

Aus der Klinik und Hochschulambulanz für Psychiatrie und Psychotherapie
der Medizinischen Fakultät Charité – Universitätsmedizin Berlin

DISSERTATION

Die Regulation des „nerve growth factor“ und des „brain-derived-
neurotrophic factor“ im Hippocampus und im frontalen Kortex in
einem Mausmodell der erlernten Hilflosigkeit

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

vorgelegt der Medizinischen Fakultät
Charité – Universitätsmedizin Berlin

von

Heiko Müller

aus Leer

Gutachter: 1. Prof. Dr. med. R. Hellweg
2. Prof. Dr. E. Fuchs
3. Priv.-Doz. Dr. med. M. Lommatzsch

Datum der Promotion: 19.03.2010

1. Einleitung	5
1.1 Ätiologie und Pathogenese der Depression	6
1.1.1 Genetische Faktoren der Depression	7
1.1.2 Neuroanatomische Korrelate der Depression	8
1.1.3 Das Modell der „erlernten Hilflosigkeit“	10
1.1.4 Die Monamin-Hypothese der Depression	10
1.1.5 Die Stress-Hypothese der Depression	13
1.1.6 Die Familie der Neurotrophine.....	15
1.1.7 Der Nerve-growth factor	19
1.1.8 Der Brain-derived neurotrophic factor	21
1.1.9 Die Neurotrophin-Hypothese der Depression	24
2. Ziele und Fragestellung der vorliegenden Arbeit	29
3. Material und Methoden	30
3.1 Die Versuchstiere	30
3.2 Bestimmung des Feuchtgewichts und Homogenisation der Gewebeproben	31
3.3 Das Prinzip der ELISA-Methode	31
3.4 Die Materialien	34
3.4.1 Antikörper.....	34
3.4.2 Puffer	34
3.4.3 Geräte.....	35
3.4.4 Sonstiges.....	36
3.5 Die Durchführung des ELISA	36
3.5.1 Der NGF-ELISA	37
3.5.2 Der BDNF-ELISA.....	39
3.6 Die statistische Auswertung	41
4. Die Ergebnisse	42
4.1 Einfluss von Stress auf die NGF-Protein Konzentration im Hippocampus	42
4.2 Einfluss von Stress auf die NGF-Protein Konzentration im frontalen Kortex	43
4.3 Interhemispherielle Unterschiede der BDNF-Protein Konzentration im frontalen Kortex	45
4.4 Einfluss von Stress auf die BDNF-Protein Konzentration im Hippocampus.....	47
4.5 Einfluss von Stress auf die BDNF-Protein Konzentration im frontalen Kortex	49
5. Die Diskussion	51
5.1 Einfluss von Stress auf die NGF-Protein Konzentration im Hippocampus und im frontalen Kortex.....	51
5.2 Einfluss von Stress auf die BDNF-Protein Konzentration im Hippocampus und im frontalen Kortex.....	53
5.3 BDNF- zentrale Rolle in der antidepressiven Therapie	58
5.4 Hat die Neurotrophin-Hypothese der Depression noch Gültigkeit	60
5.5 Interhemispherielle Unterschiede der BDNF-Protein Konzentration im frontalen Kortex	66
6. Die Zusammenfassung	67
7. Abkürzungsverzeichnis	69

8. Abbildungsverzeichnis	71
9. Tabellenverzeichnis	71
10. Lebenslauf	72
11. Eigene Veröffentlichung	73
12. Danksagung	74
13. Eidesstattliche Erklärung	75
14. Literaturverzeichnis	76

1. Einleitung

Eine Depression führt zu einer tiefgreifenden Veränderung des Denkens, Fühlens und Verhaltens des jeweils betroffenen Individuums. Es existieren zahlreiche Definitionen für den Begriff Depression. In dem für den deutschsprachigen Raum gültigen Klassifikationssystem ICD-10 der Weltgesundheitsorganisation (WHO) werden Depressionen und Manien unter dem Oberbegriff affektiver Störungen zusammengefasst. Eine affektive Störung wird demnach diagnostiziert, wenn eine bestimmte Anzahl an gleichzeitig vorhandenen Symptomen vorliegt, welche für einen vorgeschriebenen Zeitraum anhalten und nicht durch andere Ursachen begründbar sind.

Das klinische Bild einer Depression ist sehr vielgestaltig. Als Leitsymptome gelten eine gedrückte Stimmung, Hemmung von Denken und Antrieb und körperlich-vegetative Störungen. Darüber hinaus wird der Verlauf der Erkrankung, die Schwere der Erkrankung und die Ausprägung der Symptome in der Diagnostik mitberücksichtigt. Die Zuordnung zu Subtypen, im Sinne einer gehemmten Depression, einer agitierten Depression oder einer lavierten Depression, erfolgt anhand der klinischen Beobachtung, wobei sich die Subtypen hinsichtlich der Ätiologie, Pathogenese, neuroanatomischen Veränderungen und biochemischen Veränderungen nach dem heutigen Kenntnisstand nicht unterscheiden (Nestler et al. 2002).

Die depressiven Störungen zählen zu den häufigsten psychischen Erkrankungen. Sie können in allen Lebensabschnitten auftreten, wobei der Ersterkrankungsgipfel zwischen dem 20. und 30. Lebensjahr liegt (Kessler et al. 2005). In den letzten Jahrzehnten treten sie immer häufiger auf und betreffen immer jünger werdende Altersgruppen (Demyttenaere et al. 2004). Bezogen auf den Zeitraum eines Jahres wird die Punktprävalenz für die unipolare Depression mit 5% bis 7% beziffert (Wittchen and Jacobi 2005). Epidemiologische Angaben über die Lebenszeitprävalenzen depressiver Störungen schwanken zwischen 3,3% und 17%, wobei Frauen häufiger erkranken als Männer (Wacker 2000). Schätzungsweise drei Viertel der Menschen mit einer depressiven Störung erleben mindestens eine weitere oder sogar mehrere depressive Episoden (Keller and Boland 1998). Die Suizidrate depressiver Patienten wird mit 15% angegeben (Bronisch 2003). Neben der Beeinträchtigung durch die Depression selbst, weisen depressive Patienten zusätzlich eine erhöhte Morbidität für körperliche Erkrankungen wie z.B. arteriosklerotische Herzerkrankungen und Tumorerkrankungen auf, was eine erhöhte Mortalität nach sich zieht (Wulsin et al. 1999).

Niedergedrückte Stimmung (Traurigkeit)
Interessen- und Freudverlust (Anhedonie)
Gesteigerte Ermüdbarkeit und/oder Antriebsverlust

Gefühl der Hoffnungslosigkeit, Wertlosigkeit und Schuld
Beeinträchtigung des Denkens und der Konzentrationsfähigkeit
Sich wiederholende Gedanken an Tod und Selbsttötung
Vermindertes Selbstwertgefühl
Reizbarkeit
Psychomotorische Hemmung oder Erregung
Schlafstörungen
Veränderungen des Appetits
Veränderungen des Körpergewichts
Veränderungen der Libido

Tabelle 1: Definition einer depressiven Episode nach dem Diagnosesystem ICD-10 modifiziert nach (Nestler et al. 2002).

Die Diagnose wird gestellt, wenn eine bestimmte Anzahl der aufgeführten Symptome länger als zwei Wochen besteht und diese soziale und berufliche Funktionen wesentlich beeinträchtigen. Die ersten drei Symptome liegen dabei fast immer vor.

Die zur Verfügung stehenden Therapiemaßnahmen wie die antidepressive Pharmakotherapie, die Elektrokrampftherapie und die Psychotherapie führen bei schätzungsweise 75% der Patienten zu einer Verbesserung der depressiven Symptomatik (Nestler et al. 2002), wobei sich das Spektrum und die Wirkprinzipien der antidepressiven Therapieformen in den letzten Jahren nicht grundlegend verändert haben (Holsboer 2003).

1.1 Ätiologie und Pathogenese der Depression

Die symptomatische und die pathogenetische Heterogenität depressiver Störungen erschweren bis heute die Bildung eines überzeugenden universellen neurobiologischen Erklärungsmodells. Derzeit existieren zahlreiche biologische Erklärungsansätze depressiver Störungen, welche jedoch relativ unverbunden nebeneinander stehen und/oder nur Teilaspekte der Pathogenese widerspiegeln. Vielmehr scheint das komplexe Wechselspiel von genetischer Disposition, (früh-)kindlichen Traumata, Veränderungen des endokrinen Systems, der

monoaminergen Neurotransmission sowie der intrazellulären Signaltransmission eine zentrale pathogenetische Rolle zu spielen (Ehlert et al. 2001; Huizink et al. 2004; Manji et al. 2001; Nestler et al. 2002). Die Zuordnung vielfach beobachteter neurobiologischer Phänomene als Ursache oder Folge einer depressiven Störung bietet eine weitere Herausforderung.

1.1.1 Genetische Faktoren der Depression

Zahlreiche Familienuntersuchungen, Zwillings- und Adoptionsstudien belegen, dass genetische Faktoren die Vulnerabilität für eine depressive Störung beeinflussen können. Das Erkrankungsrisiko für Angehörige eines an einer unipolaren Depression Erkrankten ebenfalls an einer affektiven Störung zu erkranken, beträgt 15%-20%. Das Erkrankungsrisiko für Angehörige gesunder Kontrollpersonen beträgt hingegen nur 7%-10% (Schumacher et al. 2002). Die Konkordanzraten für affektive Störungen liegen bei monozygoten Zwillingen bei 60% und bei dizygoten Zwillingen bei 20% (Craddock and Jones 1999).

Zahlreiche Chromosomenregionen werden derzeit in Verbindung mit affektiven Störungen untersucht (Tsuang et al. 2004). Es besteht ein Konsens, dass nicht ein Gen, sondern mehrere, untereinander und mit Umweltfaktoren interagierende Gene für eine solch komplexe Störung wie die Depression verantwortlich sein müssen.

In einer Zwillingsstudie wurde die Bedeutung des Zusammenwirkens von stressreichen Lebensereignissen, genetisch bedingter Anfälligkeit und dem Auftreten depressiver Störungen untersucht. Das Risiko unter ungünstigen Lebensbedingungen an einer Depression zu erkranken, war für Patienten mit einem hohen genetischen Risiko gegenüber Patienten mit einem geringen genetischen Risiko bis zu 14fach erhöht (Kendler et al. 2005). Als Erklärung für die beobachtete genetische Disposition dient ein funktioneller Polymorphismus in der Promotorregion des Serotonintransportergens (5-HTTPR), welcher den Einfluss von stressreichen Lebensereignissen auf die Depressionsentstehung moderieren soll. Personen mit einer oder zwei Kopien des kurzen Allels des 5-HTTPR entwickeln unter Stresseinfluss eher Depressionen, Suizidideen und Suizidhandlungen, als Personen, die homozygot für das lange Allel des 5-HTTPR sind (Kendler et al. 2005).

1.1.2 Neuroanatomische Korrelate der Depression

Die Gesamthirnvolumina von depressiven Patienten und gesunden Vergleichspersonen unterscheiden sich nicht (Hoge et al. 1999). In den theoretischen Modellen zu den neuroanatomischen Veränderungen bei depressiven Störungen wird unter anderem dem präfrontalen Kortex als auch dem Hippocampus eine zentrale Rolle zugesprochen (Davidson et al. 2002; Drevets 2001). Der zerebrale Blutfluss und der zerebrale Glukosestoffwechsel sind bei Patienten mit einer Depression in diesen Gehirnregionen pathologisch verändert (Manji et al. 2001).

Der präfrontale Kortex ist an der Gestaltung unserer Persönlichkeit beteiligt, was Prozesse wie Werthaltungen, Ziele und das Verhalten steuernde Prinzipien beinhaltet. Eine Lateralisation des präfrontalen Kortex ist bereits im Kleinkindalter nachweisbar und zählt im Erwachsenenalter zu den stabilen Persönlichkeitsmerkmalen (Miller and Cohen 2001). Der linke präfrontale Kortex repräsentiert positive Emotionen, ein aufsuchendes Verhalten und positive Ziele. Der rechte präfrontale Kortex hingegen repräsentiert negative Emotionen, Vermeidung und negative Ziele. Individuell unterschiedlich, ist habituell entweder der linke oder der rechte präfrontale Kortex stärker aktiviert. Dies führt dispositionell eher zu positiven Emotionen oder negativen Emotionen. Darüber hinaus lassen sich situativ je nach Lateralisation eher negative oder positive Gefühle auslösen, wobei der rechte präfrontale Kortex als reagibler angesehen wird. Bei depressiven Patienten konnte eine absolute und relative Hypoaktivität des linken präfrontalen Kortex nachgewiesen werden (Brody et al. 2001; Nolan et al. 2002), wodurch der Mangel an positiven Gefühlen, der verminderte Antrieb und die Schwierigkeiten, automatisierte negative Emotionen, Grübeleien und Vermeidungstendenzen zu überwinden, bei depressiven Patienten erklärt werden könnten.

Darüber hinaus wird im posterioren Anteil des rechten präfrontalen Kortex das Erleben von Angst repräsentiert. Eine ausgedehntere habituelle Aktivierung dieses Areals führt somit zu einer gehäuften Komorbidität von Depression und Angsterkrankungen.

Die Neurone des rechten ventralen präfrontalen Kortex werden insbesondere bei Bestrafung aktiviert (Kawasaki et al. 2001), wohingegen die mediale Region des linken präfrontalen Kortex an der Verarbeitung von belohnenden Reizen beteiligt ist (O'Doherty et al. 2001). In einer Studie mit dysphorischen Studenten reagierten diese hirnhysiologisch im präfrontalen Kortex auf Bestrafung, nicht jedoch auf Belohnung. Dieser Unterschied verschwand nach Abklingen der dysphorischen Symptomatik. Auch bei mit Antidepressiva behandelten Patienten im Zustand der Remission reagierte der linke dorsolaterale präfrontale Kortex

wieder (Davidson et al. 2002). Depressive Patienten mit einer starken habituellen Überaktivierung des rechten präfrontalen Kortex sprachen hingegen schlechter auf eine Therapie mit Antidepressiva an (Bruder et al. 2001). Die präfrontale Hypoaktivität geht mit einer Volumenreduktion des präfrontalen Kortex einher. Insbesondere in Familien mit vermehrtem Auftreten depressiver Erkrankungen ist eine solche Atrophie nachweisbar (Drevets et al. 1997; Ongur et al. 1998). Die Atrophie ist allerdings reversibel, wenn sie durch eine Hypoaktivität und nicht durch einen Neuronenverlust bedingt ist (Rajkowska 2000). Nichtsdestotrotz stellt sich die Frage, ob die Hypoaktivität und/oder die Atrophie des präfrontalen Kortex eine Diathese für die Depressionsgenese darstellen oder ob sie als Folge einer depressiven Erkrankung aufzufassen sind.

Eine zentrale Rolle in der Entstehung von depressiven Störungen wird auch dem Hippocampus zugesprochen. Der Hippocampus ist an der Regulation der Stressachse durch die Regulation der ACTH-Sekretion, bei der Furchtkonditionierung, bei der Verarbeitung kontextueller Informationen, bei der Steuerung kontextgerechter Emotionen, beim affektiven Verhalten und bei der autobiographischen Erinnerung und den damit verbundenen Emotionen, beteiligt (Davidson et al. 2002). Bei der Depression ist eine Atrophie des Hippocampus von 8% bis 20% nachweisbar. Eine solche Atrophie, die als Folge traumatischer Erfahrungen, schwerer Belastungen und lang anhaltendem Stress verstanden wird, ist wiederum nicht depressionsspezifisch (Jatzko et al. 2005; McEwen 2005; Sapolsky 2000).

Eine hohe Dichte von Glukokortikoidrezeptoren im Hippocampus erklärt eine besondere Empfindlichkeit gegenüber der chronischen Konzentrationssteigerung von Stresshormonen, wie sie bei der Depression durch eine Störung des über den Hippocampus vermittelten Rückkopplungsreflexes vorliegt (Pariante and Miller 2001). Die Volumenreduktion des Hippocampus ist entweder durch eine Verminderung der Neurone oder der Gliazellen bedingt. In vivo Untersuchungen zeigen insbesondere eine Volumenabnahme der hippocampalen grauen Substanz (Sheline et al. 1996). Vor allem unkontrollierbarer psychosozialer Stress wird als Ursache dieser Atrophie angesehen (Fuchs 2005). Die unterschiedlichen antidepressiven Therapieformen bewirken eine Neubildung von Neuronen im Hippocampus (Alfonso et al. 2005). Auch hier stellt sich wieder die Frage, ob eine Volumenminderung des Hippocampus die Entstehung einer Depression bedingt, oder ob eine vorhandene Depression eine Volumenminderung des Hippocampus nach sich zieht.

1.1.3 Das Modell der „erlernten Hilflosigkeit“

Die Erforschung neurobiologischer Grundlagen depressiver Erkrankungen wird durch das Fehlen von Tiermodellen, die die Komplexität der depressiven Erkrankung widerspiegeln, erschwert (Holsboer and Barden 1996). Es existieren zahlreiche Tiermodelle mit einer gewissen prädiktiven Validität hinsichtlich der Wirksamkeit von Antidepressiva und stellen damit wichtige Bausteine zur Entwicklung neuer Antidepressiva dar. Die ätiologische Validität und die Konstruktvalidität sind allerdings gering, so dass sie wenig zur Erforschung der pathogenetischen Mechanismen depressiver Erkrankungen beitragen.

Ein verhaltensbiologisches Modell, welches von M. E. Seligman entwickelt wurde, behandelt die erlernte Hilflosigkeit (Seligman et al. 1975). Das Modell der erlernten Hilflosigkeit bei Mäusen ist etabliert und ermöglicht die Beobachtung von stressinduzierter Verhaltensänderung. Ein standardisierter Einsatz von unvorhersehbaren und unabwendbaren Fußschocks führt bei den Versuchstieren wiederholt zur Entwicklung depressionsähnlichen Verhaltens im Sinne von Agitation, Schlafstörungen, Gewichtsverlust, verminderter Libido und assoziativen-kognitiven Defiziten (Seligman et al. 1980; Vollmayr et al. 2004). Des Weiteren versuchen die Tiere nicht, den aversiven Stimuli zu entkommen, obwohl ihnen die Möglichkeit dazu gegeben wird. Die Gabe von trizyklischen Antidepressiva bewirkt eine Remission der stress-induzierten Verhaltensänderungen. Der Nachweis der Validität dieses Modells bei Mäusen wurde erbracht (Chourbaji et al. 2005). Obwohl der Erklärungswert des Modells hinsichtlich depressiver Symptomatik beim Menschen umstritten ist (Henkel et al. 2002), bietet es bei Mäusen einen interessanten Baustein zur Untersuchung neurobiologischer Korrelate stress-induzierter Depressionen.

1.1.4 Die Monoamin-Hypothese der Depression

Die Monoamin-Hypothese der Depression betrachtet eine Dysregulation der verschiedenen monoaminergen Neurotransmittersysteme als pathogenetischen Faktor depressiver Störungen. Sie wurde erstmals anhand der Beobachtung entwickelt, dass Antidepressiva ihre Wirkung über eine gesteigerte Konzentration von Monoaminen im synaptischen Spalt vermitteln und dass Medikamente, wie z. B. das Antihypertensivum Reserpin, welches zu einer verminderten Konzentration von Monoaminen im synaptischen Spalt führt, depressive Symptome verursachen können (Schildkraut et al. 1967).

Eine gesteigerte Konzentration von Serotonin im synaptischen Spalt wird sowohl von den trizyklischen Antidepressiva, als auch im Besonderen von den selektiven

Serotoninwiederaufnahmehemmern bewirkt. Zunächst ist durch eine Gegenregulation eine verminderte Entladungsrate serotonerger Neurone und eine verminderte serotonerge Neurotransmission nachweisbar (Blier and de Montigny 1994). Nach längerfristiger Einnahme der Antidepressiva aber ist eine gesteigerte Serotoninkonzentration im synaptischen Spalt nachweisbar. Diese Latenz wird mit einer zunehmenden Unempfindlichkeit des für die Gegenregulation verantwortlichen Rezeptors, beim Menschen der 5-HT_{1D}-Rezeptor, begründet. Die Beobachtung, dass selektive Serotoninagonisten eine antidepressive Wirkung aufweisen und dass eine Tryptophanmangeldiät bei remittierten depressiven Patienten ausgeprägte depressive Symptome hervorruft, unterstreichen die Rolle des Serotonins in der Pathogenese der Depression (Smith et al. 1997a). Bei Gesunden lässt sich mittels Tryptophanmangeldiät keine depressive Symptomatik auslösen, so dass eine alleinige Hypoaktivität des serotonergen Systems nicht für die Entstehung einer Depression auszureichen scheint. Bei Gesunden mit einer familiären Disposition für eine Depression treten wiederum vermehrt depressiogene Effekte bei der Tryptophanmangeldiät auf, was Hinweise auf genetische Vulnerabilitätsfaktoren ergibt (Benkelfat et al. 1994). Die Konzentration der 5-Hydroxyindolessigsäure, eines Hauptmetaboliten des Serotonins, ist bei depressiven Patienten im Liquor erniedrigt. Diese Veränderungen sind allerdings auch bei Patienten mit autoaggressivem Verhalten und Suizidversuchen nachweisbar.

Ursprünglich ging man beim noradrenergen System bei einer Depression von einer Hypoaktivität und bei der Manie von einer Hyperaktivität aus. Diese Annahme wurde von der Beobachtung gestärkt, dass das Antihypertensivum Reserpin zu einer Entleerung von noradrenergen Speichern führt und so eine depressive Symptomatik auslöst. Darüber hinaus bewirken die klassischen Antidepressiva und insbesondere die selektiven Noradrenalinwiederaufnahmehemmer eine gesteigerte Konzentration des Noradrenalins im synaptischen Spalt und entfalten so ihre antidepressive Wirkung. Bei Patienten mit einer Demenz vom Alzheimer-Typ und einer depressiven Symptomatik ist ein Neuronenverlust im Bereich des Nucleus coeruleus, dem Kerngebiet des noradrenergen Systems, nachweisbar, was einen indirekten Hinweis auf die Beteiligung des noradrenergen Systems bietet (Forstl et al. 1992). Auch ein Katecholaminmangel induziert bei euthymen Patienten mit einer bekannten Depression vorübergehende depressive Symptome (Berman et al. 1999). Eine gesteigerte Konzentration des Noradrenalins im Plasma von Patienten mit einer unipolaren Depression hingegen wird einer vermehrten reaktiven Sympathikusaktivierung zugesprochen. Allerdings führen neuere Studien mit einer simultanen Beeinträchtigung des serotonergen und

noradrenergen Systems bei gesunden Probanden zu keiner depressiven Symptomatik (Berman et al. 2002).

Eine Beteiligung des dopaminergen Systems wurde mittels neuroendokriner Untersuchungen und mittels IBZM-SPECT (Iodobenzamid-Einzelphotonentomographie) untersucht (Ebert and Lammers 1997; Pitchot et al. 1992). Die durch Neuroleptika induzierte Anhedonie und depressive Symptomatik spricht für eine Beteiligung des dopaminergen Systems. Neuere Befunde zeigen, dass die dopaminerge Aktivität nicht unmittelbar als Korrelat für Lustempfinden aufzufassen ist. Vielmehr existiert die Vorstellung, dass eine Dysfunktion zu einer Beeinträchtigung der Motivation führt (Berridge and Robinson 2003). Die durch Psychostimulanzien wie Amphetamin oder Methylphenidat induzierte euphorisierende Wirkung ist nur durch Dopaminrezeptorblockaden zu antagonisieren. Ein therapeutischer Einsatz von Psychostimulanzien zur antidepressiven Therapie wird derzeit kontrovers diskutiert (Wallace et al. 1995). Insgesamt spielt die Dysfunktion des dopaminergen mesokortikolimbischen Systems eine pathogenetische Rolle im Rahmen der Depression und könnte Teilaspekte wie Anhedonie und psychomotorische Hemmung erklären.

Allen Monoaminen ist gemein, dass ihre Konzentrationen im synaptischen Spalt bereits nach wenigen Stunden nach der Einnahme eines Antidepressivums gesteigert sind, wohingegen eine antidepressive Wirkung frühestens zwei bis drei Wochen nach kontinuierlicher Einnahme eines Antidepressivums eintritt. Die Hypothese wurde daraufhin dahingehend erweitert, dass eine längerfristige Verstärkung der monoaminergen Neurotransmission zu einer sich langsam entwickelnden Veränderung der neuronalen Plastizität führt, welche dann das eigentliche Korrelat einer antidepressiven Therapie darstellt. Diese strukturellen Veränderungen können sowohl die postsynaptischen Rezeptoren als auch die nachgeschalteten second-messenger Systeme betreffen (Duman et al. 1997), wobei auch sie vor einer Symptomverbesserung nachweisbar sind. Neuere Erklärungsmodelle führen daher die Latenz der antidepressiven Wirkung von Antidepressiva und Elektrokrampftherapie auf eine Veränderung der Gen-Expression neuronaler Zellen zurück (Duman et al. 1999).

1.1.5 Die Stress-Hypothese der Depression

Die Stress-Hypothese der Depression wurde auf den tierexperimentellen Beobachtungen begründet, dass Stress und depressive Verhaltensweisen in einem kausalen Zusammenhang zueinander stehen (Seligman et al. 1975). Beim Menschen geht Stress im Sinne von psychosozialen Belastungen oftmals einer depressiven Episode voraus und die depressive Episode selbst stellt für das menschliche Individuum einen stresshaften Zustand dar (Kendler et al. 1995). So sind bei nahezu 50% - 60% der Patienten mit einer schweren depressiven Störung Veränderungen der CRH-, der ACTH- und/oder der Kortisolsekretion nachweisbar (Holsboer and Barden 1996). Die Dysregulation des HHA-Systems (hypothalamisch-hypophysäres-adrenales System) stellt die am häufigsten beobachtete biologische Abweichung im Rahmen einer majoren Depression dar (Young et al. 1991). Als Grundlage des Hyperkortisolismus geht man von einer Hypofunktion des Feedbackmechanismus der Stressachse aus, so dass die Gefahr zur Entgleisung des HHA-Systems bei längerfristiger Stressexposition besteht (de Kloet 2000; Ehlert et al. 2001).

Dennoch reagiert nicht jedes Individuum gleich auf eine Stressexposition, so dass auch genetische Faktoren eine wichtige Rolle bei der Verarbeitung von Stress zu spielen scheinen (Kendler et al. 1995). Beim Dexamethason-CRH-Test kommt es bei depressiven Patienten zu einer paradoxen Verstärkung der ACTH-Sekretion (Holsboer and Barden 1996), was auch bei gesunden Verwandten 1. Grades beobachtet wird und einen weiteren Hinweis einer genetisch bedingten Vulnerabilität des HHA-Systems bietet (Krieg et al. 1990).

Antidepressive Therapiemaßnahmen hingegen bewirken in den meisten Fällen eine Normalisierung des HHA-Systems mit einer verbesserten Rückkopplung (Kunzel et al. 2003). Eine Trennung von Jungtieren von ihrer Mutter, zu interpretieren als Stress während einer frühen Lebensphase, bewirkt zum Beispiel eine erhöhte Stressaktivität, eine verminderte Neurogenese, dezimierte hippocampale Strukturen, Lerndefizite und passives Verhalten ähnlich dem depressiven Verhalten (Alfonso et al. 2005; Fuchs 2005; Karten et al. 2005). Ähnliche Effekte werden auch für den Menschen angenommen (Heim et al. 2000).

Unbestreitbar ist, dass es durch eine Stressexposition zu einer Aktivierung des HHA-Systems und konsekutiv zu einer Steigerung der Glukokortikoidkonzentrationen kommt. Die Wirkungen der Glukokortikoide, beim Menschen Kortisol, beim Nagetier Kortikosteron, sind ausgesprochen vielfältig. Sie beeinflussen auf der einen Seite den gesamten Organismus mannigfaltig und zum anderen auch das Verhalten des Individuums durch eine direkte Wirkung auf Nervenzellen (Holsboer 2000; Sapolsky 2000). In tierexperimentellen Studien

ist gezeigt worden, dass die im Rahmen von Stressreaktionen erhöhten Konzentrationen der Glukokortikoide die Morphologie und die Integrität von Nervenzellen negativ beeinflussen (Nitta et al. 1999). Eine chronische Stressexposition bei Nagetieren führt beispielsweise zu einer Atrophie apikaler Dendriten von Pyramidenzellen der CA-3 Region im Hippocampus (Watanabe et al. 1992). Auch eine exzessive Glukokortikoidexposition führt zu einer Reduktion der Neurogenese im Hippocampus und zu einer erhöhten Vulnerabilität hippocampaler Neurone gegenüber schädigenden Faktoren (Sapolsky et al. 1988).

Die beiden Rezeptortypen, der Mineralokortikoidrezeptor (Typ-1 Rezeptor) und der Glukokortikoidrezeptor (Typ-2 Rezeptor), werden konstitutiv im Hippocampus exprimiert (Ozawa 2005). Eine Aktivierung des Glukokortikoidrezeptors bewirkt unter anderem eine Suppression der Neurotrophine, insbesondere von BDNF, was die Folgen einer längerfristigen Glukokortikoidexposition erklären könnte (Schaaf et al. 2000; Smith et al. 1995a). Darüber hinaus haben Glukokortikoide direkte metabolische Einflüsse auf Nervenzellen, z.B. durch die Hemmung des Glukosetransportes (Virgin et al. 1991). Sie steigern auch die Konzentrationen von exzitatorischen Aminosäuren, z.B. von Glutamat in hippocampalen Synapsen, für welches in hoher Konzentration eine neurotoxische Wirkung beschrieben ist (Nestler et al. 2002; Sapolsky 2000; Vaidya and Duman 2001). Für das CRH ist eine eigene pathogenetische Rolle beschrieben, da es über CRH1-Rezeptoren im limbischen System ein depressionsähnliches Verhalten hervorrufen kann (Dunn and Berridge 1990) und im Liquor cerebrospinalis von depressiven Patienten vermehrt nachweisbar ist (Nemeroff 1996). Die Konzentration des CRH normalisiert sich unter der Therapie mit Antidepressiva und Elektrokrampftherapie.

Patienten, die an einem Morbus Cushing erkrankt sind, leiden unter einem Hyperkortisolismus. Sie weisen psychopathologische Befunde ähnlich einer depressiven Symptomatik auf (Starkman et al. 1992). Ebenso ist eine Volumenreduktion des Hippocampus nachweisbar (Sapolsky 2000), welche sich auch bei Patienten mit einer majoren Depression nachweisen lässt (Sheline et al. 1996; Young et al. 1991).

Neben diesen strukturellen Veränderungen werden auch funktionelle Veränderungen durch Stress und Glukokortikoide beobachtet. Sowohl behaviouraler Stress als auch eine Glukokortikoid-Applikation reduzieren die Erregbarkeit der Neurone in der CA1-Region des Hippocampus (Joels and de Kloet 1992), womit die Fähigkeit zur Langzeitpotenzierung („long term potentiation“, LTP), als ein neurophysiologisches Modell für Lern- und Gedächtnisvorgänge, beeinträchtigt wird (Fleischmann et al. 2003; Zhou et al. 2000). In klinischen Studien mit Patienten mit einem Morbus Cushing und mit Patienten mit einer

majoren Depression konnten ebenfalls deutliche Defizite im Bereich des Gedächtnis nachgewiesen werden (Whelan et al. 1980). Besonders bei Patienten mit einem Morbus Cushing zeigte sich eine starke Korrelation zwischen dem Ausmaß der hippocampalen Atrophie, dem Hyperkortisolismus und den Gedächtnisdefiziten (Sapolsky 2000). Aufgrund der Beobachtungen, dass depressive Patienten trotz des teilweise nicht unerheblichen Hyperkortisolismus keine Cushing-Symptome aufweisen geht man von einer gewissen Steroidresistenz bei depressiven Patienten aus (Rupprecht et al. 1989). Weitere Untersuchungen, die berücksichtigen, dass Glukokortikoide normalerweise die mitogeninduzierte Lymphozytenproliferation hemmen, zeigen bei depressiven Patienten eine verminderte Hemmbarkeit und eine verminderte Reagibilität der mitogeninduzierten Lymphozytenproliferation (Rupprecht et al. 1991a). Genauere Untersuchungen zeigten, dass die Glukokortikoidrezeptoren bei depressiven Patienten eine verminderte Dichte von Glukokortikoidbindungsstellen in Lymphozyten sowie eine verminderte Plastizität des Glukokortikoidrezeptors aufweisen (Rupprecht et al. 1991b), so dass von einer gewissen Steroidresistenz bei depressiven Patienten ausgegangen werden kann.

Ob die Hyperaktivität des HHA-Systems mit den resultierenden strukturellen und funktionellen Veränderungen eine Ursache einer depressiven Episode darstellt oder ob eine depressive Episode zu Veränderungen des HHA-Systems führt, und dementsprechend die strukturellen und funktionellen Veränderungen induziert, bleibt strittig. Nichtsdestotrotz ist man sich einig über einen so entstehenden Circulus vitiosus.

1.1.6 Die Familie der Neurotrophine

Zu der Familie der Neurotrophine zählt man eine Gruppe von Proteinen, die zunächst unter dem Aspekt der Regulation des Überlebens, des Wachstums und der Differenzierung neuronaler Populationen während der intrauterinen Entwicklung betrachtet wurden, welchen aber zunehmend auch ein Einfluss auf die aktivitätsabhängige synaptische Plastizität im heranwachsenden und adulten Gehirn zugesprochen wird (Laske and Eschweiler 2006). Bis heute sind sechs verschiedene Neurotrophine beschrieben worden: NGF (nerve growth factor), BDNF (brain-derived-neurotrophic factor), NT-3 (neurotrophin-3), NT-4 (neurotrophin-4), NT-5 (neurotrophin-5) und NT-7 (Lai et al. 1998). Die Neurotrophine weisen untereinander einen hohen Verwandtschaftsgrad auf (Hofer et al. 1990). Sie werden unter physiologischen Bedingungen in sehr niedrigen Konzentrationen synthetisiert (Davies 1996) und entfalten ihre Wirkung *in vitro* bereits in Konzentrationen im picomolaren Bereich

(Gotz and Scharl 1994). Laut DNA-Analysen ist die Aminosäuresequenz der kleinen Genfamilie der Neurotrophine bei Vertebraten im Laufe der Evolution in weiten Bereichen konserviert geblieben (Ebadi et al. 1997). So sind 50% der Aminosäuresequenz bei den Neurotrophinen identisch, wobei die für die einzelnen Neurotrophine kodierenden Gene speziesabhängig auf unterschiedlichen Chromosomen lokalisiert sind. Das Gen für das neurotrophe Vorläufermolekül von NGF ist beim Menschen auf dem Chromosom 1 lokalisiert, das der Maus auf dem Chromosom 3 (Zabel et al. 1985). Das Gen des humanen BDNF ist auf dem Chromosomen 11 lokalisiert (Maisonpierre et al. 1991).

Die Neurotrophine werden durch eine proteolytische Spaltung aus pro-Neurotrophinen gebildet. Lange Zeit galten die pro-Neurotrophine als biologisch inaktiv. In neueren Studien gelang der Nachweis, dass beispielsweise pro-BDNF in großen Konzentrationen im gesamten adulten Gehirn exprimiert wird, und dass pro-BDNF vorzugsweise an den p75-Rezeptor bindet und somit entscheidend an apoptotischen Vorgängen beteiligt ist (Zhou et al. 2004). In weiteren Studien werden diese entgegengesetzten Effekte von pro-Neurotrophinen und murenen Neurotrophinen auf das Überleben von Neuronen aufgezeigt. Cholinerge Neurone des basalen Vorderhirns sind beispielsweise anfällig gegenüber den apoptotischen Effekten der pro-Neurotrophine, wohingegen ihr Überleben von den murenen Neurotrophinen reguliert wird (Volosin et al. 2006).

Die Neurotrophine unterscheiden sich in ihrer biologischen Wirkung, wobei sie grundsätzlich während der Entwicklung das Ausmaß der Apoptose regulieren und eine entscheidende Rolle bei der Neurogenese, der neuronalen Differenzierung sowie bei der Modulation von adaptiven Vorgängen spielen. Im adulten Gehirn sind sie also an aktivitätsabhängigen Veränderungen der Struktur und der Funktion der Neurone und deren synaptischen Verbindungen beteiligt. Sie unterstützen auf diese Weise das neuronale Überleben, stimulieren das axonale Wachstum und beeinflussen während der Entwicklung die Etablierung von synaptischen Kontakten (Nestler et al. 2002). Sie sind beispielsweise wesentlich an Lern- und Gedächtnisvorgängen beteiligt. Diese adaptiven Vorgänge bezeichnet man als „neuronale Plastizität“ (Duman et al. 1997; Thoenen 1995).

Die Neurotrophine entfalten ihre Wirkung auf retrograden, parakrinen und autokrinen Signalwegen (Siegel and Chauhan 2000). BDNF beeinflusst auch auf anterogradem Weg postsynaptische Neuronenpopulationen und Gliazellen (Altar and DiStefano 1998).

Die proliferierenden Axone konkurrieren um die nur begrenzt vom Zielgewebe produzierten Neurotrophine (Grimes et al. 1996) und die Neurone, die nicht in Kontakt mit einer

ausreichenden Konzentration von Neurotrophinen gelangen, sterben durch den programmierten Zelltod ab (Barde 1989).

Ihre biologische Wirkung vermitteln die Neurotrophine zum einen über Trk-(tropomyosin receptor kinase)-Tyrosinkinaserzeptoren und zum anderen über p75-Rezeptoren (Kaplan and Miller 2000; Lee et al. 2001a). Von den hochaffinen Trk-Rezeptoren sind einige zehntausend pro Zelle und von den niedrigaffinen p75-Rezeptoren vier bis zehn Mal mehr pro Zelle vorhanden (Lewin and Barde 1996). Drei verschiedene Tyrosinkinaserzeptoren, der TrkA-, der TrkB- und der TrkC-Rezeptor sind beschrieben (Middlemas et al. 1991). Sie haben strukturelle und funktionelle Ähnlichkeiten mit dem Insulinrezeptor und dem EGF (epidermal-growth-factor)-Rezeptor (Lo 1995). Die verschiedenen Neurotrophine binden nahezu spezifisch an die verschiedenen Tyrosinkinaserzeptoren. Da die Aminosäuresequenzen der unterschiedlichen Trk-Rezeptoren eine hohe Sequenzhomologie bei den Säugetieren aufweisen (Shelton et al. 1995), können die Neurotrophine aber auch an andere als die von ihnen bevorzugten Rezeptoren binden (Saltiel and Decker 1994). NGF bindet vorzugsweise an den TrkA-Rezeptor, BDNF und NT-4/-5 binden an den TrkB-Rezeptor und NT-3 bindet an den TrkC-Rezeptor (Barbacid 1995). In Bezug auf neuronale Zellen interagieren die Neurotrophine dann aber doch vorzugsweise mit ihrem spezifischen Trk-Rezeptor (Ip et al. 1993).

Der TrkA-Rezeptor befindet sich vor allem auf cholinergen Neuronen des basalen Vorderhirns und im Striatum. Er ist allerdings auch in verschiedenen anderen, meist nicht-cholinergen Regionen des ZNS, wie dem Hippocampus, dem Thalamus und der Amygdala nachweisbar (Mufson et al. 1999).

Hinsichtlich des TrkB Rezeptors, des Rezeptors für BDNF, wurden im ZNS von Nagetieren eine klassische Form mit einer katalytischen Domäne und drei nicht-katalytische Formen nachgewiesen. Die klassische Form wird als TrkB.FL-Rezeptor („full-length, gp 145 trkB) und die drei nicht-katalytischen Formen werden als TrkB.T1 („truncated“, gp 95 trkB), als TrkB.T2- und TrkB.T3-Rezeptor bezeichnet (Fryer et al. 1996). Sie werden durch das RNA-Splicings gebildet (Middlemas et al. 1991). Die katalytische Isoform des TrkB-Rezeptors wird von Neuronen des Kortex, des Thalamus und des Hippocampus exprimiert. Da das Verteilungsmuster dem von BDNF entspricht geht man von einem parakrinen oder autokrinen Interaktionsmechanismus aus (Kokaia et al. 1993). Für die Vermittlung der Signaltransduktion von BDNF und NT-4/-5 ist die Tyrosinkinaserregion des TrkB.FL-Rezeptors verantwortlich. Die nicht-katalytischen Isoformen sind insbesondere bei nicht-neuronalen Zellen wie Astrozyten, Ependymzellen und Epithelzellen des Plexus choroideus

nachweisbar (Klein et al. 1993). Eine gemeinsame Expression der beiden Rezeptorformen hat inhibitorische Effekte auf die BDNF-Signaltransduktion, womit dem TrkB.T-Rezeptor eine Rolle als inhibitorisch wirkender Modulator zugeschrieben wird (Eide et al. 1996).

Die Neurotrophine aktivieren durch ihre Bindung an die Trk-Rezeptoren den für Tyrosinkinaserzeptoren typischen Signalweg. Als Substrate der Trk-Rezeptoren sind unter anderem die Phospholipase C-gamma, die Phosphatidylinositol-3 Kinase und das Adapterprotein Shc, sowie das Ras GTPase-aktivierende Protein und die mitogen-aktivierte Proteinkinase (MAP) ERK1 identifiziert worden (Friedman and Greene 1999).

Der p75-Rezeptor, ein 75 kDa schweres transmembranöses Glykoprotein, wird der Familie der Tumor-Nekrose-Faktor-Rezeptoren zugeschrieben (Friedman and Greene 1999). Dem Rezeptor werden zwei Hauptfunktionen zugesprochen. Zum einen agiert er als Korezeptor für die Trk-Rezeptoren, wo er die Neurotrophin vermittelte Rezeptoraktivität verstärkt oder vermindert, zum anderen aktiviert er eigenständige Signalwege, wodurch sowohl die Apoptose als auch das Überleben von Zellen induziert werden kann. Des Weiteren sind die p75-Rezeptoren für die Migration von Schwann-Zellen verantwortlich (Anton et al. 1994). Alle Neurotrophine binden an diesen Rezeptor mit ähnlich niedriger nanomolarer Affinität, wobei für BDNF die niedrigsten Assoziations- und Diffusionsraten festgestellt wurden (Friedman and Greene 1999). BDNF kann seine biologische Wirkung auch ohne Anwesenheit des p75-Rezeptors allein über den TrkB-Rezeptor entfalten, nicht aber allein über die Bindung an einen p75-Rezeptor (Squinto et al. 1991). Die Bindung von BDNF an den p75-Rezeptor modifiziert die Interaktionsfähigkeit von BDNF mit dem TrkB-Rezeptor. (Hantzopoulos et al. 1994). Wie bereits oben erwähnt, nimmt der p75-Rezeptor eine zentrale Rolle bei der Regulierung von Apoptosevorgängen ein (Barrett 2000). Bei einer gleichzeitigen Aktivierung eines Tyrosinkinaserzeptors und eines p75-Rezeptors können Apoptosevorgänge sowohl induziert als auch gehemmt werden (Bibel et al. 1999). So induziert eine BDNF-Behandlung die Apoptose von primären sympathischen Neuronen, die sowohl eine TrkA-Rezeptor als auch einen p75-Rezeptor, nicht jedoch einen TrkB-Rezeptor exprimieren. Dies ist als Hinweis zu werten, dass eine Interaktion der Neurotrophine mit dem p75-Rezeptor in Abwesenheit des spezifischen hochaffinen Trk-Rezeptors die Apoptose induziert (Bamji et al. 1998). Ähnliche Beobachtungen wurden auch für NGF gemacht (Barrett 2000). Die genauen Signalwege über welche die p75-Rezeptoren ihre Wirkung vermitteln sind bislang unbekannt, aber Vieles spricht dafür, dass sie über eigene Signalwege verfügen (Roux and Barker 2002).

Interessanterweise bindet auch das Vorläufermolekül von NGF, das pro-NGF, mit hoher Affinität an den p75-Rezeptor und induziert so eine Apoptose in sympathischen Zellkulturen. Aus diesen Beobachtungen lässt sich vermuten, dass sowohl die Neurotrophine als auch ihre Vorläufermoleküle die p75-Rezeptoren aktivieren können (Lee et al. 2001b).

Der p75-Rezeptor ist in kortikalen und hippocampalen Neuronen nicht nachweisbar (Yan and Johnson 1989). Eine Koexpression des p75-Rezeptors und des TrkB-Rezeptors findet man bei sensorischen Neuronen, bei cholinergen Neuronen des basalen Vorderhirns, bei den Neuronen des Bulbus olfactorius und bei den ependymalen Zellen der Ventrikel.

1.1.7 Der Nerve-growth factor

Der Nerve-growth-factor wurde als erstes Neurotrophin identifiziert. Er setzt sich aus drei dimeren Untereinheiten zu einem 7S-Makromolekül zusammen, in einem stöchiometrischen Verhältnis von $\alpha 2\beta\gamma 2$. Die neurotrophe Signalfunktion wird der Untereinheit β -NGF (2,5S) zugeschrieben. Der 7S-Komplex hat die Funktion, die β -Untereinheit vor der Proteolyse zu schützen. Die γ -Untereinheit ist an der Prozessierung des doppelt so großen Vorläufermoleküls, dem pro-NGF, beteiligt (Gotz and Schartl 1994; Thoenen and Barde 1980). β -NGF ist ein 26,5 kDa schweres Molekül, das aus zwei identischen Polypeptidsträngen mit jeweils 118 Aminosäuren aufgebaut ist. Diese Polypeptidstränge sind miteinander über drei Disulfidbrücken und mehrere Wasserstoffbindungen verbunden. Es handelt sich um ein basisches Protein mit einem isoelektrischen Punkt bei einem pH-Wert von 9,3 (Thoenen and Barde 1980).

In Folgenden wird NGF synonym für β -NGF verwendet, wenn nicht ausdrücklich anders vermerkt.

NGF ist sowohl im peripheren als auch im zentralen Nervensystem ein wichtiger Modulator. Während der embryonalen Entwicklung des Nervensystems übernimmt NGF eine zentrale Rolle im Rahmen des programmierten Zelltodes, wobei physiologischerweise bis zu 60% der zunächst gebildeten Nervenzellen wieder absterben. NGF wirkt hierbei wie ein Überlebensfaktor. Die Neurone benötigen während der embryonalen Entwicklung nicht nur ein Signal zur Proliferation, sondern auch ein Signal zum Überleben. Die Konkurrenz um die stark begrenzte Menge der neurotrophen Faktoren beeinflusst die Apoptose der Neurone (Henderson 1996). Darüber hinaus reguliert NGF in sympathischen Neuronen und in chromaffinen Zellen die Synthese der Katecholamine Noradrenalin und Adrenalin. In sensorischen Neuronen reguliert NGF die Synthese der für die Schmerzverarbeitung

wichtigen Neuropeptide Substanz P und Calcitonin-gene-related-peptide (CGRP) und die Synthese von Somatostatin (Lewin and Barde 1996; Thoenen and Barde 1980). Tierexperimentelle Studien mit Mäusen ohne eine NGF-Synthese zeigen eine deutliche Verminderung der Schmerz- und Temperaturempfindlichkeit. Morphologisch sind bei diesen Tieren bis zu 80% der sensorischen Zellen der Hinterwurzelganglien, bis zu 70% des sensorischen Anteils des Ganglion trigeminale und bis zu 100% der Zellen im sympathischen Ganglion supracervicale zugrundegegangen (Crowley et al. 1994). Ein ähnliches morphologisches Bild ist bei Mäusen nachweisbar, die den TrkA-Rezeptor nicht synthetisieren können (Smeyne et al. 1994).

Des Weiteren sorgt NGF für eine Erhöhung des Gesamtproteins NGF-sensitiver Zellen, für eine Neuritenaussprossung und für eine Veränderung der Zellmembranen und des Zytoskeletts (Snider 1994), wobei die Konzentration von NGF im peripheren Nervensystem in hohem Maße mit der sympathischen Innervation korreliert (Korsching and Thoenen 1983). Im Vorderhirn wiederum korreliert die Konzentration von NGF hingegen mit der Dichte der cholinergen Innervation (Korsching and Thoenen 1985; Mufson et al. 1994).

NGF wird unter physiologischen Bedingungen nur in sehr niedrigen Konzentrationen von den Zielgeweben NGF-sensitiver Neurone ausgeschüttet. Die Konzentrationen liegen im Bereich pg/g bis ng/g Gewebefeuchtgewicht (Korsching and Thoenen 1983). In vivo sind nur unter 10% der NGF-Rezeptoren des Nervus ischiadicus mit dem endogenen NGF besetzt (Raivich et al. 1991). Dieser unter physiologischen Bedingungen bestehende NGF-Mangelzustand an den NGF-sensitiven Neuronen bedingt eine hochgradige Competition der Zellen um den nur in begrenzter Konzentration vorhandenen NGF (Barde 1989). Somit ziehen bereits geringe Konzentrationsveränderungen des NGF bedeutsame Modifikationen an den NGF-sensitiven Neuronen nach sich. Im Hinblick auf die hohe Empfindlichkeit der Neurone für die Schwankungen der NGF-Konzentration könnten sowohl geringe Störungen der NGF-Synthese als auch des retrograden Transportes im Rahmen von Erkrankungen pathophysiologisch bedeutsam werden (Hellweg 1992).

NGF hat nicht nur eine Wirkung auf neuronale Zellen, sondern auch auf Zellen des Immunsystems, des hämatopoetischen Systems und des neuroendokrinen Systems (Levi-Montalcini et al. 1996). Darüber hinaus werden Schwann-Zellen durch NGF aktiviert, die auf diese Weise die Führung der Axone unterstützen (Carter et al. 1996).

Die Synthese von NGF im Zentralnervensystem findet sowohl in Neuronen als auch in Gliazellen statt, wobei unter physiologischen Bedingungen vor allem die Neurone die Synthese übernehmen (Thoenen 1995).

In zahlreichen Studien wurde die Verteilung von NGF-mRNA und NGF in den Gehirnen von Ratten, Primaten und Menschen untersucht (Maness et al. 1994; Tuszynski and Gage 1990). Demnach ist NGF in großen Mengen in den verschiedenen Regionen des ZNS nachweisbar. Zum einen in den von den cholinergen Neuronen des basalen Vorderhirns innervierten Regionen wie Hippocampus, Bulbus olfactorius und Neokortex, zum anderen in den Regionen, die die Zellkörper dieser Neurone enthalten wie Septum, Nucleus des diagonalen Bandes und der Nucleus basalis Meynert. Die höchsten Konzentrationen von NGF-mRNA sind im Hippocampus, im Bulbus olfactorius und im Kortex nachweisbar, wobei in den cholinergen Neuronen des basalen Vorderhirns sehr viel niedrigere, aber dennoch signifikante Konzentrationen nachweisbar sind (Thoenen et al. 1987a; Vantini 1992). Daraus lässt sich vermuten, dass die cholinergen Neurone des basalen Vorderhirns via retrograden Transport von ihren Zielregionen mit NGF versorgt werden (Lewin and Barde 1996; Thoenen et al. 1987b).

NGF ist also der klassische Vertreter der „target-derived“ Neurotrophine, die als retrograde Botenstoffe ihre neurotrophen Effekte in Neurotrophin-sensitiven Neuronen entfalten. Hinsichtlich der vielfältigen biologischen Wirkungen bezeichnet man den NGF auch als „survival and maintenance of function factor“ (Hellweg et al. 1998).

1.1.8 Der Brain-derived neurotrophic factor

Der Brain-derived neurotrophic factor (BDNF) wurde als zweites Mitglied der Neurotrophin-Familie identifiziert. In der Gensequenz zeigt sich eine 50%ige Übereinstimmung mit dem NGF-Gen (Acheson et al. 1995). Das BDNF-Gen, ca. 40 kb schwer, enthält 5 Exons, wobei die ersten 4 Exons kurz sind und jeweils eine Promotorregion besitzen (Hayes et al. 1997). In neueren Studien wurden 7 Promotoren im BDNF-Gen identifiziert (Liu et al. 2006), wobei wir im Folgenden an der alten Nomenklatur basierend auf der Charakterisierung von 4 Promotoren im BDNF-Gen der Ratte festhalten (Timmusk et al. 1993). Dem 5. Exon wird die gesamte Information für das biologisch funktionstüchtige BDNF-Protein zugesprochen (Metsis et al. 1993). Bei der Synthese der BDNF-mRNA wird jeweils eines der ersten vier Exons mit dem fünften Exon verknüpft. So können mit dem alternativen Splicing vier verschiedene primäre Transkripte produziert werden, die sich alternativ aus einem der ersten vier Exons und obligatorisch aus dem fünften Exon zusammensetzen. Daraufhin wird an das primäre Transkript an einer von zwei möglichen Positionen innerhalb des 5. Exons eine Poly-A-Sequenz angehängen, womit acht verschiedene BDNF-mRNAs synthetisierbar sind (Tao et

al. 1998). Allerdings werden mit der Translation alle acht möglichen Transkripte zum gleichen Vorläuferprotein umgeschrieben, so dass auf der Proteinebene von BDNF nur eine Form existiert. Man vermutet, dass die unterschiedlichen Promotoren und die verschiedenen Transkripte verschiedene Ansatzpunkte für eine komplexe Feinregulation der BDNF-Synthese bieten, und dass die Synthese der acht möglichen Transkripte zum einen abhängig ist von der Gewebeart und zum anderen von dem zur BDNF-Synthese führenden Stimulus (Dias et al. 2003; Tao et al. 1998). Denn je nach Gewebeart sind verschiedene Transkripte nachweisbar. Im ZNS herrschen Transkripte mit dem Exon I, II und III vor, im Herz- und Lungengewebe Transkripte mit dem Exon IV. Darüber hinaus steigen die Konzentrationen von Exon IV enthaltenden Transkripten nach einer Verletzung des ZNS in geringerem Maße an, als die Transkripte mit den anderen Exonen. Timmusk und seine Mitarbeiter werten diese Beobachtungen als unterschiedliche Gewebe-spezifische Transkriptionsmechanismen (Timmusk et al. 1993). Selbst innerhalb eines Neuron zeigt sich eine unterschiedliche Verteilung der verschiedenen BDNF-Transkripte. So ist beispielsweise das Transkript von Exon III nur im Perikaryon nachweisbar, wohingegen das Transkript des Exon IV sowohl im Perikaryon als auch in den Dendriten der Neurone nachweisbar ist (Pattabiraman et al. 2005). Der größte Anteil des BDNF wird als pro-BDNF sekretiert und durch extrazelluläre Proteasen, wie beispielsweise Plasmin, zu maturem BDNF gespalten (Teng et al. 2005). Besonderes Interesse gilt dem Gewebs-Plasminogen-Aktivator (tPA), welcher Plasminogen zu Plasmin umwandelt. Es konnte gezeigt werden, dass im Hippocampus durch die Aktivierung von Plasmin proBDNF zu mBDNF umgewandelt wird, was unter anderem für die Spätphase der Langzeitpotenzierung von zentraler Bedeutung ist (Pang et al. 2004). Das tPA-Plasmin System ist demnach entscheidend an der Bereitstellung von mBDNF in hippocampalen Synapsen beteiligt. Neuere Studien untersuchen p11 (Annexin II Leichtkette), ein membranassoziiertes Protein mit einem aktivierenden Einfluss auf den tPA und somit indirekt auch auf die Umwandlung von proBDNF zu mBDNF. (Kim and Hajjar 2002). Der pro-BDNF ist ein aus 382 Aminosäuren bestehendes und 32 kDa schweres Protein, welches selektiv unter der Mithilfe von Huntingtin an Mikrotubuli transportiert, in Vesikel verpackt und aktivitätsabhängig ausgeschüttet wird (Mowla et al. 2001). Bei der Hälfte des synaptisch nachweisbaren BDNF handelt es sich um pro-BDNF (Mowla et al. 2001). Das proteolytisch entstehende mature BDNF, ein 27 kDa schweres basisches Protein, ist strukturell ein Homodimer (O'Leary and Hughes 2003). Der pro-BDNF wird aktivitätsabhängig ausgeschüttet und bindet an den niedrigaffinen p75-Rezeptor, wohingegen der mature BDNF vor allem an den TrkB-Rezeptor bindet und auf diese Weise sowohl in vitro als auch in vivo

die Entwicklung und das Überleben von zentralnervösen Neuronen fördert (Lee et al. 2001b). In zahlreichen Studien wurde gezeigt, dass BDNF im ZNS von adulten Nagetieren das am stärksten exprimierte Neurotrophin ist (Hofer et al. 1990). BDNF wird sowohl von Neuronen als auch von Gliazellen produziert und seine Synthese ist zumindest auch während der Entwicklung in peripheren Geweben, wie in Herz und Lunge, nachweisbar (Hofer et al. 1990). Die höchsten Konzentrationen des BDNF finden sich im Hippocampus, im zerebralen Kortex, in der Amygdala, im Thalamus, im Hypothalamus, in der Pons und im Zerebellum (Hofer et al. 1990), wobei BDNF ubiquitär im ZNS nachweisbar ist (Murer et al. 2001). Eine Seitendifferenz der BDNF-mRNA Expression im Hippocampus ist nicht nachweisbar (Ernfors et al. 1994; Hofer et al. 1990). Die höchsten Konzentrationen der TrkB-mRNA finden sich äquivalent zum Expressionsmuster der BDNF-mRNA (Middlemas et al. 1991).

BDNF verfügt über neuroprotektive Eigenschaften (Fossati et al. 2004; Murer et al. 2001). Daneben spielen BDNF und dessen Rezeptor TrkB eine zentrale Rolle bei der Proliferation und Differenzierung von neuronalen Vorläuferzellen (Sieber-Blum 1991), bei der Ausprägung der Morphologie von Axonen und Dendriten (Snider and Johnson 1989), bei der Expression von Neuropeptiden und Neurotrophinen (Leingartner et al. 1994), bei der Neurotransmission und der neuronalen Plastizität (Thoenen 1995). Überdies ist BDNF in Lern- und Erinnerungsprozesse involviert (McAllister et al. 1999) und moduliert über präsynaptische TrkB-Rezeptoren die frühe und späte Phase der hippocampalen Langzeitpotenzierung (LTP) (Xu et al. 2000).

BDNF beeinflusst hippocampale und kortikale Neurone (Lindholm et al. 1996), sensorische Neurone (Henderson et al. 1993), cholinerge Neurone des basalen Vorderhirns (Knusel et al. 1991), noradrenerge Neurone des Locus coeruleus (Friedman et al. 1993), dopaminerge Neurone (Knusel et al. 1991), serotonerge Neurone (Siuciak et al. 1998), GABAerge Neurone (Ventimiglia et al. 1995), granuläre zerebelläre Neurone (Segal et al. 1992) und retinale Ganglionzellen (Johnson et al. 1986).

Auch wenn BDNF vor allem im Gehirn nachweisbar ist, entfaltet er seine Wirkung aber auch auf Neurone des peripheren Nervensystems (Lommatzsch et al. 1999). Zudem wird BDNF auch in Thrombozyten, Lymphozyten, Monozyten, Muskelzellen, Fibroblasten und Epithelzellen synthetisiert (Cartwright et al. 1994; Lommatzsch et al. 1999).

Im peripheren Nervensystem ist BDNF sowohl parakrin und autokrin als auch als klassischer „target-derived“ Faktor wirksam (Kokaia et al. 1993). Darüber hinaus entfaltet BDNF auch als axonal anterograd transportiertes Neurotrophin seine Wirksamkeit, insbesondere bei noradrenergen Afferenzen (Fawcett et al. 1998). So wurde bei transgenen Mäusen mit einer

vermehrten BDNF-Sekretion noradrenerger Neurone in deren Zielregion eine vermehrte Aktivität des TrkB-Rezeptors nachgewiesen (Fawcett et al. 1998). Zudem wiesen bereits vorherige Versuche mit exogen zugeführtem BDNF auf einen anterograden Transport des Neurotrophins hin (Fryer et al. 1996).

1.1.9 Die Neurotrophin-Hypothese der Depression

Die Neurotrophin-Hypothese der Depression sieht BDNF als ein zentrales Regulationsmolekül auf molekularer Ebene für die Pathogenese der Depression und die Wirkmechanismen der antidepressiven Therapieverfahren (Altar 1999; Duman et al. 1997). Akuter und chronischer Stress führen laut dieser Hypothese zu einer glukortikoidvermittelten Suppression von BDNF (Schaaf et al. 2000). Nach der Applikation von Glukokortikoiden zeigt sich eine verringerte Konzentration der BDNF-mRNA und des BDNF-Proteins im Hippocampus von Ratten und Schweinen (Schaaf et al. 2000; Vellucci et al. 2001), wohingegen der Immobilisationsstress bei adrenaletomierten Versuchstieren zu keiner Suppression der BDNF-Expression führt (Chao et al. 1998). Der Mangel an BDNF führt zu morphologischen und funktionellen Veränderungen hippocampaler Neurone, die sich klinisch unter anderem als depressive Störung äußern. Eine antidepressive Therapie hingegen bewirkt im Hippocampus eine intrasynaptische Konzentrationssteigerung der monoaminergen Neurotransmitter und aktiviert, vermittelt über intrazelluläre Signalkaskaden, den Transkriptionsfaktor CREB (cAMP response element binding protein) (Thome et al. 2000; Vaidya and Duman 2001). Die Wirklatenz der Antidepressiva von mindestens 2 Wochen und die Beobachtung der gesteigerten Monoaminkonzentration innerhalb einiger Stunden führt zu der Vermutung, dass eine gesteigerte Konzentration der Monoamine im synaptischen Spalt nicht unmittelbar eine antidepressive Wirkung induzieren kann (Nestler et al. 2002; Urani and Gass 2003). Man geht vielmehr von einer medikamenteninduzierten Veränderung der neuronalen Plastizität aus (Altar 1999; Duman et al. 1997; Manji et al. 2001; Nestler et al. 2002). Vermutlich wird diese Veränderung durch eine gesteigerte Konzentration des Transkriptionsfaktors CREB und einer konsekutiv gesteigerten Konzentration von BDNF bewirkt (Conti et al. 2002; Thome et al. 2000; Zha et al. 2001). Genauer genommen aktivieren die Antidepressiva den „cyclic-adenosine-monophosphate pathway“ (cAMP) (Vaidya and Duman 2001). Die Bildung von cAMP wird durch diverse Serotonin- und Noradrenalinrezeptorsubtypen induziert. Über membranständige Rezeptoren wird die cAMP abhängige Proteinkinase A (PKA) und der nukleäre Transkriptionsfaktor CREB (cAMP response element binding protein) aktiviert (Conti et al. 2002). Der Transkriptionsfaktor

CREB reguliert die Expression von Zielgenen mittels eines spezifischen in der Promotorregion lokalisierten regulatorischen DNA-Elements (5'-TGACGTCA-3') namens CRE (calcium/cAMP response element). Zu den Zielgenen vom CREB gehört auch das BDNF-Gen, welches ein CRE in der Promotorregion aufweist (Vaidya and Duman 2001). Eine dauerhafte Gabe von verschiedenen Antidepressiva sorgt nachweislich für eine Aktivierung von CREB und konsekutiv für einen Anstieg der BDNF-mRNA im Hippocampus (Thome et al. 2000), womit eine gewisse Regulation der hippocampalen BDNF-Expression durch CREB nachgewiesen werden konnte. Die Elektrokrampftherapie führt ebenfalls zu einer gesteigerten Expression von BDNF und dessen TrkB-Rezeptor im limbischen System (Duman and Vaidya 1998).

In post mortem Studien bei unbehandelten depressiven Patienten hingegen wurde eine verminderte CREB-Expression und eine verminderte Konzentration von phosphorylierten CREB-Molekülen im zerebralen Kortex nachgewiesen (Yamada et al. 2003).

Bei antidepressiv behandelten depressiven Patienten hingegen ist eine gesteigerte Expression von BDNF im Hippocampus und eine gesteigerte TrkB-Rezeptor Dichte im gesamten ZNS nachweisbar (Bayer et al. 2000; Chen et al. 2001). Der BDNF wird mittels anterograden oder retrograden Transport zu den synaptischen Verbindungen des Neurons transportiert (Nawa and Takei 2001) und nach seiner Freisetzung, aktiviert er prä- und postsynaptische TrkB-Rezeptoren (Miranda et al. 1993), womit eine Neubildung, eine Erhaltung und eine Verstärkung von synaptischen Kontakten induziert wird. Diese gesteigerte neuronale Plastizität bewirkt eine Konzentrationssteigerung monoaminерger Neurotransmitter im synaptischen Spalt, womit sich ein Regelkreis im Sinne einer positiven Rückkopplung schließt (Altar 1999; Duman et al. 1997). Des Weiteren besteht ein direkter Zusammenhang zwischen der Dosis des Antidepressivums und der BDNF-Expression (Xu et al. 2003). Letztendlich haben nicht alle antidepressiv wirksamen Pharmaka einen Effekt auf die BDNF-Expression (Dias et al. 2003; Jacobsen and Mork 2004; Nibuya et al. 1996). Der BDNF-TrkB Signalweg aktiviert auf molekularer Ebene die MAP-Kinase-Kaskade, wodurch der für die neuronale Plastizität bedeutende Transkriptionsfaktor c-fos induziert wird (Strekalova et al. 2003). Des Weiteren ist BDNF auf zellulärer Ebene am synaptischen Remodeling, was eine verstärkte monoaminerge Signalübertragung im Vorderhirn bewirkt, beteiligt und hat so eine zentrale Bedeutung im Rahmen der antidepressiven Therapie (Manji et al. 2003). Antidepressiva führen allerdings auch über weitere intrazelluläre Signalkaskaden zur Aktivierung des TrkB-Rezeptors, da eine gesteigerte Konzentration der BDNF-mRNA nach einer antidepressiven Therapie fehlt (Altieri et al. 2004; Lee et al. 2002; Saarelainen et al.

2003). So aktivieren G-Protein gekoppelte Rezeptoren den Trk-Rezeptor. Dieses Phänomen konnte für Adenosin und dessen A2A-Rezeptor in hippocampalen Neuronen gezeigt werden (Lee et al. 2002). In zahlreichen Studien führt weder akuter Stress noch die einmalige Applikation von Glukokortikoiden zu Effekten auf die TrkB-Expression (Nibuya et al. 1999; Schaaf et al. 2000). Nach chronischer Stressexposition allerdings wird vermehrt mRNA der katalytischen Isoform des TrkB-Rezeptors im Hippocampus nachgewiesen (Nibuya et al. 1999). Diese Hochregulation kann als Kompensationsmechanismus einer stressinduzierten BDNF-Herunterregulation verstanden werden, was erklärt, dass dieser Effekt noch nicht nach einmaliger Stressexposition nachweisbar ist. Die neurodegenerativen Veränderungen im Hippocampus müssen mit diesem Hintergrund als ein Endprodukt von dekompensierten Ausgleichsmechanismen nach häufiger Stress- und Glukokortikoidexposition gewertet werden (Nibuya et al. 1999). Diese Dysregulation der Neurotrophine ist verantwortlich für eine unpassende adaptive neuronale Reaktion auf unterschiedliche Stressexpositionen. Die sich daraus ergebenden pathologischen Konsequenzen sind eine verminderte dendritische Verzweigung und eine hippocampale Volumenreduktion (Hayley et al. 2005).

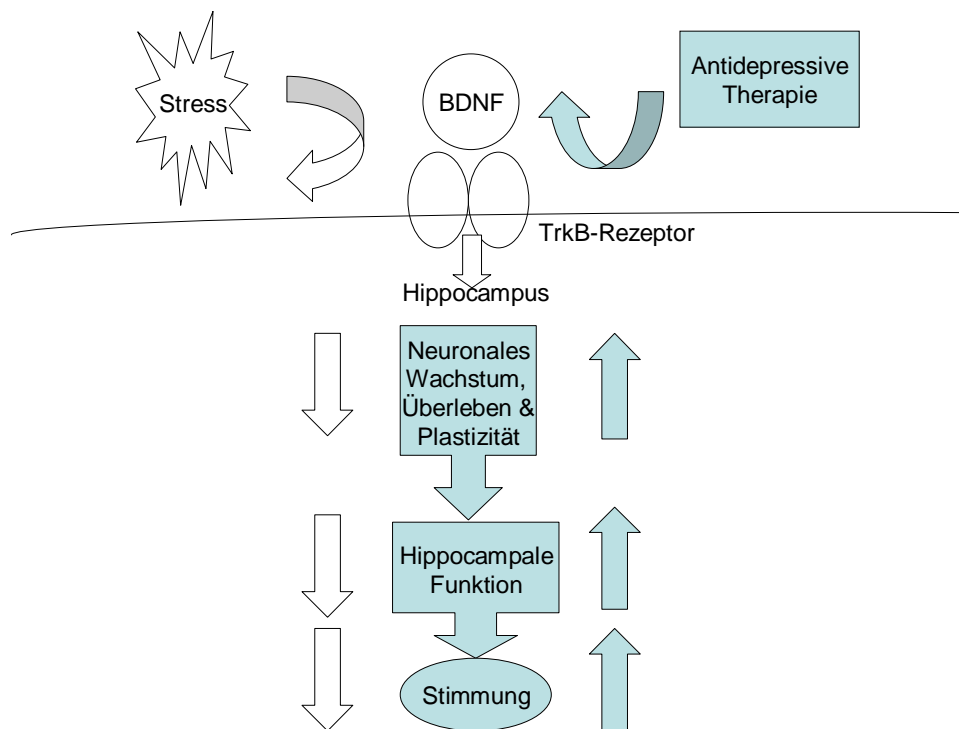


Abbildung 1: Stark vereinfachte Darstellung des Einflusses von Stress und antidepressiven Therapieformen auf die Expression des hippocampalen BDNF, der hippocampalen Funktion und der Stimmung modifiziert nach (Groves 2007).

Die Wirksamkeit antidepressiver Therapien wird nach dieser Hypothese auf eine gesteigerte BDNF-Synthese und eine damit verbundene Reparatur der stressinduzierten Schäden der Neurone zurückgeführt (Nestler et al. 2002). Allerdings werden antidepressive Effekte der Pharmakotherapie auch unabhängig vom CREB-BDNF-TrkB-Signalweg vermittelt (Conti et al. 2002).

Die stereotaktische Applikation von BDNF in die Nähe des Raphekerns, von welchem serotonerge Projektionen in den Hippocampus verlaufen, zeigt einen antidepressiven Effekt in einem Tiermodell der erlernten Hilflosigkeit (Siuciak et al. 1997) und die bilaterale Infusion von BDNF und NT-3 in den Gyrus dentatus wirkt ebenfalls antidepressiv (Shirayama et al. 2002).

Die Applikation des BDNF führt außerdem zu einer Abschwächung der durch Glukokortikoide und andere Noxen hervorgerufenen Zelltodes von Hippocampusneuronen (Nitta et al. 1999). Allerdings führt eine verminderte BDNF-Konzentration bei Mäusen nicht zwangsläufig zu einem veränderten emotionalen Verhalten (Chourbaji et al. 2004). Der alleinige Mangel an BDNF scheint somit nicht ein neues Depressionsmodell darzustellen. Diese Beobachtungen werden zum einen mit dem Gen-Dosis-Effekt erklärt und zum anderen mit Kompensationsmechanismen, die diesen Defekt ausgleichen (Chourbaji et al. 2004). Einige Autoren sehen die stressinduzierte BDNF-Suppression im Hippocampus eher als ein Epiphänomen als eine kausale Begebenheit in der Pathogenese der Depression, womit die Kernaussage der Neurotrophin-Hypothese in Frage gestellt wird (Altar 1999; Manji et al. 2001; Nestler et al. 2002; Vaidya and Duman 2001; Wong and Licinio 2001). Da eine Stressexposition zweifelsohne depressionsähnliche Verhaltensänderungen induzieren kann, und zahlreiche Gene existieren, die über die Glukokortikoidrezeptoren reguliert werden, existieren neben dem BDNF-TrkB-Signalweg sicherlich noch weitere pathogenetische Erklärungsmodelle (Urani and Gass 2003). Dennoch ist nicht auszuschließen, dass eine gestörte BDNF-TrkB-Signalkaskade einen Vulnerabilitätsfaktor darstellt, der nach einer Stressexposition depressionsähnliche Verhaltensweisen fördert. Die Prädisposition an einer depressiven Episode zu erkranken, könnte somit zum einen genetisch hereditär bedingt sein, zum anderen sekundär erworben. BDNF müsste als ein Kofaktor der Pathogenese bei einem multifaktoriellen Erkrankungsbild wie der Depression verstanden werden.

Die Rolle des NGF im Rahmen der Pathogenese der Depression ist nicht so konkret beschrieben wie die des BDNF. Hinsichtlich der NGF-Synthese im Hippocampus nach Stressexposition existieren widersprüchliche Daten. Die Konzentration der NGF-mRNA im Hippocampus ist sowohl nach einer als auch nach wiederholten Episoden einer

Stressexposition erhöht (Foreman et al. 1993), bleibt interessanterweise nach einer sozialen Isolation unverändert (Spillantini et al. 1989) und ist nach einer „stressfull forced motoric activity“ sogar vermindert (von Richthofen et al. 2003). Dennoch ist festzuhalten, dass der Hippocampus, die Amygdala und der NGF wesentlich an der Verarbeitung von Angst und an einer sofortigen Verhaltensantwort auf eine Stressreaktion beteiligt sind (Hecker and Mesulam 1994; Herman and Cullinan 1997; Levi-Montalcini et al. 1996).

So sind sowohl NGF als auch BDNF in die Pathophysiologie von stress-induziertem Verhalten und Depression involviert (Duman et al. 1997; Dwivedi et al. 2005; Lang et al. 2004a; Lang et al. 2004b; Lang et al. 2005; Lang et al. 2004c; Nestler et al. 2002; von Richthofen et al. 2003), da sie als essentielle Modulatoren von neuronaler Aktivität und synaptischer Plastizität im zentralen und peripheren Nervensystem anzusehen sind (Kerr et al. 1999; Lewin and Barde 1996; McAllister et al. 1999).

2. Ziele und Fragestellung der vorliegenden Arbeit

Die vorliegende Arbeit untersucht die unterschiedlichen NGF- und BDNF-Protein Konzentrationen im Hippocampus und im frontalen Kortex von Mäusen zu verschiedenen Zeitpunkten nach der Exposition der Versuchstiere mit einer standardisierten und gut etablierten Stress-Methode, angelehnt an das Modell der „erlernten Hilflosigkeit“ (Chourbaji et al. 2005).

Diese Arbeit versucht mehrere noch offene Fragen zu beantworten.

- Führt die erlernte Hilflosigkeit im Mausmodell zu einer Veränderung der Konzentrationen von BDNF und NGF in für die Pathogenese der Depression zentralen Hirnregionen wie Hippocampus und präfrontaler Kortex?
- Gibt es Unterschiede in den Konzentrationsveränderungen zwischen NGF und BDNF?
- Wie verändern sich die Konzentrationen von NGF und BDNF über einen Zeitraum von 14 Tagen
- Gibt es interhemisphärielle Unterschiede im Sinne einer Lateralisation bei den Konzentrationsveränderungen von NGF und BDNF?

Aufgrund dieser Untersuchung ergeben sich weitere Fragestellungen.

- Inwieweit hat die Neurotrophin-Hypothese der Depression noch Gültigkeit?
- Gibt es anhand dieser Untersuchung Möglichkeiten stressinduzierte Depressionen zu vermeiden oder effektiver zu therapieren?

3. Material und Methoden

3.1 Die Versuchstiere

Bei den Versuchstieren handelte es sich um 10 Wochen alte männliche C57/BL/6N Mäuse der Firma Charles River aus Sulzfeld in Deutschland. Nach der Anlieferung wurden die Mäuse einzeln für insgesamt zwei Wochen in Makrolon Käfigen Typ II akklimatisiert. Die Akklimatisierung erfolgte in einem umgekehrten zwölf Stunden Hell-Dunkel Rhythmus (Licht aus um 8 Uhr, Licht an um 20 Uhr), bei einer konstanten Raumtemperatur von 22° Celsius und einem Nahrungs- und Wasserangebot ad libitum. Die Behandlung der Versuchstiere erfolgte mit einer gut etablierten Methode der erlernten Hilflosigkeit (Chourbaji et al. 2005). Nach diesem Modell werden die Mäuse hilflos, d.h. die Mäuse, die aufgrund des durch Fußschocks erzeugten Stresses sogenannte „escape deficits“ in einem „two-way avoidance test“ aufweisen, vermeiden nicht oder reagieren nur sehr verzögert darauf, die unangenehme Situation eines weiteren Fußschocks zu vermeiden, auch wenn sie die Möglichkeit dazu bekommen. Diese „escape deficits“, die als depressionsähnliches Verhalten interpretiert werden können halten für 10 Tage an. Danach normalisiert sich das Verhalten der Versuchstiere wieder. Dieser relativ kurze Zeitraum entspricht, gemessen an der Lebenszeit einer Maus, in etwa der Dauer einer depressiven Episode beim Menschen. In anderen Versuchen waren die „escape deficits“ durch eine antidepressive Therapie revertierbar. Alles in allem kann man festhalten, dass die Fußschocks hinsichtlich der „escape deficits“ als wichtiger Parameter effektiv sind.

Nach der Akklimatisierung wurden die Versuchstiere in transparente Plexiglas-Schock-Kammern eingesetzt (18x18x30 cm). Diese Kammern sind mit rostfreien Stahlgitter Böden ausgestattet (Coulbourn precision regulated animal shocker, Coulbourn Instruments, Düsseldorf, Deutschland). In dieser Kammer wurden die Versuchstiere mit 360 elektrischen Fußschocks, jeweils mit einer Intensität von 0,150 mA, an zwei aufeinander folgenden Tagen konfrontiert. Dabei wurden die elektrischen Fußschocks unvorhersehbar verabreicht, d.h. mit unterschiedlichen Zeitintervallen zwischen den einzelnen Fußschocks (1-15 Sekunden) und unterschiedlicher Schockdauer (1-3 Sekunden). Die Gesamtdauer der verabreichten Fußschocks betrug 52 Minuten. Die Kontrollgruppe wurde den gleichen Bedingungen ausgesetzt, mit der Ausnahme, dass sie keine elektrischen Fußschocks verabreicht bekamen. Eine gründliche Reinigung mit 70%igem Ethanol und die tägliche Reinigung mit Seife sollte die Verbreitung und Fixierung von Alarmsubstanzen verhindern.

Die Versuchstiere wurden nach den zweitägigen Fußschockbehandlungen zu definierten Zeitpunkten dekapiert ($n=6/\text{Zeitpunkt}$). Die Zeitpunkte waren mit 0 Stunden, 3 Stunden, 6 Stunden, 12 Stunden, 24 Stunden, 48 Stunden 7 Tagen und 14 Tagen vorgegeben. Die zu untersuchenden Gehirnregionen, wie der frontale Kortex und der Hippocampus, wurden schnellstmöglich präpariert, auf Trockeneis gelagert und bei -80° Celsius bis zur Weiterverarbeitung aufbewahrt. Die Studie wurde von der lokalen Ethikkommission genehmigt. Die Versuche wurden von der Arbeitsgruppe von Herrn Prof. Gass im Zentralinstitut für seelische Gesundheit in Mannheim durchgeführt. Die präparierten Gehirnproben wurden daraufhin in unser Labor nach Berlin zur Durchführung des ELISA geschickt. Wir erhielten jeweils 12 Proben pro Gehirnregion pro Zeitpunkt nach Stressexposition für jede Hemisphäre getrennt. Davon waren jeweils 6 Proben von gestressten Tieren und 6 von den Kontrolltieren. Insgesamt kamen wir somit auf eine Probenzahl von 384 Gewebeproben.

3.2 Bestimmung des Feuchtgewichts und Homogenisation der Gewebeproben

Nach dem Erhalt der Gewebeproben aus Mannheim bestimmten wir zunächst das Feuchtgewicht der Proben. Danach wurde jede Gewebeprobe in einem wassergekühlten Ultraschallbad mittels Ultraschall in einem Lysierpuffer (1,2 ml Homogenisierpuffer) homogenisiert und anschließend wurde dem Homogenisat eine Proteaseninhibitormischung im Verhältnis 1:100 hinzugefügt (Hellweg 1989). Die Gewebeproben wurden für insgesamt 15 Minuten mit voller Stärke in einem Ultraschallbad beschallt, bis keine Geweberückstände mehr sichtbar waren. Die Proben wurden bis zur Weiterverarbeitung bei -80° Celsius aufbewahrt. Diese Aufbereitungsmethode erhöht bei kleinen Gewebeproben die Ausbeute der Neurotrophine (Korsching and Thoenen 1987).

3.3 Das Prinzip der ELISA-Methode

Der Nachweis der zu untersuchenden Neurotrophine NGF und BDNF erfolgte in einem fluorometrischen, im Sandwich-Prinzip durchgeführten ELISA (enzyme-linked-immunosorbent-assay). Bei diesem zweiseitigen ELISA wird zunächst die feste Oberfläche der Mikrotiterplatten im Überschuss mit einem Antikörper beschichtet, der gegen das zu messende Antigen gerichtet ist. Im nächsten Schritt werden die homogenisierten Gewebeproben auf die Mikrotiterplatten aufgetragen, um das darin enthaltene Antigen an den

Antikörper zu binden. Danach wird ein zweiter spezifisch gegen das Antigen gerichteter Antikörper auf die Mikrotiterplatten aufgetragen, welcher kovalent an ein Enzym gebunden ist. Dieses Enzym katalysiert die Umsetzung eines geeigneten Substrates zu einem fluoreszierenden Produkt, welches mit Hilfe einer fluorometrischen Messung quantitativ bestimmt werden kann. Durch die gleichzeitige Messung der Emission bekannter Antigenkonzentrationen und einer daraus erstellten Standardkurve, kann dann die Antigenkonzentration in den zu untersuchenden Gewebeproben berechnet werden. Eine Bedingung für den zweiseitigen ELISA, bei dem das Antigen von zwei Antikörpern gebunden werden soll, ist, dass das zu untersuchende Antigen über zwei Bindungsstellen für die Antikörper verfügt. Bei den im Folgenden vorgestellten Versuchen ist diese Bedingung erfüllt, da NGF und BDNF dimere Proteine sind und sich die Bindungsstellen für die beiden Antikörper sich nicht sterisch behindern (Korsching and Thoenen 1983; Korsching and Thoenen 1987).

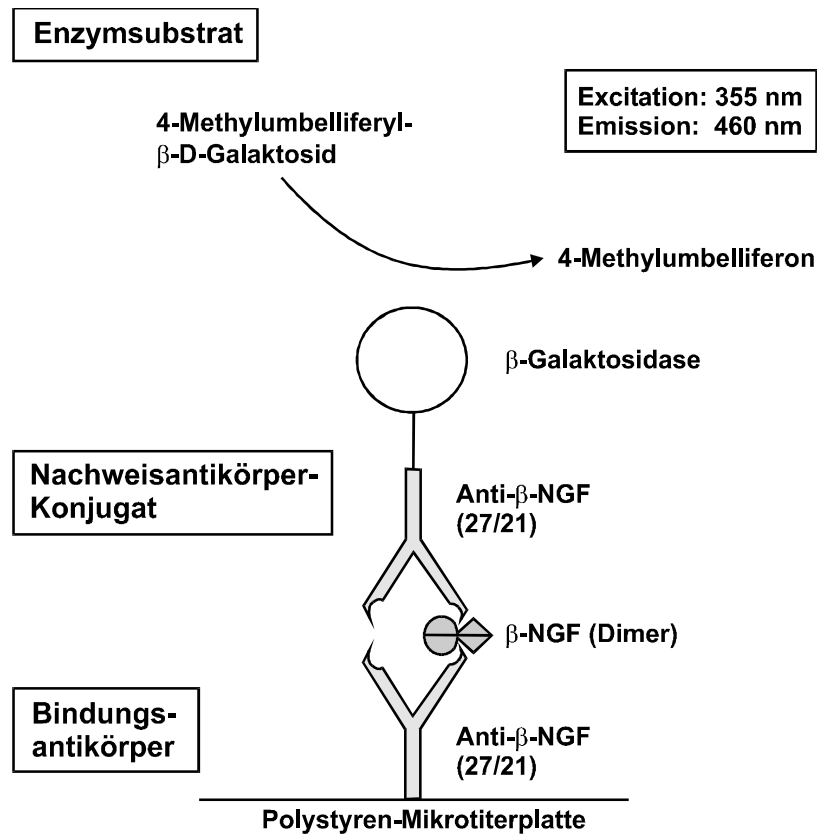


Abbildung 2: Schematische Darstellung eines ELISA. Prinzip des verbesserten „two-site“ NGF-ELISA, wie er für die dargestellte Untersuchung eingesetzt wurde. Schwarze Mikrotiterplatten werden mit dem ersten monoklonalen anti-NGF-Antikörper 27/21 beschichtet. Durch den Bindungsantikörper immobilisierter NGF wird durch den zweiten monoklonalen anti-NGF-Antikörper 27/21 nachgewiesen, der kovalent an das Enzym β -D-Galaktosidase gekoppelt ist. Die Intensität des fluorigenen enzymatischen Reaktionsproduktes 4-Methylumbelliferon ist direkt proportional der immobilisierten NGF-Menge modifiziert nach (Hellweg 1989; Hellweg and Jockers-Scherubl 1994).

3.4 Die Materialien

3.4.1 Antikörper

NGF-Antikörper:

- Anti- β -Antikörper (Klon 27/21) (Boehringer Mannheim)
- Anti- β -NGF-Antikörper (Klon 27/21)- β -Galaktosidase-Konjugat (Boehringer Mannheim)
- Maus- β -NGF-Antikörper (Boehringer Mannheim)
- Maus IgG1-Antikörper aus MOPC 21 (Sigma Chemicals, Deisenhofen)
- Methylumbelliferyl- β -D-Galaktosid (Sigma Chemicals, Deisenhofen)

BDNF-Antikörper:

- unspezifischer Maus IgG1-Antikörper (Sigma Chemicals, Deisenhofen)
- Anti-BDNF mAb (Promega GmbH)
- Anti-BDNF pAb (Promega GmbH)
- Anti-Chicken IgY, AP Conjugate (Promega GmbH)

3.4.2 Puffer

Coating-Puffer (0,05 M Carbonatpuffer pH 9,6):

Na₂CO₃ (MG 105,99): 5,3 g/l

NaHCO₃ (MG 84,01): 4,2 g/l

Mischung beider Lösungen 1 : 0,6, so dass pH 9,6 erzielt wird, 0,1% Azid hinzugefügt

Standard-/Konjugatpuffer (S/C-Puffer, Probenpuffer ohne PI):

0,05 M Tris-HCL pH 7,0

0,2 M NaCl

0,1 % Nonidet P-40 (NP 40)

1% bovines Serumalbumin (BSA)

0,1% Na-Azid

Waschpuffer:

0,05 M Tris-HCl pH 7,0

0,2 M NaCl

0,1% NP-40

0,75% Gelatine

0,1% Na-Azid

Homogenisierpuffer:

0,1 M Tris-HCl/0,4 M NaCl pH 7,0

0,1% NaN₃ (Azid)

Protease-Inhibitoren (1:100)

Protease-Inhibitor-Mix (PI):

4000 KU Aprotinin/ml: 0,666 mg/ml (Boehringer Mannheim)

20 mM Benzethoniumchlorid: 9,322 mg/ml (Serva, Heidelberg, MG 466,1)

200 mM Benzamidin (MG 174,6): 34,92 mg/ml

Aufnehmen in 400 mM EDTA (MG 336,2): 134,5 mg/ml (bei neutralem pH löslich)

Equilibrierpuffer:

0,2% NP-40 in Bidest

Substrat-Puffer BDNF (pH 8,7):

0,1 M Tris-HCl

1 mM MgCl₂

Substrat-Puffer NGF (pH 7,3):

0,1 M Natriumphosphat

1 mM MgCl₂

Stopp-Puffer (0,15 M Glycin pH 10,5):

Glycin (MG 75,07): 11,26 g/l

pH 10,5 mit ca 15-20 NaOH-Plätzchen einstellen

3.4.3 Geräte

- Branson-Sonicator „W 250“ mit flüssigkeitsgekühltem Titan-Becherresonator (Branson Sonic Power Company)

- Flurometer (Titertrek Fluroscan II, Labsystems Research Centre, Finnland, vertrieben in Deutschland durch Merlin (Diagnostika), Bornheim-Hersel

- Kühlzentrifuge (Cryofuge 6-6, Heraeus-Christ) mit Topfrotator hoher Probenkapazität
- Waschautomat (Accuwash 2 Microplate Processor, Tri-Continent Scientific Inc., Grass Valley, California, USA)

3.4.4 Sonstiges

- 1,5 ml Eppendorfgefäße, autoklaviert
- 4 ml Polysterol-Reagenzröhrchen (Greiner Labortechnik)
- Schwarze 96-Lochmikrotiterplatten (Micro-Fluor-B-Plates, Dynartech Laboratories Inc., Alexandria, Virginia, USA)
- Attophos TM Substrate Set (Boehringer Mannheim GmbH/Roche GmbH)
- BDNF-Neurotrophic Factor (Standard) (Sigma GmbH)
- Proteasen Inhibitoren Tabletten (Boehringer Mannheim GmbH/Roche GmbH)
- BDNF Emax Kit TM Immuno Assay (Promega GmbH)

3.5 Die Durchführung des ELISA

Zur Bestimmung der Konzentrationen von NGF und BDNF in den unterschiedlichen Gewebeproben nutzten wir eine hochsensitive und spezifische fluorometrische Bestimmungsmethode in Form eines für das jeweilige Neurotrophin optimierten ELISA, um die nur in geringen Konzentrationen von wenigen pg/mg Feuchtgewicht enthaltenen Neurotrophine zu messen. Das Grundprinzip des ELISA für die Bestimmung der Neurotrophinkonzentration ist identisch. Für jeden ELISA wird mit sechs Proben definierter NGF-/BDNF-Konzentration eine Eichkurve erstellt, die sogenannte Standardkurve. Anhand dieser Standardkurve wird eine Funktion errechnet, die aus den fluorometrisch erhobenen Messwerten der einzelnen Gewebeproben, die NGF-/BDNF-Konzentration in der jeweiligen Probe berechnet. Zur Vermeidung von Messfehlern wird bei jeder einzelnen Gewebeprobe die Wiederfindungsrate, die sogenannte „recovery“, bestimmt. Hierbei handelt es sich um ein Maß für NGF-/BDNF-Verluste während des ELISA. Ein solcher Verlust tritt beispielsweise durch die Bindung von NGF-/BDNF-Protein an im Homogenat vorhandene NGF-/BDNF-Rezeptoren oder Serumproteine auf. Hierzu wird eine bekannte Menge von exogenem NGF/BDNF dem Homogenat zugesetzt und deren Wiederfindungsrate bei der Auswertung der anderen Proben relativierend berücksichtigt.

Darüber hinaus wird auch die unspezifische Bindung bestimmt, d.h. es wurde der NGF-/BDNF-Anteil bestimmt, der sich aufgrund von unspezifischem Bindungsverhalten bindet. NGF-/BDNF-Protein kann beispielsweise aufgrund der basischen Struktur an die Polystyrolbeschichtung der Mikrotiterplatten binden. Zur Ermittlung dieser unspezifischen Bindung wird in den dafür vorgesehenen Probenlöchern die Polystyroloberfläche anstatt mit dem spezifischen Antikörper mit einem für die Bindung irrelevanten IgG-Antikörper beschichtet.

Um das methodisch bedingte Hintergrundrauschen in den Probenlöchern der Mikrotiterplatten zu berücksichtigen, werden ein spezifischer und ein unspezifischer Leerwert, der sogenannte „blank“ bestimmt. Hierzu wird nur Homogenisierungspuffer ohne einen Zusatz von NGF/BDNF als Probe verwendet, so dass ein entstandenes Signal nicht durch NGF/BDNF bedingt sein kann. Das auf diese Weise ermittelte Hintergrundrauschen kann in der Auswertung von den erhobenen Messwerten abgezogen werden. Zum Ausgleich der vorhandenen Streuung werden alle Proben vierfach bestimmt (Quadruplikate), die „blanks“ sogar sechsfach.

Zusammengefasst werden bei jedem durchgeführten ELISA der Standard, die spezifische Bindung, die unspezifische Bindung, die Wiederfindungsrate („recovery“), der spezifische und der unspezifische Leerwert („blank“) ermittelt. Im Detail unterscheiden sich die ELISA für NGF und BDNF durch unterschiedlich verwendete Antikörper und Reagenzien sowie durch unterschiedliche Inkubationszeiten. Im Folgenden werden die einzelnen ELISA genauer beschrieben.

3.5.1 Der NGF-ELISA (Gesamtdauer: 3 Tage)

Die Bestimmung der NGF-Konzentrationen in den verschiedenen Gewebeproben wird mittels eines fluorometrischen zweiseitigen Enzymimmunoassay durchgeführt (Hellweg et al. 1996; Hellweg et al. 1998; Hellweg 1989). Die zu den Homogenaten hinzugefügte „mean-recovery“ des Maus-NGF (125 pg/ml) lag zwischen 60% und 90%. Der NGF-Gehalt wurde als Äquivalent von Maus 2,5 S NGF ausgedrückt. Die Nachweisgrenze lag bei 0,25 pg/ml.

Erster Tag:

Zur Immobilisation der Antikörper auf der festen Phase der Mikrotiterplatten wurden jeweils 50 µl/well des Coating-Puffers für spezifische Signale (Anti-Mouse-β NGF Klon 27/21; Verdünnung 1:1000) und für unspezifische Signale (Maus IgG1; Verdünnung 1:2000) aufgetragen. Die Mikrotiterplatten wurden dann für 2-3 Stunden im Dunkeln bei

Raumtemperatur inkubiert. Während der Inkubationszeit wurden die zuvor in 1,2 ml Hpi-Puffer homogenisierten Gewebeproben aufgetaut und im Ultraschallbad für 2-3 Minuten beschallt, um noch vorhandene feste Bestandteile zu lösen. Diese Gewebeproben wurden dann in einem Verhältnis von 1:1 weiterverdünnt, indem 320 µl der homogenisierten Gewebeprobe und 320 µl des Hpi-Puffers in ein Eppendorfgefäß pipettiert wurden. Parallel dazu, wurden in ein zweites Gefäß eine definierte Menge NGF (250 pg) und je 200 µl jedes Homogenats pipettiert. Dieser zweite Probenansatz diente zur Bestimmung der Wiederfindungsrate („recovery“) von exogen zugefügtem NGF. Diese „recovery-Proben“ wurden im weiteren Verlauf identisch den Proben zur Bestimmung des endogenen NGF verarbeitet. Die Proben und die „recovery“ wurden anschließend bei 6000 U/min und 10° Celsius für 25 Minuten zentrifugiert, um eventuell noch vorhandene feste Bestandteile von der flüssigen Phase zu trennen. Nach dem Zentrifugieren wurden je 110 µl der „recovery-Proben“ und je 220 µl der Proben abpipettiert und im Verhältnis 1:1 mit dem Equilibrierpuffer vermischt. Nach dem Ablauf der Inkubationszeit, wurden die Mikrotiterplatten jeweils dreimal mit je 200 µl Waschpuffer/well gewaschen, um ungebundene Antikörper zu entfernen. Zur Erstellung einer Standardkurve wurde bei jedem NGF-ELISA ein NGF-Standard mit Konzentrationen von 1 ng bis 0,24 pg angesetzt. Nachdem der Waschpuffer aus den wells abgesaugt wurde, wurden die Proben, die Standards und „blanks“ mit jeweils 50 µl/well nach einem festen Schema aufgetragen. Die so präparierten Mikrotiterplatten wurden für 15-20 Stunden in einer festverschlossenen Kammer im Kühlschrank bei 4° Celsius inkubiert.

Zweiter Tag:

Die Mikrotiterplatten wurden zunächst dreimal mit je 200 µl Waschpuffer/well gewaschen. Danach wurden 50 µl des Anti-β-NGF-Galaktosidase Konjugats pro well aufgetragen. Die Mikrotiterplatten wurden dann erneut für 2 Stunden im Dunkeln bei Raumtemperatur inkubiert. Nach dem Ablauf der Inkubationszeit wurden die Mikrotiterplatten erneut dreimal mit je 200 µl Waschpuffer/well gewaschen und zweimal 150 µl Substratpuffer/well aufgetragen. Danach wurde das für das Enzym spezifische in Substratpuffer gelöste Substrat (0,2 mM Methyl-Umbelliferyl-β-D-Galaktosid) mit je 50 µl/well aufgetragen. Die Mikrotiterplatten wurden wiederum für 15-20 Stunden in einer festverschlossenen Kammer im Kühlschrank bei 4° Celsius inkubiert.

Dritter Tag:

Die Mikrotiterplatten wurden zunächst auf Raumtemperatur angewärmt. Danach wurden 200 µl des Stoppuffers pro well aufgetragen, um die Reaktion zu beenden, wobei das zuvor aufgetragene Gemisch nicht abgesaugt wurde. Nach der Zugabe des Stoppuffers wurden die Mikrotiterplatten fluorometrisch gemessen (Exitationswellenlänge: 355 nm, Emissionswellenlänge: 460 nm). Die Auswertung der Fluoreszenzdaten erfolgte mittels des Serocalc TM-Programms sowie eines eigens in unserem Labor entwickelten Excel-Programms, welches die Konzentrationen in pg/mg Feuchtwicht berechnet.

3.5.2 Der BDNF-ELISA (Gesamtdauer: 4 Tage)

Die Bestimmung der BDNF-Konzentrationen in den verschiedenen Gewebeproben wird mittels eines kommerziellen ELISA Kits nach Anweisung des Herstellers Promega durchgeführt, wobei die Methode an die fluorometrische Technik der NGF-Bestimmung angepasst wurde (Hellweg et al. 2003). Der BDNF-Gehalt wurde als Äquivalent von rekombinantem humanem BDNF ausgedrückt. Die Nachweisgrenze lag bei 1 pg/ml.

Erster Tag:

Zur Immobilisation der Antikörper auf der festen Phase der Mikrotiterplatten wurden jeweils 50 µl/well des Coating-Puffers für spezifische Signale (Anti-BDNFmAb; Verdünnung 1:750) und für unspezifische Signale (Maus IgG1; Verdünnung 1:2000) aufgetragen. Die Mikrotiterplatten wurden dann für 15-20 Stunden in einer festverschlossenen Kammer im Kühlschrank bei 4° Celsius inkubiert.

Zweiter Tag:

Während der Inkubationszeit wurden die zuvor in 1,2 ml Hpi-Puffer homogenisierten Gewebeproben aufgetaut und im Ultraschallbad für 2-3 Minuten beschallt, um noch vorhandene feste Bestandteile zu lösen. Diese Gewebeproben wurden dann in einem Verhältnis von 1:1 weiterverdünnt, indem 320 µl der homogenisierten Gewebeprobe und 320 µl des Hpi-Puffers in ein Eppendorfgefäß pipettiert wurden. Parallel dazu, wurden in ein zweites Gefäß eine definierte Menge BDNF (250 pg) und je 200 µl jedes Homogenats pipettiert. Dieser zweite Probenansatz diente zur Bestimmung der Wiederfindungsrate („recovery“) von exogen zugefügtem BDNF. Diese „recovery-Proben“ wurden im weiteren Verlauf identisch den Proben zur Bestimmung des endogenen BDNF verarbeitet. Die Proben

und die „recovery“ wurden anschließend bei 6000 U/min und 10° Celsius für 25 Minuten zentrifugiert, um eventuell noch vorhandene feste Bestandteile von der flüssigen Phase zu trennen. Nach dem Zentrifugieren wurden je 110 µl der „recovery-Proben“ und je 220 µl der Proben abpipettiert und im Verhältnis 1:1 mit dem Equilibrierpuffer vermischt. Nach dem Ablauf der Inkubationszeit, wurden die Mikrotiterplatten jeweils viermal mit je 200 µl Waschpuffer/well gewaschen, um ungebundene Antikörper zu entfernen. Zur Erstellung einer Standardkurve wurde bei jedem BDNF-ELISA ein BDNF-Standard mit Konzentrationen von 0,5 ng bis 0,69 pg angesetzt. Nachdem der Waschpuffer aus den wells abgesaugt wurde, wurden die Proben, die Standards und „blanks“ mit jeweils 50 µl/well nach einem festen Schema aufgetragen. Die so präparierten Mikrotiterplatten wurden für 15-20 Stunden in einer festverschlossenen Kammer im Kühlschrank bei 4° Celsius inkubiert.

Dritter Tag:

Die Mikrotiterplatten wurden zunächst viermal mit je 200 µl Waschpuffer/well gewaschen. Danach wurden 50 µl des Antikörpers Anti-BDNFpAb in einer Verdünnung von 1:5000 pro well aufgetragen. Die Mikrotiterplatten wurden dann erneut für 2 Stunden im Dunkeln bei Raumtemperatur inkubiert. Nach dem Ablauf der Inkubationszeit wurden die Mikrotiterplatten erneut viermal mit je 200 µl Waschpuffer/well gewaschen und je 50 µl des 3. Antikörpers Anti-BDNF IgY Chicken AP Conj aufgetragen. Die Mikrotiterplatten wurden für weitere 1,5 Stunden im Dunkeln bei Raumtemperatur inkubiert. Danach wurden die Mikrotiterplatten fünfmal mit je 200 µl Waschpuffer/well gewaschen und zweimal je 150 µl Substratpuffer/well aufgetragen. Danach wurde das für das Enzym spezifische Substrat Attophos-Workingsolution mit je 50 µl/well aufgetragen. Die Mikrotiterplatten wurden wiederum für 15-20 Stunden in einer feuchten Schublade auf sogenannten „Schwimmern“ bei Raumtemperatur inkubiert.

Vierter Tag:

Die Mikrotiterplatten wurden zunächst auf Raumtemperatur angewärmt. Danach wurden 200 µl des Stoppuffers pro well aufgetragen, um die Reaktion zu beenden, wobei das zuvor aufgetragene Gemisch nicht abgesaugt wurde. Nach der Zugabe des Stoppuffers wurden die Mikrotiterplatten fluorometrisch gemessen (Excitationswellenlänge: 485 nm, Emissionswellenlänge: 538 nm). Die Auswertung der Fluoreszenzdaten erfolgte mittels des Serocalc TM-Programms sowie eines eigens in unserem Labor entwickelten Excel-Programms, welches die Konzentrationen in pg/mg Feuchtgewicht berechnet.

3.6 Die statistische Auswertung

Die folgenden Daten werden als Mittelwerte +/- Standardabweichung präsentiert. Aufgrund des kleinen Probenumfangs wurden konservative nicht-parametrische Tests zur Testung auf interhemispherielle Unterschiede, des Gewichts der Proben und zur NGF- und BDNF-Konzentration verwendet (Wilcoxon`s matched pairs signed-ranks test). Die Unterschiede zwischen behandelten und unbehandelten Mäusen wurden mittels des Mann-Whitney-U-Test getestet. Alle Tests wurden mit einem zweiseitigen $p < 0,05$ durchgeführt. Wo notwendig, wurden die p-Werte für multiple Testung angepasst. Alle Analysen wurden mit der SAS version 9,1 für Windows durchgeführt.

4. Die Ergebnisse

4.1 Einfluss von Stress auf die NGF-Protein Konzentration im Hippocampus

Zum Nachweis des Einflusses von unvermeidbarem und unkontrollierbarem Stress auf die NGF-Protein Konzentration im Hippocampus wurde zu fest definierten Zeiten die NGF-Protein Konzentration im Vergleich zu den nicht gestressten Kontrolltieren bestimmt. Die Bestimmung der NGF-Protein Konzentration mittels ELISA ergab, dass sich die NGF-Protein Konzentration über den gesamten Beobachtungszeitraum im Vergleich zu den nicht gestressten Kontrolltieren durch den Stresseinfluss nicht beeinflussen ließ.

Zeitpunkt [h]	Frontaler Kortex	Hippocampus
0	Ns	Ns
3	Ns	Ns
6	0.0056	Ns
12	Ns	Ns
24	<i>0.0647</i>	Ns
48	Ns	Ns
168	Ns	Ns
336	Ns	Ns

Tabelle 2: Statistische Testung auf signifikante Unterschiede hinsichtlich der NGF-Konzentration im frontalen Kortex und im Hippocampus zwischen gestressten Tieren und den nicht gestressten Kontrolltieren.

Die NGF-Protein Konzentrationen wurden auf signifikante Unterschiede zu den fest definierten Zeitpunkten sowohl im Hippocampus als auch im frontalen Kortex in Bezug auf gestresste und nicht gestresste Kontrolltiere untersucht. Im Hippocampus waren keine signifikanten Unterschiede zwischen den NGF-Protein Konzentrationen der gestressten Tiere und der nicht gestressten Tiere während des gesamten Beobachtungszeitraumes darstellbar. Im frontalen Kortex hingegen war nach 6 Stunden ein signifikanter Unterschied zwischen der NGF-Protein Konzentration von gestressten Tieren zu den nicht gestressten Kontrolltieren nachweisbar ($p = 0.0056$).

4.2 Einfluss von Stress auf die NGF-Protein Konzentration im frontalen Kortex

Zum Nachweis des Einflusses von unvermeidbarem und unkontrollierbarem Stress auf die NGF-Protein Konzentration im frontalen Kortex wurde zu fest definierten Zeiten die NGF-Protein Konzentration im Vergleich zu den nicht gestressten Kontrolltieren bestimmt. Die Bestimmung der NGF-Protein Konzentration mittels ELISA ergab, dass unmittelbar nach Stresseinfluss, genauer genommen 0 Stunden und 3 Stunden nach dem Stresseinfluss, die NGF-Protein Konzentration im frontalen Kortex wie im Hippocampus unverändert zu den NGF-Protein Konzentrationen im frontalen Kortex der nicht gestressten Kontrolltiere blieb. 6 Stunden nach dem Stresseinfluss zeigte sich allerdings im frontalen Kortex der gestressten Tiere eine signifikante Abnahme der NGF-Protein Konzentration (1,89 pg/mg +/- 0,643) im Vergleich zu den nicht gestressten Kontrolltieren (8,19 pg/mg +/- 7,962). Dieser Effekt blieb auch nach Korrektur für multiple Testung signifikant ($p=0,0056$). Zu den nachfolgenden Zeitpunkten erreichte die NGF-Protein Konzentration der gestressten Tiere im frontalen Kortex wiederum die Konzentration des NGF-Proteins der nicht gestressten Kontrolltiere, so dass keine weiteren signifikanten Unterschiede im zeitlichen Verlauf in Bezug auf die NGF-Protein-Konzentration im frontalen Kortex nachweisbar waren.

Schock	N	Mean	SD	Min	Median	Max
Ja	12	1.893	0.643	0.830	1.995	3.030
Nein	9	8.198	7.962	1.400	4.930	25.570

Tabelle 3: Deskriptive Statistik für die NGF-Protein Konzentration im frontalen Kortex für den Zeitpunkt 6 Stunden der gestressten Tiere versus der nicht gestressten Kontrolltiere. Die NGF-Protein Konzentration im frontalen Kortex der gestressten Tiere beträgt 1,89 pg/mg +/- 0,643 im Vergleich zu den nicht gestressten Kontrolltieren mit 8,19 pg/mg +/- 7,962. Diese NGF-Protein Konzentrationsverminderung ist signifikant ($p=0,0056$).

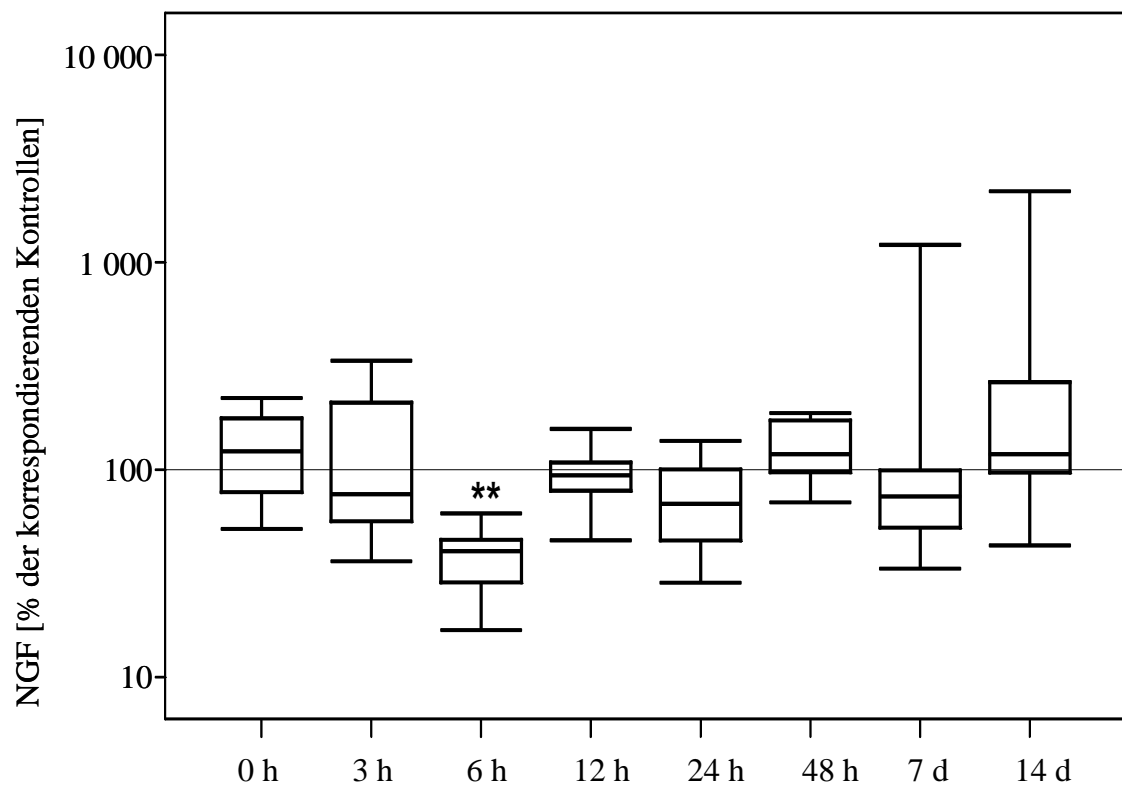


Abbildung 3: NGF-Protein Konzentration des frontalen Kortex in Prozent der korrespondierenden Kontrollen über den gesamten Beobachtungszeitraum.

Die NGF-Protein Konzentration im frontalen Kortex ist vorübergehend nach der Stressexposition reduziert. Die Box plots zeigen die NGF-Protein Konzentrationen des frontalen Kortex zu verschiedenen Zeitpunkten nach der Stressexposition. Die Daten werden in Prozent der korrespondierenden Kontrollen hinsichtlich des Zeitpunktes und der Hemisphäre (n=6) dargestellt. 0h ist der Zeitpunkt direkt nach den zwei Tagen andauernden Stressexposition. Die Konzentrationen des NGF-Proteins der gepoolten Kontrollen des rechten frontalen Kortex beträgt durchschnittlich 4,00 pg/mg, Median 2,95 pg/mg, SD 3,64 und des linken frontalen Kortex beträgt durchschnittlich 5,92 pg/mg, Median 3,44, SD 9,20. Die Sternchen zeigen eine signifikante Differenz zu den nicht gestressten Kontrolltieren an (** p<0.01).

4.3 Interhemispherielle Unterschiede der BDNF-Protein Konzentration im frontalen Kortex

Hinsichtlich möglicher Seitenunterschiede bezüglich der Neurotrophinkonzentration zwischen der rechten und der linken Hemisphäre wurden alle zu untersuchenden Gehirnregionen in Bezug auf ihre interhemispheriellen Unterschiede ihrer Neurotrophinkonzentrationen verglichen. Im rechten frontalen Kortex zeigte sich im Vergleich zum linken frontalen Kortex eine signifikant höhere BDNF-Protein Konzentration über den gesamten Beobachtungszeitraum. Die Konzentrationen des BDNF-Proteins lagen im rechten frontalen Kortex bis zu 200 – 300% über denen des linken frontalen Kortex. Auch nach Korrektur für multiple Testung blieb dieser Effekt statistisch signifikant für jeden Zeitpunkt ($p < 0,05$) der Beobachtung. Diese Seitendifferenzen hinsichtlich der BDNF-Protein Konzentration waren unabhängig von der Stressexposition nachweisbar. So waren sie sowohl bei den gestressten Tieren als auch bei den nicht gestressten Kontrolltieren nachweisbar. Um eine Abhängigkeit der nachgewiesenen interhemispheriellen Seitendifferenzen durch mögliche durch die Präparation bedingte Gewichtsunterschiede der einzelnen Proben auszuschließen, wurden die Probengewichtsunterschiede zu jedem Zeitpunkt und in beiden Gruppen, also sowohl bei den gestressten als auch bei den nicht gestressten Tieren, getestet. In der Gruppe der gestressten Tiere zum Zeitpunkt von 7 Tagen ließ sich ein signifikanter Unterschied im Probengewicht nachweisen. Das Probengewicht lag beim rechten frontalen Kortex bei 16,22 mg +/- 1,41 (Mittelwert +/- Standardabweichung) und beim linken frontalen Kortex bei 13,57 mg +/- 1,09 (Mittelwert +/- Standardabweichung). Für alle anderen definierten Zeitpunkte konnte kein signifikanter Probengewichtsunterschied nachgewiesen werden. Somit lässt sich die nachgewiesene Seitendifferenz der BDNF-Protein Konzentration im frontalen Kortex als real bezeichnen. Die Konzentrationen des NGF-Proteins im Hippocampus und im frontalen Kortex sowie die BDNF-Protein Konzentration im Hippocampus wiesen keine signifikanten Seitenunterschiede auf.

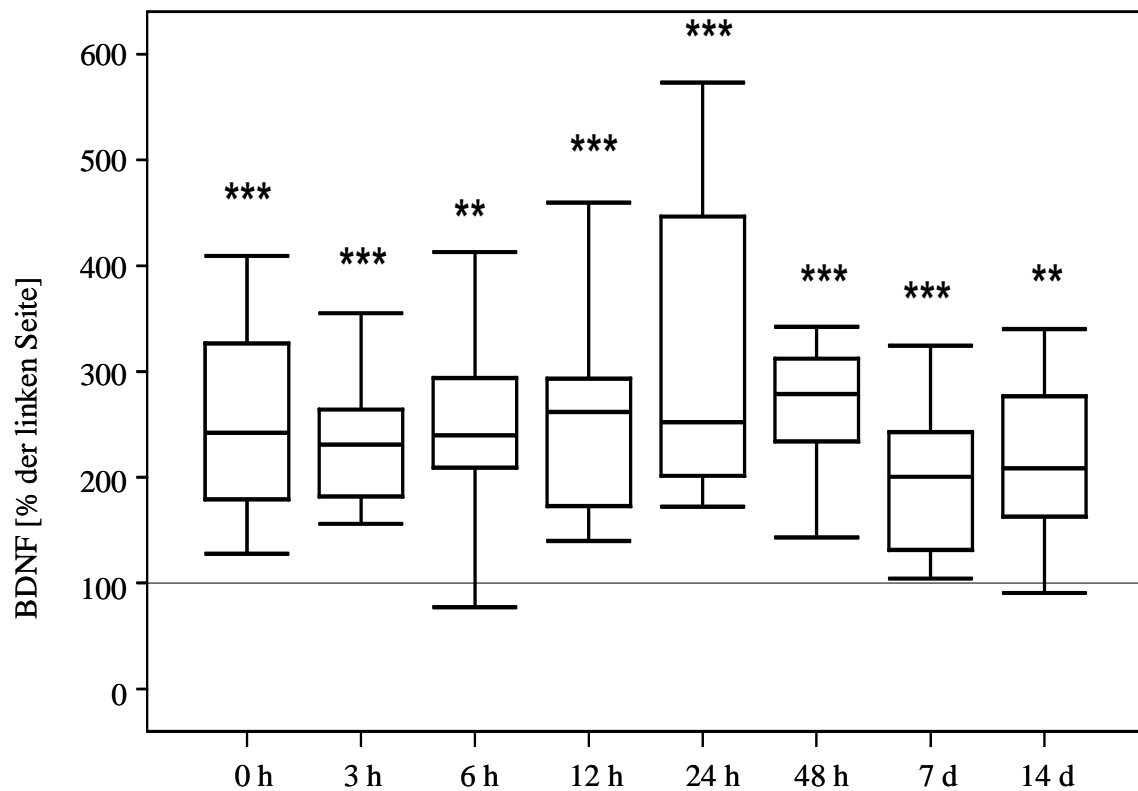


Abbildung 4: BDNF-Protein Konzentration des rechten frontalen Kortex in Prozent der BDNF-Protein Konzentration des linken frontalen Kortex.

Die Proben weisen eine gesteigerte rechtshemispherische Konzentration des BDNF-Protein im frontalen Kortex unabhängig von der Behandlung auf. Die Boxplots zeigen die BDNF-Protein Konzentration des rechten frontalen Kortex von gepoolten Versuchstieren (Kontrollen plus gestresste Tiere) ($n=12$) zu den verschiedenen Zeiten nach der Stressexposition (x-Achse). Die Daten werden als Prozentsatz von den gepoolten Daten des linken frontalen Kortex (Kontrollen plus gestresste Tiere) ($n=12$) zu den korrespondierenden Zeitpunkten nach der Stressexposition, welche im selben ELISA bestimmt wurden, angegeben. Die BDNF-Protein Konzentrationen der gepoolten linkshemispherischen frontalen Kortizes ($n=96$) belaufen sich auf durchschnittlich 19,30 pg/mg, Median 19,23 pg/mg, SD 9,97. Die Sternchen markieren eine signifikante Differenz im Vergleich zum linkshemispherischen frontalen Kortex (** $p<0,01$; *** $p<0,001$). Die statistischen Analysen wurden korrigiert für multiples Testen.

4.4 Einfluss von Stress auf die BDNF-Protein Konzentration im Hippocampus

Zum Nachweis des Einflusses von unvermeidbarem und unkontrollierbarem Stress auf die BDNF-Protein Konzentration im Hippocampus wurde zu fest definierten Zeiten die BDNF-Protein Konzentration im Vergleich zu den nicht gestressten Kontrolltieren bestimmt. Die Bestimmung der BDNF-Protein Konzentration mittels ELISA ergab, dass kein signifikanter Unterschied der BDNF-Protein Konzentration über den gesamten Beobachtungszeitraum zwischen den gestressten und den nicht gestressten Kontrolltieren nachweisbar war.

Zeit [h]	linker frontaler Kortex	rechter frontaler Kortex	Hippocampus
0	Ns	Ns	Ns
3	Ns	Ns	<i>0.0648</i>
6	Ns	Ns	Ns
12	Ns	Ns	Ns
24	Ns	Ns	Ns
48	Ns	Ns	Ns
168	Ns	Ns	Ns
336	Ns	Ns	Ns

Tabelle 4: Statistische Testung auf signifikante Unterschiede hinsichtlich der BDNF-Konzentration im linken frontalen Kortex, rechten frontalen Kortex und im Hippocampus zwischen gestressten Tieren und den nicht gestressten Kontrolltieren.

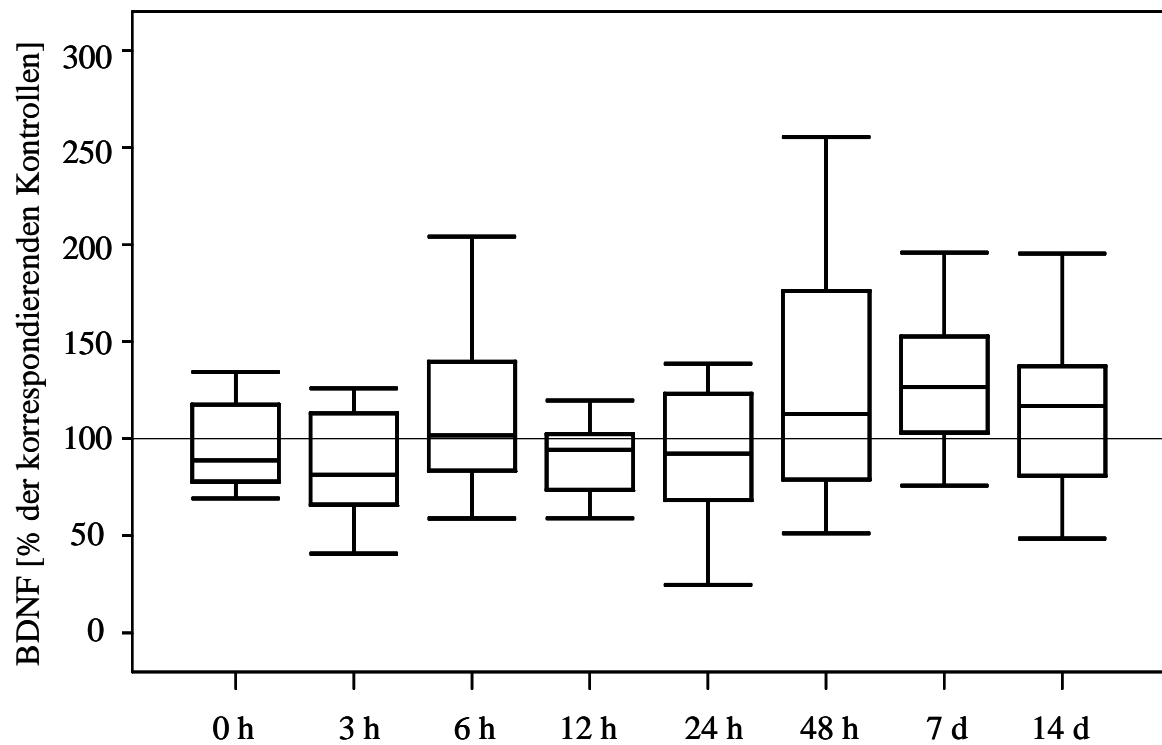


Abbildung 5: BDNF-Protein Konzentration des Hippocampus in Prozent der korrespondierenden Kontrollen.

Die BDNF- Protein Konzentration im Hippocampus bleibt während des gesamten Beobachtungszeitraumes nach der Stressexposition unverändert. Die Boxplots zeigen die BDNF-Protein Konzentrationen des Hippocampus zu verschiedenen Zeitpunkten nach der Stressexposition. Die Daten werden in Prozent der korrespondierenden Kontrollen hinsichtlich des Zeitpunktes und der Hemisphäre (n=6) dargestellt. 0h ist der Zeitpunkt direkt nach den zwei Tagen der Stressexposition.

4.5 Einfluss von Stress auf die BDNF-Protein Konzentration im frontalen Kortex

Zum Nachweis des Einflusses von unvermeidbarem und unkontrollierbarem Stress auf die BDNF-Protein Konzentration im frontalen Kortex wurde zu fest definierten Zeiten die BDNF-Protein Konzentration im Vergleich zu den nicht gestressten Kontrolltieren bestimmt. Die Bestimmung der BDNF-Protein Konzentration mittels ELISA ergab, dass keine signifikanten Unterschiede der BDNF-Protein zwischen den gestressten und den nicht gestressten Kontrolltieren über den gesamten Beobachtungszeitraum nachweisbar waren. Aufgrund der bereits oben beschriebenen signifikanten Seitendifferenz der BDNF-Protein Konzentration zu Gunsten des rechten frontalen Kortex unabhängig von einer Stressexposition wurde der Einfluss einer Stressexposition auf die BDNF-Protein Konzentration der frontalen Kortizes für jede Seite getrennt getestet.

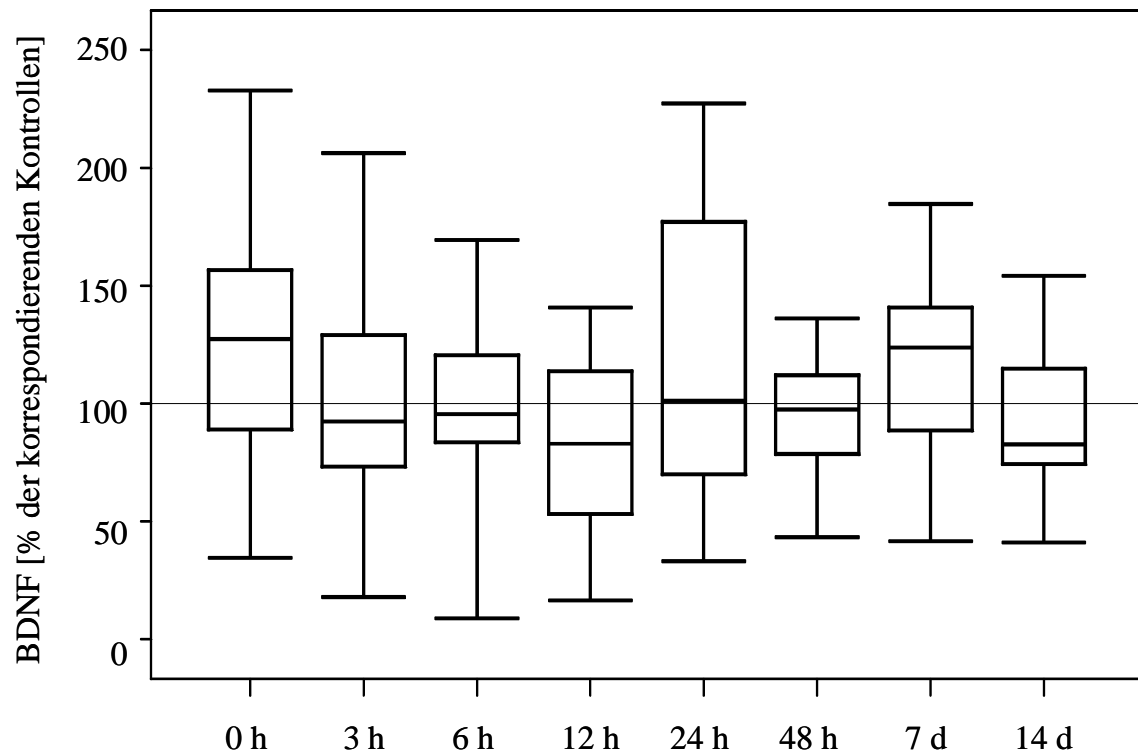


Abbildung 6: BDNF-Protein Konzentration des frontalen Kortex in Prozent der korrespondierenden Kontrollen.

Die BDNF-Protein Konzentration im frontalen Kortex bleibt während des gesamten Beobachtungszeitraumes nach der Stressexposition unverändert. Die Boxplots zeigen die BDNF-Protein Konzentrationen des frontalen Kortex zu verschiedenen Zeitpunkten nach der Stressexposition. Die Daten werden in Prozent der korrespondierenden Kontrollen hinsichtlich des Zeitpunktes und der Hemisphäre (n=6) dargestellt. 0h ist der Zeitpunkt direkt nach den zwei Tagen der Stressexposition. Die Konzentrationen des BDNF-Proteins der gepoolten Kontrollen des rechten frontalen Kortex beträgt durchschnittlich 48,13 pg/mg, Median 46,80 pg/mg, SD 16,96 und des linken frontalen Kortex beträgt durchschnittlich 19,62 pg/mg, Median 19,23, SD 10,87.

5. Die Diskussion

5.1 Einfluss von Stress auf die NGF-Protein Konzentration im Hippocampus und im frontalen Kortex

In unserer Arbeit zeigte sich eine Reduktion der NGF-Protein Konzentration im frontalen Kortex der Maus nach einer Stressexposition, angelehnt an das Stressmodell der erlernten Hilflosigkeit. Die Veränderungen der NGF-Protein Konzentration traten mit einer Latenz von 6 Stunden nach Stressexposition auf. Die Veränderung der NGF-Protein Konzentration war nur vorübergehend nachweisbar. Bereits nach 12 Stunden und über den restlichen Beobachtungszeitraum lagen die NGF-Protein Konzentrationen wiederum im Bereich der nicht gestressten Kontrolltiere. Zusammengefasst fand sich also eine mit Latenz einsetzende vorübergehende Reduktion der NGF-Protein Konzentration im frontalen Kortex. Diese Beobachtung stimmt mit ähnlichen Beobachtungen nach Stressexposition überein. So war in Versuchen mit Ratten nach Angsterzeugung durch schmerzhaft stimuli ebenfalls eine signifikante Reduktion der NGF-Protein Konzentration im frontalen Kortex und darüber hinaus in der Amygdala 2 Stunden nach Angsterzeugung nachweisbar (von Richthofen et al. 2003). Kontroverse Daten zeigen allerdings einen Anstieg der NGF-mRNA im Hippocampus nach einer oder mehreren Expositionen von Kältestress (Foreman et al. 1993). Nach einer sozialen Isolation fand sich eine unveränderte Konzentration von NGF (Spillantini et al. 1989).

Es ist bereits seit längerem bekannt, dass der Hippocampus und die Amygdala als zentrale Gehirnregionen der emotionalen Verarbeitung mit NGF an der Verarbeitung von Angst und an einer unverzüglichen Verhaltensantwort auf eine Stressexposition beteiligt sind (Hecker and Mesulam 1994; Herman and Cullinan 1997). Die hippocampale NGF-Protein Konzentration hat sich in unseren Untersuchungen nach der Stressexposition nicht signifikant verändert. In anderen Untersuchungen zeigte sich allerdings eine zu erwartende Reduktion der NGF-Protein Konzentration im Hippocampus nach einer Stressexposition (Scaccianoce et al. 2000; von Richthofen et al. 2003). Auch in einer neueren Studie war nach chronischer Stressexposition und auch nach längerfristiger Behandlung mit einem Antidepressivum keine Veränderung der NGF-Protein Konzentration im Hippocampus nachweisbar (Schulte-Herbruggen et al. 2009). Auch hinsichtlich einer stressinduzierten Veränderung der NGF-Protein Konzentration im Serum beim Menschen existieren widersprüchliche Daten. Auf der einen Seite wurden gesteigerte NGF-Protein Konzentrationen im Serum nach einer Stressexposition nachgewiesen (Aloe et al. 1994), zum anderen wurden unveränderte NGF-

Protein Konzentrationen im Serum nach einer Stressexposition nachgewiesen (Lang et al. 2004a). Anhand dieser Beobachtungen lässt sich die Hypothese formulieren, dass die NGF-Protein Konzentration im Serum womöglich abhängig von der Intensität unterschiedlicher Stressoren und von der Dauer einer Stressexposition ist. Allerdings existieren auch diesbezüglich widersprüchliche Daten. Denn akuter Stress führte sowohl zu einer gesteigerten NGF-Protein Konzentration als auch zu einer unveränderten Serumkonzentration, genauso wie eine chronische Stressexposition zu einer unveränderten Serumkonzentration von NGF führte (Aloe et al. 1994; Lang et al. 2004a; Schulte-Herbruggen et al. 2009). Eine Studie mit chronisch gestressten alten Erwachsenen beschrieb eine gesteigerte Serumkonzentration von NGF (Hadjiconstantinou et al. 2001), wobei im Gegensatz dazu eine Studie keinen Zusammenhang zwischen einer Depression und NGF in einer großen Gruppe von älteren Erwachsenen herstellen konnte (Ziegenhorn et al. 2007). Eine neuere postmortem Studie an Gehirnen von Suizidopfern wies wiederum eine verminderte NGF-Protein Konzentration im präfrontalen Kortex und im Hippocampus nach (Dwivedi et al. 2005).

In der Zusammenschau der Befunde kann man davon ausgehen, dass endogener Stress über die Aktivierung des HHA-Systems zu einer relevanten Reduktion der NGF-Expression führt. Bei adrenalekomierten Ratten konnte nämlich eine Steigerung der Synthese von NGF-mRNA nachgewiesen werden (Barbany and Persson 1992).

Stress könnte somit verantwortlich für ein insuffizientes Angebot an NGF-Protein sein, was funktionelle und morphologische Veränderungen der neurotrophinabhängigen Neurone nach sich ziehen würde.

Ein ähnlicher Zusammenhang konnte bei kognitiv beeinträchtigten gealterten Ratten gezeigt werden. In diesem Versuch war eine gestörte NGF Utilisation im Rattenhirn nachweisbar. Nach Gabe von NGF zeigten sich die kognitiven Defizite regredient. (Albeck et al. 2003).

So führte die antidepressive Therapie mit Lithium in unterschiedlichen Dosierungen zu einer Steigerung der NGF-Protein Konzentration im Bereich des Hippocampus, der Amygdala und des frontalen Kortex, wohingegen die NGF-Protein Konzentrationen, unter anderem im Striatum und im Hypothalamus, unverändert blieben (Hellweg et al. 2002). Ebenso konnte der Einfluss von Lithium auf die NGF-Protein Konzentration in verschiedenen Gehirnregionen bei Ratten in einem Modell der Depression gezeigt werden (Angelucci et al. 2003). Eine neuere Studie zeigt wiederum eine verminderte NGF-Konzentration nach Gabe von Escitalopram bei Ratten nach chronischer Stressexposition (Schulte-Herbruggen et al. 2009). Erstmalig wurde vor kurzem über den Einfluss antidepressiver Medikamente auf die NGF Serumkonzentration berichtet. Hierbei zeigte sich keine Veränderung der NGF

Serumkonzentration nach Gabe von Amitriptylin oder Paroxetin bei einem Patientenkollektiv mit einer depressiven Störung (Hellweg et al. 2008). Hellweg et al. schlussfolgern daraus, dass die nachweisbaren Veränderungen der NGF-Konzentrationen in den unterschiedlichen Gehirnregionen nach einer antidepressiven Therapie sich nicht notwendigerweise in Veränderungen der NGF Serumkonzentrationen widerspiegeln müssen, auch wenn es wahrscheinlich ist, dass auch NGF an den therapeutischen Effekten der unterschiedlichen antidepressiven Therapieformen beteiligt ist.

Zusammenfassend kann man sagen, dass das NGF-Protein an der Verarbeitung von Stress und im Rahmen einer depressiven Symptomatik beteiligt ist. Wiederum wird die NGF-Protein Konzentration durch eine effektive antidepressive Therapie beeinflusst. Dennoch scheint es notwendig, einen sehr differenzierten Blick auf die unterschiedlichen Regulationsmechanismen zu richten. Eine Verallgemeinerung für alle Gehirnregionen, für alle Stressoren und für alle Zeitpunkte scheint derzeit nicht möglich zu sein. Kommende Studien müssen die unterschiedlichen Gehirnregionen, den Zeitpunkt einer Stressexposition im Verlauf der Gehirnentwicklung, sowie die Art der Stressoren genauer differenzieren.

5.2 Einfluss von Stress auf die BDNF-Protein Konzentration im Hippocampus und im frontalen Kortex

In unserer Arbeit war eine unveränderte BDNF-Protein Konzentration nach Stressexposition sowohl im Hippocampus als auch im frontalen Kortex über den gesamten Beobachtungszeitraum nachweisbar. Es zeigten sich also im Vergleich zu den unbehandelten Kontrolltieren keine Unterschiede hinsichtlich der BDNF-Protein Konzentration. Laut der Neurotrophin-Hypothese der Depression spielt insbesondere der BDNF eine zentrale Rolle in der Pathogenese der Depression (Altar 1999; Duman et al. 1997). Demnach führen sowohl eine akute als auch eine chronische Stressexposition zu einer glukokortikoidvermittelten Suppression vom BDNF-Protein (Schaaf et al. 2000). Darüber hinaus konnte in zahlreichen Studien ein Zusammenhang zwischen depressionsähnlichem Verhalten bei Nagetieren nach einer Konfrontation mit den verschiedensten Stressoren und einer Suppression von BDNF-mRNA im Hippocampus hergestellt werden (Duman et al. 1997; Duman and Monteggia 2006; Smith et al. 1997b; Ueyama et al. 1997). So ist durch Stress im Rahmen einer Immobilisation bei den Versuchstieren sowohl nach akutem Stress (8 Stunden) als auch nach chronischem Stress (45 Minuten/ Tag für 7 Tage) eine signifikant verminderte hippocampale

BDNF-mRNA Konzentration nachweisbar. Die größte Reduktion zeigte sich hierbei im Gyrus dentatus und in der CA1 und CA3 Pyramidenzellschicht des Hippocampus (Nibuya et al. 1995; Smith et al. 1995b; Ueyama et al. 1997; Vaidya et al. 1997). Eine solche Reduktion der BDNF-mRNA Konzentration war auch durch andere Stressmodelle reproduzierbar (Barrientos et al. 2003; Pizarro et al. 2004; Rasmusson et al. 2002; Roceri et al. 2004).

Eine mögliche Erklärung für diese bestehende Diskrepanz zwischen einer verminderten BDNF-mRNA zum einen, und einer in unserer Arbeit unveränderten BDNF-Protein Konzentration liefern Untersuchungen, bei denen ein Missverhältnis zwischen der Konzentration der BDNF-mRNA und der Konzentration des BDNF-Protein beschrieben wurde (Conner et al. 1997; Jacobsen and Mork 2004). Hier konnte gezeigt werden, dass das BDNF-Protein zum einen über einen anterograden Transport zur Freisetzung in die Axonendigung gelangt, und dass das BDNF-Protein zum anderen von Neuronen freigesetzt wird und später über afferente Neurone durch einen axonalen Transport zum Wirkort transportiert wird (Ma et al. 1998), wodurch eine Diskrepanz zwischen der verminderten Konzentration der hippocampalen BDNF-mRNA und der unveränderten Konzentration des BDNF-Proteins zu verstehen wäre. Allerdings ist bis heute wenig bekannt über die Halbwertszeit und den Metabolismus der BDNF-mRNA und dessen encodierten BDNF-Proteins, um genauere Mechanismen zu beschreiben.

Dennoch bleibt die Regulation des BDNF nach Stressexposition umstritten. So führte eine chronische Stressexposition mittels sozialen Stresses zu einem signifikanten Anstieg der BDNF-Protein Konzentration sowohl im rechtshemispheriellen als auch im linkshemispheriellen Kortex. Nach Gabe eines SSRI lagen die Konzentrationen von BDNF wiederum im Bereich der Kontrolltiere (Schulte-Herbruggen et al. 2009). Diese Beobachtungen widersprechen einer Reduktion des BDNF, wie sie laut der sogenannten Neurotrophin-Hypothese zu erwarten wäre. Ähnliche Beobachtungen wurden von Branchi und Mitarbeitern gemacht, wo ebenfalls ein depressionsähnliches Verhalten bei Mäusen nach Stressexposition mit einer gesteigerten BDNF-Protein Konzentration im Hippocampus vergesellschaftet war (Branchi et al. 2006). Auch bei bulbektomierten Mäusen, welche ein depressionsähnliches Verhalten und ein beeinträchtigtes Serotoninsystem aufweisen, war eine gesteigerte BDNF-Konzentration im Hippocampus nachweisbar (Hellweg et al. 2007).

Des Weiteren spielen epigenetische Faktoren bei der Regulation der BDNF-Transkription eine entscheidende Rolle (Martinowich et al. 2003). Das humane BDNF-Gen ist wie bereits oben beschrieben hoch komplex. Es enthält 8 Exons, multiple Varianten durch alternatives Splicing, was zu einer Vielzahl von BDNF-Transkripten führt (Liu et al. 2006). In einem

Mausmodell führte Stress mittels „social defeat“ zu einer lang anhaltenden Suppression der BDNF-Transkripte III und IV im Hippocampus, was über eine vermehrte Dimethylierung des Histons 3 (H3) auf dem Chromatin des entsprechenden Promotors reguliert wurde. Die langfristige Gabe des Antidepressivums Imipramin wirkte dieser verminderten Transkription über eine Acetylierung des H3 entgegen (Tsankova et al. 2006). Es ist also zu berücksichtigen, dass Stress und antidepressive Therapien über eine differenzierte Regulation der verschiedenen BDNF-Transkripte unterschiedliche funktionelle Effekte induzieren können. Inwieweit diese differenzierte Regulation der BDNF-Transkription auch auf die verschiedenen Gehirnregionen zutrifft, muss in weiteren Studien untersucht werden. Denkbar wäre, dass unterschiedliche regionsspezifische Regulationsmechanismen zu einer unterschiedlichen Transkription durch ein und den selben Stressor führen.

Weitere Arbeiten beschäftigen sich mit einer Verbindung zwischen der Vulnerabilität an einer depressiven Störung zu erkranken und einem Einzelnukleotid-Polymorphismus in der 5'-Pro-Domäne des BDNF-Gens. Dieser ist bedingt durch die Substitution der Aminosäure Valin (Val) zu Methionin (Met) am Kodon 66 (Val66Met) (Sen et al. 2003). Die Studien zum Nachweis einer Verbindung zwischen dem Einzelnukleotid-Polymorphismus und einem erhöhten Risiko an einer Depression zu erkranken, lieferten bislang widersprüchliche Daten (Choi et al. 2006; Hong et al. 2003; Lang et al. 2005; Sen et al. 2003; Surtees et al. 2007; Tsai et al. 2003; Willis-Owen et al. 2005). In vitro ist dieser Einzelnukleotid-Polymorphismus mit einem verändertem Verpacken, Transport und einer veränderten Sekretion des BDNF assoziiert (Duman 2004). Erstmals konnten Lang und Mitarbeiter einen Zusammenhang zwischen der BDNF-Protein Serumkonzentration und dem Genotyp Val66Met beim Menschen aufzeigen. So waren verminderte BDNF-Protein Serumkonzentrationen bei gesunden Individuen mit dem Val/Val Allel im Vergleich zu Individuen mit dem Val/Met Allel nachweisbar (Lang et al. 2009). Diese Beobachtungen stimmen mit der Beobachtung überein, dass das Val-Allel bei depressiven Patienten überexprimiert wird (Sklar et al. 2002). Das Met-Allel ist wiederum mit einer veränderten intrazellulären Sekretion von BDNF und veränderten hippocampalen Strukturen und Funktionen assoziiert (Hariri et al. 2003). Ebenso ist bei Met/Met Mäusen eine gestörte Sekretion von BDNF nachweisbar, was zu einem vermehrten angeständlichem Verhalten führt und nicht durch die Gabe von Fluoxetin behandelbar ist (Chen et al. 2006). Dies führt zu der Hypothese, dass das Met-Allel die aktivitätsabhängige aber nicht die konstitutive BDNF-Protein Sekretion vermindert (Tramontina et al. 2007). Auf diese Weise könnte eine konstitutive Steigerung der BDNF-Serumkonzentrationen bei Trägern des Met-Allels die gestörte intrazelluläre BDNF-Protein

Konzentration kompensieren. Individuen mit einer verminderten BDNF-Protein Serumkonzentration und einem Val/Val Genotyp könnten demnach vulnerabler gegenüber Stressoren sein und eine depressive Symptomatik entwickeln, aber zugleich über eine Steigerung der BDNF-Protein Konzentration durch eine antidepressive Therapie der depressiven Symptomatik entgegenwirken.

Die Forderung nach einer differenzierteren Beurteilung in Bezug auf regionenspezifische Unterschiede der Veränderungen von Konzentrationen des BDNF-Proteins durch eine Stressexposition wird weiter untermauert. Es existieren nämlich Studien, in denen eine gesteigerte Konzentration von BDNF depressive Symptome verursacht. So weisen Mäuse, welche in einem Gemeinschaftsnetz aufwachsen, im Erwachsenenalter sowohl eine gesteigerte Konzentration von BDNF-Protein als auch ein depressionsähnliches Verhalten auf (Branchi et al. 2006). Eine andere Arbeit zeigt uns, dass eine gesteigerte Konzentration von BDNF depressiogene Effekte auslösen kann. Eine 7-tägige BDNF-Infusion in das ventrale tegmentale Areal (VTA) führt hierbei zu einer verkürzten Latenz bis zur Immobilität im „forced swim test“, was als pro-depressiogener Effekt gewertet werden kann (Eisch et al. 2003). Eine virale Blockade des BDNF-Rezeptors TrkB hingegen zeigt wiederum signifikante antidepressivähnliche Effekte (Eisch et al. 2003). Ebenso weisen Mäuse nach 10tägiger Stressexposition mittels „social defeat“ ein depressionsähnliches Verhalten gepaart mit einer gesteigerten BDNF-Protein Konzentration im Nucleus accumbens auf (Berton et al. 2006). Auch diese Entwicklung des depressionsähnlichen Verhaltens kann mittels einer viral-vermittelten VTA-spezifischen BDNF-Suppression unterdrückt werden. Diese Beobachtungen suggerieren, dass ein funktionstüchtiges BDNF-System im Bereich des VTA-Nac Signalweges von Nöten ist, um depressionsähnliche Symptome zu entwickeln (Berton et al. 2006) und das gesteigerte BDNF-Protein Konzentrationen in dieser Hirnregion Depression induzierend und nicht antidepressiv wirken. Die funktionelle Wirkung des BDNF im VTA-Nac-Signalweg stellt somit das genaue Gegenteil zu der funktionellen Wirkung des BDNF im Hippocampus dar (Siuciak et al. 1997). Einige Autoren sehen methodische Ursachen in diesen unterschiedlichen Beobachtungen (Kalueff et al. 2006), wohingegen es wahrscheinlicher ist, dass sich die komplexe Symptomatologie und Pathophysiologie der Depression auch in unterschiedlichen und regional spezifischen neurotrophinvermittelten Funktionen widerspiegelt (Berton et al. 2006).

Diese Beobachtungen werden unterstützt, wenn man sich auf zentrale Symptome einer Depression konzentriert. Hoffnungslosigkeit und Anhedonie zählen zu zentralen Symptomen

einer depressiven Störung. An diesen Symptomen sind zwei getrennte Systeme beteiligt. Zum einen das Stress-System, repräsentiert durch den Hippocampus und das HHA-System, sowie ein Belohnungssystem, repräsentiert durch die VTA-Nac- und den VTA-präfrontaler Kortex Signalweg. So führt die intrahippocampale Infusion von BDNF zu antidepressiven Effekten (Shirayama et al. 2002; Siuciak et al. 1997), wohingegen die Infusion in Bereich des VTA zu depressiogenen Effekten führt (Eisch et al. 2003). Dementsprechend wirkt die Blockade von TrkB-T1-Rezeptoren im Nucleus accumbens, dem Zielgebiet der dopaminergen Neuronen des VTA, antidepressiv (Eisch et al. 2003), ebenso die selektive Ausschaltung des BDNF-Gens im Nucleus accumbens durch die Injektion eines CRE-rekombinanten Virus bei Mäusen (Berton et al. 2006). Ein mögliches Erklärungsmodell, inwieweit ein und derselbe Faktor in unterschiedlichen Regionen unterschiedliche Wirkungen induzieren kann, bietet womöglich ein regionenspezifischer Unterschied in dem Metabolismus des BDNF. So besteht der Nucleus accumbens zum größten Teil aus GABAergen Interneuronen, welche nicht fähig sind, BDNF zu produzieren. Der notwendige BDNF wird von umgebenden Gliazellen produziert. Mögliche Unterschiede in der Kinetik der BDNF-Transkription und der BDNF-Sekretion in Neuronen und in Gliazellen könnten eventuell die unterschiedliche Wirkung im Hippocampus und im Nucleus accumbens erklären.

In einer post mortem Studie an Gehirnen von Suizidopfern war wiederum eine verminderte Konzentration des BDNF-Proteins und des TrkB-Rezeptors im präfrontalen Kortex und im Hippocampus, unabhängig von der zugrunde liegenden psychiatrischen oder neurologischen Diagnose, nachweisbar. Auch wenn das Modell der erlernten Hilflosigkeit kein anerkanntes Modell für Suizidtherorien darstellt, so ist eine vermehrte Suizidalität im Rahmen einer depressiven Symptomatik unumstritten (Bronisch 2003). Allerdings waren diese Veränderungen nur bei nicht medikamentös behandelten Suizidopfern nachweisbar, wohingegen zuvor medikamentös behandelte Suizidopfer eine unveränderte bis gesteigerte Konzentration von BDNF-Protein aufwiesen (Chen et al. 2001; Dwivedi et al. 2003; Karege et al. 2005).

In Untersuchungen mit depressiven Patienten und gesunden Kontrollpersonen zeigten sich reduzierte BDNF-Serumkonzentrationen bei den depressiven Patienten, wobei die BDNF-Serumkonzentrationen negativ mit dem Schweregrad der Depression korrelierten (Karege et al. 2002; Shimizu et al. 2003). Eine längerfristige antidepressive Therapie führte wiederum zu einer Steigerung der BDNF Serumkonzentration (Shimizu et al. 2003). In einer weiteren Studie mit gesunden Kontrollpersonen war eine negative Korrelation zwischen dem BDNF-Serumspiegel und dem depressionsbezogenen Persönlichkeitsfaktor Neurotizismus

nachweisbar (Lang et al. 2004b). Fasst man die Erkenntnisse über die BDNF Serumkonzentration nach Stressexposition beim Menschen zusammen, so deutet vieles daraufhin, dass es bei depressiven Störungen zu einer Reduktion der Serumkonzentration des BDNF kommt (Aydemir et al. 2006; Karege et al. 2002), welche durch eine antidepressive Therapie wieder ausgeglichen werden kann (Aydemir et al. 2006; Gonul et al. 2005; Huang et al. 2008). In weiteren Studien war nachzuweisen, dass die individuelle Serumkonzentration von BDNF oder auch von NGF allerdings keine verlässlichen Aussagen über das Auftreten einer Depression zulassen (Lommatzsch et al. 2006; Schulte-Herbruggen et al. 2007). Allerdings gibt es in Tiermodellen wiederum die Beobachtungen, dass eine chronische Stressexposition nicht zu veränderten BDNF Serumkonzentrationen führt und die BDNF Serumkonzentration auch nicht durch eine antidepressive Therapie beeinflusst wird (Schulte-Herbruggen et al. 2009). Man könnte davon ausgehen, dass nur eine bereits durch eine Stressexposition entstandene Veränderung der BDNF-Serumkonzentration durch eine antidepressive Pharmakotherapie ausgeglichen werden kann, ähnlich wie es beim Menschen nur zu antidepressiven Effekten durch eine antidepressive Pharmakotherapie kommt, wenn eine depressive Symptomatik vorliegt.

5.3 BDNF- zentrale Rolle in der antidepressiven Therapie

Eine BDNF-Infusion in das Mittelhirn, den Hippocampus oder in einen Seitenventrikel bei Ratten bewirkt antidepressive Effekte, vergleichbar mit konventionellen Antidepressiva (Hoshaw et al. 2005; Shirayama et al. 2002; Siuciak et al. 1997).

Ein Großteil der verschiedenen Antidepressiva steigert sowohl die BDNF-mRNA Expression als auch die BDNF-Protein Konzentration in den verschiedenen Regionen des Rattenhirns, insbesondere im Hippocampus und im präfrontalen Kortex (Duman and Monteggia 2006; Russo-Neustadt et al. 2000). Dieser Einfluss auf die BDNF-Konzentration ist für die Monaminoxidaseinhibitoren, die selektiven Serotoninwiederaufnahmehemmer, die Noradrenalinwiederaufnahmehemmer und für die trizyklischen Antidepressiva beschrieben (Coppell et al. 2003; De Foubert et al. 2004; Dias et al. 2003; Garza et al. 2004; Nibuya et al. 1995; Russo-Neustadt et al. 1999; Vinet et al. 2004). Allerdings sind diese Effekte erst nach einer längerfristigen Einnahme der verschiedenen Antidepressiva nachweisbar. Auch die wiederholte Anwendung elektrokonvulsiver Schocks, die mehrwöchige repetitive transkranielle Magnetstimulation (rTMS), ein Schlafentzug und körperliche Bewegung führen zu einer Steigerung der BDNF Konzentration (Altar et al. 2004; Angelucci et al. 2002;

Duman 1998; Hairston et al. 2004; Muller et al. 2000; Stewart and Reid 1993). Die tägliche Therapie mit elektrokonvulsiven Schocks bewirkte einen kontinuierlichen Anstieg der BDNF-Konzentration im Hippocampus und im präfrontalen Kortex (Altar et al. 2003). Zum anderen bewirkte eine Fluoxetin Gabe bei BDNF Met/Met und BDNF +/- Mäusen keine Besserung von ängstlichem Verhalten, was auf die zentrale Rolle eines intakten BDNF-TrkB-Signalweges im Rahmen einer antidepressiven Therapie hinweist (Chen et al. 2006). Neuere Studien zeigen eine Beeinflussung von stress-regulierten Genen, wie CREB und der neuronenspezifischen Enolase durch ein SSRI im dorsalen Raphekern (Abumaria et al. 2007). Allerdings gibt es auch hier wiederum widersprüchliche Daten. So bewirkt Escitalopram unter physiologischen Bedingungen eine Reduktion von BDNF im frontalen Kortex und im Hippocampus, woraufhin Lithium die BDNF Expression unter physiologischen Bedingungen bei Ratten induziert (Jacobsen and Mork 2004).

Neuere Medikamente, wie die AMPA-Rezeptor Agonisten und die NMDA-Rezeptor Antagonisten führen ebenfalls zu einer gesteigerten Konzentration von BDNF-mRNA und BDNF-Protein im Rattenhirn (Adlard et al. 2004; Altar et al. 2004; Lauterborn et al. 2003; Nibuya et al. 1995; Russo-Neustadt et al. 2004; Smith et al. 1997b). Die Gabe von NMDA-Antagonisten bewirkt bereits innerhalb von 2 Stunden deutliche antidepressive Effekte, welche aufgrund des zeitlichen Verlaufs durch dendritisches Wachstum und nicht durch die Veränderung der synaptischen Plastizität zustande gekommen sein müssten (Zarate et al. 2006). Inwieweit der BDNF in diese Vorgänge beteiligt ist, ist bislang unklar.

Derzeit wird noch kontrovers diskutiert, ob eine durch BDNF induzierte Neurogenese als ursächlich für die antidepressive Wirkung der unterschiedlichen antidepressiven Therapieverfahren betrachtet werden kann, oder ob es sich bei der gesteigerten BDNF-Konzentration lediglich um ein Epiphänomen handelt. Einige Untersuchungen widersprechen der Vorstellung des reinen Epiphänomens, da tierexperimentell nachgewiesen werden konnte, dass die verhaltensändernden Effekte einer antidepressiven Medikation durch die Blockade der antidepressiv induzierten Neurogenese im Hippocampus mittels Bestrahlung unterdrückt werden konnte (Santarelli et al. 2003). Zum anderen führt die bilaterale Infusion von BDNF in die Hippocampi im Tiermodell zu einer antidepressiven Wirkung (Siuciak et al. 1997). Allerdings scheint eine isolierte Veränderung der BDNF-Expression nicht auszureichen, um eine depressive Symptomatik hervorzurufen. So führte in einem Tiermodell eine verminderte BDNF-Expression unter Ruhebedingungen bei gleichzeitig normalen Glukokortikoidkonzentrationen zu einem adäquaten Verhalten in verschiedenen Verhaltenstests (Chourbaji et al. 2004). Eine neue Studie konnte wiederum zeigen, dass zwei

in der antidepressiven Therapie gängige Medikamente, nämlich Paroxetin und Amitriptylin, entgegengesetzte Wirkungen auf die BDNF Serumkonzentration ausüben (Hellweg et al. 2008) und keinen Einfluss auf die NGF-Serumkonzentration haben. So verminderte Paroxetin die BDNF-Serumkonzentration, wohingegen Amitriptylin die BDNF-Serumkonzentration steigerte. Dies lässt vermuten, dass die Veränderungen der BDNF-Serumkonzentration ein substanzspezifisches Phänomen darstellen und nicht generell im Rahmen einer effektiven antidepressiven Therapie nachweisbar sein müssen. Dies wird von der Beobachtung gestützt, dass im Tierversuch der selektive Noradrenalin Wiederaufnahmehemmer Reboxetin zu einer stärkeren Steigerung der hippocampalen BDNF-Expression führt als der selektive Serotonin Wiederaufnahmehemmer Citalopram (Russo-Neustadt et al. 2004). In einer weiteren Studie kam es durch Reboxetin und Imipramin, nicht aber durch Citalopram, zu einer Herunterregulation von β -Rezeptoren in Gehirnen von Ratten, was über das CREB zu einer Beeinflussung des BDNF-Signalweges führt (Holoubek et al. 2004). Es gibt also Anzeichen, dass insbesondere nicht serotonerge Antidepressiva zu einer Steigerung des BDNF-Gehaltes führen (Hellweg et al. 2008). Dies würde bedeuten, dass die unterschiedlichen Antidepressiva über unterschiedliche Signalwege zu einer Remission einer depressiven Symptomatik führen können. Dies würde wiederum bedeuten, dass eine alleinige Steigerung der Neurotrophine nicht notwendig und nicht ausreichend wäre, eine solche Remission herbeizurufen. Vielmehr müsste von einem komplexen Wechselspiel hinsichtlich der antidepressiven Wirkung zwischen neurotrophen Faktoren und den monoaminergen Systemen ausgegangen werden.

5.4 Hat die Neurotrophin-Hypothese der Depression noch Gültigkeit

Es stellt sich nun die Frage, wenn es im Rahmen einer gut etablierten Methode, angelehnt an die erlernte Hilflosigkeit, als ein Tiermodell für depressionsähnliches Verhalten, zu keiner stressinduzierten Reduktion des BDNF-Proteins im Hippocampus und im frontalen Kortex kommt, ob die zentrale Bedeutung von BDNF, wie von Duman und Altar postuliert, in der Neurotrophin-Hypothese weiterhin Gültigkeit behält. Es gilt als unumstritten, dass sowohl akuter als auch chronischer Stress zu einer Reduktion der endogenen Neurotrophinkonzentrationen beim Menschen führt, und dass eine längerfristige Stressexposition eine signifikante Atrophie des Hippocampus nach sich zieht (Duman 2004; McEwen 2000; Sapolsky 1996). Diese Erkenntnisse lenkten den Blick auf die Neurogenese (Duman 2005), wobei insbesondere die subventrikulären und die subgranulären Regionen des Gyrus dentatus als zentrale Regionen für eine Zellproliferation im adulten Gehirn anzusehen

sind (Gross 2000). Diese hippocampale Neurogenese ist von zentraler Bedeutung für einen ausgeglichenen Affekt (Dranovsky and Hen 2006). Der der Neurogenese zugrundeliegende komplexe Prozess aus einer komplexen Koordination und Regulation von Zellproliferation, Zellmigration, Zelldifferenzierung und Zelltod, wird entscheidend durch Neurotrophine, und hier insbesondere durch BDNF beeinflusst. Allerdings wird es notwendig, auch die anderen Neurotrophine, und hier insbesondere den NGF mit einzubeziehen.

Der BDNF und der TrkB-Rezeptor regulieren unter anderem über den Phosphatidylinositol 3-kinase/Akt Signalweg das neuronale Überleben. So ist zu vermuten, dass die durch eine Stressexposition verminderte BDNF-Protein Konzentration und eine konsekutive Reduktion der anti-apoptischen Regulation zu einem Absterben neuronaler Zellen oder zumindest zu einer Veränderung der synaptischen Plastizität führen. Diese morphologischen Veränderungen könnten wiederum zu einer Beeinflussung der hippocampalen Funktion führen, was sich phänotypisch als depressive Symptomatik äußern könnte (Almeida et al. 2005).

Wenn man von einer solch zentralen Rolle des BDNF in der Pathogenese der Depression ausgeht, liegt es nahe, genmanipulierte Versuchstiere zu untersuchen. Demnach führte eine komplette Ausschaltung des BDNF-Gens zu einer Vielzahl von Defekten und letztendlich zum embryonalen Tod (Ernfors et al. 1994). Eine für das BDNF-Gen heterozygote Maus wies im Verhältnis zur Wildtypmaus kein verändertes Verhalten, insbesondere keine depressionsähnliche Symptomatik auf. (Chourbaji et al. 2004; MacQueen et al. 2001; Saarelainen et al. 2003). Allerdings wiesen diese Mäuse in dem Modell der erlernten Hilflosigkeit ein depressionsähnliches Verhalten auf. Als möglicher Kritikpunkt sei aufgeführt, dass die Mäuse auch über ein reduziertes Schmerzempfinden verfügen, was ebenfalls das passive Verhalten auf elektrische Fußschocks erklären könnte (MacQueen et al. 2001). Dennoch ist festzuhalten, dass eine alleinige Reduktion der BDNF-Expression unzureichend ist, um spontan ein depressionsähnliches Verhalten zu induzieren. Eine weitere Möglichkeit wäre, dass die Reduktion des BDNF während der embryonalen Entwicklung kompensatorische Mechanismen induziert, welche wiederum das depressionsähnliche Verhalten verhindern. Mäuse, bei denen das BDNF-Gen erst 14-21 Tage nach der Geburt im Vorderhirn ausgeschaltet wird, zeigten nämlich ein depressionsähnliches Verhalten (Chan et al. 2006), so dass von Kompensationsmechanismen auszugehen ist, die die embryonale Reduktion des BDNF kompensieren.

Auch Knockout-Mäuse mit ausgeschalteten spezifischen Vorderhirn Trk-Rezeptoren oder mit überexprimierten unfunktionellen „truncated“ Isoformen zeigten kein depressions- oder

angstähnliches Verhalten (Saarelainen et al. 2003; Zorner et al. 2003). Anscheinend ist der Mangel an BDNF vielmehr als ein Prädispositionsfaktor für eine depressive Symptomatik zu verstehen, welcher im Zusammenspiel mit beispielsweise chronischem Stress zu einer Manifestation einer depressiven Symptomatik führen kann (Groves 2007). Diese Vermutung wird durch weitere Studien untermauert, bei denen Mäuse mit einer verminderten hippocampalen BDNF-Protein Konzentration und einer verminderten Expression von Glukokortikoidrezeptoren zunächst ein unauffälliges Verhalten aufweisen, aber nach Stressexposition eine vermehrte Hilflosigkeit zeigen. Andererseits bewirkte eine gesteigerte hippocampale Expression von Glukokortikoidrezeptoren eine gesteigerte hippocampale BDNF-Protein Konzentration (Ridder et al. 2005). Anhand dieser Beobachtungen lässt sich vermuten, dass eine stressinduzierte BDNF-Protein Konzentration erst durch additive Risikofaktoren, beispielsweise durch eine gleichzeitige Beeinträchtigung der Glukokortikoidrezeptorprozessierung, zustande kommt.

Mäuse mit einer gesteigerten BDNF-Expression zeigten ebenfalls ein vermehrtes angstähnliches Verhalten, kombiniert mit einer gesteigerten Spinogenesis der basolateralen Amygdala, vergleichbar mit Wildtypmäusen, welche einem Immobilisationsstress exponiert wurden (Govindarajan et al. 2006). Der Immobilisationsstress führte allerdings nicht zu einem Fortschreiten der zellulären Veränderungen. Hiermit ergibt sich ein Hinweis, dass BDNF protektiv gegenüber Stress in der Amygdala wirkt und auf diese Weise die Vulnerabilität für depressive Störungen reduzieren könnte. Darüber hinaus wird eine mögliche regionspezifische Wirkung von BDNF in der Pathophysiologie psychiatrischer Erkrankungen unterstrichen (Groves 2007).

Ein weiterer Einflussfaktor stellt das Geschlecht dar. So weisen weibliche BDNF-Knockout Mäuse im Vergleich zu männlichen BDNF-Knockout Mäusen ein depressionsähnliches Verhalten auf (Monteggia et al. 2007) auf. Eine andere Studie in der Ratten Stress mittels elektrischer Schwanzschocks ausgesetzt waren, zeigte ebenfalls das Geschlecht als ein Risikofaktor für die Entwicklung einer depressiven Symptomatik. Interessanterweise kam es durch eine solche Stressexposition zu einer ansteigenden BDNF-mRNA Konzentration in den Subregionen des präfrontalen Kortex nur bei männlichen Ratten, nicht hingegen bei weiblichen Ratten (Bland et al. 2005).

Eine verminderte Wirkung des trizyklischen Antidepressivums Desipramin ist wiederum sowohl bei den weiblichen als auch den männlichen Mäusen nachweisbar, wodurch die zentrale Rolle des BDNF im Rahmen von antidepressiven Therapieformen unterstrichen wird. In epidemiologischen Studien wurde bereits über einen bekannten sexuellen Dimorphismus

hinsichtlich einer Vulnerabilität für depressive Störungen berichtet (Kendler et al. 2004). Allerdings weist der fehlende depressive Phänotyp bei den männlichen BDNF-Knockout Mäusen wiederum auf die kontroversen Daten hinsichtlich der Bedeutung von BDNF im Rahmen der Affektregulation hin.

Neuere Studien betrachten die unterschiedlichen Wirkungen von pro-BDNF und mBDNF. So wurden entgegengesetzte biologische Wirkungen der pro-Neurotrophine und der maturen Neurotrophine beschrieben (Lu et al. 2005). Der spezifische Rezeptor für das mature BDNF-Protein, der TrkB-Rezeptor, spielt eine entscheidende Rolle in der Frühphase der LTP (Figurov et al. 1996). Dazu passt, dass die proteolytische Umwandlung von pro-BDNF zu mBDNF durch das tPA-Plasmin-System erforderlich ist für die TrkB-vermittelte Spätphase der LTP (Pang et al. 2004). Im Gegensatz zu diesen Effekten, im Sinne einer synaptischen Potenzierung, fördert pro-BDNF die LTD über eine Aktivierung des p75-Rezeptors und somit die synaptische Depression. Demnach steigert oder vermindert entweder die Aktivierung des TrkB-Rezeptors oder die des p75-Rezeptors das dendritische Wachstum (Zagrebelsky et al. 2005).

Der am Anfang der Neurotrophin-Hypothese bestehende Blick war auf die wachstumsfördernden und überlebensfördernden Effekte der verschiedenen Neurotrophine gerichtet (Duman and Monteggia 2006). Man weiß heutzutage jedoch, dass BDNF im adulten Gehirn wesentlich an der Regulation der synaptischen Plastizität beteiligt ist und nicht so sehr an der Vermittlung von neuronaler Morphologie und Lebensfähigkeit der Neurone. Stress beeinflusst die LTP im Hippocampus, wobei dieser Effekt durch verschiedene Antidepressiva abgeschwächt werden kann. Denkbar ist, dass die unterschiedlichen Antidepressiva zu einer Förderung des BDNF-TrkB-Signalweges beitragen und so gleichzeitig die LTP fördern. Akuter Stress wiederum kann die LTD im adulten Hippocampus induzieren (Xu et al. 1997). Neuere Studien weisen auf eine Korrelation zwischen Verhaltensstress und Induktion der LTD bei adulten Ratten hin (Holderbach et al. 2007). Eine Aktivierung des p75-Rezeptors durch pro-BDNF fördert selektiv die NMDA-Rezeptor abhängige LTD, nicht aber die LTP, im juvenilen Hippocampus (Woo et al. 2005). Die Hemmung des p75-Rezeptors hemmt selektiv die NMDA-Rezeptor abhängige LTD, nicht aber die LTP (Rosch et al. 2005). Unklar bleibt, ob die zu beobachtende LTD nach Stressexposition von einer veränderten Interaktion zwischen pro-BDNF und dem p75-Rezeptor abhängt, oder ob die Stressexposition zu einer vermehrten Sekretion von pro-BDNF oder zu einer vermehrten Expression des p75-Rezeptors im Hippocampus führt. Es steht jedoch fest, dass eine Interaktion zwischen pro-BDNF und dem p75-Rezeptor zu einer LTD und einer Atrophie dendritischer Verzweigung führt.

Interessanterweise ist die hippocampale Expression des p75-Rezeptors relativ niedrig, allerdings kommt es zu einer Zunahme der Expression unter anderem durch Ischämien (Roux et al. 1999). Es wäre also denkbar, dass die Expression des p75-Rezeptors unter Stressexposition und im Rahmen einer Depression gesteigert wird, was zu einer fortschreitenden Depression der synaptischen Plastizität im Hippocampus führen könnte.

Somit scheint sich die klinisch manifeste Depression nicht allein durch eine Reduktion des BDNF-Proteins zu entwickeln, sondern stellt vielmehr das Ergebnis von zahlreichen Beeinträchtigungen der unterschiedlichsten Signalwege dar. Die alleinige verminderte Aktivität des BDNF-TrkB-Signalweges kann durch die gesteigerte Aktivität anderer Wachstumsfaktoren und insbesondere anderer Neurotrophine kompensiert werden.

Des Weiteren entsteht aus dem Zusammenspiel genetischer Faktoren und einer Stressexposition eine depressionsähnliche Symptomatik, welche unabhängig vom BDNF-TrkB-Signalweg vermittelt wird. Allerdings scheint die antidepressive Therapie über eine kompensatorische Aktivierung des BDNF-TrkB-Signalweges der depressiven Symptomatik entgegenzuwirken.

Zusammengefasst muss man sagen, dass die ursprüngliche Neurotrophin-Hypothese der Depression erweitert werden muss. Auf der einen Seite ist eine verminderte Konzentration des BDNF mit der menschlichen Depression assoziiert. Zudem steigern klinisch erprobte Antidepressiva die Konzentration von BDNF und eine direkte BDNF-Infusion zeigt antidepressiv-ähnliche Effekte. Auf der anderen Seite warten eine Anzahl von pharmakologischen Studien mit Ergebnissen auf, die eine Unvereinbarkeit der einfachen Beziehung zwischen der BDNF-Konzentration und dem Affekt demonstrieren, was durch die Arbeiten mit BDNF-Knockout Mäusen und Populationsstudien hinsichtlich des Einzelnukleotid-Polymorphismus unterstrichen wird. Die Rolle des NGF, welche sich ebenfalls kontrovers darstellt, wurde in der bisherigen Neurotrophin-Hypothese nicht berücksichtigt. Kommende Studien sollten sich auch vermehrt mit dem Zusammenspiel dieser Neurotrophine in dem komplexen Wechselspiel befassen.

Castren et al. sehen BDNF weiterhin als einen entscheidenden Baustein in der Modulation aktivitätsabhängiger Plastizität in einem Emotionen verarbeitenden Netzwerk (Castren et al. 2007). In diesem Sinne wäre in Abhängigkeit von der regionenspezifisch vorherrschenden neuronalen Plastizität in hippocampalen, präfrontalen und mesolimbischen Signalwegen eine entgegengesetzte Wirkung von BDNF in den unterschiedlichen Gehirnregionen eher zu

verstehen. Inwieweit NGF ebenfalls unterschiedliche Wirkungen in den unterschiedlichen Gehirnregionen initiiert ist bislang noch nicht so differenziert untersucht.

Die Neurotrophine, insbesondere BDNF und NGF, sind womöglich als zentrale Modulatoren in einem dynamischen System bestehend aus synaptischer Potenzierung und synaptischer Depression zu verstehen. Eine Imbalance in einem solchen System stellt einen bedeutsamen ätiopathogenetischen Faktor in der Entstehung verschiedener psychischer Erkrankungen dar, so auch bei depressiven Störungen. Veränderungen der neuronalen Plastizität sind zum Teil BDNF-vermittelt und könnten so zu funktionellen und hirmorphologischen Veränderungen beitragen (Laske and Eschweiler 2006). Dieses würde bedeuten, dass eine längerfristige Imbalance neurotropher Faktoren zu einer Beeinträchtigung der synaptischen Funktion führt und so einen Verlust von Neuronen in unterschiedlichen Gehirnregionen mit sich bringt, was insbesondere für die Depression in Tiermodellen nachgewiesen wurde (Angelucci et al. 2004). Durch die Deprivationsforschung weiß man, dass frühkindliche Stressereignisse zu hirmorphologischen Veränderungen führen können, die zum Teil erst im Erwachsenenalter nachweisbar sind und als Vulnerabilitätsfaktoren für verschiedene psychische Erkrankungen im Alter zu verstehen sind. So führte die Isolation von Jungtieren von ihren Muttertieren über 24 Stunden im späteren Erwachsenenalter zu einem depressionsähnlichen Verhalten und zu einer subnormalen hippocampalen BDNF-Expression (Roceri et al. 2002). Hiermit wird deutlich, dass eine Stressexposition nicht immer unmittelbar zu Veränderungen der Neurotrophine und der Hirnmorphologie führen muss, sondern dass es auch zu später manifesten Veränderungen führen kann. Des Weiteren scheint auch der Zeitpunkt einer Stressexposition im Verlauf der Gehirnentwicklung relevant.

Eine Atrophie im Bereich des Hippocampus und des dorsolateralen präfrontalen Kortex wurden unabhängig von frühkindlichen Stressereignissen bei gesunden Trägern des Met-Allels des BDNF-Gens gefunden (Pezawas et al. 2004). Von entscheidender Bedeutung scheint auch hier wieder das Zusammenspiel genetischer Vulnerabilitätsfaktoren, des Zeitpunktes einer Stressexposition und das Stadium der Hirnentwicklung zu sein. Die vulnerablen Zeitpunkte unterscheiden sich von Hirnregion zu Hirnregion. Laske bezeichnet die hirmorphologischen Veränderungen als zerebralen „Locus minoris resistentiae“ (Laske and Eschweiler 2006). In der Folge werden durch die neuronale Plastizität inter- und intraindividuell heterogene Kompensationsmechanismen aktiviert. Im Zeitrahmen von Jahren bis Jahrzehnten können dann durch exogene Faktoren, beispielsweise durch Stress, die Kompensationsmechanismen dysreguliert werden und auf diese Art und Weise eine spezifische Erkrankung wie die Depression ausgelöst werden. Der häufig erwähnte

suppressierende Effekt von Stress und Glukokortikoiden auf die Expression von BDNF im Hippocampus wäre eine mögliche Erklärung für das häufig beobachtete Zusammenwirken von stressreichen Lebensereignissen und von der nachfolgenden Entwicklung depressiver Störungen (Brown et al. 1994). Auf der anderen Seite führt die längerfristige Einnahme von Antidepressiva im Tiermodell zu einer gesteigerten Expression von BDNF im Hippocampus. Als ursächlich für den antidepressiven Effekt einer gesteigerten BDNF-Expression kann die BDNF-induzierte Neurogenese verstanden werden, insbesondere in den für die Depression wichtigen Gehirnregionen wie Hippocampus und präfrontaler Kortex (Rajkowska 2000).

5.5 Interhemispherielle Unterschiede der BDNF-Protein Konzentration im frontalen Kortex

Wir konnten in unserer Arbeit erstmals einen interhemispheriellen Unterschied der BDNF-Protein Konzentration im frontalen Kortex nachweisen. Diese Seitendifferenz der BDNF-Protein Konzentration war unabhängig von einer Stressexposition nachweisbar. Es waren im rechten frontalen Kortex bis zu 200–300% der BDNF-Protein Konzentration des linken frontalen Kortex nachweisbar. Eine Abhängigkeit dieses Phänomens von der Präparationstechnik konnte weitestgehend ausgeschlossen werden. Bis zum jetzigen Zeitpunkt ist eine Assoziation zwischen interhemispheriellen und unterschiedlichen BDNF-Protein Konzentration nicht bekannt. Eine andere Studie konnte eine stressinduzierte Seitendifferenz bezüglich der Zellproliferation im Bereich des medialen präfrontalen Kortex nachweisen. Es kam zu einer gesteigerten Zellproliferation im Bereich des rechten medialen präfrontalen Kortex. Diese stressinduzierte Veränderung war nach Gabe von Fluoxetin reversibel (Czeh et al. 2007). Inwieweit diese strukturellen Veränderungen mit einer veränderten Neurotrophin Konzentration korrespondieren wurde nicht untersucht. In zukünftigen Untersuchungen muss bei der Interpretation der BDNF-Regulation im frontalen Kortex diese Tatsache berücksichtigt werden.

6. Die Zusammenfassung

Wir haben im Rahmen des Modells der „erlernten Hilflosigkeit“, einem gut definierten Modell zum Nachweis von neurobiologischen Veränderungen in der Pathophysiologie der Depression, die unterschiedlichen Proteinkonzentrationen, der Neurotrophine „nerve growth factor“ und des „brain-derived-neurotrophic factor“ in verschiedenen Gehirnregionen und zu verschiedenen Zeitpunkten untersucht. NGF und BDNF sind von essentieller Bedeutung für die Differenzierung und das Wachstum während der Entwicklungsphase des Gehirns sowie für das Überleben und die Funktion des erwachsenen Gehirns. Sie sind somit beide in die neurobiologischen Veränderungen bei physiologischen und pathologischen Reaktionen auf Stress involviert. Die Untersuchungen beinhalteten die Bestimmung der NGF-Protein und der BDNF-Protein Konzentration im frontalen Kortex und im Hippocampus von Mäusen. Die nach dem gut etablierten Modell der „erlernten Hilflosigkeit“ behandelten Mäuse wurden mit unbehandelten Kontrolltieren verglichen und über einen definierten Beobachtungszeitraum nach der Stressexposition (0 Stunden bis 14 Tage) beobachtet. Folgende Ergebnisse konnten in unseren Untersuchungen gesichert werden. Die NGF-Protein Konzentration im frontalen Kortex der behandelten Tiere war vorübergehend, genaugenommen 6 Stunden nach der Stressexposition, reduziert. Im weiteren Verlauf normalisierte sich die NGF-Protein Konzentration im frontalen Kortex wieder und glich sich der NGF-Protein Konzentration der Kontrolltiere an. Die NGF-Protein Konzentration im Hippocampus blieb über den gesamten Beobachtungszeitraum unverändert. Die BDNF-Protein Konzentration hingegen blieb sowohl im Hippocampus als auch im frontalen Kortex über den gesamten Beobachtungszeitraum unverändert. Allerdings konnten wir eine signifikante bis zu 200 – 300 % höhere BDNF-Protein Konzentration im rechten frontalen Kortex im Vergleich zum linken frontalen Kortex unabhängig von der Stressexposition und dem Zeitpunkt der Untersuchung aufzeigen. Obwohl wir in einem gut etablierten Modell der „erlernten Hilflosigkeit“ unveränderte zerebrale BDNF-Protein Konzentrationen nachgewiesen haben, stützen suffiziente Daten die Annahme, dass BDNF einen wichtigen Mediator im Rahmen der Pathophysiologie und Therapie der Depression darstellt. Man geht von der Annahme aus, dass additive Risikofaktoren für ein dysfunktionelles Stressmanagement nötig sind, um Veränderung der BDNF Protein Konzentrationen herbeizuführen. Die Beobachtung, dass die BDNF-Konzentration im rechten frontalen Kortex im Vergleich zu der Gegenseite signifikant erhöht ist, ist neu, und spiegelt womöglich eine intrazerebrale Seitendominanz wieder. Inwieweit

diese Beobachtung im Sinne einer möglichen Lateralisation im Rahmen einer depressiven Störung zu betrachten ist, ist bislang noch nicht verstanden.

Für das NGF-Protein konnten wir erneut zeigen, dass es zu einer Reduktion desselben im frontalen Kortex nach einer Stressexposition kommt. Neben der pathogenetischen Rolle von NGF im Rahmen von stressinduzierten depressiven Störungen, führt NGF darüber hinaus als Risikofaktor zu einem beschleunigten kognitiven Abbau nach einer Stressexposition bei cholinerg-beeinträchtigten Erkrankungen, wie z. B. der Demenz vom Alzheimer-Typ und der Alkoholkrankheit.

7. Abkürzungsverzeichnis

ACTH	Adrenokortikotropes Hormon
AMPA-Rezeptor	α -Amino-3-Hydroxy-5-Methylisoxazol-Propionsäure-Rezeptor
BDNF	Brain-Derived Neurotrophic Factor
cAMP	zyklisches Adenosinmonophosphat
CA-1/CA-3 Region	Regionen des Hippocampus
CGRP	Calcitonin Gene-Related Peptide
CRE/ CREB	cAMP-Reaktionselement/-Bindungsprotein
CRH	Kortikotropin-Releasing-Hormon
DNA	Desoxyribonucleic acid=DNS
EGF-Rezeptor	Epidermal growth factor-Rezeptor
ELISA	Enzyme-linked-immunosorbent assay
GABA	γ -Aminobuttersäure
HHA-System	hypothalamisches-hypophysäres-adrenales System
5-HT _{1D} -Rezeptor	5-Hydroxytryptamin(=Serotonin) _{1D} -Rezeptor
5-HTTPR	Funktioneller Polymorphismus des 5-HTT-Gens
IBZM-SPECT	Iodbenzamid-Einzelphotonentomographie (Single-Photon Emission Computed Tomography)
Kb	Kilobasen
kDa	KiloDalton
LTD	Langzeitdepression
LTP	Langzeitpotenzierung
m-BDNF	maturer Brain-Derived Neurotrophic Factor
mRNA	messenger ribonucleic acid
NAC	Nucleus accumbens
NGF	Nerve Growth Factor

NMDA-Rezeptor	N-Methyl-D-Aspartat-Rezeptor
NT-3/-4/-5/-7	Neurotrophin-3/-4/-5/-7
PKA	Proteinkinase A
pro-BDNF	pro-Brain-Derived-Neurotrophic Factor
rTMS	repetitive transkranielle Magnetstimulation
SSRI	Selektiver Serotoninwiederaufnahmemhemmer
tPA	gewebsspezifischer Plasminogenaktivator
Trk-/A-/B-/C-Rezeptor	Tyrosinkinaserzeptor
TrkB.FL	full length-Form des hochaffinen TrkB-Rezeptors
TrkB.T	truncated Form des hochaffinen TrkB-Rezeptors
VTA	Ventrales tegmentales Areal
WHO	Weltgesundheitsorganisation
ZNS	Zentralnervensystem

8. Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Stark vereinfachte Darstellung des Einflusses von Stress und antidepressiven Therapieformen auf die Expression des hippocampalen BDNF, der hippocampalen Funktion und der Stimmung	26
Abbildung 2: Schematische Darstellung eines ELISA. Prinzip des verbesserten „two-site“ NGF-ELISA	33
Abbildung 3: NGF-Protein Konzentration des frontalen Kortex in Prozent der korrespondierenden Kontrollen über den gesamten Beobachtungszeitraum.	44
Abbildung 4: BDNF-Protein Konzentration des rechten frontalen Kortex in Prozent der BDNF-Protein Konzentration des linken frontalen Kortex.....	46
Abbildung 5: BDNF-Protein Konzentration des Hippocampus in Prozent der korrespondierenden Kontrollen.	49
Abbildung 6: BDNF-Protein Konzentration des frontalen Kortex in Prozent der korrespondierenden Kontrollen.	50

9. Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Definition einer depressiven Episode nach dem Diagnosesystem ICD-10.....	6
Tabelle 2: Statistische Testung auf signifikante Unterschiede hinsichtlich der NGF-Konzentration im frontalen Kortex und im Hippocampus zwischen gestressten Tieren und den nicht gestressten Kontrolltieren.....	42
Tabelle 3: Deskriptive Statistik für die NGF-Protein Konzentration im frontalen Kortex für den Zeitpunkt 6 Stunden der gestressten Tiere versus der nicht gestressten Kontrolltiere.	43
Tabelle 4: Statistische Testung auf signifikante Unterschiede hinsichtlich der BDNF-Konzentration im linken frontalen Kortex, rechten frontalen Kortex und im Hippocampus zwischen gestressten Tieren und nicht gestressten Kontrolltieren...	47

10. Lebenslauf

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

11. Eigene Veröffentlichung

Schulte-Herbruggen, O., Chourbaji, S., Müller, H., Danker-Hopfe, H., Brandwein, C., Gass, P. and Hellweg, R. Differential regulation of nerve growth factor and brain-derived neurotrophic factor in a mouse model of learned helplessness. *Exp Neurol* (2006) 202(2):404-9.

12. Danksagung

Viele Menschen haben zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen. Ich möchte an dieser Stelle die Gelegenheit nutzen, all denen zu danken, die mich in den vergangenen Jahren unterstützt haben.

Ganz besonders danken möchte ich Herrn Prof. Dr. Rainer Hellweg für das Überlassen des Dissertationsthemas und des Weiteren für die stetige Unterstützung von der Idee über die Durchführung des experimentellen Teils bis zum Verfassen dieser Arbeit. Die geduldige Betreuung und Anleitung und die ständige Gesprächsbereitschaft haben wesentlich zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen.

Weiterhin möchte ich mich bei unseren Kooperationspartnern um die Arbeitsgruppe von Herrn Prof. Dr. Gass des Zentralinstituts für seelische Gesundheit in Mannheim bedanken. Mein besonderer Dank gilt Frau Dr. Chourbaji für die freundliche und fachlich kompetente Zusammenarbeit.

Frau Prof. Dr. Danker-Hopfe danke ich für die umfangreiche Hilfe und Beratung bezüglich der statistischen Analyse und Auswertung der Ergebnisse.

Bei Frau Bunge bedanke ich mich für die großartige Unterstützung während der Durchführung des experimentellen Teils dieser Arbeit.

Meinen Eltern danke ich für die stetige und großartige Unterstützung während meines Studiums und insbesondere während dieser Arbeit. Ohne diese Unterstützung stünde ich nicht an diesem Punkt.

Ganz besonderer Dank gilt meiner Lebensgefährtin Frau Dr. Anne-Katrin Köhler, die mich während dieser Arbeit stetig ermutigt hat, auch wenn das Ziel manchmal in weiter Ferne erschien.

13. Eidesstattliche Erklärung

Ich, Heiko Müller, erkläre, dass ich die vorgelegte Dissertationsschrift mit dem Thema: „Die Regulation des „nerve growth factor“ und des „brain-derived-neurotrophic factor“ im Hippocampus und im frontalen Kortex in einem Mausmodell der erlernten Hilflosigkeit“ selbst verfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel benutzt, ohne die unzulässige Hilfe Dritter verfasst und auch in Teilen keine Kopien anderer Arbeiten dargestellt habe.

Berlin, 19.03.2010

14. Literaturverzeichnis

- Abumaria, N., Rygula, R., Hiemke, C., et al. Effect of chronic citalopram on serotonin-related and stress-regulated genes in the dorsal raphe nucleus of the rat. *Eur Neuropsychopharmacol* (2007) 17(6-7):417-29.
- Acheson, A., Conover, J. C., Fandl, J. P., et al. A BDNF autocrine loop in adult sensory neurons prevents cell death. *Nature* (1995) 374(6521):450-3.
- Adlard, P. A., Perreau, V. M., Engesser-Cesar, C., et al. The timecourse of induction of brain-derived neurotrophic factor mRNA and protein in the rat hippocampus following voluntary exercise. *Neurosci Lett* (2004) 363(1):43-8.
- Albeck, D., Mesches, M. H., Juthberg, S., et al. Exogenous NGF restores endogenous NGF distribution in the brain of the cognitively impaired aged rat. *Brain Res* (2003) 967(1-2):306-10.
- Alfonso, J., Frasch, A. C., and Flugge, G. Chronic stress, depression and antidepressants: effects on gene transcription in the hippocampus. *Rev Neurosci* (2005) 16(1):43-56.
- Almeida, R. D., Manadas, B. J., Melo, C. V., et al. Neuroprotection by BDNF against glutamate-induced apoptotic cell death is mediated by ERK and PI3-kinase pathways. *Cell Death Differ* (2005) 12(10):1329-43.
- Aloe, L., Bracci-Laudiero, L., Alleva, E., et al. Emotional stress induced by parachute jumping enhances blood nerve growth factor levels and the distribution of nerve growth factor receptors in lymphocytes. *Proc Natl Acad Sci U S A* (1994) 91(22):10440-4.
- Altar, C. A. Neurotrophins and depression. *Trends Pharmacol Sci* (1999) 20(2):59-61.
- Altar, C. A., and DiStefano, P. S. Neurotrophin trafficking by anterograde transport. *Trends Neurosci* (1998) 21(10):433-7.
- Altar, C. A., Laeng, P., Jurata, L. W., et al. Electroconvulsive seizures regulate gene expression of distinct neurotrophic signaling pathways. *J Neurosci* (2004) 24(11):2667-77.
- Altar, C. A., Whitehead, R. E., Chen, R., et al. Effects of electroconvulsive seizures and antidepressant drugs on brain-derived neurotrophic factor protein in rat brain. *Biol Psychiatry* (2003) 54(7):703-9.
- Altieri, M., Marini, F., Arban, R., et al. Expression analysis of brain-derived neurotrophic factor (BDNF) mRNA isoforms after chronic and acute antidepressant treatment. *Brain Res* (2004) 1000(1-2):148-55.
- Angelucci, F., Aloe, L., Jimenez-Vasquez, P., et al. Electroconvulsive stimuli alter the regional concentrations of nerve growth factor, brain-derived neurotrophic factor, and glial cell line-derived neurotrophic factor in adult rat brain. *J Ect* (2002) 18(3):138-43.
- Angelucci, F., Aloe, L., Jimenez-Vasquez, P., et al. Lithium treatment alters brain concentrations of nerve growth factor, brain-derived neurotrophic factor and glial cell line-derived neurotrophic factor in a rat model of depression. *Int J Neuropsychopharmacol* (2003) 6(3):225-31.
- Angelucci, F., Mathe, A. A., and Aloe, L. Neurotrophic factors and CNS disorders: findings in rodent models of depression and schizophrenia. *Prog Brain Res* (2004) 146:151-65.
- Anton, E. S., Weskamp, G., Reichardt, L. F., et al. Nerve growth factor and its low-affinity receptor promote Schwann cell migration. *Proc Natl Acad Sci U S A* (1994) 91(7):2795-9.

- Aydemir, C., Yalcin, E. S., Aksaray, S., et al. Brain-derived neurotrophic factor (BDNF) changes in the serum of depressed women. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* (2006) 30(7):1256-60.
- Bamji, S. X., Majdan, M., Pozniak, C. D., et al. The p75 neurotrophin receptor mediates neuronal apoptosis and is essential for naturally occurring sympathetic neuron death. *J Cell Biol* (1998) 140(4):911-23.
- Barbacid, M. Neurotrophic factors and their receptors. *Curr Opin Cell Biol* (1995) 7(2):148-55.
- Barbany, G., and Persson, H. Regulation of Neurotrophin mRNA Expression in the Rat Brain by Glucocorticoids. *Eur J Neurosci* (1992) 4(5):396-403.
- Barde, Y. A. Trophic factors and neuronal survival. *Neuron* (1989) 2(6):1525-34.
- Barrett, G. L. The p75 neurotrophin receptor and neuronal apoptosis. *Prog Neurobiol* (2000) 61(2):205-29.
- Barrientos, R. M., Sprunger, D. B., Campeau, S., et al. Brain-derived neurotrophic factor mRNA downregulation produced by social isolation is blocked by intrahippocampal interleukin-1 receptor antagonist. *Neuroscience* (2003) 121(4):847-53.
- Bayer, T. A., Schramm, M., Feldmann, N., et al. Antidepressant drug exposure is associated with mRNA levels of tyrosine receptor kinase B in major depressive disorder. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* (2000) 24(6):881-8.
- Benkelfat, C., Ellenbogen, M. A., Dean, P., et al. Mood-lowering effect of tryptophan depletion. Enhanced susceptibility in young men at genetic risk for major affective disorders. *Arch Gen Psychiatry* (1994) 51(9):687-97.
- Berman, R. M., Narasimhan, M., Miller, H. L., et al. Transient depressive relapse induced by catecholamine depletion: potential phenotypic vulnerability marker? *Arch Gen Psychiatry* (1999) 56(5):395-403.
- Berman, R. M., Sanacora, G., Anand, A., et al. Monoamine depletion in unmedicated depressed subjects. *Biol Psychiatry* (2002) 51(6):469-73.
- Berridge, K. C., and Robinson, T. E. Parsing reward. *Trends Neurosci* (2003) 26(9):507-13.
- Berton, O., McClung, C. A., Dileone, R. J., et al. Essential role of BDNF in the mesolimbic dopamine pathway in social defeat stress. *Science* (2006) 311(5762):864-8.
- Bibel, M., Hoppe, E., and Barde, Y. A. Biochemical and functional interactions between the neurotrophin receptors trk and p75NTR. *Embo J* (1999) 18(3):616-22.
- Bland, S. T., Schmid, M. J., Der-Avakian, A., et al. Expression of c-fos and BDNF mRNA in subregions of the prefrontal cortex of male and female rats after acute uncontrollable stress. *Brain Res* (2005) 1051(1-2):90-9.
- Blier, P., and de Montigny, C. Current advances and trends in the treatment of depression. *Trends Pharmacol Sci* (1994) 15(7):220-6.
- Branchi, I., D'Andrea, I., Sietzema, J., et al. Early social enrichment augments adult hippocampal BDNF levels and survival of BrdU-positive cells while increasing anxiety- and "depression"-like behavior. *J Neurosci Res* (2006) 83(6):965-73.
- Brody, A. L., Saxena, S., Stoessel, P., et al. Regional brain metabolic changes in patients with major depression treated with either paroxetine or interpersonal therapy: preliminary findings. *Arch Gen Psychiatry* (2001) 58(7):631-40.

- Bronisch, T. Depression and suicidal behavior. *Crisis* (2003) 24(4):179-80.
- Brown, G. W., Harris, T. O., and Hepworth, C. Life events and endogenous depression. A puzzle reexamined. *Arch Gen Psychiatry* (1994) 51(7):525-34.
- Bruder, G. E., Stewart, J. W., Tenke, C. E., et al. Electroencephalographic and perceptual asymmetry differences between responders and nonresponders to an SSRI antidepressant. *Biol Psychiatry* (2001) 49(5):416-25.
- Carter, B. D., Dechant, G., Frade, J. M., et al. Neurotrophins and their p75 receptor. *Cold Spring Harb Symp Quant Biol* (1996) 61:407-15.
- Cartwright, M., Mikheev, A. M., and Heinrich, G. Expression of neurotrophin genes in human fibroblasts: differential regulation of the brain-derived neurotrophic factor gene. *Int J Dev Neurosci* (1994) 12(8):685-93.
- Castren, E., Voikar, V., and Rantamaki, T. Role of neurotrophic factors in depression. *Curr Opin Pharmacol* (2007) 7(1):18-21.
- Chan, J. P., Unger, T. J., Byrnes, J., et al. Examination of behavioral deficits triggered by targeting Bdnf in fetal or postnatal brains of mice. *Neuroscience* (2006) 142(1):49-58.
- Chao, H. M., Sakai, R. R., Ma, L. Y., et al. Adrenal steroid regulation of neurotrophic factor expression in the rat hippocampus. *Endocrinology* (1998) 139(7):3112-8.
- Chen, B., Dowlatsahi, D., MacQueen, G. M., et al. Increased hippocampal BDNF immunoreactivity in subjects treated with antidepressant medication. *Biol Psychiatry* (2001) 50(4):260-5.
- Chen, Z. Y., Jing, D., Bath, K. G., et al. Genetic variant BDNF (Val66Met) polymorphism alters anxiety-related behavior. *Science* (2006) 314(5796):140-3.
- Choi, M. J., Kang, R. H., Lim, S. W., et al. Brain-derived neurotrophic factor gene polymorphism (Val66Met) and citalopram response in major depressive disorder. *Brain Res* (2006) 1118(1):176-82.
- Chourbaji, S., Hellweg, R., Brandis, D., et al. Mice with reduced brain-derived neurotrophic factor expression show decreased choline acetyltransferase activity, but regular brain monoamine levels and unaltered emotional behavior. *Brain Res Mol Brain Res* (2004) 121(1-2):28-36.
- Chourbaji, S., Zacher, C., Sanchis-Segura, C., et al. Learned helplessness: validity and reliability of depressive-like states in mice. *Brain Res Brain Res Protoc* (2005) 16(1-3):70-8.
- Conner, J. M., Lauterborn, J. C., Yan, Q., et al. Distribution of brain-derived neurotrophic factor (BDNF) protein and mRNA in the normal adult rat CNS: evidence for anterograde axonal transport. *J Neurosci* (1997) 17(7):2295-313.
- Conti, A. C., Cryan, J. F., Dalvi, A., et al. cAMP response element-binding protein is essential for the upregulation of brain-derived neurotrophic factor transcription, but not the behavioral or endocrine responses to antidepressant drugs. *J Neurosci* (2002) 22(8):3262-8.
- Coppell, A. L., Pei, Q., and Zetterstrom, T. S. Bi-phasic change in BDNF gene expression following antidepressant drug treatment. *Neuropharmacology* (2003) 44(7):903-10.
- Craddock, N., and Jones, I. Genetics of bipolar disorder. *J Med Genet* (1999) 36(8):585-94.
- Crowley, C., Spencer, S. D., Nishimura, M. C., et al. Mice lacking nerve growth factor display perinatal loss of sensory and sympathetic neurons yet develop basal forebrain cholinergic neurons. *Cell* (1994) 76(6):1001-11.

- Czeh, B., Muller-Keuker, J. I., Rygula, R., et al. Chronic social stress inhibits cell proliferation in the adult medial prefrontal cortex: hemispheric asymmetry and reversal by fluoxetine treatment. *Neuropsychopharmacology* (2007) 32(7):1490-503.
- Davidson, R. J., Pizzagalli, D., Nitschke, J. B., et al. Depression: perspectives from affective neuroscience. *Annu Rev Psychol* (2002) 53:545-74.
- Davies, A. M. The neurotrophic hypothesis: where does it stand? *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* (1996) 351(1338):389-94.
- De Foubert, G., Carney, S. L., Robinson, C. S., et al. Fluoxetine-induced change in rat brain expression of brain-derived neurotrophic factor varies depending on length of treatment. *Neuroscience* (2004) 128(3):597-604.
- de Kloet, E. R. Stress in the brain. *Eur J Pharmacol* (2000) 405(1-3):187-98.
- Demyttenaere, K., Bruffaerts, R., Posada-Villa, J., et al. Prevalence, severity, and unmet need for treatment of mental disorders in the World Health Organization World Mental Health Surveys. *Jama* (2004) 291(21):2581-90.
- Dias, B. G., Banerjee, S. B., Duman, R. S., et al. Differential regulation of brain derived neurotrophic factor transcripts by antidepressant treatments in the adult rat brain. *Neuropharmacology* (2003) 45(4):553-63.
- Dranovsky, A., and Hen, R. Hippocampal neurogenesis: regulation by stress and antidepressants. *Biol Psychiatry* (2006) 59(12):1136-43.
- Drevets, W. C. Neuroimaging and neuropathological studies of depression: implications for the cognitive-emotional features of mood disorders. *Curr Opin Neurobiol* (2001) 11(2):240-9.
- Drevets, W. C., Price, J. L., Simpson, J. R., Jr., et al. Subgenual prefrontal cortex abnormalities in mood disorders. *Nature* (1997) 386(6627):824-7.
- Duman, R. S. Novel therapeutic approaches beyond the serotonin receptor. *Biol Psychiatry* (1998) 44(5):324-35.
- Duman, R. S. Depression: a case of neuronal life and death? *Biol Psychiatry* (2004) 56(3):140-5.
- Duman, R. S. Neurotrophic factors and regulation of mood: role of exercise, diet and metabolism. *Neurobiol Aging* (2005) 26 Suppl 1:88-93.
- Duman, R. S., Heninger, G. R., and Nestler, E. J. A molecular and cellular theory of depression. *Arch Gen Psychiatry* (1997) 54(7):597-606.
- Duman, R. S., Malberg, J., and Thome, J. Neural plasticity to stress and antidepressant treatment. *Biol Psychiatry* (1999) 46(9):1181-91.
- Duman, R. S., and Monteggia, L. M. A neurotrophic model for stress-related mood disorders. *Biol Psychiatry* (2006) 59(12):1116-27.
- Duman, R. S., and Vaidya, V. A. Molecular and cellular actions of chronic electroconvulsive seizures. *J Ect* (1998) 14(3):181-93.
- Dunn, A. J., and Berridge, C. W. Physiological and behavioral responses to corticotropin-releasing factor administration: is CRF a mediator of anxiety or stress responses? *Brain Res Brain Res Rev* (1990) 15(2):71-100.
- Dwivedi, Y., Mondal, A. C., Rizavi, H. S., et al. Suicide brain is associated with decreased expression of neurotrophins. *Biol Psychiatry* (2005) 58(4):315-24.

- Dwivedi, Y., Rizavi, H. S., Conley, R. R., et al. Altered gene expression of brain-derived neurotrophic factor and receptor tyrosine kinase B in postmortem brain of suicide subjects. *Arch Gen Psychiatry* (2003) 60(8):804-15.
- Ebadi, M., Bashir, R. M., Heidrick, M. L., et al. Neurotrophins and their receptors in nerve injury and repair. *Neurochem Int* (1997) 30(4-5):347-74.
- Ebert, D., and Lammers, C. H. [The central dopaminergic system and depression]. *Nervenarzt* (1997) 68(7):545-55.
- Ehlert, U., Gaab, J., and Heinrichs, M. Psychoneuroendocrinological contributions to the etiology of depression, posttraumatic stress disorder, and stress-related bodily disorders: the role of the hypothalamus-pituitary-adrenal axis. *Biol Psychol* (2001) 57(1-3):141-52.
- Eide, F. F., Vining, E. R., Eide, B. L., et al. Naturally occurring truncated trkB receptors have dominant inhibitory effects on brain-derived neurotrophic factor signaling. *J Neurosci* (1996) 16(10):3123-9.
- Eisch, A. J., Bolanos, C. A., de Wit, J., et al. Brain-derived neurotrophic factor in the ventral midbrain-nucleus accumbens pathway: a role in depression. *Biol Psychiatry* (2003) 54(10):994-1005.
- Ernfors, P., Lee, K. F., and Jaenisch, R. Mice lacking brain-derived neurotrophic factor develop with sensory deficits. *Nature* (1994) 368(6467):147-50.
- Fawcett, J. P., Bamji, S. X., Causing, C. G., et al. Functional evidence that BDNF is an anterograde neuronal trophic factor in the CNS. *J Neurosci* (1998) 18(8):2808-21.
- Figurov, A., Pozzo-Miller, L. D., Olafsson, P., et al. Regulation of synaptic responses to high-frequency stimulation and LTP by neurotrophins in the hippocampus. *Nature* (1996) 381(6584):706-9.
- Fleischmann, A., Hvalby, O., Jensen, V., et al. Impaired long-term memory and NR2A-type NMDA receptor-dependent synaptic plasticity in mice lacking c-Fos in the CNS. *J Neurosci* (2003) 23(27):9116-22.
- Foreman, P. J., Tagliatela, G., Angelucci, L., et al. Nerve growth factor and p75NGFR factor receptor mRNA change in rodent CNS following stress activation of the hypothalamo-pituitary-adrenocortical axis. *J Neurosci Res* (1993) 36(1):10-8.
- Forstl, H., Burns, A., Luthert, P., et al. Clinical and neuropathological correlates of depression in Alzheimer's disease. *Psychol Med* (1992) 22(4):877-84.
- Fossati, P., Radtchenko, A., and Boyer, P. Neuroplasticity: from MRI to depressive symptoms. *Eur Neuropsychopharmacol* (2004) 14 Suppl 5:S503-10.
- Friedman, W. J., and Greene, L. A. Neurotrophin signaling via Trks and p75. *Exp Cell Res* (1999) 253(1):131-42.
- Friedman, W. J., Ibanez, C. F., Hallbook, F., et al. Differential actions of neurotrophins in the locus coeruleus and basal forebrain. *Exp Neurol* (1993) 119(1):72-8.
- Fryer, R. H., Kaplan, D. R., Feinstein, S. C., et al. Developmental and mature expression of full-length and truncated TrkB receptors in the rat forebrain. *J Comp Neurol* (1996) 374(1):21-40.
- Fuchs, E. Social stress in tree shrews as an animal model of depression: an example of a behavioral model of a CNS disorder. *CNS Spectr* (2005) 10(3):182-90.

- Garza, A. A., Ha, T. G., Garcia, C., et al. Exercise, antidepressant treatment, and BDNF mRNA expression in the aging brain. *Pharmacol Biochem Behav* (2004) 77(2):209-20.
- Gonul, A. S., Akdeniz, F., Taneli, F., et al. Effect of treatment on serum brain-derived neurotrophic factor levels in depressed patients. *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci* (2005) 255(6):381-6.
- Gotz, R., and Scharl, M. The conservation of neurotrophic factors during vertebrate evolution. *Comp Biochem Physiol Pharmacol Toxicol Endocrinol* (1994) 108(1):1-10.
- Govindarajan, A., Rao, B. S., Nair, D., et al. Transgenic brain-derived neurotrophic factor expression causes both anxiogenic and antidepressant effects. *Proc Natl Acad Sci U S A* (2006) 103(35):13208-13.
- Grimes, M. L., Zhou, J., Beattie, E. C., et al. Endocytosis of activated TrkA: evidence that nerve growth factor induces formation of signaling endosomes. *J Neurosci* (1996) 16(24):7950-64.
- Gross, C. G. Neurogenesis in the adult brain: death of a dogma. *Nat Rev Neurosci* (2000) 1(1):67-73.
- Groves, J. O. Is it time to reassess the BDNF hypothesis of depression? *Mol Psychiatry* (2007).
- Hadjiconstantinou, M., McGuire, L., Duchemin, A. M., et al. Changes in plasma nerve growth factor levels in older adults associated with chronic stress. *J Neuroimmunol* (2001) 116(1):102-6.
- Hairston, I. S., Peyron, C., Denning, D. P., et al. Sleep deprivation effects on growth factor expression in neonatal rats: a potential role for BDNF in the mediation of delta power. *J Neurophysiol* (2004) 91(4):1586-95.
- Hantzopoulos, P. A., Suri, C., Glass, D. J., et al. The low affinity NGF receptor, p75, can collaborate with each of the Trks to potentiate functional responses to the neurotrophins. *Neuron* (1994) 13(1):187-201.
- Hariri, A. R., Goldberg, T. E., Mattay, V. S., et al. Brain-derived neurotrophic factor val66met polymorphism affects human memory-related hippocampal activity and predicts memory performance. *J Neurosci* (2003) 23(17):6690-4.
- Hayes, V. Y., Towner, M. D., and Isackson, P. J. Organization, sequence and functional analysis of a mouse BDNF promoter. *Brain Res Mol Brain Res* (1997) 45(2):189-98.
- Hayley, S., Poulter, M. O., Merali, Z., et al. The pathogenesis of clinical depression: stressor- and cytokine-induced alterations of neuroplasticity. *Neuroscience* (2005) 135(3):659-78.
- Hecker, S., and Mesulam, M. M. Two types of cholinergic projections to the rat amygdala. *Neuroscience* (1994) 60(2):383-97.
- Heim, C., Newport, D. J., Heit, S., et al. Pituitary-adrenal and autonomic responses to stress in women after sexual and physical abuse in childhood. *Jama* (2000) 284(5):592-7.
- Hellweg, R. [Nerve growth factor (NGF): pathophysiologic importance and possible therapeutic consequences]. *Nervenarzt* (1992) 63(1):52-6.
- Hellweg, R., Baethge, C., Hartung, H. D., et al. NGF level in the rat sciatic nerve is decreased after long-term consumption of ethanol. *Neuroreport* (1996) 7(3):777-80.

- Hellweg, R., Gericke, C. A., Jendroska, K., et al. NGF content in the cerebral cortex of non-demented patients with amyloid-plaques and in symptomatic Alzheimer's disease. *Int J Dev Neurosci* (1998) 16(7-8):787-94.
- Hellweg, R., Hock, C., Hartung, H.D. An improved rapid and highly sensitive enzyme immunoassay for nerve growth factor. *Technique J. Methods Cell Mol. Biol.* (1989) 1:43-48.
- Hellweg, R., and Jockers-Scherubl, M. Neurotrophic factors in memory disorders. *Life Sci* (1994) 55(25-26):2165-9.
- Hellweg, R., Lang, U. E., Nagel, M., et al. Subchronic treatment with lithium increases nerve growth factor content in distinct brain regions of adult rats. *Mol Psychiatry* (2002) 7(6):604-8.
- Hellweg, R., von Arnim, C. A., Buchner, M., et al. Neuroprotection and neuronal dysfunction upon repetitive inhibition of oxidative phosphorylation. *Exp Neurol* (2003) 183(2):346-54.
- Hellweg, R., Ziegenhorn, A., Heuser, I., et al. Serum concentrations of nerve growth factor and brain-derived neurotrophic factor in depressed patients before and after antidepressant treatment. *Pharmacopsychiatry* (2008) 41(2):66-71.
- Hellweg, R., Zueger, M., Fink, K., et al. Olfactory bulbectomy in mice leads to increased BDNF levels and decreased serotonin turnover in depression-related brain areas. *Neurobiol Dis* (2007) 25(1):1-7.
- Henderson, C. E. Role of neurotrophic factors in neuronal development. *Curr Opin Neurobiol* (1996) 6(1):64-70.
- Henderson, C. E., Bloch-Gallego, E., Camu, W., et al. Motoneuron survival factors: biological roles and therapeutic potential. *Neuromuscul Disord* (1993) 3(5-6):455-8.
- Henkel, V., Bussfeld, P., Moller, H. J., et al. Cognitive-behavioural theories of helplessness/hopelessness: valid models of depression? *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci* (2002) 252(5):240-9.
- Herman, J. P., and Cullinan, W. E. Neurocircuitry of stress: central control of the hypothalamo-pituitary-adrenocortical axis. *Trends Neurosci* (1997) 20(2):78-84.
- Hofer, M., Pagliusi, S. R., Hohn, A., et al. Regional distribution of brain-derived neurotrophic factor mRNA in the adult mouse brain. *Embo J* (1990) 9(8):2459-64.
- Hoge, E. A., Friedman, L., and Schulz, S. C. Meta-analysis of brain size in bipolar disorder. *Schizophr Res* (1999) 37(2):177-81.
- Holderbach, R., Clark, K., Moreau, J. L., et al. Enhanced long-term synaptic depression in an animal model of depression. *Biol Psychiatry* (2007) 62(1):92-100.
- Holoubek, G., Noldner, M., Treiber, K., et al. Effect of chronic antidepressant treatment on beta-receptor coupled signal transduction cascade. Which effect matters most? *Pharmacopsychiatry* (2004) 37 Suppl 2:S113-9.
- Holsboer, F. The stress hormone system is back on the map. *Curr Psychiatry Rep* (2000) 2(6):454-6.
- Holsboer, F. The role of peptides in treatment of psychiatric disorders. *J Neural Transm Suppl* (2003) (64):17-34.
- Holsboer, F., and Barden, N. Antidepressants and hypothalamic-pituitary-adrenocortical regulation. *Endocr Rev* (1996) 17(2):187-205.

- Hong, C. J., Huo, S. J., Yen, F. C., et al. Association study of a brain-derived neurotrophic-factor genetic polymorphism and mood disorders, age of onset and suicidal behavior. *Neuropsychobiology* (2003) 48(4):186-9.
- Hoshaw, B. A., Malberg, J. E., and Lucki, I. Central administration of IGF-I and BDNF leads to long-lasting antidepressant-like effects. *Brain Res* (2005) 1037(1-2):204-8.
- Huang, T. L., Lee, C. T., and Liu, Y. L. Serum brain-derived neurotrophic factor levels in patients with major depression: effects of antidepressants. *J Psychiatr Res* (2008) 42(7):521-5.
- Huizink, A. C., Mulder, E. J., and Buitelaar, J. K. Prenatal stress and risk for psychopathology: specific effects or induction of general susceptibility? *Psychol Bull* (2004) 130(1):115-42.
- Ip, N. Y., Stitt, T. N., Tapley, P., et al. Similarities and differences in the way neurotrophins interact with the Trk receptors in neuronal and nonneuronal cells. *Neuron* (1993) 10(2):137-49.
- Jacobsen, J. P., and Mork, A. The effect of escitalopram, desipramine, electroconvulsive seizures and lithium on brain-derived neurotrophic factor mRNA and protein expression in the rat brain and the correlation to 5-HT and 5-HIAA levels. *Brain Res* (2004) 1024(1-2):183-92.
- Jatzko, A., Schmitt, A., Kordon, A., et al. [Neuroimaging findings in posttraumatic stress disorder: review of the literature]. *Fortschr Neurol Psychiatr* (2005) 73(7):377-91.
- Joels, M., and de Kloet, E. R. Control of neuronal excitability by corticosteroid hormones. *Trends Neurosci* (1992) 15(1):25-30.
- Johnson, J. E., Barde, Y. A., Schwab, M., et al. Brain-derived neurotrophic factor supports the survival of cultured rat retinal ganglion cells. *J Neurosci* (1986) 6(10):3031-8.
- Kalueff, A. V., Avgustinovich, D. F., Kudryavtseva, N. N., et al. BDNF in anxiety and depression. *Science* (2006) 312(5780):1598-9; author reply 1598-9.
- Kaplan, D. R., and Miller, F. D. Neurotrophin signal transduction in the nervous system. *Curr Opin Neurobiol* (2000) 10(3):381-91.
- Karege, F., Perret, G., Bondolfi, G., et al. Decreased serum brain-derived neurotrophic factor levels in major depressed patients. *Psychiatry Res* (2002) 109(2):143-8.
- Karege, F., Vaudan, G., Schwald, M., et al. Neurotrophin levels in postmortem brains of suicide victims and the effects of antemortem diagnosis and psychotropic drugs. *Brain Res Mol Brain Res* (2005) 136(1-2):29-37.
- Karten, Y. J., Olariu, A., and Cameron, H. A. Stress in early life inhibits neurogenesis in adulthood. *Trends Neurosci* (2005) 28(4):171-2.
- Kawasaki, H., Kaufman, O., Damasio, H., et al. Single-neuron responses to emotional visual stimuli recorded in human ventral prefrontal cortex. *Nat Neurosci* (2001) 4(1):15-6.
- Keller, M. B., and Boland, R. J. Implications of failing to achieve successful long-term maintenance treatment of recurrent unipolar major depression. *Biol Psychiatry* (1998) 44(5):348-60.
- Kendler, K. S., Kessler, R. C., Walters, E. E., et al. Stressful life events, genetic liability, and onset of an episode of major depression in women. *Am J Psychiatry* (1995) 152(6):833-42.

- Kendler, K. S., Kuhn, J., and Prescott, C. A. The interrelationship of neuroticism, sex, and stressful life events in the prediction of episodes of major depression. *Am J Psychiatry* (2004) 161(4):631-6.
- Kendler, K. S., Kuhn, J. W., Vittum, J., et al. The interaction of stressful life events and a serotonin transporter polymorphism in the prediction of episodes of major depression: a replication. *Arch Gen Psychiatry* (2005) 62(5):529-35.
- Kerr, B. J., Bradbury, E. J., Bennett, D. L., et al. Brain-derived neurotrophic factor modulates nociceptive sensory inputs and NMDA-evoked responses in the rat spinal cord. *J Neurosci* (1999) 19(12):5138-48.
- Kessler, R. C., Berglund, P., Demler, O., et al. Lifetime prevalence and age-of-onset distributions of DSM-IV disorders in the National Comorbidity Survey Replication. *Arch Gen Psychiatry* (2005) 62(6):593-602.
- Kim, J., and Hajjar, K. A. Annexin II: a plasminogen-plasminogen activator co-receptor. *Front Biosci* (2002) 7:d341-8.
- Klein, R., Smeyne, R. J., Wurst, W., et al. Targeted disruption of the trkB neurotrophin receptor gene results in nervous system lesions and neonatal death. *Cell* (1993) 75(1):113-22.
- Knusel, B., Winslow, J. W., Rosenthal, A., et al. Promotion of central cholinergic and dopaminergic neuron differentiation by brain-derived neurotrophic factor but not neurotrophin 3. *Proc Natl Acad Sci U S A* (1991) 88(3):961-5.
- Kokaia, Z., Bengzon, J., Metsis, M., et al. Coexpression of neurotrophins and their receptors in neurons of the central nervous system. *Proc Natl Acad Sci U S A* (1993) 90(14):6711-5.
- Korsching, S., and Thoenen, H. Nerve growth factor in sympathetic ganglia and corresponding target organs of the rat: correlation with density of sympathetic innervation. *Proc Natl Acad Sci U S A* (1983) 80(11):3513-6.
- Korsching, S., and Thoenen, H. Treatment with 6-hydroxydopamine and colchicine decreases nerve growth factor levels in sympathetic ganglia and increases them in the corresponding target tissues. *J Neurosci* (1985) 5(4):1058-61.
- Korsching, S., and Thoenen, H. Two-site enzyme immunoassay for nerve growth factor. *Methods Enzymol* (1987) 147:167-85.
- Krieg, J. C., Lauer, C. J., Hermle, L., et al. Psychometric, polysomnographic, and neuroendocrine measures in subjects at high risk for psychiatric disorders: preliminary results. *Neuropsychobiology* (1990) 23(2):57-67.
- Kunzel, H. E., Binder, E. B., Nickel, T., et al. Pharmacological and nonpharmacological factors influencing hypothalamic-pituitary-adrenocortical axis reactivity in acutely depressed psychiatric in-patients, measured by the Dex-CRH test. *Neuropsychopharmacology* (2003) 28(12):2169-78.
- Lai, K. O., Fu, W. Y., Ip, F. C., et al. Cloning and expression of a novel neurotrophin, NT-7, from carp. *Mol Cell Neurosci* (1998) 11(1-2):64-76.
- Lang, U. E., Anders, D., Danker-Hopfe, H., et al. Measurement of nerve growth factor serum concentration in a psychologically stressful situation in men. *Stress* (2004a) 7(1):39-42.
- Lang, U. E., Hellweg, R., and Gallinat, J. BDNF serum concentrations in healthy volunteers are associated with depression-related personality traits. *Neuropsychopharmacology* (2004b) 29(4):795-8.

- Lang, U. E., Hellweg, R., Kalus, P., et al. Association of a functional BDNF polymorphism and anxiety-related personality traits. *Psychopharmacology (Berl)* (2005) 180(1):95-9.
- Lang, U. E., Hellweg, R., Sander, T., et al. The Met allele of the BDNF Val66Met polymorphism is associated with increased BDNF serum concentrations. *Mol Psychiatry* (2009) 14(2):120-2.
- Lang, U. E., Jockers-Scherubl, M. C., and Hellweg, R. State of the art of the neurotrophin hypothesis in psychiatric disorders: implications and limitations. *J Neural Transm* (2004c) 111(3):387-411.
- Laske, C., and Eschweiler, G. W. [Brain-derived neurotrophic factor: from nerve growth factor to modulator of brain plasticity in cognitive processes and psychiatric diseases]. *Nervenarzt* (2006) 77(5):523-37.
- Lauterborn, J. C., Truong, G. S., Baudry, M., et al. Chronic elevation of brain-derived neurotrophic factor by ampakines. *J Pharmacol Exp Ther* (2003) 307(1):297-305.
- Lee, F. S., Kim, A. H., Khursigara, G., et al. The uniqueness of being a neurotrophin receptor. *Curr Opin Neurobiol* (2001a) 11(3):281-6.
- Lee, F. S., Rajagopal, R., Kim, A. H., et al. Activation of Trk neurotrophin receptor signaling by pituitary adenylate cyclase-activating polypeptides. *J Biol Chem* (2002) 277(11):9096-102.
- Lee, R., Kermani, P., Teng, K. K., et al. Regulation of cell survival by secreted proneurotrophins. *Science* (2001b) 294(5548):1945-8.
- Leingartner, A., Heisenberg, C. P., Kolbeck, R., et al. Brain-derived neurotrophic factor increases neurotrophin-3 expression in cerebellar granule neurons. *J Biol Chem* (1994) 269(2):828-30.
- Levi-Montalcini, R., Skaper, S. D., Dal Toso, R., et al. Nerve growth factor: from neurotrophin to neurokinin. *Trends Neurosci* (1996) 19(11):514-20.
- Lewin, G. R., and Barde, Y. A. Physiology of the neurotrophins. *Annu Rev Neurosci* (1996) 19:289-317.
- Lindholm, D., Carroll, P., Tzimagiorgis, G., et al. Autocrine-paracrine regulation of hippocampal neuron survival by IGF-1 and the neurotrophins BDNF, NT-3 and NT-4. *Eur J Neurosci* (1996) 8(7):1452-60.
- Liu, Q. R., Lu, L., Zhu, X. G., et al. Rodent BDNF genes, novel promoters, novel splice variants, and regulation by cocaine. *Brain Res* (2006) 1067(1):1-12.
- Lo, D. C. Neurotrophic factors and synaptic plasticity. *Neuron* (1995) 15(5):979-81.
- Lommatzsch, M., Braun, A., Mannsfeldt, A., et al. Abundant production of brain-derived neurotrophic factor by adult visceral epithelia. Implications for paracrine and target-derived neurotrophic functions. *Am J Pathol* (1999) 155(4):1183-93.
- Lommatzsch, M., Hornyk, K., Zingler, C., et al. Maternal serum concentrations of BDNF and depression in the perinatal period. *Psychoneuroendocrinology* (2006) 31(3):388-94.
- Lu, B., Pang, P. T., and Woo, N. H. The yin and yang of neurotrophin action. *Nat Rev Neurosci* (2005) 6(8):603-14.
- Ma, Y. T., Hsieh, T., Forbes, M. E., et al. BDNF injected into the superior colliculus reduces developmental retinal ganglion cell death. *J Neurosci* (1998) 18(6):2097-107.

- MacQueen, G. M., Ramakrishnan, K., Croll, S. D., et al. Performance of heterozygous brain-derived neurotrophic factor knockout mice on behavioral analogues of anxiety, nociception, and depression. *Behav Neurosci* (2001) 115(5):1145-53.
- Maisonpierre, P. C., Le Beau, M. M., Espinosa, R., 3rd, et al. Human and rat brain-derived neurotrophic factor and neurotrophin-3: gene structures, distributions, and chromosomal localizations. *Genomics* (1991) 10(3):558-68.
- Maness, L. M., Kastin, A. J., Weber, J. T., et al. The neurotrophins and their receptors: structure, function, and neuropathology. *Neurosci Biobehav Rev* (1994) 18(1):143-59.
- Manji, H. K., Drevets, W. C., and Charney, D. S. The cellular neurobiology of depression. *Nat Med* (2001) 7(5):541-7.
- Manji, H. K., Quiroz, J. A., Sporn, J., et al. Enhancing neuronal plasticity and cellular resilience to develop novel, improved therapeutics for difficult-to-treat depression. *Biol Psychiatry* (2003) 53(8):707-42.
- Martinowich, K., Hattori, D., Wu, H., et al. DNA methylation-related chromatin remodeling in activity-dependent BDNF gene regulation. *Science* (2003) 302(5646):890-3.
- McAllister, A. K., Katz, L. C., and Lo, D. C. Neurotrophins and synaptic plasticity. *Annu Rev Neurosci* (1999) 22:295-318.
- McEwen, B. S. The neurobiology of stress: from serendipity to clinical relevance. *Brain Res* (2000) 886(1-2):172-189.
- McEwen, B. S. Glucocorticoids, depression, and mood disorders: structural remodeling in the brain. *Metabolism* (2005) 54(5 Suppl 1):20-3.
- Metsis, M., Timmusk, T., Arenas, E., et al. Differential usage of multiple brain-derived neurotrophic factor promoters in the rat brain following neuronal activation. *Proc Natl Acad Sci U S A* (1993) 90(19):8802-6.
- Middlemas, D. S., Lindberg, R. A., and Hunter, T. trkB, a neural receptor protein-tyrosine kinase: evidence for a full-length and two truncated receptors. *Mol Cell Biol* (1991) 11(1):143-53.
- Miller, E. K., and Cohen, J. D. An integrative theory of prefrontal cortex function. *Annu Rev Neurosci* (2001) 24:167-202.
- Miranda, R. C., Sohrabji, F., and Toran-Allerand, C. D. Neuronal colocalization of mRNAs for neurotrophins and their receptors in the developing central nervous system suggests a potential for autocrine interactions. *Proc Natl Acad Sci U S A* (1993) 90(14):6439-43.
- Monteggia, L. M., Luikart, B., Barrot, M., et al. Brain-derived neurotrophic factor conditional knockouts show gender differences in depression-related behaviors. *Biol Psychiatry* (2007) 61(2):187-97.
- Mowla, S. J., Farhadi, H. F., Pareek, S., et al. Biosynthesis and post-translational processing of the precursor to brain-derived neurotrophic factor. *J Biol Chem* (2001) 276(16):12660-6.
- Mufson, E. J., Conner, J. M., Varon, S., et al. Nerve growth factor-like immunoreactive profiles in the primate basal forebrain and hippocampal formation. *J Comp Neurol* (1994) 341(4):507-19.
- Mufson, E. J., Kroin, J. S., Sendera, T. J., et al. Distribution and retrograde transport of trophic factors in the central nervous system: functional implications for the treatment of neurodegenerative diseases. *Prog Neurobiol* (1999) 57(4):451-84.

- Muller, M. B., Toschi, N., Kresse, A. E., et al. Long-term repetitive transcranial magnetic stimulation increases the expression of brain-derived neurotrophic factor and cholecystokinin mRNA, but not neuropeptide tyrosine mRNA in specific areas of rat brain. *Neuropsychopharmacology* (2000) 23(2):205-15.
- Murer, M. G., Yan, Q., and Raisman-Vozari, R. Brain-derived neurotrophic factor in the control human brain, and in Alzheimer's disease and Parkinson's disease. *Prog Neurobiol* (2001) 63(1):71-124.
- Nawa, H., and Takei, N. BDNF as an anterophin; a novel neurotrophic relationship between brain neurons. *Trends Neurosci* (2001) 24(12):683-4; discussion 684-5.
- Nemeroff, C. B. The corticotropin-releasing factor (CRF) hypothesis of depression: new findings and new directions. *Mol Psychiatry* (1996) 1(4):336-42.
- Nestler, E. J., Barrot, M., DiLeone, R. J., et al. Neurobiology of depression. *Neuron* (2002) 34(1):13-25.
- Nibuya, M., Morinobu, S., and Duman, R. S. Regulation of BDNF and trkB mRNA in rat brain by chronic electroconvulsive seizure and antidepressant drug treatments. *J Neurosci* (1995) 15(11):7539-47.
- Nibuya, M., Nestler, E. J., and Duman, R. S. Chronic antidepressant administration increases the expression of cAMP response element binding protein (CREB) in rat hippocampus. *J Neurosci* (1996) 16(7):2365-72.
- Nibuya, M., Takahashi, M., Russell, D. S., et al. Repeated stress increases catalytic TrkB mRNA in rat hippocampus. *Neurosci Lett* (1999) 267(2):81-4.
- Nitta, A., Ohmiya, M., Sometani, A., et al. Brain-derived neurotrophic factor prevents neuronal cell death induced by corticosterone. *J Neurosci Res* (1999) 57(2):227-35.
- Nolan, C. L., Moore, G. J., Madden, R., et al. Prefrontal cortical volume in childhood-onset major depression: preliminary findings. *Arch Gen Psychiatry* (2002) 59(2):173-9.
- O'Doherty, J., Kringelbach, M. L., Rolls, E. T., et al. Abstract reward and punishment representations in the human orbitofrontal cortex. *Nat Neurosci* (2001) 4(1):95-102.
- O'Leary, P. D., and Hughes, R. A. Design of potent peptide mimetics of brain-derived neurotrophic factor. *J Biol Chem* (2003) 278(28):25738-44.
- Ongur, D., Drevets, W. C., and Price, J. L. Glial reduction in the subgenual prefrontal cortex in mood disorders. *Proc Natl Acad Sci U S A* (1998) 95(22):13290-5.
- Ozawa, H. Steroid Hormones, their receptors and neuroendocrine system. *J Nippon Med Sch* (2005) 72(6):316-25.
- Pang, P. T., Teng, H. K., Zaitsev, E., et al. Cleavage of proBDNF by tPA/plasmin is essential for long-term hippocampal plasticity. *Science* (2004) 306(5695):487-91.
- Pariante, C. M., and Miller, A. H. Glucocorticoid receptors in major depression: relevance to pathophysiology and treatment. *Biol Psychiatry* (2001) 49(5):391-404.
- Pattabiraman, P. P., Tropea, D., Chiaruttini, C., et al. Neuronal activity regulates the developmental expression and subcellular localization of cortical BDNF mRNA isoforms in vivo. *Mol Cell Neurosci* (2005) 28(3):556-70.
- Pezawas, L., Verchinski, B. A., Mattay, V. S., et al. The brain-derived neurotrophic factor val66met polymorphism and variation in human cortical morphology. *J Neurosci* (2004) 24(45):10099-102.

- Pitchot, W., Ansseau, M., Gonzalez Moreno, A., et al. Dopaminergic function in panic disorder: comparison with major and minor depression. *Biol Psychiatry* (1992) 32(11):1004-11.
- Pizarro, J. M., Lumley, L. A., Medina, W., et al. Acute social defeat reduces neurotrophin expression in brain cortical and subcortical areas in mice. *Brain Res* (2004) 1025(1-2):10-20.
- Raivich, G., Hellweg, R., and Kreutzberg, G. W. NGF receptor-mediated reduction in axonal NGF uptake and retrograde transport following sciatic nerve injury and during regeneration. *Neuron* (1991) 7(1):151-64.
- Rajkowska, G. Postmortem studies in mood disorders indicate altered numbers of neurons and glial cells. *Biol Psychiatry* (2000) 48(8):766-77.
- Rasmusson, A. M., Shi, L., and Duman, R. Downregulation of BDNF mRNA in the hippocampal dentate gyrus after re-exposure to cues previously associated with footshock. *Neuropsychopharmacology* (2002) 27(2):133-42.
- Ridder, S., Chourbaji, S., Hellweg, R., et al. Mice with genetically altered glucocorticoid receptor expression show altered sensitivity for stress-induced depressive reactions. *J Neurosci* (2005) 25(26):6243-50.
- Roceri, M., Cirulli, F., Pessina, C., et al. Postnatal repeated maternal deprivation produces age-dependent changes of brain-derived neurotrophic factor expression in selected rat brain regions. *Biol Psychiatry* (2004) 55(7):708-14.
- Roceri, M., Hendriks, W., Racagni, G., et al. Early maternal deprivation reduces the expression of BDNF and NMDA receptor subunits in rat hippocampus. *Mol Psychiatry* (2002) 7(6):609-16.
- Rosch, H., Schweigreiter, R., Bonhoeffer, T., et al. The neurotrophin receptor p75NTR modulates long-term depression and regulates the expression of AMPA receptor subunits in the hippocampus. *Proc Natl Acad Sci U S A* (2005) 102(20):7362-7.
- Roux, P. P., and Barker, P. A. Neurotrophin signaling through the p75 neurotrophin receptor. *Prog Neurobiol* (2002) 67(3):203-33.
- Roux, P. P., Colicos, M. A., Barker, P. A., et al. p75 neurotrophin receptor expression is induced in apoptotic neurons after seizure. *J Neurosci* (1999) 19(16):6887-96.
- Rupprecht, R., Kornhuber, J., Wodarz, N., et al. Disturbed glucocorticoid receptor autoregulation and corticotropin response to dexamethasone in depressives pretreated with metyrapone. *Biol Psychiatry* (1991a) 29(11):1099-109.
- Rupprecht, R., Rupprecht, C., Rupprecht, M., et al. Triiodothyronine, thyroxine, and TSH response to dexamethasone in depressed patients and normal controls. *Biol Psychiatry* (1989) 25(1):22-32.
- Rupprecht, R., Wodarz, N., Kornhuber, J., et al. In vivo and in vitro effects of glucocorticoids on lymphocyte proliferation in depression. *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci* (1991b) 241(1):35-40.
- Russo-Neustadt, A., Beard, R. C., and Cotman, C. W. Exercise, antidepressant medications, and enhanced brain derived neurotrophic factor expression. *Neuropsychopharmacology* (1999) 21(5):679-82.
- Russo-Neustadt, A. A., Alejandre, H., Garcia, C., et al. Hippocampal brain-derived neurotrophic factor expression following treatment with reboxetine, citalopram, and physical exercise. *Neuropsychopharmacology* (2004) 29(12):2189-99.

- Russo-Neustadt, A. A., Beard, R. C., Huang, Y. M., et al. Physical activity and antidepressant treatment potentiate the expression of specific brain-derived neurotrophic factor transcripts in the rat hippocampus. *Neuroscience* (2000) 101(2):305-12.
- Saarelainen, T., Hendolin, P., Lucas, G., et al. Activation of the TrkB neurotrophin receptor is induced by antidepressant drugs and is required for antidepressant-induced behavioral effects. *J Neurosci* (2003) 23(1):349-57.
- Saltiel, A. R., and Decker, S. J. Cellular mechanisms of signal transduction for neurotrophins. *Bioessays* (1994) 16(6):405-11.
- Santarelli, L., Saxe, M., Gross, C., et al. Requirement of hippocampal neurogenesis for the behavioral effects of antidepressants. *Science* (2003) 301(5634):805-9.
- Sapolsky, R. M. Stress, Glucocorticoids, and Damage to the Nervous System: The Current State of Confusion. *Stress* (1996) 1(1):1-19.
- Sapolsky, R. M. Glucocorticoids and hippocampal atrophy in neuropsychiatric disorders. *Arch Gen Psychiatry* (2000) 57(10):925-35.
- Sapolsky, R. M., Packan, D. R., and Vale, W. W. Glucocorticoid toxicity in the hippocampus: in vitro demonstration. *Brain Res* (1988) 453(1-2):367-71.
- Scaccianoce, S., Lombardo, K., and Angelucci, L. Nerve growth factor brain concentration and stress: changes depend on type of stressor and age. *Int J Dev Neurosci* (2000) 18(4-5):469-79.
- Schaaf, M. J., De Kloet, E. R., and Vreugdenhil, E. Corticosterone effects on BDNF expression in the hippocampus. Implications for memory formation. *Stress* (2000) 3(3):201-8.
- Schildkraut, J. J., Schanberg, S. M., Breese, G. R., et al. Norepinephrine metabolism and drugs used in the affective disorders: a possible mechanism of action. *Am J Psychiatry* (1967) 124(5):600-8.
- Schulte-Herbruggen, O., Fuchs, E., Abumaria, N., et al. Effects of escitalopram on the regulation of brain-derived neurotrophic factor and nerve growth factor protein levels in a rat model of chronic stress. in Druck befindlich *Journal of Neuroscience Research* (2009).
- Schulte-Herbruggen, O., Litzke, J., Hornych, K., et al. Maternal nerve growth factor serum levels in the perinatal period. *J Reprod Immunol* (2007) 74(1-2):170-3.
- Schumacher, J., Cichon, S., Rietschel, M., et al. [Genetics of bipolar affective disorders. Current status of research for identification of susceptibility genes]. *Nervenarzt* (2002) 73(7):581-92; quiz 593-4.
- Segal, R. A., Takahashi, H., and McKay, R. D. Changes in neurotrophin responsiveness during the development of cerebellar granule neurons. *Neuron* (1992) 9(6):1041-52.
- Seligman, M. E., Rosellini, R. A., and Kozak, M. J. Learned helplessness in the rat: time course, immunization, and reversibility. *J Comp Physiol Psychol* (1975) 88(2):542-7.
- Seligman, M. E., Weiss, J., Weinraub, M., et al. Coping behavior: learned helplessness, physiological change and learned inactivity. *Behav Res Ther* (1980) 18(5):459-512.
- Sen, S., Nesse, R. M., Stoltenberg, S. F., et al. A BDNF coding variant is associated with the NEO personality inventory domain neuroticism, a risk factor for depression. *Neuropsychopharmacology* (2003) 28(2):397-401.
- Sheline, Y. I., Wang, P. W., Gado, M. H., et al. Hippocampal atrophy in recurrent major depression. *Proc Natl Acad Sci U S A* (1996) 93(9):3908-13.

- Shelton, D. L., Sutherland, J., Gripp, J., et al. Human trks: molecular cloning, tissue distribution, and expression of extracellular domain immunoadhesins. *J Neurosci* (1995) 15(1 Pt 2):477-91.
- Shimizu, E., Hashimoto, K., Okamura, N., et al. Alterations of serum levels of brain-derived neurotrophic factor (BDNF) in depressed patients with or without antidepressants. *Biol Psychiatry* (2003) 54(1):70-5.
- Shirayama, Y., Chen, A. C., Nakagawa, S., et al. Brain-derived neurotrophic factor produces antidepressant effects in behavioral models of depression. *J Neurosci* (2002) 22(8):3251-61.
- Sieber-Blum, M. Role of the neurotrophic factors BDNF and NGF in the commitment of pluripotent neural crest cells. *Neuron* (1991) 6(6):949-55.
- Siegel, G. J., and Chauhan, N. B. Neurotrophic factors in Alzheimer's and Parkinson's disease brain. *Brain Res Brain Res Rev* (2000) 33(2-3):199-227.
- Siuciak, J. A., Clark, M. S., Rind, H. B., et al. BDNF induction of tryptophan hydroxylase mRNA levels in the rat brain. *J Neurosci Res* (1998) 52(2):149-58.
- Siuciak, J. A., Lewis, D. R., Wiegand, S. J., et al. Antidepressant-like effect of brain-derived neurotrophic factor (BDNF). *Pharmacol Biochem Behav* (1997) 56(1):131-7.
- Sklar, P., Gabriel, S. B., McInnis, M. G., et al. Family-based association study of 76 candidate genes in bipolar disorder: BDNF is a potential risk locus. Brain-derived neurotrophic factor. *Mol Psychiatry* (2002) 7(6):579-93.
- Smeyne, R. J., Klein, R., Schnapp, A., et al. Severe sensory and sympathetic neuropathies in mice carrying a disrupted Trk/NGF receptor gene. *Nature* (1994) 368(6468):246-9.
- Smith, K. A., Fairburn, C. G., and Cowen, P. J. Relapse of depression after rapid depletion of tryptophan. *Lancet* (1997a) 349(9056):915-9.
- Smith, M. A., Makino, S., Kim, S. Y., et al. Stress increases brain-derived neurotrophic factor messenger ribonucleic acid in the hypothalamus and pituitary. *Endocrinology* (1995a) 136(9):3743-50.
- Smith, M. A., Makino, S., Kvetnansky, R., et al. Effects of stress on neurotrophic factor expression in the rat brain. *Ann N Y Acad Sci* (1995b) 771:234-9.
- Smith, M. A., Zhang, L. X., Lyons, W. E., et al. Anterograde transport of endogenous brain-derived neurotrophic factor in hippocampal mossy fibers. *Neuroreport* (1997b) 8(8):1829-34.
- Snider, W. D. Functions of the neurotrophins during nervous system development: what the knockouts are teaching us. *Cell* (1994) 77(5):627-38.
- Snider, W. D., and Johnson, E. M., Jr. Neurotrophic molecules. *Ann Neurol* (1989) 26(4):489-506.
- Spillantini, M. G., Aloe, L., Alleva, E., et al. Nerve growth factor mRNA and protein increase in hypothalamus in a mouse model of aggression. *Proc Natl Acad Sci U S A* (1989) 86(21):8555-9.
- Squinto, S. P., Stitt, T. N., Aldrich, T. H., et al. trkB encodes a functional receptor for brain-derived neurotrophic factor and neurotrophin-3 but not nerve growth factor. *Cell* (1991) 65(5):885-93.
- Starkman, M. N., Gebarski, S. S., Berent, S., et al. Hippocampal formation volume, memory dysfunction, and cortisol levels in patients with Cushing's syndrome. *Biol Psychiatry* (1992) 32(9):756-65.

- Stewart, C., and Reid, I. Electroconvulsive stimulation and synaptic plasticity in the rat. *Brain Res* (1993) 620(1):139-41.
- Strekalova, T., Zorner, B., Zacher, C., et al. Memory retrieval after contextual fear conditioning induces c-Fos and JunB expression in CA1 hippocampus. *Genes Brain Behav* (2003) 2(1):3-10.
- Surtees, P. G., Wainwright, N. W., Willis-Owen, S. A., et al. No association between the BDNF Val66Met polymorphism and mood status in a non-clinical community sample of 7389 older adults. *J Psychiatr Res* (2007) 41(5):404-9.
- Tao, X., Finkbeiner, S., Arnold, D. B., et al. Ca²⁺ influx regulates BDNF transcription by a CREB family transcription factor-dependent mechanism. *Neuron* (1998) 20(4):709-26.
- Teng, H. K., Teng, K. K., Lee, R., et al. ProBDNF induces neuronal apoptosis via activation of a receptor complex of p75NTR and sortilin. *J Neurosci* (2005) 25(22):5455-63.
- Thoenen, H. Neurotrophins and neuronal plasticity. *Science* (1995) 270(5236):593-8.
- Thoenen, H., Bandtlow, C., and Heumann, R. The physiological function of nerve growth factor in the central nervous system: comparison with the periphery. *Rev Physiol Biochem Pharmacol* (1987a) 109:145-78.
- Thoenen, H., and Barde, Y. A. Physiology of nerve growth factor. *Physiol Rev* (1980) 60(4):1284-335.
- Thoenen, H., Barde, Y. A., Davies, A. M., et al. Neurotrophic factors and neuronal death. *Ciba Found Symp* (1987b) 126:82-95.
- Thome, J., Sakai, N., Shin, K., et al. cAMP response element-mediated gene transcription is upregulated by chronic antidepressant treatment. *J Neurosci* (2000) 20(11):4030-6.
- Timmusk, T., Palm, K., Metsis, M., et al. Multiple promoters direct tissue-specific expression of the rat BDNF gene. *Neuron* (1993) 10(3):475-89.
- Tramontina, J., Frey, B. N., Andreazza, A. C., et al. Val66met polymorphism and serum brain-derived neurotrophic factor levels in bipolar disorder. *Mol Psychiatry* (2007) 12(3):230-1.
- Tsai, S. J., Cheng, C. Y., Yu, Y. W., et al. Association study of a brain-derived neurotrophic-factor genetic polymorphism and major depressive disorders, symptomatology, and antidepressant response. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet* (2003) 123(1):19-22.
- Tsankova, N. M., Berton, O., Renthal, W., et al. Sustained hippocampal chromatin regulation in a mouse model of depression and antidepressant action. *Nat Neurosci* (2006) 9(4):519-25.
- Tsuang, M. T., Taylor, L., and Faraone, S. V. An overview of the genetics of psychotic mood disorders. *J Psychiatr Res* (2004) 38(1):3-15.
- Tuszynski, M. H., and Gage, F. H. Potential use of neurotrophic agents in the treatment of neurodegenerative disorders. *Acta Neurobiol Exp (Wars)* (1990) 50(4-5):311-22.
- Ueyama, T., Kawai, Y., Nemoto, K., et al. Immobilization stress reduced the expression of neurotrophins and their receptors in the rat brain. *Neurosci Res* (1997) 28(2):103-10.
- Urani, A., and Gass, P. Corticosteroid receptor transgenic mice: models for depression? *Ann N Y Acad Sci* (2003) 1007:379-93.
- Vaidya, V. A., and Duman, R. S. Depression--emerging insights from neurobiology. *Br Med Bull* (2001) 57:61-79.

- Vaidya, V. A., Marek, G. J., Aghajanian, G. K., et al. 5-HT_{2A} receptor-mediated regulation of brain-derived neurotrophic factor mRNA in the hippocampus and the neocortex. *J Neurosci* (1997) 17(8):2785-95.
- Vantini, G. The pharmacological potential of neurotrophins: a perspective. *Psychoneuroendocrinology* (1992) 17(4):401-10.
- Vellucci, S. V., Parrott, R. F., and Mimmack, M. L. Down-regulation of BDNF mRNA, with no effect on trkB or glucocorticoid receptor mRNAs, in the porcine hippocampus after acute dexamethasone treatment. *Res Vet Sci* (2001) 70(2):157-62.
- Ventimiglia, R., Mather, P. E., Jones, B. E., et al. The neurotrophins BDNF, NT-3 and NT-4/5 promote survival and morphological and biochemical differentiation of striatal neurons in vitro. *Eur J Neurosci* (1995) 7(2):213-22.
- Vinet, J., Carra, S., Blom, J. M., et al. Chronic treatment with desipramine and fluoxetine modulate BDNF, CaMKK α and CaMKK β mRNA levels in the hippocampus of transgenic mice expressing antisense RNA against the glucocorticoid receptor. *Neuropharmacology* (2004) 47(7):1062-9.
- Virgin, C. E., Jr., Ha, T. P., Packan, D. R., et al. Glucocorticoids inhibit glucose transport and glutamate uptake in hippocampal astrocytes: implications for glucocorticoid neurotoxicity. *J Neurochem* (1991) 57(4):1422-8.
- Vollmayr, B., Bachteler, D., Vengeliene, V., et al. Rats with congenital learned helplessness respond less to sucrose but show no deficits in activity or learning. *Behav Brain Res* (2004) 150(1-2):217-21.
- Volosin, M., Song, W., Almeida, R. D., et al. Interaction of survival and death signaling in basal forebrain neurons: roles of neurotrophins and proneurotrophins. *J Neurosci* (2006) 26(29):7756-66.
- von Richthofen, S., Lang, U. E., and Hellweg, R. Effects of different kinds of acute stress on nerve growth factor content in rat brain. *Brain Res* (2003) 987(2):207-13.
- Wacker, H. R. [Epidemiology and comorbidity of depressive disorders]. *Ther Umsch* (2000) 57(2):53-8.
- Wallace, A. E., Kofoed, L. L., and West, A. N. Double-blind, placebo-controlled trial of methylphenidate in older, depressed, medically ill patients. *Am J Psychiatry* (1995) 152(6):929-31.
- Watanabe, Y., Gould, E., and McEwen, B. S. Stress induces atrophy of apical dendrites of hippocampal CA3 pyramidal neurons. *Brain Res* (1992) 588(2):341-5.
- Whelan, T. B., Schteingart, D. E., Starkman, M. N., et al. Neuropsychological deficits in Cushing's syndrome. *J Nerv Ment Dis* (1980) 168(12):753-7.
- Willis-Owen, S. A., Fullerton, J., Surtees, P. G., et al. The Val66Met coding variant of the brain-derived neurotrophic factor (BDNF) gene does not contribute toward variation in the personality trait neuroticism. *Biol Psychiatry* (2005) 58(9):738-42.
- Wittchen, H. U., and Jacobi, F. Size and burden of mental disorders in Europe--a critical review and appraisal of 27 studies. *Eur Neuropsychopharmacol* (2005) 15(4):357-76.
- Wong, M. L., and Licinio, J. Research and treatment approaches to depression. *Nat Rev Neurosci* (2001) 2(5):343-51.

- Woo, N. H., Teng, H. K., Siao, C. J., et al. Activation of p75NTR by proBDNF facilitates hippocampal long-term depression. *Nat Neurosci* (2005) 8(8):1069-77.
- Wulsin, L. R., Vaillant, G. E., and Wells, V. E. A systematic review of the mortality of depression. *Psychosom Med* (1999) 61(1):6-17.
- Xu, B., Gottschalk, W., Chow, A., et al. The role of brain-derived neurotrophic factor receptors in the mature hippocampus: modulation of long-term potentiation through a presynaptic mechanism involving TrkB. *J Neurosci* (2000) 20(18):6888-97.
- Xu, H., Steven Richardson, J., and Li, X. M. Dose-related effects of chronic antidepressants on neuroprotective proteins BDNF, Bcl-2 and Cu/Zn-SOD in rat hippocampus. *Neuropsychopharmacology* (2003) 28(1):53-62.
- Xu, L., Anwyl, R., and Rowan, M. J. Behavioural stress facilitates the induction of long-term depression in the hippocampus. *Nature* (1997) 387(6632):497-500.
- Yamada, S., Yamamoto, M., Ozawa, H., et al. Reduced phosphorylation of cyclic AMP-responsive element binding protein in the postmortem orbitofrontal cortex of patients with major depressive disorder. *J Neural Transm* (2003) 110(6):671-80.
- Yan, Q., and Johnson, E. M., Jr. Immunohistochemical localization and biochemical characterization of nerve growth factor receptor in adult rat brain. *J Comp Neurol* (1989) 290(4):585-98.
- Young, E. A., Haskett, R. F., Murphy-Weinberg, V., et al. Loss of glucocorticoid fast feedback in depression. *Arch Gen Psychiatry* (1991) 48(8):693-9.
- Zabel, B. U., Eddy, R. L., Lalley, P. A., et al. Chromosomal locations of the human and mouse genes for precursors of epidermal growth factor and the beta subunit of nerve growth factor. *Proc Natl Acad Sci U S A* (1985) 82(2):469-73.
- Zagrebelsky, M., Holz, A., Dechant, G., et al. The p75 neurotrophin receptor negatively modulates dendrite complexity and spine density in hippocampal neurons. *J Neurosci* (2005) 25(43):9989-99.
- Zarate, C. A., Jr., Singh, J. B., Carlson, P. J., et al. A randomized trial of an N-methyl-D-aspartate antagonist in treatment-resistant major depression. *Arch Gen Psychiatry* (2006) 63(8):856-64.
- Zha, X. M., Bishop, J. F., Hansen, M. R., et al. BDNF synthesis in spiral ganglion neurons is constitutive and CREB-dependent. *Hear Res* (2001) 156(1-2):53-68.
- Zhou, J., Zhang, F., and Zhang, Y. Corticosterone inhibits generation of long-term potentiation in rat hippocampal slice: involvement of brain-derived neurotrophic factor. *Brain Res* (2000) 885(2):182-91.
- Zhou, X. F., Song, X. Y., Zhong, J. H., et al. Distribution and localization of pro-brain-derived neurotrophic factor-like immunoreactivity in the peripheral and central nervous system of the adult rat. *J Neurochem* (2004) 91(3):704-15.
- Ziegenhorn, A. A., Schulte-Herbruggen, O., Danker-Hopfe, H., et al. Serum neurotrophins--a study on the time course and influencing factors in a large old age sample. *Neurobiol Aging* (2007) 28(9):1436-45.
- Zorner, B., Wolfer, D. P., Brandis, D., et al. Forebrain-specific trkB-receptor knockout mice: behaviorally more hyperactive than "depressive". *Biol Psychiatry* (2003) 54(10):972-82.