

1. Einleitung

1.1. "Biologische Psychiatrie"

Die Entwicklung der Psychopharmakologie stützte durch ihre Befunde der medikamentösen Beeinflussbarkeit von Geisteskrankheiten die (schon von Griesinger aufgestellte) Hypothese, daß Geisteskrankheiten Erkrankungen des Gehirns sind. Die Frage nach den Wirkmechanismen der Psychopharmaka im Gehirn führte zur intensiven Erforschung von Neurotransmittern, Synapsen und Rezeptoren des Gehirns, was wiederum zum besseren und erweiterten Verständnis der physiologischen Funktion des Gehirns führte. Hieraus entwickelte sich innerhalb der Psychiatrie die Disziplin der "biologischen Psychiatrie", die versucht, die psychopathologischen Phänomene mit funktionellen und strukturellen Veränderungen des Gehirns zu korrelieren.

Tabelle 1, Charakterisierung und Abgrenzung der Biologischen Psychiatrie

Neuropsychiatrie	Biologische Psychiatrie	"Behavioral Neurology"
Erkrankungen mit neurologischen und/oder psychiatrischen Phänomenen	psychiatrische Erkrankungen	neurologische Erkrankungen
funktionelle und strukturelle Aspekte als komplementär	funktionell	strukturell
dynamisch-funktionelle Lokalisation	Lokalisation in funktionellen Mikrostrukturen	Lokalisation in statischen anatomischen Makrostrukturen
klinisch-funktions-dynamische Korrelationen	klinisch-neuro-chemische Korrelationen	klinisch-pathologische Korrelationen
funktioneller Apparat des Gehirns	neurochemischer Apparat des Gehirns	anatomischer Apparat des Gehirns

verändert nach (Northoff, 1997b)

Die "biologische Psychiatrie" beschäftigt sich hauptsächlich mit Synapsen, Neurotransmittern und Rezeptoren; durch die Untersuchung der entsprechenden Wirkmechanismen versucht man Einblick in das strukturelle und funktionelle Geschehen im Gehirn bei psychiatrischen Symptomen und Erkrankungen zu gewinnen (Northoff, 1997a) Die "biologische Psychiatrie" verwendet die funktionelle Neuroanatomie und beschränkt sie auf Mikrostrukturen.

1.2. Geschichte der Serotonin-Forschung

(Von den Anfängen bis 1953)

Seit der Mitte des neunzehnten Jahrhunderts sind sich die Physiologen der Anwesenheit einer endogenen, vasokonstriktischen Substanz im Körper bewußt. Die Substanz war im Serum geronnenen Blutes vorhanden, wurde aus den Thrombozyten freigesetzt und wurde "Vasotonin" genannt. Identifiziert wurde sie als 5-Hydroxytryptamin (5-HT) 1948 von Rapport et al. (1948). Die Substanz wurde, da sie im Serum gefunden wurde und den Gefäßtonus erhöhte, "Serotonin" benannt. Unabhängig von Rapport et al. zeigten 1952 Erpsamer et al. (1952) eine in der glatten Muskulatur weit verbreitete, und diese kontrahierende Substanz, welche sie "Enteramin" nannten. Der Name entstand aus dem Beobachtung ihrer hohen Konzentration in den enterochromaffinen Zellen des gastrointestinalen Traktes. 1952 bewiesen Erpsamer und Asero die Identität von „Serotonin“ und „Enteramin“. 1953 wurde 5-HT von Twarog und Page erstmalig im Zentralnervensystem nachgewiesen (Twarog B. M., Page I. H. 1953). Sie benutzten dazu einen Bioassay aus Molluskenherzen. 1953 waren damit die drei Hauptorte des Vorkommens von 5-HT (Thrombozyten, Gastrointestinaltrakt und ZNS) bekannt.

Die Raphe-Kerne wurden als das Hirngebiet mit dem höchsten 5-HT Gehalt identifiziert. Diese Kerne hatte Ramon y Cayal bereits 1911 als gigantische Neurone in der Mittellinie des Hirnstamms beschrieben, ohne aber ihren extensiven Projektionen folgen zu können. In die 50iger Jahre fällt auch das Gelingen der Kristallisation des Serotonins als Sulfat und Pikrat.

(1953-1970)

1954 entwickelte Udenfried eine sensitive chemische Methode zum Nachweis verschiedener 5-Hydroxyindole (Udenfried S., Titus E., Weisbach H. 1955). Eine der ersten medizinisch relevanten Anwendungen des Tests war die Entdeckung des Carcinoid Syndroms. Erpsamer

hatte hierbei die Idee, daß Zellen des Carcinoids im Überfluß 5-HT produzieren könnten, da sie von den enterochromaffinen Zellen des gastrointestinalen Traktes abstammen. So wurde die Methode, mit dem Nachweis von erhöhten Konzentrationen des sauren Abbauprodukts des 5-HT im Urin, der 5-Hydroxyindolessigsäure, Carcinoidpatienten zu entdecken, klinisch etabliert. In diese Zeit fällt die Entstehung des Gedankens, daß 5-HT bei mentalen Erkrankungen, hauptsächlich auf Grund der psychomimetischen Aktivität von Serotoninanaloga und von LSD (LSD kannte man als 5-HT-Antagonisten an glatter Muskulatur.), eine zentrale Rolle spielen könne. Daß 5-HT leicht in das ZNS eindringt nahm man nicht an. Doch einer der ersten Patienten Sjoerdsmas mit einem Carcinoidsyndrom (dessen Tumor mehrere hundert Milligramm 5-HT in vierundzwanzig Stunden produzierte) zeigte einen so anomalen psychischen Zustand, daß es nahelag, eine 5-HT verursachte geistige Störung anzunehmen. Im Widerspruch hierzu stand, daß spätere Patienten mit Carcinoidsyndrom keine psychischen Veränderungen hatten, und LSD bei ihnen bei normaler Dosis seine volle Wirksamkeit zeigte. Lehman schilderte einen weiteren Patienten mit Carcinoidsyndrom und schweren depressiven Reaktionen (Lehmann J.,1966). Bei diesem Patienten nahmen unter einer Ernährung mit erhöhter künstlicher Tryptophanzufuhr die depressiven Symptome (die nach Absetzen der Tryptophanzufuhr wiederkehrten) ab. In einer Studie mit PCPA (einem Inhibitor der Tryptophan 5-Hydroxylase), zeigte Sjoerdsma, daß Carcinoidpatienten auf eine Behandlung mit PCPA mit einer erniedrigten Ausscheidung an 5-Hydroxyindolessigsäure, einer Verbesserung der Diarrhoe (aber nicht der Flushsymptome), einer Reduktion des REM-Schlafes reagierten. Sieben dieser Patienten produzierte unter PCPA depressive Symptome (Angst, Erregbarkeit, Depression) (Sjoerdsma A.,et al.1970). PCPA induzierte psychiatrische Symptome durch eine Verarmung an Serotonin, was durch die verminderte Ausscheidung an 5-Hydroxyindolessigsäure nachgewiesen wurde. Das Somatostatinanalogon Oktreotide hat heute durch seine überzeugende Wirkung in der Behandlung der Symptome des Carcinoidsyndroms (massive kutane Hautrötungen, Bronchokonstriktion, Diarrhoe) durch Inhibition der Freisetzung von vasodilatatorischen Peptidhormonen und anderen Mediatoren (wie Serotonin) aus neoplastischem Gewebe die Serotoninantagonisten abgelöst (Oates 1986).

Europäer und Amerikaner hatten unterschiedliche Theorien zur Entstehung der Depression. Die europäischen Wissenschaftler waren Verfechter der Serotonintheorie, die Amerikaner der Katecholamintheorie (Schildkraut J. J., 1965). Die Europäer gingen dabei von der

Beobachtung aus, daß depressive Patienten erfolgreich mit Serotonin-Vorläufern, aber ohne Erfolg mit Noradrenalin-Vorläufern behandelt werden konnten.

In diese frühe Phase gehören weitere Entdeckungen. So erschöpft Reserpin den 5-HT Gehalt des Hirns. 10 bis 15 % der Patienten die Reserpin erhielten, entwickelten depressive Symptome (Bunney W. E., Davis J.M.,1965). Die Wirkung erklärte man sich durch die Blockade der Speicherung von Katecholaminen und Serotonin. Diese sind so der katabolischen Aktivität der Monoaminoxidase ausgesetzt (Kopin I. J. 1964). Monoaminoxidaseinhibitoren wurden durch Zufall entdeckt (Loomer H. P.,Saunders J. C., Kline N. S.,1957). Ihr antidepressiver Effekt wurde erstmalig bei tuberkulösen Patienten, die mit Iproniazid behandelt wurden, beobachtet. Diese Inhibitoren erhöhen die im Hirn vorhandenen Spiegel an Serotonin und Katecholaminen. Coppen stärkte die Position der Forscher, die eine Serotonin-Hypothese der adrenergen vorzogen, durch seinen Nachweis, daß die Wirkung der MAO-Hemmer durch die zusätzliche Gabe von Tryptophan potenziert wird (Coppen A., Shaw D. M., Farrel J. P.,1963). Die Entdeckung der Wirkung der tricyclischen Antidepressiva gelang durch sehr klare und überzeugende Experimente. So zeigte Axelrod et al. (1963) an Zellen, daß Imipramin den Uptake von Serotonin hemmt. Segawa et al. demonstrierten die Wirkung von Tricyclika auf die Serotoninuptakeinhibition an Nervenendigungen, die aus den Hirnstämmen von Kaninchen gewonnen wurden (Segawa T., Kuruma I.,1968).

(1970-1979)

1975 zeigte Shopsin et al. (Shopsin B., Gershorn S., Goldstein M., Friedman M., Wilk S.,1975), (Shopsin B., Friedman E., Gershon S.,1976), daß PCPA, aber nicht alpha-methyl-p-Tyrosin, den antidepressiven Effekt von Imipramin und Tranylcypropromin antagonisiert. Shopsin kommentierte diese Entdeckung:"Das bedeutet, daß serotonerge Mechanismen sehr wahrscheinlich am antidepressiven Effekt von Imipramin beim Menschen beteiligt sind." Quadbeck et al. (1984) gab Anhaltspunkte dafür, daß 5-HT-Vorläufer wie l-Tryptophan und 5-Hydroxytryptophan einen antidepressiven Effekt haben, dagegen Noradrenalinvorläufer wie l-Dopa nicht. Carlsson und Corrodi (1969) entwickelten selektive Hemmstoffe der 5-HT Wiederaufnahme und bewiesen im Tierexperiment ihre potentielle antidepressive Wirkung. 1974 wurde Fluoxetin (Wong et al. 1974), 1976 Zimelidine (Ross et al. 1976) entdeckt. Der

therapeutische Effekt von Zimelidine war jedoch mehrere Jahre vor dem des Fluoxetins bekannt.

Die Skepsis, die den 5-HT-Uptakeinhibitoren entgegengebracht wurde, entstammte folgendem Umstand. Als Tiermodell für depressive Zustände existierten die reserpininduzierte Ptosis und Hypothermie. Auf beide Symptome haben die 5-HT-Uptakeinhibitoren keinen Einfluß. Ein neues Kapitel der serotonergen Forschung wurde durch die Anwendung von Rezeptorbindungstechniken aufgeschlagen.

(1979-1989)

Der erste Versuch einer Klassifikation der 5-HT-Rezeptoren wurde 1957 von Gaddum und Picarelli (Gaddum und Picarelli 1957) mit einer Untersuchung der Wirkung von 5-HT-Antagonisten unternommen. Die an der glatten Muskulatur des Meerschweinchenileums gefundenen Rezeptoren benannten sie mit dem Buchstaben "D" (für Hemmbarkeit mit Dibenzylin), die an parasymphatischen Nervenendigungen des Herzens oder Ileums mit dem Buchstaben "M" (für Hemmbarkeit mit Morphin). Die technischen Voraussetzungen für Rezeptorbindungsversuche waren jedoch erst in den frühen 70iger Jahren dank der Arbeiten von S. H. Snyder gegeben (Snyder 1978). Bennet und Aghajanian wendeten diese neuen Techniken als erste auf die 5-HT-Rezeptoren an. Sie benutzten dazu ^3H -LSD und konnten dessen sättigbare, reversible, stereoselektive und hochaffine ($K_d = 7,5 \text{ nM}$) Bindung nachweisen (Bennet, Aghajanian 1972). ^3H -5-HT war der zweite Ligand, der zur Markierung von 5-HT-Rezeptoren benutzt wurde. Beträchtliche Unterschiede im Bindungsverhalten von ^3H -LSD und ^3H -5-HT wurden festgestellt. Daraus schlußfolgerten Bennett und Snyder (Bennet, Snyder 1976), daß es zwei Zustände desselben Rezeptors mit jeweils unterschiedlicher Affinität geben müsse. Die von Gaddum und Picarelli eingeführte Unterteilung (heute wird M als 5-HT₃- und D als 5-HT₂-Rezeptor bezeichnet) wurde von Peroutka und Snyders klassischer Arbeit von 1979 (Peroutka und Snyder 1979) abgelöst. Sie konnten durch den Einsatz von ^3H -markiertem 5-HT, LSD und Spiroperidol (einem Neuroleptikum der Butyrophenongruppe) zwei Rezeptorklassen unterscheiden. Damit widerlegten sie das von Bennet und Snyder vorgeschlagene "flip-flop" Modell eines einzigen Rezeptors. Dabei wurden die durch ^3H -5-HT hochaffin markierten Rezeptoren 5-HT₁-Rezeptoren, die durch ^3H -Spiroperidol markierten Rezeptoren 5-HT₂-Rezeptoren genannt.

Tabelle 2, Serotoninwirkorte, Erkrankungen und Wirkstoffe

Zielort	Erkrankung	Wirkstoffe
5-HT-Uptake	Depression, Übergewicht	Fluoxetin, Fluvoxamin, Sertralin
5-HT _{1A}	Angst, Depression, Hypertension	Buspiron, Ipsaspiron, Urapidil
5-HT _{1B}	nur in Rodentia	
5-HT _{1C}	Migräneattacke	Sumatryptan
5-HT ₂	Angst, Migräne, Hypertension, Insomnie, Schizophrenie,	Ketanserin, Ritanserin
5-HT ₃	Zytostatikainduziertes Erbrechen, Migräneattacke, Angst, Schizophrenie, Carcinoidsyndrom*	MDL72222, Ondansetron, Zacoprid
MAO-A	Depression	MDL 72394

(* das Somatostatinanalogon Oktreotide wird gegen das Carcinoidsyndrom eingesetzt)

Weiterhin zeigten sie, daß das Symptom des Kopfnickens beim serotonergen Syndrom durch 5-HT₂-Rezeptoren gesteuert wird und daß durch die Anwendung von Antidepressiva (Amitryptilin) eine Downregulation der 5-HT₂-Rezeptoren, doch keine Beeinflussung der 5-HT₁-Rezeptoren erreicht wird. Verschiedene Arbeiten zeigten einen deutlichen Zusammenhang zwischen dem serotonergen System und affektiven Psychosen und konnten dem 5-HT₂-Rezeptor eine besondere Rolle zuordnen. Peroutka und Snyder subklassifizierten in den frühen 80igern den 5-HT₁-Rezeptor in "A" bis "D". (Die 5-HT_{1A}-Rezeptoren sind z.B. an der zentralen Blutdruckregulation beteiligt (Kolassa et al. 1989). Ebenfalls in den 80igern wurde ein selektiver 5-HT₂-Antagonist entwickelt, das Ketanserin. Die alte Annahme der Beteiligung des serotonergen Systems an der Blutdruckkontrolle und an der Entstehung der Migräne wurde durch neue Arbeiten bestätigt (Janssen 1983) und auf den 5-

HT₂-Rezeptor spezifiziert. Selektive 5-HT₃-Rezeptorantagonisten wurden durch die Vereinigung der 5-HT₃-antagonistischen Eigenschaften von Kokain und Metoclopramid in einer Substanz, MDL 72,222 entwickelt (Fozard 1984). Die Folge der besseren Kenntnis der 5-HT-Rezeptorsubtypen waren die Entwicklungen einer Fülle neuer Substanzen mit 5-HT-Rezeptorselektivität.

Die neuste Linie der Forschung ist die Anwendung molekularbiologischer Methoden zur Untersuchung der serotonergen Rezeptoren. So wurden mindestens drei neue 5-HT-Rezeptoren identifiziert und sequenziert.

1.2.1. Serotonin, Hypothese der Depression

Viele biologische Merkmale, die eine Prädisposition zu depressiver Erkrankung darstellen, werden heute diskutiert. Dazu gehören: Änderungen in der präsynaptischen 5-HT-Aktivität, quantitative und qualitative Änderungen an den postsynaptischen 5-HT_{1A}- und 5-HT₂-Rezeptoren im Hirn, entgegengesetzte Beziehungen zwischen der HPA-Achse und Störungen der 5-HT-Systeme.

Folgende Veränderungen an depressiven Patienten sind belegt:

Mangelnde präsynaptische 5-HT-Aktivität:

Viele Befunde belegen eine mangelnde präsynaptische 5-HT-Aktivität: es ist weniger l-Tryptophan im Plasma für das Hirn verfügbar, durch eine künstliche Verarmung an Plasma-l-Tryptophan werden depressive Symptome hervorgerufen, es gibt eine Beziehung zwischen niedrigem Plasma-l-Tryptophan und einer positiven Antwort auf das serotonerge System beeinflussende Antidepressiva, antidepressive Behandlung erhöht den Plasma-l-Tryptophanspiegel, in postmortal gewonnenem Hirngewebe sind l-Tryptophan, 5-HT, 5-HIAA erniedrigt.

Quantitative und qualitative Änderungen an den postsynaptischen 5-HT_{1A}- und 5-HT₂-Rezeptoren:

Die postsynaptischen 5-HT₂-Rezeptoren sind in ihrer Anzahl, ihrer Affinität, ihrer Antwortstärke erhöht. Die zugrundeliegenden Fakten sind: höhere 5-HT₂-Rezeptoranzahl im

Präfrontalkortex und auf Thrombozyten, 5-HT₂-Antagonisten bewirken bei Depressiven keine Zunahme des Slow-wave Schlaf, verstärkte Antwort der HPA-Achse auf l-Tryptophan und l-Hydroxytryptophan, Behandlung mit Antidepressiva bewirkt eine Abnahme der 5-HT₂-Rezeptoranzahl und des 5-HT₂-rezeptorgebundenen Verhaltens. Bei Depressiven ist der postsynaptische 5-HT_{1A}-Rezeptor down-reguliert (so ist die Anzahl der 5-HT_{1A}-Rezeptoren im Hippokampusgewebe postmortal erniedrigt und wird unter Antidepressiva- und Elektrokonvulsivertherapie erhöht).

(Übersichtsarbeit: Meltzer und Lowy, 1987)

1.3. Serotonerge Rezeptoren im historischen Überblick

Wie zuvor dargestellt ist seit 1957 bekannt, daß es mehrere 5-HT-Rezeptoren gibt (Gaddum und Picarelli 1957). 1979 wurden zwei unterschiedliche 5-HT-Rezeptoren im Rattenhirn nachgewiesen (Peroutka und Snyder 1979). Letztere nannte man 5-HT₁- und 5-HT₂-Rezeptoren. Sehr schnell wurde klar, daß es verschiedene 5-HT₁-Rezeptoren gab. Die von Gaddum und Picarelli 5-HT-D- und 5-HT-M genannten Rezeptoren wurden als 5-HT₂- und 5-HT₃-Rezeptoren klassifiziert. Die verschiedenen bekannten Rezeptoren wurden also in 5-HT₁-ähnliche, 5-HT₂- und 5-HT₃-Rezeptoren eingeteilt. Die anfänglichen Einteilungskriterien richteten sich nur nach den Unterschieden im Bindungsverhalten der Rezeptoren oder genauer, nach der Ligandenspezifität der individuellen Rezeptoren. So waren die 5-HT₁-ähnlichen Rezeptoren als die Rezeptoren definiert, die eine nM Affinität für 5-HT und seinen Strukturverwandten 5-Karboxamidotryptamin hatten. 5-HT₂-Rezeptoren waren durch ihre niedrige Affinität ($K_d > 500$ nM) zu 5-HT definiert. Die Unterscheidung der beiden ersten 5-HT-Rezeptorfamilien, 5-HT₁ und 5-HT₂, war das Ergebnis der Radioligandenbindungstechnik. Dabei war ³H-Spiroperidol, eigentlich als dopaminerg bindend bekannt, die Substanz die beide Familien (durch Bindung an den 5-HT₂-Rezeptor) unterscheiden konnte. Die heutige Einteilung hält sich nicht mehr an dieses Schema, da das Bindungsverhalten der Rezeptoren ihre Gemeinsamkeiten und Unterschiede nicht ausreichend scharf erfaßt. So bindet der 5-HT_{1E}-Rezeptor nur mit niedriger Affinität an 5-

Karboxamidotryptamin, der 5-HT₇-Rezeptor dafür an 5-HT und 5-Karboxamidotryptamin mit subnanomolarer Affinität.

Tabelle 3, Serotonerge Rezeptoren und die Techniken ihrer Entdeckung

Rezeptoren	Technik der Erstbeschreibung
5-HT _{1A} BDERS, 5-HT _{2A}	Radioligandenbindung
5-HT _{2C}	Autoradiographie und Radioligandenbindung
5-HT _{1D} alpha, betta, 5-HT _{1E} beta, 5-HT _{1F} , 5-HT _{5A} , 5-HT _{5B} , 5-HT ₆ , 5-HT ₇ 5-HT _{2B}	Molekularbiologie
5-HT _{1P} , 5-HT ₃ , 5-HT ₄	verschiedene funktionelle Assays

(nach Glennon und Dukat, 1995)

Die Eigenschaft der 5-HT₂-Rezeptoren, mit micromolarer Affinität an 5-HT zu binden, kann auch nicht mehr zu ihrer Definition genutzt werden. Heute wissen wir durch die entsprechenden Liganden (¹²⁵J-DOI, ³H-DOB), daß 5-HT an 5-HT₂-Rezeptoren mit einer nM Affinität ($K_d > 10$ nM) bindet. Es mußten sogar Wechsel in der Familienzugehörigkeit vorgenommen werden. So ist der 5-HT_{1C}-Rezeptor zum 5-HT_{2C}-Rezeptor geworden. Er hat eine Sequenzhomologie von 75% zum 5-HT₂-Rezeptor, der jetzt 5-HT_{2A}-Rezeptor heißt. Beide sind an das Phosphoinositol-Second messengersystem gekoppelt. Immer noch ist es üblich über Bindungsprofile neu entdeckte serotonerge Rezeptoren zu klassifizieren. Aber es gibt nur sehr wenige selektiv bindende Substanzen (Glennon et al. 1991). Dazu kommt das Problem der Aktualisierung. Alle (z.B. molekularbiologisch) neu entdeckten Rezeptoren sollten in ihrem Bindungsprofil an den bekannten Substanzen erprobt werden. Dann muß für jede Substanz bei jedem neu gefundenen Rezeptor ihre Selektivität überprüft werden. Eine Übersicht über die serotonergen Rezeptoren und die Technik mit der sie entdeckt wurden gibt Tabelle 3.

Mit Daten, die durch Klonierung gewonnen wurden, kann man die serotonergen Rezeptoren in zwei große Gruppen unterteilen: Ligandengekoppelte Ionenkanäle (Julius et al. 1991) und G-Protein gekoppelte Rezeptoren (Shih et al. 1990). Beide Gruppen sind wiederum Mitglieder verschiedener "Supergenfamilien" von Rezeptoren die miteinander verwandt sind. Diese Familien definieren sich durch Gemeinsamkeiten der Struktur und Funktion ihrer Mitglieder. Die mit pharmakologischen Methoden gefundene Identifikation der 5-HT-Rezeptoren und die sich daraus ergebende Systematik wurde durch die mit der molekularbiologischen Methode der Klonierung erhaltenen Daten bestätigt. Ein beträchtlicher Wissenszuwachs mit daran gebundenem besserem Verständnis der einzelnen Rezeptoren und ihrer Verwandtschaft ist vermittels der neuen Methoden zu erwarten, denn nun stehen uns Daten über die proteinerge Primärstruktur und Genstruktur der (klonierten) Rezeptoren zur Verfügung. Die jetzige Nomenklatur ist also Folge der Anwendung klassischer rezeptorologischer und moderner molekularbiologischer Methoden. Beider Ergebnisse bilden die Grundlage der Einteilung der serotonergen Rezeptoren. Die neue 5-HT-Rezeptornomenklatur wurde von dem "Serotonin Nomenclature Committee, Houston, 1992" festgelegt.

Eine Übersicht über die Diversifizität der serotonergen Rezeptoren gibt Tabelle 4.

Tabelle 4, Übersicht über die 5-HT-Rezeptorfamilie

A ionotrope Rezeptoren	B metabotrope Rezeptoren
Klasse 1	Klasse 2
Rezeptor: 5-HT ₃	Rezeptor: 5-HT ₁ (ABDEFPS), 5-HT ₂ (ABC)
Ligand: ³ H-5-HT microM	Ligand: ³ H-5-HT nM, ³ H-5-HT microM
Informationsübertragung: Membrandepolarisation (Na ⁺ , K ⁺)	Informationsübertragung: 5-HT ₁ (ABDEF): G _i , Adenylatcyclase 5-HT ₂ : G _x , PLC
physiologische Wirkung: Regulation von Neurotransmitter-Freisetzung (z.B. Acetylcholin)	physiologische Wirkung: 5-HT ₁ : inhibitorisch 5-HT ₂ : excitatorisch, Kontraktion glatte Muskulatur (Blutgefäße, Atemwege)
Lokalisation: neuronal Membranen im peripheren und zentralen Nervensystem	Lokalisation: 5-HT _{1A} : Hippokampus (5-HT _{1B} : Ncl. Caudatus(Rodentia)) 5-HT _{1D} : Ncl. Caudatus(Mensch) 5-HT _{1E} : Thrombozyt(Mensch) 5-HT _{1F} : Ncl. Caudatus(Mensch) 5-HT _{1P} : Magen-Darm 5-HT _{1S} : Rückenmark(Rodentia) 5-HT _{2A} : Thrombozyten, glatte Muskulatur, Cortex(L.IV), mesolimbisches System, Tuberculum olfactorium 5-HT _{2B} : Fundus, Magen 5-HT _{2C} : Plexus choroideus

Fortsetzung der Tabelle 4, Übersicht über die 5-HT-Rezeptorfamilie

Molekularbiologie:

-5-HT₁-Rezeptoren: untereinander 30-50% Sequenzhomologie

-5-HT₁-Rezeptoren zu 5-HT₂-Rezeptoren: weniger als 30%

Sequenzhomologie

-5-HT₂-Rezeptoren: untereinander mehr als 30% Sequenzhomologie

Innerhalb weniger Jahre ist unser Wissen über die Subtypen der serotonergen Rezeptoren sprunghaft gewachsen. Wurden in "Psychopharmacology: The Third Generation of Progress" von 1987 nur vier Subtypen beschrieben, so sind es 1995 in "Psychopharmacology: The Fourth Generation of Progress" mindestens fünfzehn. In der obigen Tabelle erscheinen vier erst kürzlich beschriebene Rezeptoren nicht. Es sind der 5-HT₄-, 5-HT₅-, 5-HT₆-, 5-HT₇-Rezeptor. Sie sind meines Wissens alle vorerst nur in Rodentia beschrieben worden und werden hier der Vollständigkeit halber erwähnt.

Deutlich wird, daß die Molekularbiologie die Führungsrolle (nicht nur) bei der Erforschung serotonerger Rezeptoren übernommen hat. Durch die Kenntnis der proteinerge Primärstruktur und der Genstruktur können dreidimensionale Modelle der Rezeptoren berechnet werden. Mit Hilfe dieser Modelle können neue Liganden bei ihrer Entwicklung an "ihren" Rezeptor angepaßt werden. Dadurch ist es vielleicht möglich, für jeden Rezeptor einen nur für ihn spezifischen Liganden zu entwickeln. So sind auch die Signaltransduktionswege durch die Zellmembran untersuchbar geworden. Durch Kenntnis ihrer Funktion und Steuerung, sowie ihrer Rückkopplungsmechanismen auf den vorgeschalteten Rezeptor sind Phänomene wie Rezeptoreffizienz, Reserverezeptoren u.s.w. besser zu verstehen. So können aktuelle Theorien der Steuerung von 5-HT₂-Rezeptoren unterstützt oder widerlegt werden. Eine Übersicht über die heute bekannten Signaltransduktionswege der 5-HT-Rezeptoren gibt obige Tabelle.

Ähnlich schnell nehmen auch die Hinweise für die bedeutende Rolle der serotonergen Rezeptoren bei verschiedenen Erkrankungen zu. Depression, Schizophrenie, Angst, Migräne als neuropsychiatrische Erkrankungen gehören dazu. Genauso spielen sie auch eine Rolle bei

der Appetitkontrolle, der Aggression, sexuellem Verhalten und kardiovaskulären Erkrankungen.

(Übersichtsarbeiten: Peroutka 1987, Glennon, Dukat 1995)

1.3.1. 5-HT₂-Rezeptoren

Wie bereits beschrieben sind drei 5-HT₂-Rezeptoren bekannt. Gaddum und Picarelli (1957) gaben dem von ihnen gefundenen Rezeptor den Buchstaben "D", für die an ihm beobachtete Eigenschaft der Hemmung der 5-HT-Wirkung durch Dibenzylin. Bennet und Snyder (1976) entwarfen dann das Gerüst der heute noch übliche Nomenklatur.

Tabelle 5, Übersicht 5-HT₂-Rezeptoren

5-HT ₂ (ABC)-Rezeptor (449 AS)	
Ligand:	³ H-5-HT mikroM 5-HT _{2A} : Ketanserin, hohe Affinität 5-HT _{2B} : Ketanserin, niedrige Affinität 5-HT _{2C} : 50 % Sequenzhomologie zu 5-HT _{2AB}
Second Messenger:	G _x , Phospholipase C
Medikamente:	-Ketanserin(Antihypertonikum) ist selektivster Ligand(nM), Antagonist -Methysergid(Migräneprophylaxe), Antagonist -LSD(mißbräuchlich, Halluzinogen),(nM), Antagonist -Ritanserin, nicht zugelassen, Antagonist (verhindert Depolarisation von corticalen Pyramidenzellen) -Clozapin u.a. atypische Neuroleptika, Antagonist
entdeckt:	1974, mit LSD am Rattenhirn
Lokalisation:	-Thrombozyten, 5-HT _{2A} : glatte Muskulatur von Gefäßen und Atemwegen -Hirn: Cortex, Layer IV(5-HT _{2A}), limbisches System, Tuberculum Olfaktorium
Funktion:	-Appetitkontrolle, Thermoregulation, Schlaf, Thrombozytenaktivierung
Anmerkung:	Theorie der "Systematrophie" des 5-HT-Systems bei Depression
Rolle in der Psychiatrie:	vermutlich wichtigste Rolle bei der Entstehung von Depression, Dysthymie, generalisierter Angst, neg. Symptome der Schizophrenie, Halluzinationen, hetero-Autoaggression

Der 5-HT_D-Rezeptor hieß nun 5-HT₂-Rezeptor. Seitdem wurden drei verschiedene 5-HT₂-Rezeptoren beschrieben: 5-HT_{2A}, 5-HT_{2B}, 5-HT_{2C}.

1.3.2. 5-HT_{2A}-Rezeptor

Der 5-HT_{2A}-Rezeptor ist der am besten untersuchte aus der Gruppe der 5-HT₂-Rezeptoren. Er wurde bisher für die Ratte (Julius et al., 1990), die Maus ((Foguet et al., 1992), (Liu et al., 1991)) den Hamster (Chambard et al., 1990) und den Menschen (Saltzman et al., 1991) kloniert. Sie alle zeigen einen sehr hohen Grad an Homologie (>90%). Die Homologie der transmembranären Anteile von 5-HT_{2A}- und 5-HT_{2C}-Rezeptoren beträgt 78%.

Die am häufigsten benutzten Antagonisten zur Markierung des 5-HT_{2A}-Rezeptors sind: ³H-Spiroperidol, ³H-LSD, ³H-Mianserin, ³H-Ketanserin, ³H-Mesulergin, ¹²⁵J-LSD, N1-methyl-2-¹²⁵J-LSD (Hartig et al. 1989).

Die höchste Dichte erreichen die 5-HT_{2A}-Rezeptoren im Cortex (Layer 4) und im Caudatum (Pazos et al., 1985).

Üblicherweise ist die an heptahelikale Rezeptoren gekoppelte biochemische Signalkette folgende: Zelloberflächenrezeptor-> G-Protein-> Effektorenzym (z.B. PLC)-> Second Messenger (z.B. DAG, IP₃)-> Protein Kinase-> Phosphoprotein. Die Mitglieder der 5-HT₂-Rezeptorfamilie sind vorwiegend an die PLC gekoppelt (Sanders-Bush et al., 1995). Den Nachweis der Koppelung des 5-HT_{2A}-Rezeptors an die PLC führte E. Sanders-Bush bereits 1988 an Rattenhirnschnitten. In folgenden Geweben ist der 5-HT_{2A}-Rezeptor wie beschrieben gekoppelt: Rattenaorta, Zellkulturen von glatten Rindermuskelzellen, Thrombozyten (Peroutka, 1987). Spezifische Kinasen katalysieren die Umwandlung der Phosphoinositide. Diese werden schrittweise am Inositolring (Phosphatidylinositol) zu Phosphatidylinositol-4-phosphat und Phosphatidylinositol-4,5-diphosphat phosphoryliert. Die Rezeptor-vermittelte Spaltung von Phosphatidylinositol-4,5-diphosphat erfolgt durch die membrangebundene PLC zu IP₃ und DAG. IP₃ befreit Ca²⁺ aus intrazellulären Speichern durch Bindung an spezifische Rezeptoren. Ca²⁺ aktiviert die Ca²⁺-Calmodulin-abhängigen Proteinkinasen, die dann Proteine in der Zelle phosphorylieren oder dephosphorylieren. DAG aktiviert eine andere Kinasenfamilie, die PKC. Durch DAG wird die Affinität der PKC für

ihren essentiellen Kofaktor Ca^{2+} dramatisch erhöht, die PKC aktiviert. Die aktivierte PKC phosphoryliert eine Reihe membranärer und cytosolischer Proteine (Nishizuka, 1984). Unsere Kenntnis über die Targetproteine der PKC ist aber noch sehr lückenhaft. Für DAG und Phosphatidsäure gibt es aber noch andere Metabolisierungswege, die zu Arachidonsäurefreisetzung mit sich anschließender Prostaglandin- und Prostacyclinbildung führen. Die Aktivierung der PLC induziert die verschiedensten Änderungen in einer Zelle, mit denen sie Einfluß auf die Regulation zellulärer Prozesse nimmt. Die genaue Identität des zwischen 5-HT_{2A}-Rezeptor und PLC vermittelnden G-Proteins bleibt noch zu ermitteln. (Sanders-Bush et al., 1995). Apud et al. (1992) zeigte, daß es Pertussis-Toxin-unsensibel die PLC, an rekombinante 5-HT_{2A}-Rezeptoren gekoppelt, aktiviert. Akiyoshi et al. (1993) konnten an unreifen, granulierten Kleinhirnzellen den Nachweis der Koppelung eines Pertussis-Toxin-sensiblen G-Proteins (also der G_i-Familie zugehörig) an den 5-HT_{2A}-Rezeptor führen. Der Grundsatz, daß ein bestimmter Rezeptor an ein einziges G-Protein koppelt, trifft nicht für den 5-HT_{2A}-Rezeptor zu. Erwähnenswert ist, daß der 5-HT_{2A}-Rezeptor als Protoonkogen in NIH-3T3 Fibroblasten wirkt (Julius et al., 1990).

1.3.3. 5-HT_{2B}-Rezeptor

Im Fundusbereich des Rattenmagens wurden 5-HT₂-Rezeptoren vor mehr als 35 Jahren gefunden. Jüngst wurden diese Rezeptoren kloniert (Kursar et al., 1992). Der 5-HT_{2B}-Rezeptor wurde ursprünglich 5-HT_{2F}(Fundus)-Rezeptor genannt. Seine Homologie zu den 5-HT_{2A}- und 5-HT_{2C}-Rezeptoren beträgt ca. 70%. Der 5-HT_{2B}-Rezeptor erhöht die Produktion von IP₃. ³H-5HT bindet mit hoher Affinität (K_d: 9 nM), der Antagonist Ritanserin mit hoher Affinität (K_d: 5,18 nM), der Standard-5-HT₂-Agonist Ketanserin mit niedriger Affinität (K_d: 3559 nM). Der 5-HT_{2B}-Rezeptor hat eine besondere Eigenschaft. Agonisten zeigen im Bindungsassay höhere Affinitäten für den Rezeptor, wenn der Versuch bei 0 °C statt bei 37 °C ausgeführt wird. Antagonisten zeigen keine temperaturabhängige Differenz der Bindungseigenschaften. Diese Eigenschaft wird zur Vorhersage von agonistischen oder antagonistischen Eigenschaften von Pharmaka an diesem Rezeptor genutzt.

1.3.4. 5-HT_{2C}-Rezeptor

Der 5-HT_{2C}-Rezeptor wurde ursprünglich als 5-HT_{1C}-Rezeptor bezeichnet. Er hieß dann 5-HT_{2beta}-, jetzt 5-HT_{2C}-Rezeptor. Entdeckt wurde er unabhängig voneinander von zwei Arbeitsgruppen im Plexus choroideus von Schweinen (Pazos et al., 1984), (Yagaloff et al., 1985). Wie der 5-HT_{2A}-Rezeptor ist er an die PLC gekoppelt (Conn et al., 1986). Neuere Daten zeigen, daß er auch an der Erhöhung des cGMP's, als weiteres Second Messenger System, gekoppelt sein kann (Hartig et al., 1990). Zur Zeit gibt es keine den 5-HT_{2C}-Rezeptor selektiv bindenden Liganden. So können Eigenschaften des 5-HT_{2C}-Rezeptor dem 5-HT_{2A}-Rezeptor zugeschrieben worden sein. Eine Überlegung ist hierbei, daß der 5-HT_{2C}-Rezeptor in der Migräne eine größere Rolle als der 5-HT_{2A}-Rezeptor spielt. Koek et al. (1992) versuchten zu differenzieren, welches Verhalten für den 5-HT_{2C}-Rezeptor und welches für den 5-HT_{2A}-Rezeptor spezifisch ist.

Spiroperidol hat eine 1000-fach stärkere Bindung an den 5-HT_{2A}-Rezeptor als an den 5-HT_{2C}-Rezeptor (Roth et al., 1992). Ketanserin, der am häufigsten verwendete 5-HT_{2A}-Rezeptoragonist, unterscheidet dagegen die beiden Rezeptoren 10-fach schwächer. Er bindet an den 5-HT_{2A}-Rezeptor nur ca. 140-fach stärker als an den 5-HT_{2C}-Rezeptor.

Der 5-HT_{2C}-Rezeptor wurde für den Menschen (Saltzman et al., 1991), die Maus (Foguet et al., 1992; Yu et al., 1991) und die Ratte (Julius et al., 1991) kloniert.

Die neuroanatomische Verteilung wurde durch "In Situ Hybridisation" an Ratten untersucht (Pritchett et al., 1988). Zusätzlich zum Plexus choroideus wurde die 5HT_{2C}-mRNA in den Basalganglien, dem Hypothalamus, dem Hippokampus und im Rückenmark gefunden.

1.3.5. 5-HT₂-Rezeptoren und ihre Regulation

Wie Histamin₁-Rezeptorantagonisten nur eine sehr schwache Wirkung auf den gesunden tierischen oder menschlichen Organismus haben (eine leichte Sedierung), so auch die 5-HT₂-Antagonisten (eine Zunahme des slow wave sleep, eine Verbesserung der Blutzirkulation (Van Nueten et al., 1988)). 5-HT₂-Antagonisten, allein gegeben, bewirken keine auffälligen neurologischen, Verhaltens-, oder Persönlichkeitsänderungen. Sie beeinflussen oder unterbrechen auch keine Funktionen des autonomen Nervensystems. 5-HT₂-Agonisten haben dagegen drastische schädliche zentrale und periphere Wirkungen. Säugetiere reagieren mit Kopfnicken, klonischen Zuckungen, Plättchenaggregation, Menschen zusätzlich mit Halluzinationen. Therapeutische Wirkung erzielen 5-HT₂-Antagonisten in Patienten mit Depression, generalisierter Angst. Sie bessern bei schizophrenen Patienten die negativen Symptome der Schizophrenie. Damit unterscheiden sich 5-HT₂-Antagonisten deutlich von Antagonisten anderer Neurotransmitterrezeptoren. So verursachen adrenerge und cholinerge Antagonisten Störungen autonomer Funktionen. Dopaminantagonisten haben neurologische, muskarinerge Antagonisten psychotische Nebenwirkungen. Adrenerge Antagonisten bewirken darüber hinaus Sedation und Depression. Wir wissen über die bekannten Subtypen der adrenergen, dopaminergen und cholinergen Rezeptoren, daß eine chronische Blockade zu einem vermehrten Einbau von Rezeptoren in die Zellmembran führt. Dieses Phänomen bezeichnet man als Hochregulierung oder "Up-regulation". Eine Ausnahme ist der H₁-Rezeptor, bei dem eine dauerhafte Blockade nicht zu einer Up-regulation führt. Mit diesem letztgenannten System scheint das 5-HT₂-Rezeptorsystem vergleichbar zu sein. (Anmerkung: In Rodentia besitzen die Botenstoffe Histamin und Serotonin bei der Auslösung anaphylaktischer Reaktionen gleichstarke Wirkung.) Beide Systeme reagieren auf Agonisten sehr stark und mit schädlichen Folgen für den Organismus. Auf Antagonisten reagieren sie dagegen nur sehr schwach. Welche Kenntnisse besitzen wir über die Wirkung verschiedener Pharmaka auf die Anzahl der 5-HT₂-Rezeptoren? 5-HT₂-Rezeptorregulation unter antidepressiver Therapie, also unter der Einwirkung von 5-HT-Antagonisten und unspezifischen Neuroleptika wurden vor allem an Rodentia untersucht (Conn et al., 1987; Leysen et al., 1986; Peroutka et al., 1980). Verschiedene Untersuchungen deuten auf eine ungewöhnliche Regulation des 5-HT₂-

Rezeptors hin. So bewirken Antidepressiva eine Internalisierung ("Down-regulation ") des Rezeptors. (Dies stellt man sich als Folge einer verstärkten serotonergen Übertragung bei Abwesenheit körpereigenen Serotonins vor.) 5-HT-Wiederaufnahmemer bewirken weder 5-HT₂-Rezeptor "Down-", noch "Up-regulation". Entleerung der synaptischen Vesikel serotonerger Neurone, oder sogar Zerstörung dieser Neurone, beeinflußt nicht die Anzahl der Rezeptoren. Verschiedene 5-HT₂-Antagonisten bewirken eine Rezeptordownregulation und der dem Rezeptor angeschlossenen "Second messenger" Systeme. Zu erwarten wäre eine "Up-regulation" und Hypersensibilisierung (Conn et al., 1987). Eine "Down-regulation" zentraler 5-HT₂-Rezeptoren findet man bei wiederholter Gabe von Agonisten (Leysen et al., 1989). In diesem Experiment (Leysen et al. 1989) wurden drei Gruppen männlicher Ratten mit entweder einem 5-HT₂-Agonisten, einem 5-HT₂-Agonisten (DOM) und 5-HT₂-Antagonisten (Ketanserin), oder nur einem 5-HT₂-Antagonisten behandelt. Die Wirkung des Agonisten wurde durch das erwartete Verhalten des "Kopfnickens" der Ratten bestätigt. Je länger DOM gegeben wurde, um so mehr nahm das Kopfnicken ab (-20% nach 2, -80% nach 4 Injektionen). Die Untersuchung der zentralen 5-HT₂-Rezeptoranzahl der Ratten dieser ersten Gruppe zeigte einen signifikanten Abfall ($p < 0.001$) der Rezeptoranzahl, parallel zur Abnahme des Kopfnickens. Der Abfall betrug 41% der Ausgangszahl. In der zweiten Gruppe, in der Agonist und Antagonist gegeben wurde, erwartet man keine Änderung der Rezeptoranzahl. Tatsächlich gab es jedoch auch hier eine "Down-regulation". Diese fiel um 10 % schwächer als in der reinen Agonistengruppe aus. In der Gruppe mit alleiniger Antagonistengabe betrug die "Down-regulation" 20%. Sie war also halb so hoch wie unter Agonistengabe. Auffällig ist zweierlei. Erstens bewirkt der Antagonist die gegenteilige der erwarteten Wirkung. Zweitens addieren sich die gleichsinnigen Wirkungen von Agonist und Antagonist nicht. Zu vermuten ist also eine "Down-regulation" über zwei unterschiedliche Mechanismen. Es könnte sein, daß die agonisteninduzierte "Down-regulation" teilweise durch den Antagonisten verhindert wird . Diese "Hinderung" wird dabei durch die dem Antagonisten eigene Wirkung verdeckt. Die "Down-regulation" durch Ketanserin wurde mit anderen Antagonisten bestätigt. So mit Setoperon, Ritanserin, Cyproheptadin, Pizotifen, Mianserin (Conn et al., 1987; Leysen et al., 1986). Ein früh bekannter Hinweis auf diese Reaktion des 5-HT₂-Rezeptorsystems ist die Kenntnis der schnell entstehenden, dann dauerhaften Toleranz von durch LSD hervorgerufenen psychotischen Effekten und

Verhaltensänderungen bei Tier und Mensch (Freedman et al., 1958; Trulson et al., 1977). Die Halbwertszeit für die Rezeptordegradation, bzw Resynthese betrug anfänglich 5 Tage, später, in der medikamentenfreien Periode 3 Tage. Die Untersuchung des Secondmessengersystems an Zellkulturen vaskulärer glatter Muskelzellen (Pauwels et al., 1988) ergaben eine schnelle Desensibilisierung der 5-HT induzierten Inositolphosphatbildung von 20 % nach 15 Minuten, 80% nach 1 Stunde. Das Secondmessengersystem erholte sich mit Halbwertszeiten zwischen 5 und 12 Stunden. Leyson sowie Pauwels formulierten aufgrund dieser Ergebnisse folgende Hypothese: 5-HT₂-Rezeptoren erhalten unter physiologischen Bedingungen nur eine sehr schwache Stimulation. (Bedenkt man die Rolle des 5-HT's bei der anaphylaktischen Reaktion der Ratte, ist diese Feststellung nicht überraschend.) Eine akute Blockade unterbricht das normale Gleichgewicht nicht. Das würde das Fehlen direkt beobachtbarer Wirkungen von 5-HT₂-Antagonisten erklären. Bedingt durch die schwache natürliche Stimulation der Rezeptoren, können diese in einem übersensiblen Zustand sein. Dauerhafte Blockade, oder eine Denervation führen also zu keiner weiteren Sensibilitätssteigerung. Die schnelle und starke Desensibilisierung und "Down-regulation" ist dann ein Schutzmechanismus vor der verheerenden Wirkung der

Agonisten. Unverstanden bleibt die durch Antagonisten ausgelöste "Down-regulation". Die vorhandenen Ergebnisse deuten dabei auf einen Mechanismus hin, der sich von dem durch Agonisten bewirkten unterscheidet.

Diese Versuche fanden ohne gleichzeitige Untersuchung der Second Messenger Systeme statt. So stellt sich die Frage, ob die verwendeten Antagonisten nicht etwa Partialagonisten sind und es wegen ihrer restlichen agonistischen Aktivität zu einer "Down-regulation" kommt. Die Arbeitsgruppe von E. Sanders-Bush beschäftigte sich eingehend mit diesem Problem. Sie untersuchten die Auswirkungen der Antagonisten auf den Phosphatidylinositol-Metabolismus. Sie fanden keine Beweise für partialagonistische Eigenschaften der Antagonisten die eine "Down-regulation" der 5-HT₂-Rezeptoren bewirkten (Sanders-Bush et al., 1990¹). Die Arbeitsgruppe konnte für den 5-HT_{1C}-Rezeptor (jetzt: 5-HT_{2C}-Rezeptor) eine dem 5-HT_{2(A)}-Rezeptor ähnliche "Down-regulation" finden (Sanders-Bush et al., 1990²) (Was man als weiteren Beweis für die Gruppenzugehörigkeit des 5-HT_{1C}-Rezeptors zur 5-HT₂-Rezeptorengruppe ansehen kann.).

1.4. Thrombozyten als peripheres Modell der Biologischen Psychiatrie

Es ist ein Ziel der biologischen Psychiatrie, mit Hilfe der biologischen Wissenschaften, psychiatrische Erkrankungen zu verstehen. Ein Gesunder verfügt über Regulationsmechanismen, die es ihm möglich machen, auf Veränderungen der Umwelt zu reagieren. So hält er sein funktionelles Gleichgewicht aufrecht. Eine Störung dieser uns noch kaum bekannten Mechanismen resultiert in einer Dysregulation, die als nichtnormales Verhalten (z.B. Depression) Ausdruck findet. Die Gründe für die Dysregulation liegen wahrscheinlich auf den unterschiedlichsten Niveaus, angefangen bei gestörter Ablesung der DNS über Rezeptorproteinstörungen bis zu fehlerhafter Antwort von Neuronen. Die Suche nach biologischen Markern stellt sich als Teil der Erforschung der Änderungen und Antworten des funktionellen Gleichgewichts und seiner krankhaften Abwandlungen dar. Dabei ist nach dreierlei zu suchen: erstens nach zuverlässigen Markern des Krankheitszustandes, zweitens nach Markern, die auf eine Prädisposition zu erkranken hinweisen, drittens nach Markern, die in der symptomatisch stummen Phase durch ihre Änderung den Ausbruch der Erkrankung ankündigen (somit könnte man den akuten Krankheitszustand rechtzeitig verhindern). Bevor man sich jedoch eines solchen Markers bedienen, und ihn deuten kann, muß sein Normalzustand bekannt sein. Mit der Klärung einer Frage der letzten Art beschäftigt sich die vorliegende Arbeit.

Das wohl indirekteste Mittel zur Erforschung möglicher Störungen der serotonergen Mechanismen bei Depression ist der Thrombozyt. Dem Thrombozyten fehlen wesentliche Charakteristika serotonerger Neurone, oder Neurone mit postsynaptischen serotonergen Rezeptoren. Er ist nicht fähig Serotonin zu synthetisieren. Aber er kann Serotonin aktiv aufnehmen, in besonderen elektronendichten Granula speichern und freisetzen. Diese Eigenschaften machen ihn ausreichend interessant um ihn als peripheres, „nachwachsendes“ Model für serotonerge Neurone zu untersuchen (Pletscher 1968), (Sneddon 1973), (Stahl 1977).

Eine Übersicht über Gemeinsamkeiten(+) und Unterschiede(-) von Thrombozyt und Neuron gibt die folgende Tabelle.

Tabelle 6, Gemeinsamkeiten und Unterschiede von Thrombozyten und serotonergen Neuronen.

[Gemeinsamkeiten (+), Unterschiede (-)]

5-HT ₂ -Rezeptoren	+	MAO-B	+
adrenerger alpha ₂ -Rezeptor	+	Intrasynaptische Regulation	-
adrenerger beta ₂ -Rezeptor	+	Elektrische Antwort	-
V ₁ -Vasopressinrezeptor	+	Neuron-spezifische Enolase	+
Intrazelluläre Botenstoffe	+	5-HT-Bindungsprotein	-
Transmembranärer 5-HT-Uptake	+	Synaptophysin(Kaninchen)	+
DA-Uptake	(+)	Neuropeptide(Kaninchen)	+
NA-Uptake	-		
AS-Speicherung	+		
AS-Freisetzungsmechanismen	+		
AS-Biosynthese	-		

(Pletscher 1991)

1.4.1. Welche biologischen Marker sind auf Thrombozyten bei affektiven Erkrankungen erforscht?

An Thrombozyten depressiver Patienten wurde der 5-HT-Gehalt, die Monoaminoxidaseaktivität, die 5-HT-Aufnahme, die ³H-Imipramin-Bindung, die ³H-Paroxetin-Bindung und der 5-HT₂-Rezeptor untersucht. Die 5-HT-Aufnahme soll hypothetisch bei Depressiven, als kompensatorische Reaktion auf den Serotoninmangel, erniedrigt sein (Meltzer et al., 1987). Für sie gibt es eine Fülle von Untersuchungen. So sinkt bei depressiven, unbehandelten Patienten der V_{max}-Wert der transmembranären 5-HT-Aufnahme (Tuomisto und Tukiainen, 1976). 75% der diesbezüglichen Publikationen berichten über eine signifikante Abnahme des 5-HT-Aufnahme-V_{max}-Wertes. Aber Hrdina et al. (1997) berichten gegenteilig über eine signifikante Zunahme des 5-HT-Aufnahme-V_{max}-Wertes (wobei dieses Ergebnis auf die depressiven Frauen seiner Patientengruppe beschränkt ist).

Die ^3H -Imipramin-Bindung, die eine wichtige Rolle in der Steuerung der 5-HT-Aufnahme spielt, ist in den meisten Untersuchungen auf den Thrombozyten depressiver Patienten in ihrem B_{\max} erniedrigt (Briley et al., 1980).

Paroxetin ist ein potenter und selektiver Inhibitor der 5-HT-Aufnahme in Thrombozyten. Die ^3H -Paroxetin-Bindung scheint bei depressiven Patienten weder in ihrem K_d , noch in ihrem B_{\max} verändert zu sein. Dieser Widerspruch zu den Ergebnissen der 5-HT-Aufnahme und der ^3H -Imipramin-Bindung deutet wohl darauf, daß der 5-HT-Transporter nicht in seinen quantitativen, aber in seinen qualitativen Eigenschaften bei depressiven Patienten verändert ist (D'Haenen et al., 1988).

Der B_{\max} des thrombozytären 5-HT₂-Rezeptors steigt bei depressiven Patienten (Biegon et al., 1987, Arora und Melzer, 1989, Hrdina, 1997). Die von Biegon et al. mittels ^3H -Ketanserin als Liganden durchgeführten Experimente sind jedoch nicht reproduzierbar. So ist, nach den Ergebnissen unserer eigenen Arbeitsgruppe, die unspezifische Bindung des ^3H -Ketanserins so hoch, daß sie sich kaum von der spezifischen Bindung abhebt (siehe auch Steckler et al. 1993). Mikuni et al. (1992) berichtet, daß die Wirkung des 5-HT's, die intrazelluläre Calciummobilisation in Thrombozyten zu erhöhen, bei depressiven Patienten größer ist, als in gesunden Probanden. Das würde mit der Hypothese einer 5-HT₂-Rezeptor-Up-Regulation bei Depressiven übereinstimmen.* Diese vier Parameter sind mögliche Marker für die biochemische Abnormität bei Depressiven. Weiterhin sind sie mögliche Mittel zur Untersuchung der Wirkung von Antidepressiva auf Menschen, immer mit der Hoffnung, daß die beobachteten Effekte auf das Hirn übertragen werden können.

(Übersichtsarbeit Meltzer und Arora, 1991).

Anm.: Außer dem 5-HT₂-Rezeptor wurde noch der 5-HT_{1E}-Rezeptor auf menschlichen Thrombozyten nachgewiesen (De Keyser, 1989). Der 5-HT_{1E}-Rezeptor wurde noch nicht in Proben verschiedener Hirnareale gefunden.

* Ein weiterer Hinweis für die 5-HT₂-Rezeptor-Up-Regulation bei Depressiven ist die Abwesenheit einer Zunahme des SWS unter der Behandlung mit Antidepressiva (Sharpley et al., 1990), (Staner et al., 1992). Bei Gesunden folgt der Blockade der 5-HT₂-Rezeptoren durch Antagonisten eine Zunahme des SWS.

1.4.2. Welche Aufgabe hat der 5-HT₂-Rezeptor auf Thrombozyten und welche Liganden binden an ihn?

Zwei Serotoninbindungsstellen wurden auf Thrombozyten zuverlässig identifiziert. Die Serotonin in den Thrombozyten hinein pumpende, auch 5-HT-Aufnahme genannte, und die Bindungsstelle, die eine der vielen bekannten Möglichkeiten Thrombozyten zu aktivieren ist (Drummond, 1976). Die erste kann mit ³H-Imipramin oder ³H-Paroxetin markiert werden (Langer et al., 1980), (Mellerup et al., 1983). Die zweite ist der 5-HT₂-Rezeptor. McBride et al. (1987) konnten einen signifikanten Zusammenhang zwischen der durch 5-HT ausgelösten Thrombozytenaggregation und der Bindung von ¹²⁵I-LSD an 5-HT₂-Rezeptoren (auf Thrombozyten von Gesunden) nachweisen. Diese zweite Bindungsstelle lässt sich durch verschiedene radioaktive Liganden markieren. So benutzten Peters und Grahame-Smith (1980) ³H-5HT, Geaney et al. (1984) ³H-LSD, McBride et al. (1983) ³H-Spiroperidol, Biegon et al. (1987) ³H-Ketanserin. Steckler et al. (1993) ermittelte ³H-LSD als den Liganden der Wahl für den 5-HT₂-Rezeptor.

Tabelle 7, Bindungsdaten verschiedener Gruppen mit ihren jeweiligen Liganden für den 5-HT₂-Rezeptor auf verschiedenen Geweben

Ligand	B _{max}	K _d	Gewebe	Arbeitsgruppe
³ H-Ketanserin	86*	1,02	Thrombozyt, Katze	Leysen et al.(1983)
³ H-Ketanserin	425± 82*	19± 4	Thrombozyt, Mensch	Leysen et al.(1991)

Fortsetzung der Tabelle 7, Bindungsdaten verschiedener Gruppen mit ihren jeweiligen Liganden für den 5-HT₂-Rezeptor auf verschiedenen Geweben

¹²⁵ J-LSD	14,5± 6,0	1,69± 0,45	Thrombozyt, Mensch	McBride et al.(1987)
³ H-LSD	57,1± 5,6	0,53± 0,02	Thrombozyt, Mensch	Geaney et al. (1984)
¹²⁵ J-LSD	51,6± 4,8	0,37± 0,02	Thrombozyt, Mensch	Elliot und Kent (1989)
¹²⁵ J-LSD	136± 7	0,35± 0,02	Frontalhirn, Mensch	Elliot und Kent (1989)
³ H-Ketanserin	258± 19	nicht angegeben	Frontalhirn, Mensch	Elliot und Kent (1989)
³ H-Ketanserin	33,9±3,5,3	1,5± 0,2	Thrombozyt, Mensch	Biegon et al. (1987)
³ H-Ketanserin	6,6±1,0	1,0	Thrombozyt, Mensch	Biegon et al. (1990)
³ H-LSD	74,2± 21,7	0,74± 0,33	Thrombozyt, Mensch	Arora und Meltzer (1989)
¹²⁵ J-LSD	26,18±3,8 3	0,8± 0,18	Thrombozyt, Ratte	Twist et al. (1990)
³ H-Ketanserin	315,23±10 ,72	1,51± 0,2	Frontalhirn, Ratte	Twist et al. (1990)
³ H-LSD	209,1± 60,6	1,0± 0,64	Frontalhirn, Schwein	Ostrowitzki, Rao (1991)
³ H-LSD	77,75± 32,91	0,56± 0,37	Thrombozyt, Schwein	Ostrowitzki, Rao (1991)
³ H-LSD	70,1± 25,1	0,716± 0,368	Thrombozyt, Mensch	Andres, Rao (1991)
³ H-LSD	81,0	0,59	Thrombozyt, Mensch	Steckler et al. (1993)

Fortsetzung der Tabelle 7, Bindungsdaten verschiedener Gruppen mit ihren jeweiligen Liganden für den 5-HT₂-Rezeptor auf verschiedenen Geweben

³ H-LSD	82,2± 9,8	0,8± 0,21	Thrombozyt, Mensch	Müller-Oerlinghausen et al. (1995)
³ H-LSD	20,8	1,03	Thrombozyt, Mensch	(nicht veröffentlicht)
³ H-LSD	59,8± 7,1	0,82± 0,10	Thrombozyt, Mensch	Hrdina et al. (1994)
³ H-LSD	57,9± 28,4	0,93± 0,48	Thrombozyt, Mensch	Hrdina et al. (1997)
³ H-LSD	23,3	0,81	Thrombozyt, Mensch	Spigset et al. (1997)
³ H-LSD	35,7± 21,4	0,74± 0,31	Thrombozyt, Mensch	Coccaro et al. (1997)

(B_{max} [fmol/mg Protein], K_d [nM])

1.4.3. Zielstellung dieser Arbeit: Gibt es eine jahreszeitliche Rhythmik des 5-HT₂-Rezeptors?

Saisonale Variationen sind für die 5-HT-Aufnahme, für die ³H-Imipraminbindung und für die ³H-Paroxetinbindung bekannt. Die 5-HT-Aufnahme zeigt bei Gesunden einen Gipfel des V_{max} im Frühjahr-Sommer, depressive Patienten dagegen einen V_{max}-Gipfel im Herbst-Winter.

Tabelle 8, Saisonale Variation der 5-HT-Aufnahme bei normalen Kontrollen und in depressiven Patienten

Arbeitsgruppe	Normale Kontrollen			Depressive Patienten		
	K _m	V _{max}	Gipfel*	K _m	V _{max}	Gipfel*
Swade und Coppen(1980)	kA	kU		-	ja	Jan, Feb
Arora et al.(1984)	kU	ja	Apr, Jun	kA	ja	Jan, Feb, Mai, Sept, Oct
Egrise et al. (1986)	kU	ja	Juli	kA	ja	Nov
Malmgren et al. (1989)	ja	ja	Juli, Dec	ja	ja	Okt, Nov

kA: keine Angaben, kU: kein Unterschied, *: gilt nur für V_{max},

(aus Meltzer und Arora, 1991)

Interessant sind dabei die Unterschiede zwischen Patienten und Gesunden im jeweiligen Monat. So ist der Unterschied des V_{max} der 5-HT-Aufnahme zwischen beiden Gruppen im Dezember am größten (Arora et al., 1984). Es ist also möglich, daß nur zu bestimmten Zeiten Unterschiede zwischen Patienten und Gesunden existieren. Also sollte man, bevor man Daten depressiver Patienten wertet, immer Daten einer gesunden Kontrollgruppe hinzuziehen. Dabei sollten die Proben immer in Beziehung auf den Zeitpunkt und den Ort ihrer Gewinnung gleich sein, solange man über saisonale Unterschiede zu wenig weiß.

Bei der ³H-Imipramin-Bindung gibt es, sowohl bei Gesunden wie bei Depressiven, widersprüchliche Ergebnisse bezüglich eines Gipfels des B_{max} zu einer bestimmten Jahreszeit. Deutlich wird bei den einzelnen Studien die Notwendigkeit, daß gleichzeitig Gesunde und Kranke untersucht werden. Die mangelnde Reliabilität der verwendeten Tests ist ein zusätzliches Problem.

Tabelle 9, Saisonale Variation der ^3H -Imipramin-Bindung bei gesunden Kontrollen

Arbeitsgruppe	Normale Kontrollen	
	B_{\max} -Gipfel	B_{\max} -Tal
Egrise et al. (1983, 1986)	Sommer, Herbst	Winter, Frühjahr
Arora und Meltzer (1988)	August, September	Juni, Juli
DeMet et al. (1989)	Februar	August
Galzin et al. (1986)	keine Variation gefunden	
Soria et al. (1996)	Sommer*	Frühjahr*

* signifikante Ergebnisse nur in der Frauengruppe (n=15) nicht in der Männergruppe (n=11)

(Übersicht: Meltzer und Arora, 1991)

Maes et al. (1996) fanden für die ^3H -Paroxetinbindung auf Thrombozyten Gesunder ein Maximum an Bindungsstellen Anfang Mai.

Eine neueste Untersuchung zum 5-HT-Gehalt von Thrombozyten zeigt keine signifikanten jahreszeitlichen Schwankungen bei gesunden Probanden (Jakovljevic, 1997).

Solche Untersuchungen fehlten zum Zeitpunkt unseres Studienbeginns für den thrombozytären 5-HT₂-Rezeptor. Eine sehr neue Untersuchung von Spigset et al. (1997) kann am mit ^3H -LSD markierten 5-HT₂-Rezeptor gesunder Probanden einen Gipfel der B_{\max} -Werte im Winter und ein Minimum im Herbst feststellen. Der K_d erreicht die höchsten Werte im Winter, die niedrigsten im Herbst. Es wurden jedoch in dieser Studie nur interindividuelle, keine intraindividuellen Unterschiede bestimmt.

Ziel unserer Untersuchung war deshalb die Beantwortung der Frage ob bei einer homogenen Population von Gesunden saisonale, intraindividuelle Unterschiede der Rezeptordichte und der Dissoziationskonstante existieren.