski D.L., Babić D., Djurić D., Prostran M., Smardžić R. Trends in consumption of psychiatric drugs in Serbia and Montenegro 2000–2004. *Pharmacoepidemiol. Drug Saf.* 2006; 15: 835–838.
8. Müssing K., Friess E., Wudy S.A., Mörike K., Häring H.U., Overkamp D. Secondary adrenal failure due to long-term treatment with flunitrazepam. *Clin. Endocrinol.* 2006; 65: 549–550.
9. Judd S.J., Wong J., Saloniklis S. i wsp. The effect of alprazolam on serum cortisol and luteinizing hormone pulsatility in normal women and in women with stress-related anovulation. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 1995; 80: 818–823.
10. Humbert T. Neuroendocrine effects of benzodiazepines. *Ann. Med. Psychol.* 1994; 152: 161–171.
11. McIntyre I.M., Norman T.R., Burrows G.D., Armstrong S.M. Alterations to plasma melatonin and cortisol after evening alprazolam administration in human. *Chronobiol. Int.* 1993; 10: 205–213.
12. Pomara N., Willoughby L.M., Ritchie J.C., Sidtis J.J., Greenblatt D.J., Nemeroff C.B. Interdose elevation in plasma cortisol during chronic treatment with alprazolam but not lorazepam in the elderly. *Neuropsychopharmacology* 2004; 29: 605–611.
13. Pruneti C., Giusti M., Boem A., Luisi M. Behavioral, physiological and salivary cortisol modifications after short-term alprazolam treatment in patients with recent myocardial infarction. *Ital. Heart J.* 2002; 3: 53–59.
14. Gram L.F., Christensen P. Benzodiazepine suppression of cortisol secretion: a measure of anxiolytic activity? *Pharmacopsychiatry* 1986; 19: 19–22.
15. Adam K., Oswald I., Shapiro C. Effects of loprazolam and of triazolam on sleep and overnight urinary cortisol. *Psychopharmacology.* 1984; 82: 389–394.
16. Beary M.D., Lacey J.H., Bhat A.V. The neuro-endocrine impact of 3-hydroxy-diazepam (temazepam) in women. *Psychopharmacology.* 1983; 79: 295–297.
17. Christensen P., Lolk A., Gram L.F., Kragh-Sorensen P. Benzodiazepine-induced sedation and cortisol suppression. A placebo-controlled comparison of oxazepam and nitrazepam in healthy male volunteers. *Psychopharmacology.* 1992; 106: 511–516.
18. Korneyev A.Y. The role of hypothalamic-pituitary-adrenocortical axis in memory-related effects of anxiolytics. *Neurobiol. Learn Mem.* 1997; 67: 1–13.
19. Korbonits M., Trainer P.J., Edwards R., Besser G.M., Grossman A.B. Benzodiazepines attenuate the pituitary-adrenal responses to corticotrophin-releasing hormone in healthy volunteers, but not in patients with Cushing's syndrome. *Clin. Endocrinol.* 1995; 43: 29–35.
20. Mikkelsen J.D., Soderman A., Kiss A., Mirza N. Effects of benzodiazepines receptor agonists on the hypothalamic-pituitary-adrenocortical axis. *Eur. J. Pharmacol.* 2005; 519: 223–230.