

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

DISSERTATION

In-vitro-Untersuchungen zur Wirkung ausgewählter Antidepressiva auf die  
mitochondriale Atmungskette an Homogenaten des menschlichen  
Hippocampus und Präfrontalcortex

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

vorgelegt der Medizinischen Fakultät  
Charité – Universitätsmedizin Berlin

von

Barbara Schellhaas

aus Bergisch Gladbach

Gutachter/in: 1. Prof. Dr. med. R. Uebelhack  
2. Prof. Dr. med. R. Morgenstern  
3. Prof. Dr. H. Sauer

Datum der Promotion: 30.11.2012

## **Inhaltsverzeichnis**

Abkürzungsverzeichnis .....	5
1. Problemstellung.....	8
2. Einleitung.....	10
2.1. Depressive Erkrankungen .....	10
2.1.1. Hypothesen zur Ätiopathogenese der Depression .....	10
2.2. Antidepressive Therapie.....	14
2.2.1. Entwicklung medikamentöser antidepressiver Therapien .....	14
2.2.2. Wirkmechanismus von Antidepressiva .....	18
2.2.3. Nebenwirkungen.....	19
2.2.4. Klassen und Vertreter .....	19
2.2.5. Antidepressiva und Bewegungsstörungen.....	24
2.3. Mitochondrien und Atmungskette.....	27
2.4. Wirkungen von Psychopharmaka auf die mitochondriale Atmungskette .....	29
2.5. Mitochondriale Funktionsstörungen im Rahmen psychiatrischer Erkrankungen .....	31
2.6. Herleitung der Fragestellung.....	33
3. Methoden .....	36
3.1. Gewebeproben .....	36
3.2. Enzymaktivitätsbestimmung .....	36
3.2.1. Aktivitätsbestimmung des mitochondrialen Markerenzym Citratsynthase (CS).....	37
3.2.2. Aktivitätsbestimmung der Succinatdehydrogenase (SDH) als Teil von Komplex II.....	38
3.2.3. Aktivitätsbestimmung von Komplex I/III .....	39
3.2.4. Aktivitätsbestimmung von Komplex II/III.....	40
3.3. Reagenzien und Chemikalien.....	40
3.4. Praktisches Vorgehen.....	40
3.5. Proteinbestimmung .....	41
3.6. Statistische Auswertung .....	41
4. Ergebnisse .....	43

4.1. Aktivitätsbestimmung der Atmungskettenenzyme in Präfrontalcortex und Hippocampus .....	43
4.2. Einfluss der ausgewählten Antidepressiva auf die Aktivität der Atmungskettenenzyme .....	43
4.2.1. Succinatdehydrogenase (SDH) .....	43
4.2.2. Komplex I/III .....	44
4.2.3. Komplex II/III .....	48
5. Diskussion .....	52
5.1. Methodische Aspekte .....	52
5.1.1. Auswahl der zu untersuchenden Hirnregionen .....	52
5.1.2. Auswahl des Untersuchungsverfahrens .....	53
5.1.3. Auswahl der Testsubstanzen und Testkonzentrationen .....	54
5.2. Aktivität der Atmungskettenenzyme .....	55
5.3. Effekte der Antidepressiva auf die Atmungskette .....	65
5.3.1. Succinatdehydrogenase (SDH) .....	65
5.3.2. Komplex I/III .....	66
5.3.3. Komplex II/III .....	69
5.4. Beurteilung der Ergebnisse .....	72
5.5. Bedeutung der Ergebnisse .....	74
5.6. Klinische Implikationen .....	75
5.7. Nebenwirkungen durch Hemmung der Atmungskette .....	77
5.8. Protektive Effekte durch Hemmung der Atmungskette .....	80
5.9. Ausblick und weiterer Forschungsbedarf .....	81
6. Zusammenfassung .....	84
7. Literaturverzeichnis .....	86
8. Lebenslauf .....	100
9. Eidesstattliche Erklärung .....	101
10. Danksagung .....	102

## Abkürzungsverzeichnis

<b>5-HT</b>	Serotonin (5-Hydroxy-Tryptamin)
<b>Abb.</b>	Abbildung
<b>Acetyl-CoA</b>	Acetyl-Coenzym A
<b>ADHS</b>	Aufmerksamkeitsdefizit-Hyperaktivitätsstörung
<b>ADP</b>	Adenosindiphosphat
<b>Aqua bidest.</b>	bidestilliertes Wasser
<b>ATP</b>	Adenosintriphosphat
<b>BCA</b>	Bicinchoninsäure
<b>BDNF</b>	brain-derived neurotrophic factor
<b>BSA</b>	bovines Serumalbumin
<b>bzw.</b>	beziehungsweise
<b>c</b>	Konzentration [mol/L]
<b>°C</b>	Grad Celsius
<b>cAMP</b>	zyklisches Adenosinmonophosphat
<b>cm</b>	Zentimeter
<b>CREB</b>	cAMP-response-element binding protein
<b>CS</b>	Citratsynthase
<b>Cu</b>	Kupfer
<b>Cyt c</b>	Cytochrom c
<b>d</b>	Tag
<b>DA</b>	Dopamin
<b>DCIP</b>	2,6-Dichlorindophenol
<b>DNA</b>	Desoxyribonucleinsäure
<b>DTNB</b>	5,5'-Dithiobis-2-Nitrobenzoesäure
<b>E</b>	Extinktion
$\epsilon_{\lambda}$	molarer Extinktionskoeffizient bei der Wellenlänge $\lambda$ [ $L \cdot mol^{-1} \cdot cm^{-1}$ ]
<b>EDTA</b>	Ethylendiamintetraessigsäure
<b>EPMS</b>	extrapyramidal-motorische Störungen
<b>et al.</b>	et alii (und andere)
<b>EW</b>	Eiweiß
<b>FAD(H<sub>2</sub>)</b>	Flavinadenindinucleotid
<b>FMN</b>	Flavinmononucleotid
<b>g</b>	Erdbeschleunigung (9,81 m/s <sup>2</sup> )
$\Delta G$	Gibbs' freie Reaktionsenthalpie [kJ/mol]
<b>GABA</b>	Gamma-Aminobuttersäure
<b>h</b>	Stunden
<b>H<sup>+</sup></b>	Proton
<b>H<sub>2</sub>O</b>	Wasser
<b>HC</b>	Hippocampus
<b>HCl</b>	Salzsäure
<b>HPA-Achse</b>	Hypothalamus-Hypophysen-Nebennieren-Achse
<b>IC<sub>50</sub></b>	mittlere inhibitorische Konzentration (Inhibitor-Konzentration, bei der halbmaximale Hemmung erreicht wird)
<b>i.e.</b>	id est (das heißt)
<b>IMM</b>	innere Mitochondrienmembran

## Abkürzungsverzeichnis

<b>IMR</b>	Intermembranraum
<b>KCl</b>	Kaliumchlorid
<b>kDa</b>	Kilodalton
<b>KG</b>	Körpergewicht
<b>kg</b>	Kilogramm
<b>kJ</b>	Kilojoule
<b>L</b>	Liter
<b>log</b>	dekadischer Logarithmus
<b>M</b>	Mol pro Liter
<b>MAO</b>	Monoaminoxidase
<b>MAO-I</b>	Monoaminoxidase-Hemmer
<b>mg</b>	Milligramm
<b>min</b>	Minuten
<b>μM</b>	Mikromol pro Liter
<b>MMP</b>	mitochondriales Membranpotential
<b>mMPT</b>	mitochondriale Membranpermeabilitätstransition
<b>mV</b>	Millivolt
<b>MW</b>	Mittelwert
<b>n</b>	Anzahl
<b>NA</b>	Noradrenalin
<b>NAD(H/H<sup>+</sup>)</b>	Nicotinamidadenindinucleotid
<b>NaN<sub>3</sub></b>	Natriumazid
<b>NaOH</b>	Natronlauge
<b>NARI</b>	(selektiver) Noradrenalin-Wiederaufnahme-Hemmer
<b>NaSSA</b>	noradrenerges und spezifisches serotonerges Antidepressivum
<b>NDRI</b>	(selektiver) Noradrenalin-Dopamin-Wiederaufnahme-Hemmer
<b>NFκB</b>	nuclear factor kappa-B
<b>nm</b>	Nanometer
<b>NMDA</b>	N-Methyl-D-Aspartat
<b>OA</b>	Oxalacetat
<b>OCD</b>	Obsessive-Compulsive Disorder (Zwangsstörung)
<b>OMM</b>	äußere Mitochondrienmembran
<b>p</b>	Irrtumswahrscheinlichkeit
<b>P<sub>i</sub></b>	anorganischer Phosphatrest
<b>PFC</b>	Präfrontalcortex
<b>PMS</b>	Phenazinmethosulfat
<b>RIMA</b>	selektiver, reversibler MAO-A-Hemmer (reversible inhibitor of MAO-A)
<b>RIRR</b>	ROS-induced-ROS-release
<b>RLS</b>	Restless-Legs-Syndrome
<b>ROS</b>	reaktive Sauerstoffspezies
<b>SD</b>	Standardabweichung (standard deviation)
<b>SDH</b>	Succinatdehydrogenase
<b>SEM</b>	Standardfehler des Mittelwertes (standard error of mean)
<b>SERT</b>	Serotonin-Transporter
<b>s.</b>	siehe
<b>SNRI</b>	(selektiver) Serotonin-Noradrenalin-Wiederaufnahme-Hemmer
<b>SSRI</b>	selektiver Serotonin-Wiederaufnahme-Hemmer

## Abkürzungsverzeichnis

<b>Tab.</b>	Tabelle
<b>TCA</b>	trizyklische Antidepressiva
<b>TNB</b>	5-Thio-2-Nitrobenzoesäure
<b>Tris</b>	Tris(hydroxymethyl)aminomethan
<b>u.a.</b>	unter anderem
<b>VDAC</b>	voltage-dependent anion channel
<b>VEGF</b>	vascular endothelial growth factor
<b>z.B.</b>	zum Beispiel
<b>ZNS</b>	Zentrales Nervensystem
<b>z.T.</b>	zum Teil

### 1. Problemstellung

Depressive Erkrankungen erfordern vielfach eine langjährige medikamentöse Therapie mit Antidepressiva, teilweise in Kombination mit anderen Psychopharmaka und psychotherapeutischen Interventionen. Die Bezeichnung „Antidepressiva“ beschreibt dabei eine chemisch und pharmakologisch heterogene Gruppe von Wirkstoffen, die ursprünglich zur Therapie depressiver Erkrankungen bei Erwachsenen entwickelt wurden, deren Einsatz heutzutage jedoch eine Vielzahl weiterer Indikationen umfasst. Problematisch ist hierbei die Frage nach unerwünschten Nebenwirkungen, der Arzneimittelsicherheit und – gerade bei jungen Patienten – nach möglichen Langzeitfolgen und Spätschäden, die durch langjährige medikamentöse antidepressive Therapien entstehen können.

In diesem Zusammenhang ist hervorzuheben, dass die als Nebenwirkung von Neuroleptika bekannten extrapyramidal-motorischen Störungen (EPMS) wie Akathisien, Dystonien, Dyskinesien und Parkinsonoid auch unter Therapie mit Antidepressiva auftreten können.

Die Frage, welche Mechanismen auf zellulärer und subzellulärer Ebene zur Entstehung unerwünschter Nebenwirkungen oder Spätschäden beitragen, ist bis heute unzureichend geklärt. Mitochondrien als die „Kraftwerke“ der eukaryontischen Zelle rücken hierbei immer mehr in den Mittelpunkt der wissenschaftlichen Aufmerksamkeit: Zum einen werden Zusammenhänge zwischen neuropsychiatrischen Erkrankungen und Störungen der mitochondrialen Funktion in den letzten Jahren in wachsendem Maße erforscht. Andererseits wird aber auch hinsichtlich Arzneimittelsicherheit, -verträglichkeit und -toxizität der Fokus zunehmend auf die Mitochondrien gelenkt: Unter dem Schlagwort „Mitotoxizität“ werden Effekte untersucht, die durch Schädigung dieser Organellen entstehen.

Obwohl gezeigt werden konnte, dass Neuroleptika, eine andere Subklasse von Psychopharmaka, hemmende Wirkungen auf die mitochondriale Elektronentransportkette ausüben, sind derartige Effekte für Antidepressiva bislang unzureichend erforscht. Diese Fragestellung erscheint gerade im Hinblick auf mögliche, jedoch bisher wenig beachtete extrapyramidal-motorische Nebenwirkungen von Antidepressiva besonders interessant, da für Neuroleptika ein Zusammenhang zwischen dem Grad der Hemmung des Komplexes I der Atmungskette und dem Auftreten extrapyramidalen Nebenwirkungen angenommen wird.

Erst bei der Niederschrift der vorliegenden Arbeit erschien eine Publikation, in der die Wirkungen verschiedener Antidepressiva und Stimmungsstabilisierer auf die Atmungsketten-



## Problemstellung

komplexe an Schweinehirnmitochondrien in-vitro untersucht wurden. Derartige Untersuchungen an menschlichem Gewebe scheinen jedoch bislang nicht durchgeführt worden zu sein.

Die vorliegende Arbeit verfolgte daher als Zielsetzung die Untersuchung möglicher Effekte von Antidepressiva auf die Elektronentransportkette an Homogenaten aus menschlichem Hirngewebe. Anhand von in-vitro-Versuchen mit sieben ausgewählten Antidepressiva (Amitriptylin, Nortriptylin, Fluoxetin, Citalopram, Escitalopram, Brofaromin und Venlafaxin) sollte geklärt werden, welche der Testsubstanzen die Elektronentransportkette wie stark beeinflussen und welche Atmungskettenkomplexe besonders empfindlich auf Antidepressiva reagieren.

Um die hier dargestellten Ergebnisse besser in den Gesamtzusammenhang einbetten und in ihren klinischen Implikationen einordnen zu können, sollen einleitend die drei zentralen Themen, die diesem Komplex zugrunde liegen – nämlich „depressive Erkrankungen“, „Antidepressiva“ und „mitochondriale Atmungskette“ – kurz vorgestellt werden.

## **2. Einleitung**

### **2.1. Depressive Erkrankungen**

Affektive Störungen gehören zu den häufigsten psychischen Erkrankungen, wobei der weitaus größte Anteil dem depressiven Formenkreis zuzurechnen ist. Die Lebenszeit-Prävalenz für depressive Störungen wird auf über 16% geschätzt, wobei Frauen häufiger betroffen sind als Männer [57]. Dabei werden unter dem Oberbegriff „depressive Störungen“ verschiedene phänomenologische Subtypen zusammengefasst (darunter gehemmte, agitierte, anankastische und larvierte (somatisierte) Depression), die sich hinsichtlich der vorherrschenden klinischen Merkmale unterscheiden. Als Leitsymptome einer depressiven Episode gemäß der ICD-10- und der DSM-IV-Klassifikation gelten unter anderem gedrückte Stimmung, Interessenverlust, Anhedonie, verminderter Antrieb, Müdigkeit, Konzentrationsstörungen, psychomotorische Unruhe oder Agitiertheit, Schlaf- und Appetitstörungen, Schuld- und Wertlosigkeitsgefühle sowie Suizidgedanken. Die Symptome müssen dabei mindestens zwei Wochen andauern, um die Diagnosekriterien zu erfüllen [112]. Schätzungen gehen davon aus, dass bis zum Jahre 2020 Depressionen in der Statistik der häufigsten Todesursachen in den USA den zweiten Platz nach kardiovaskulären Erkrankungen einnehmen werden [96]; ein mehrjähriger, chronischer Verlauf ist häufig [112]. Trotz optimierter medikamentöser Therapien nach aktuellen Richtlinien lässt sich im Durchschnitt bei weniger als der Hälfte der Patienten eine Remission erzielen; nur rund 62% zeigen unter Psychopharmaka initial (i.e., nach sechs bis acht Wochen) eine Besserung der klinischen Symptomatik [57].

Hinsichtlich der pathophysiologischen Hintergründe dieser klinisch sehr heterogenen Gruppe von Erkrankungen ist noch vieles im Unklaren. Es wird von einer multifaktoriellen Ätiopathogenese ausgegangen, bei der biologische, psychosoziale und genetische Faktoren sowie Persönlichkeits- und Umwelteinflüsse in komplexer Weise zusammenwirken. Im Folgenden sollen die gängigsten Hypothesen zur Ätiopathogenese depressiver Erkrankungen kurz vorgestellt werden.

#### **2.1.1. Hypothesen zur Ätiopathogenese der Depression**

##### ***2.1.1.1. Monoamin-Hypothese***

Bereits vor mehr als 45 Jahren postulierte die „Monoamin-Hypothese“, dass depressive Erkrankungen auf einen Mangel an Monoamin-Neurotransmittern im ZNS zurückzuführen seien. Joseph Schildtkraut und Alec Coppen erkannten in den 1960er Jahren die zentrale Bedeutung der

## Einleitung

Neurotransmitter Noradrenalin und Serotonin im Rahmen depressiver Störungen [72]. Unterstützung fand diese „Mangel-Theorie“ durch den Nachweis, dass die antidepressiv wirksamen Substanzen Iproniazid und Imipramin den Monoaminspiegel im ZNS erhöhen können [87].

Ein zentraler Stellenwert im Zusammenhang mit Emotionen, Affekten, Aufmerksamkeit, Antrieb und Sozialverhalten, aber auch Gedächtnis und Kognition wird dem Limbischen System zugeschrieben. Abb. 1 liefert einen Überblick über die Anatomie des menschlichen Gehirns sowie die zum Limbischen System gezählten Strukturen. Die Funktionen des Limbischen Systems werden über Monoamine des Hirnstamms und des Mittelhirns moduliert; hierbei handelt es sich vorrangig um Dopamin aus der Area tegmentalis ventralis, Serotonin aus dem Nucleus raphe dorsalis sowie Noradrenalin aus dem Locus coeruleus. Zwar wäre es eine zu grobe Vereinfachung, einer bestimmten Hirnregion einen einzelnen Neurotransmitter und eine Funktion zuzuordnen zu wollen, aber es wird allgemein angenommen, dass diese Areale mit Affektverhalten und Aufmerksamkeit in Verbindung stehen (s. Abb. 2). Eine Schlüsselrolle spielen dabei Hippocampusformation und Präfrontalcortex: In diesen Hirnregionen wurde mittels funktioneller Bildgebung bei depressiven Patienten eine Dysfunktion nachgewiesen; in post-mortem-Studien zeigte sich ein Verlust grauer Substanz bei verminderter Gliazelldichte [17, 42, 68, 87]. Des Weiteren ließ sich feststellen, dass affektive Störungen mit Veränderungen Noradrenalin- und Serotonin- vermittelter intrazellulärer Signalkaskaden einhergehen [113]. Funktionell und anatomisch stehen die limbischen Areale mit einer Vielzahl von Strukturen in Neocortex, Thalamus, Hirnstamm sowie Hypothalamus und damit dem Vegetativen Nervensystem in Verbindung, über die unter anderem höhere kognitive Funktionen, aber auch Trieb- und Affektverhalten moduliert werden [10].

In den nachfolgenden Jahren erfuhr die Monoamin-Hypothese fortlaufend Modifikationen; so wird heutzutage von einer Dysbalance der Neurotransmitter Serotonin, Noradrenalin und Dopamin im Rahmen depressiver Erkrankungen ausgegangen [72, 87, 90].

Abb. 1 [160]

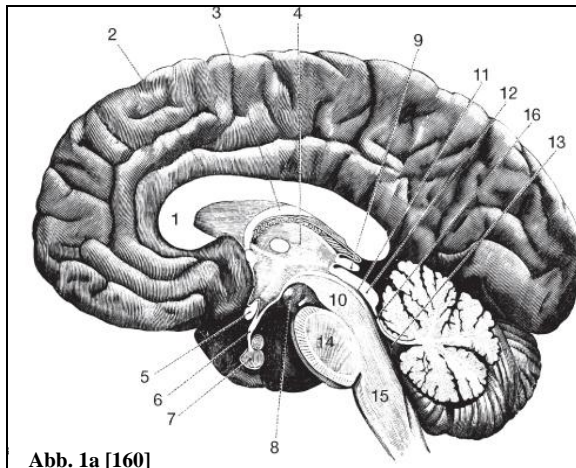


Abb. 1a [160]

Mediansagittalschnitt durch das Gehirn. 1 Corpus callosum, 2 Gyrus cinguli, 3 Fornix, 4 Lumen des dritten Ventrikels mit Aufsicht auf den Thalamus, 5 Chiasma opticum, 6 Infundibulum hypophysys, 7 Hypophysis, 8 Corpus mamillare, 9 Epiphysis, 10 Mesencephalon, 11 Aqueductus mesencephali, 12 Lamina tecti, 13 Ventriculus quartus, 14 Pons, 15 Medulla oblongata, 16 Velum medullare superius.

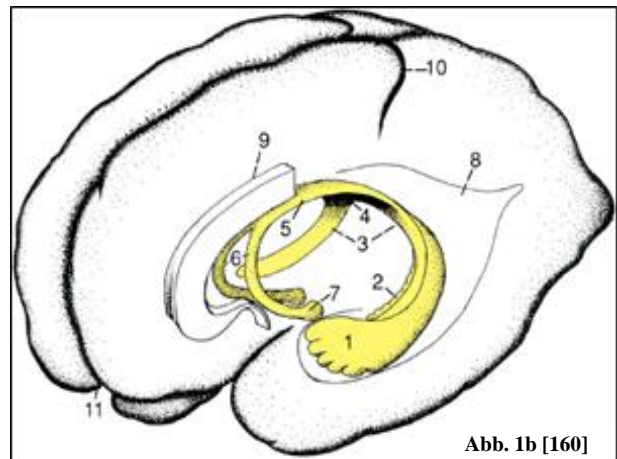
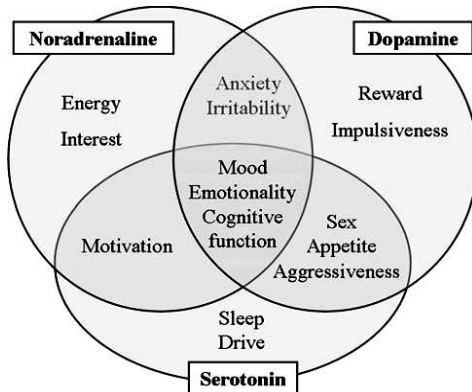


Abb. 1b [160]

Lage des Hippocampus und des Fornix in den Hemisphären. 1 Hippocampus mit Pes hippocampi, 2 Gyrus dentatus. Der Hippocampus setzt sich fort in die 3 Crura fornicis, die über die 4 Commissura fornicis in das 5 Corpus fornicis übergehen. Dieses teilt sich vorne wieder in die beiden 6 Columnae fornicis, die schließlich in den 7 Corpora mamillaria enden. 8 Hinterhorn des Seitenventrikels, 9 Corpus callosum, 10 Sulcus centralis, 11 Fissura longitudinalis cerebri (Interhemisphärenspalt).

Abb. 2 [90]



Überblick über Funktionen der Neurotransmitter Noradrenalin, Dopamin und Serotonin.

### 2.1.1.2. Stress und Immunsystem

Neuere Theorien betonen die Ähnlichkeit in der Pathogenese depressiver Erkrankungen mit den Veränderungen, die durch chronischen Stress hervorgerufen werden. In beiden Fällen lassen sich eine funktionelle Dysregulation des ventralen Striatums / Nucleus accumbens, also des endogenen „Belohnungssystems“, sowie erhöhte periphere Glucocorticoid-Spiegel feststellen [87, 95, 129].

Ähnlich wie bei einem chronischen Entzündungsprozess zeigen auch depressive Erkrankungen häufig einen prolongierten Verlauf mit rezidivierenden Schüben unterschiedlichen Schweregrades im Wechsel mit Phasen partieller oder kompletter Remission [95]. Einer neuroendokrinologisch orientierten Theorie zufolge gehen depressive Störungen mit einer Dysregulation der Hypothalamus-Hypophysen-Nebennierenrinden-Achse (HPA-Achse) einher. Einige Autoren vermuten hierbei einen Zusammenhang mit einer beobachteten Dysfunktion immunmodulatorischer Prozesse, wobei insbesondere das Zytokin Interleukin-1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ) involviert sein soll – auch im Kontext der Neurodegeneration. Die Implikationen dieser Beobachtungen werden jedoch in der Literatur kontrovers diskutiert [87, 95]. Zudem existieren Annahmen, dass Glucocorticoid-Rezeptoren über eine Hemmung der Proliferation neuronaler Stammzellen im Hippocampus in die bei depressiven Patienten beobachtete Atrophie hippocampalen Gewebes involviert sein könnten [108].

### *2.1.1.3. Neurotoxizitäts-Hypothese / Neurotrophin-Hypothese*

Die Neurotoxizitäts-Hypothese der Depression geht zurück auf Befunde aus post-mortem-Untersuchungen an Hirngewebe depressiver Patienten, bei denen ein Zelluntergang mit atrophischen Veränderungen von Neuronen und Glia in Hippocampus und präfrontalem Cortex sowie teilweise auch im Striatum festgestellt wurde [56, 141]. Eine mögliche Ursache für den Verlust grauer Substanz in bestimmten Hirnregionen depressiver Patienten könnte eine pathologisch verminderte Syntheserate neurotropher Faktoren, insbesondere BDNF (brain-derived neurotrophic factor) sein („Neurotrophin-Hypothese“). Der Mangel an Neurotrophinen sowie auch des anti-apoptotischen Proteins bcl-2 könnte für eine abnorm gesteigerte Apoptoserate neuronaler Zellen verantwortlich sein und sich in Form einer verminderten Neuroplastizität niederschlagen [56]. Manifest wird dies auf mehreren Ebenen: als mangelnde Adaptationskapazität neuronaler Zellen, unzureichende Entwicklung synaptischer Verbindungen sowie verminderte Neurogenese im Gyrus dentatus des Hippocampus [6, 56, 129]. Ob jedoch der beobachtete Verlust grauer Substanz in Hirnarealen wie Hippocampus und präfrontalem Cortex und die fehlende Proliferation neuronaler Stammzellen ein Charakteristikum depressiver Erkrankungen darstellen, wird kontrovers diskutiert [91, 127, 135]. In jedem Falle gilt der mutmaßliche Mangel an Neuroplastizität im Rahmen depressiver Störungen aus heutiger Sicht als einer der primären Angriffspunkte moderner antidepressiver Therapien [18].

### **2.1.1.4. Oxidativer Stress**

Die letzte Hypothese bezüglich der Ätiopathogenese depressiver Erkrankungen, die hier Erwähnung finden soll, ist die eng mit der Neurotoxizitäts-Hypothese verknüpfte Theorie des oxidativen Stresses. Es finden sich Hinweise in der Literatur, dass einige neuropsychiatrische Erkrankungen mit Funktionsstörungen des ZNS-Stoffwechsels sowie Schädigungen durch oxidativen Stress in Verbindung stehen [77, 84, 131, 156]. Im Zusammenhang mit depressiven Störungen wurde eine verminderte antioxidative Kapazität beobachtet, die eine erhöhte Vulnerabilität gegenüber oxidativer Schädigung bedingt [51]. Man vermutet, dass exzessiver oxidativer Stress zur Schädigung mitochondrialer DNA und infolgedessen zu einer Beeinträchtigung des Energiemetabolismus führen und somit eine Exazerbation neuropsychiatrischer Erkrankungen bewirken könnte [74, 104]. Im Hinblick auf die gesteigerte Prävalenz depressiver Erkrankungen im höheren Lebensalter wird auch auf den Bezug zu häufigen kardiovaskulären Comorbiditäten verwiesen, die über eine hypoxische Unterversorgung des ZNS mit gestörtem Energiestoffwechsel als Auslöser der Depression mitbeteiligt sein könnten [113].

## **2.2. Antidepressive Therapie**

### **2.2.1. Entwicklung medikamentöser antidepressiver Therapien**

Die gezielte Pharmakotherapie depressiver Erkrankungen begann in den 50er Jahren des 20. Jahrhunderts, als der Schweizer Psychiater Roland Kuhn die stimmungsaufhellende Wirkung des Imipramins entdeckte. Etwa zeitgleich beobachteten die amerikanischen Psychiater Kline, Loomer und Saunders, dass der in der Tuberkulosetherapie eingesetzte Monoaminoxidase-Hemmer (MAO-I) Iproniazid antidepressive Effekte vermittelte [112].

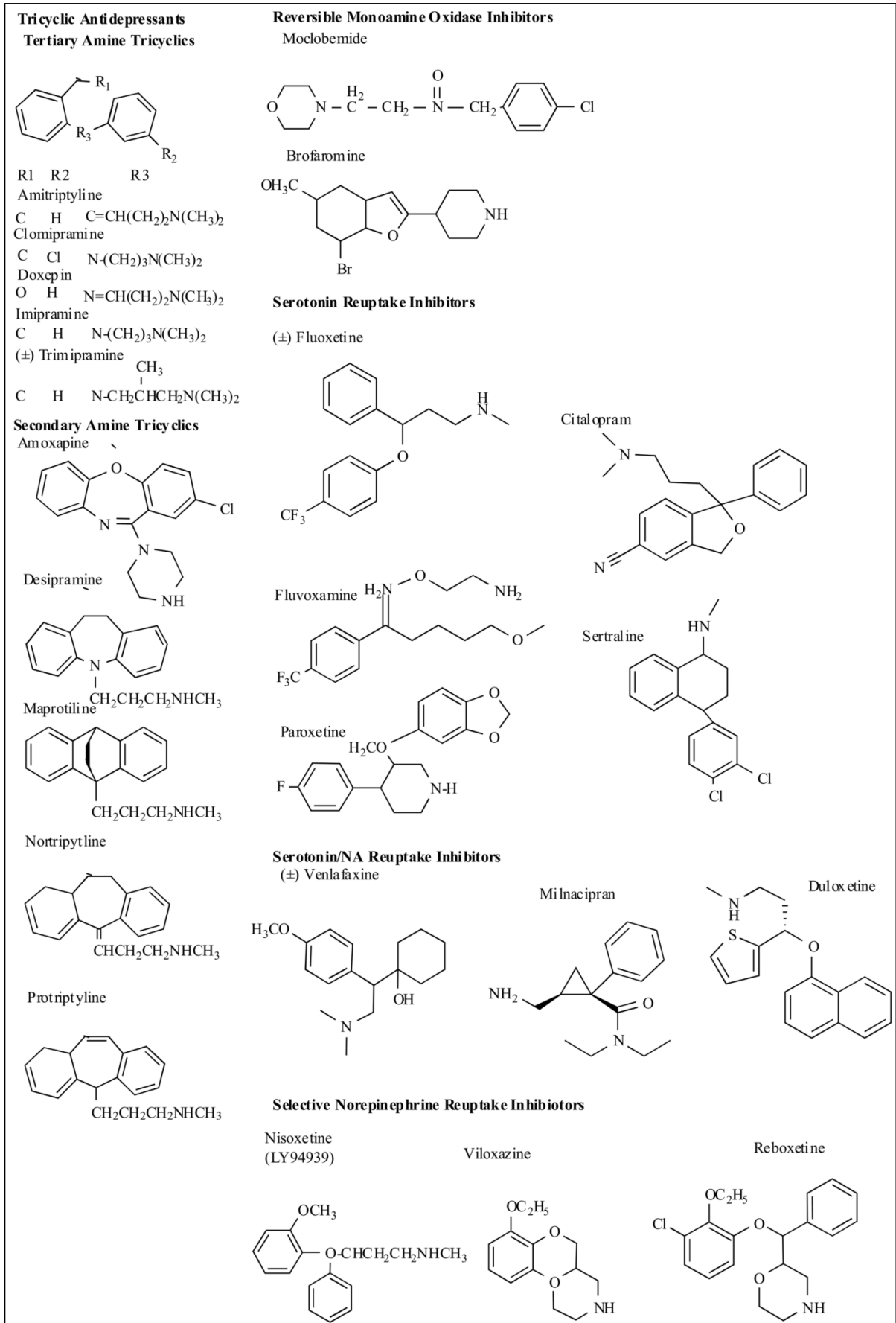
In den folgenden Jahren wurden die sogenannten trizyklischen Antidepressiva (TCA) entwickelt, bei denen es sich um Analoga des Imipramins handelt [174]. Die Klassifikation der Antidepressiva orientiert sich entweder an der chemischen Struktur oder am Wirkmechanismus der Substanzen (s. Tab. 1, Abb. 3). Man unterscheidet Antidepressiva der ersten Generation (TCA und MAO-I) von den in den 1980er und 1990er Jahren eingeführten Antidepressiva der zweiten Generation, die selektivere Wirkungen zeigen. Letztere unterteilt man nach ihrem überwiegenden Wirkmechanismus in folgende Klassen: selektive Serotonin-Wiederaufnahme-Hemmer (SSRI); selektive Noradrenalin-Wiederaufnahme-Hemmer (NARI); selektive Serotonin-Noradrenalin-Wiederaufnahme-Hemmer (SNRI); selektive Noradrenalin-Dopamin-

## Einleitung

Wiederaufnahmehemmer (NDRI) sowie „atypische“ Antidepressiva mit unterschiedlichen Wirkmechanismen (z.B. Trazodon, Agomelatin) [75, 112].

# Einleitung

**Abb. 3 [120]: Strukturformeln ausgewählter Antidepressiva**





## Einleitung

<b>Tab. 1: Übersicht über akute Rezeptor-, Enzym- und Transporter-vermittelte Wirkmechanismen von Antidepressiva [48, 75, 88, 114, 118, 140, 153, 154, 166, 170]</b>		
<i>Klasse</i>	<i>Vertreter (Beispiele)</i>	<i>Wirkmechanismus</i>
MAO-I	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Nicht-selektive, irreversible MAO-I: Tranylcypromin, Phenelzin</li> <li>• RIMA: Brofaromin, Moclobemid</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Erhöhung der Monoamin-Konzentration im synaptischen Spalt durch Inhibition des Monoamin-abbauenden Enzyms MAO-A (z.T. auch MAO-B)</li> <li>Teilweise: Hemmung der 5-HT-Wiederaufnahme</li> </ul>
TCA	<ul style="list-style-type: none"> <li>• „Imipramin-Typ“: Imipramin, Clomipramin (= Chlorimipramin)</li> <li>• „Amitriptylin-Typ“: Amitriptylin, Amitriptylinoxid, Doxepin, Trimipramin, Opipramol</li> <li>• „Desipramin-Typ“: Desipramin, Nortriptylin</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Hemmung der NA-, 5-HT- und DA-Wiederaufnahme im synaptischen Spalt monoaminerger Neurone</li> <li>Antagonismus an muscarinergen Acetylcholin-Rezeptoren, peripheren <math>\alpha_1</math>-Adrenozeptoren und <math>H_1</math>-Histamin-Rezeptoren</li> <li>Teilweise: Inhibition von MAO-A und MAO-B, Wechselwirkungen mit spannungsabhängigen Ionenkanälen</li> </ul>
Tetrazyklische Antidepressiva	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Mianserin</li> <li>• Maprotilin<sup>#</sup></li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Blockade zentraler präsynaptischer <math>\alpha_2</math>-Autorezeptoren</li> <li>Hemmung der NA-Wiederaufnahme</li> <li>Antagonismus an 5-HT-, <math>\alpha_1</math>- und <math>H_1</math>-Histamin-Rezeptoren</li> <li>• Hemmung der NA-Wiederaufnahme</li> <li>Antagonismus an <math>\alpha_1</math>- und <math>H_1</math>-Histamin-Rezeptoren</li> </ul>
SSRI	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Fluoxetin, Fluvoxamin, Sertralin, Paroxetin, Citalopram, Escitalopram</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Erhöhung der 5-HT-Spiegel im synaptischen Spalt durch Hemmung der präsynaptischen 5-HT-Wiederaufnahme durch Inhibition des 5-HT-Transporters SERT</li> <li>Agonismus an 5-HT<sub>2</sub>- und 5-HT<sub>3</sub>-Rezeptoren</li> <li>Teilweise: Hemmung von MAO-A und MAO-B, Blockade spannungsabhängiger Ionenkanäle</li> </ul>
SNRI	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Venlafaxin, Duloxetin</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Hemmung der 5-HT-, in höheren Konzentrationen auch der NA- und geringfügig der DA-Wiederaufnahme im synaptischen Spalt monoaminerger Neurone</li> </ul>
NARI	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Reboxetin, Viloxazin</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• selektive Hemmung der NA-Wiederaufnahme im synaptischen Spalt monoaminerger Neurone</li> </ul>
NDRI	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Bupropion</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Hemmung der NA- und DA-Wiederaufnahme im synaptischen Spalt monoaminerger Neurone</li> </ul>
Atypische Antidepressiva	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Agomelatin</li> <li>• Mirtazapin* (NaSSA)</li> <li>• Trazodon</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Agonismus an MT<sub>1</sub>- und MT<sub>2</sub>-Melatonin-Rezeptoren</li> <li>Antagonismus an 5-HT<sub>2C</sub>- und 5-HT<sub>2B</sub>-Rezeptoren</li> <li>• Blockade zentraler präsynaptischer <math>\alpha_2</math>-Auto- und Heterorezeptoren → Indirekte Verstärkung NA- und 5-HT-vermittelter Effekte</li> <li>Antagonismus an postsynaptischen 5-HT<sub>2</sub>-, 5-HT<sub>3</sub>- und <math>H_1</math>-Histamin-Rezeptoren</li> <li>• Hemmung der 5-HT-Wiederaufnahme im synaptischen Spalt monoaminerger Neurone</li> <li>Antagonismus an <math>\alpha_1</math>- und 5-HT<sub>2</sub>-Rezeptoren</li> </ul>
<p>Nicht erwähnt sind Langzeiteffekte der Antidepressiva durch veränderte Rezeptorexpression und -sensibilität sowie indirekte Wirkungen, die über komplexe Signalkaskaden, andere Neurotransmittersysteme, neurotrophe Faktoren und Veränderungen der synaptischen Plastizität vermittelt werden.</p> <p><sup>#</sup> Maprotilin weist große Ähnlichkeit mit den TCA auf.</p> <p>* Mirtazapin wird aufgrund seiner chemischen Struktur auch zu den tetrazyklischen Antidepressiva gezählt.</p>		

### 2.2.2. Wirkmechanismus von Antidepressiva

Gemeinsamkeit aller Antidepressiva ist, dass sie in die verschiedenen Neurotransmittersysteme eingreifen. Die Antidepressiva der ersten Generation beeinflussen als sogenannte „dirty drugs“ gleichzeitig mehrere Transmittersysteme und verursachen daher zahlreiche unerwünschte Neben- und Wechselwirkungen, wohingegen neuere Antidepressiva wie SSRI und NARI primär nur an einem Monoaminsystem angreifen und daher besser verträglich sein sollen. Zugleich gibt es aber auch Annahmen, dass durch die Beschränkung auf nur ein Transmittersystem auch der therapeutische Effekt verringert wird; dies wird jedoch kontrovers diskutiert [15, 134, 163].

Hinsichtlich des gemeinsamen Wirkmechanismus der Antidepressiva aller Klassen muss unterschieden werden zwischen einem akuten Effekt (Konzentrationserhöhung der Neurotransmitter Serotonin, Noradrenalin und Dopamin im synaptischen Spalt monoaminerger Neurone) und adaptiven Veränderungen auf der Ebene diverser Rezeptoren, die sich erst im Verlauf der Therapie entwickeln (u.a. Downregulation von  $\beta$ -Adrenozeptoren und 5-HT<sub>2A</sub>-Rezeptoren, Desensibilisierung von 5-HT<sub>1A</sub>-Rezeptoren) [50, 75, 154]. Für die therapeutischen Wirkungen der Antidepressiva bei langfristiger Einnahme werden verschiedene Mechanismen mitverantwortlich gemacht, darunter neben der Veränderung von Neurotransmitter-Rezeptoren im ZNS die Stimulation der hippocampalen Neurogenese und Förderung der bei depressiven Erkrankungen pathologisch verminderten neuronalen Plastizität. Untersuchungen zufolge können solche Effekte vermittelt werden über Induktion neurotropher Faktoren wie BDNF [45, 101] sowie Wachstumsfaktoren wie VEGF (vascular endothelial growth factor) oder Stimulation intrazellulärer Signalkaskaden über Induktion von Transkriptionsfaktoren wie CREB (cAMP-response-element binding protein) [67, 129]. Einige Studien stellen demgegenüber die unter antidepressiver Therapie mitunter zu beobachtende Stimulation der Neurogenese im Gyrus dentatus als unabhängigen Faktor und nicht als Voraussetzung für eine gesteigerte Neuroplastizität dar [18].

Die Unterschiede in der Effektivität der einzelnen Antidepressiva-Klassen bei der Behandlung depressiver Erkrankungen werden kontrovers beurteilt. Manchen Studien zufolge zeigen Antidepressiva mit „dualem Wirkmechanismus“ auf mehr als ein Monoamin-Transmittersystem (also TCA, MAO-I, SNRI) therapeutische Überlegenheit gegenüber den Substanzen mit selektiver Wirkung auf nur ein Monoamin (SSRI) [150, 163]. Laut neueren Metaanalysen aber unterscheiden sich die Antidepressiva der zweiten Generation klinisch wenig hinsichtlich ihrer Wirksamkeit und ihres generellen Nebenwirkungsprofils; wohl aber bestehen zwischen den einzelnen Substanzen Unterschiede in der Latenz bis zum Eintreten der erwünschten Effekte

sowie in der Inzidenz bestimmter Nebenwirkungen, was eine individuelle Auswahl anhand von Charakteristika des jeweiligen Patienten erforderlich macht [57, 134].

### **2.2.3. Nebenwirkungen**

Trotz guter klinischer Effizienz war die hohe Inzidenz unerwünschter Wirkungen unter Therapie mit Antidepressiva der ersten Generation Anlass für die Entwicklung neuer Substanzen mit einem günstigeren Nebenwirkungsprofil [15, 96]. Aber auch beim Einsatz neuerer Antidepressiva erfahren etwa 60% der Patienten mindestens eine Nebenwirkung [57], was mit ein Grund für das hohe Maß an Noncompliance bei medikamentöser antidepressiver Therapie ist [107]. Auf spezifische Nebenwirkungen im Zusammenhang mit den jeweiligen Klassen von Antidepressiva wird bei der Vorstellung der einzelnen Vertreter näher eingegangen.

### **2.2.4. Klassen und Vertreter**

#### **2.2.4.1. Trizyklische Antidepressiva (TCA)**

TCA werden aufgrund ihrer Affinität zu einer Vielzahl unterschiedlicher Rezeptoren auch als „dirty drugs“ bezeichnet. Neben der oben beschriebenen akuten Hemmung der Noradrenalin- und Serotonin-Wiederaufnahme und langfristigen Desensibilisierung bzw. Downregulation von  $\beta$ - und 5-HT<sub>2</sub>-Rezeptoren [142] wirken TCA bereits in subtherapeutischer Konzentration als kompetitive Antagonisten des muscarinergen Acetylcholinrezeptors [132], was die Ursache für ihre vielfältigen zentralen und peripheren anticholinergen Nebenwirkungen mit Symptomen wie Mundtrockenheit, Obstipation, Miktions- und Akkommodationsstörungen darstellt [75]. Ferner sind TCA schwache MAO-Inhibitoren [1], wobei Nortriptylin nur die MAO-B, Amitriptylin dahingegen beide Isoformen des Enzyms hemmt [48]. Durch periphere  $\alpha_1$ -antagonistische Wirkungen der TCA werden Nebenwirkungen wie orthostatische Dysregulation und Vasodilatation erklärt. Wechselwirkungen mit zentralen Histamin- und GABA-Rezeptoren werden für die sedierenden Eigenschaften verantwortlich gemacht. Außerdem haben TCA aufgrund ihres lipophilen Charakters membranstabilisierende Eigenschaften ähnlich denen von Lokalanästhetika, was über Hemmung von Natriumkanälen zu Erregungsleitungsstörungen vorrangig am Herzen und kardiotoxischen Wirkungen vor allem bei Überdosierungen führt [96]. Insbesondere für Amitriptylin wurden als akute Nebenwirkung zudem Störungen von Aufmerksamkeit und kognitiven Funktionen beobachtet [80].

Die ursprüngliche Einteilung der trizyklischen Antidepressiva nach ihrer dominierenden Wirkkomponente in einen „Imipramin-Typ“ (vornehmlich stimmungsaufhellend), einen

„Amitriptylin-Typ“ (stimmungsaufhellend, psychomotorisch dämpfend, anxiolytisch) und einen „Desipramin-Typ“ (stimmungsaufhellend, psychomotorisch aktivierend, antriebssteigernd) [75] (s. Tab. 1) basiert auf der Beobachtung vorherrschender klinischer Effekte. Demgegenüber steht eine mehr biochemische Unterteilung in sekundäre Amine (z.B. Nortriptylin, Desipramin), die hauptsächlich die Noradrenalin-Wiederaufnahme hemmen, und tertiäre Amine (z.B. Amitriptylin, Imipramin), die vorrangig auf die Serotonin-Wiederaufnahme wirken und sich durch stärkere anticholinerge, sedierende, kardiotoxische, orthostatische und kognitive Nebenwirkungen auszeichnen [60, 123, 132] (s. Abb. 3). Dabei zeigt Nortriptylin, das durch N-Desmethylierung beim Abbau der Muttersubstanz Amitriptylin entsteht [174], geringere anticholinerge Nebenwirkungen als die meisten anderen TCA [75].

Problematisch beim Einsatz von TCA sind die enormen interindividuellen Unterschiede in der bei gleicher Dosis erreichten Plasmakonzentration, die 10-30fach variieren kann [132], bei gleichzeitig enger therapeutischer Breite mit einem nur 2-5fachen Unterschied zwischen therapeutischen und toxischen Konzentrationen [21]. Eine – versehentliche oder beabsichtigte – TCA-Überdosierung kann somit leicht tödliche Folgen haben [96]. Trotz ihrer im Vergleich zu neueren Antidepressiva starken Nebenwirkungen zeichnen sich TCA durch eine hohe therapeutische Wirksamkeit aus [64, 163] und finden daher auch heute noch Anwendung in der Therapie der Depression sowie bei neuropathischen und entzündlichen Erkrankungen, Fibromyalgie, chronischem Fatigue-Syndrom, Migräne, Reizdarmsyndrom, Neuralgien, Enuresis und Aufmerksamkeitsdefizit-Hyperaktivitätsstörung (ADHS) [63, 96].

### **2.2.4.2. Monoaminoxidase-Hemmer (MAO-I)**

MAO-I entfalten ihre Wirkung über eine Hemmung des Enzyms Monoaminoxidase (MAO), das in zwei Isoformen vorkommt und in den oxidativen Abbau endogener und exogener Monoamine involviert ist. MAO-A findet sich vor allem in Gehirn, Darm und monoaminergen Nervenendigungen und desaminiert die Substrate Adrenalin, Noradrenalin, Dopamin, Serotonin und Tyramin. MAO-B kommt in erster Linie in Gehirn und Thrombozyten vor und macht 80% der MAO-Aktivität in den Basalganglien aus; ihre hauptsächlichsten Substrate sind  $\beta$ -Phenylethylamin, Dopamin und Tyramin. Es wird angenommen, dass der antidepressive Effekt der MAO-I dosisabhängig ab einer etwa 80%igen Inhibition vor allem der Isoform MAO-A entsteht; in der Langzeittherapie sollen auch Veränderungen der neuronalen Plastizität eine Rolle spielen [86].

## Einleitung

Die ersten MAO-I waren unselektive, irreversible Inhibitoren beider Isoformen des Enzyms (Iproniazid, Tranylcypromin). Durch den hierdurch bedingten verminderten Abbau von Tyramin beobachtete man als Nebenwirkung lebensbedrohliche Blutdruckkrisen insbesondere nach Genuss Tyramin-reicher Nahrung wie Käse und Rotwein (sogenannte „cheese reaction“), was zur Entwicklung der selektiven, reversiblen MAO-A-Hemmer (RIMA = reversible inhibitors of MAO-A) Brofaromin und Moclobemid führte [86]. Brofaromin – eine Substanz, die aufgrund von Patentrechten nie zugelassen werden sollte [161] – zeichnet sich gegenüber der klinisch eingesetzten Substanz Moclobemid durch eine zusätzliche Hemmung der Serotonin- und in geringem Maße auch der Noradrenalin-Aufnahme und somit einen mutmaßlich größeren therapeutischen Effekt aus, wobei die Potenz für die Serotonin-Wiederaufnahme-Hemmung etwa 20% der des SSRI Fluoxetin beträgt [86, 167]. Brofaromin zeigt eine starke Anreicherung im Gehirn [165, 166].

Aufgrund ihrer starken Nebenwirkungen, darunter vor allem Kopfschmerzen, Übelkeit, Schwindel und Schlafstörungen, sowie Wechselwirkungen mit Nahrungs- und Arzneimitteln werden MAO-I nur bei Therapieversagen anderer Antidepressiva-Klassen eingesetzt [96]; ihre unübertroffene Effektivität bei therapieresistenten Depressionen ist jedoch erwiesen, sodass sie dort ebenso wie bei bestimmten Formen der atypischen Depression sowie depressiven Störungen in Verbindung mit Angststörungen, Agitation und (sozialen) Phobien immer noch als Mittel der Wahl gelten [86, 161].

### **2.2.4.3. Selektive Serotonin-Wiederaufnahme-Hemmer (SSRI)**

SSRI inhibieren die präsynaptische Serotonin-Wiederaufnahme und führen somit zu einer Erhöhung der Serotonin-Spiegel im synaptischen Spalt. Über eine Desensibilisierung von 5-HT<sub>1A</sub>-Rezeptoren bewirken SSRI eine langfristige Verstärkung der serotonergen Transmission in Präfrontalcortex, Basalganglien, Limbischem System und Hypothalamus; zudem kommt es zu einer Abnahme der Dichte zentraler  $\beta$ - und 5-HT<sub>2A</sub>-Rezeptoren [153, 154]. Die therapeutischen Effekte bei chronischer SSRI-Therapie werden über eine positive Beeinflussung der neuronalen Plastizität und Neurogenese erklärt. Da SSRI kaum direkte Wechselwirkungen mit Natriumkanälen, Acetylcholin- und GABA-Rezeptoren sowie Adrenalin- und Noradrenalinwiederaufnahme haben, ist auch die Nebenwirkungsrate deutlich geringer als bei den TCA [96]. Zu den häufigen Nebenwirkungen der SSRI zählen – ausgelöst durch Stimulation von 5-HT<sub>2</sub>-Rezeptoren – Unruhe, sexuelle Dysfunktion, Panikattacken, Schlafstörungen sowie Bewegungsstörungen, auf die an gesonderter Stelle einzugehen sein wird (s. Abschnitt 2.2.5.). Stimulation

## Einleitung

von 5-HT<sub>3</sub>-Rezeptoren führt zu gastrointestinalen Nebenwirkungen wie Übelkeit und Diarrhöen [107, 154]. Außerdem besteht durch Hemmung der Serotonin-Wiederaufnahme in Thrombozyten unter SSRI-Therapie ein drei- bis vierfach erhöhtes Risiko für gastrointestinale Blutungen [50]. Berichtet wird auch über ein erhöhtes Suizidrisiko sowie gesteigerte Aggressivität [134].

Klinische Anwendung finden SSRI außer bei depressiven Erkrankungen auch in der Therapie von Zwangsstörungen (OCD), Panikstörungen, chronischen Schmerzsyndromen, Migräne, Alkoholabhängigkeit, Adipositas sowie Bulimie [96, 154]. Zwischen einzelnen Vertretern aus der Gruppe der SSRI bestehen geringfügige Unterschiede, die im Folgenden herausgestellt werden sollen.

### *Citalopram und Escitalopram*

Citalopram zeichnet sich bei ähnlichem therapeutischen Effekt und vergleichbarer Verträglichkeit durch ein früheres Einsetzen der Wirkung gegenüber Fluoxetin aus [126]. Citalopram gilt als der selektivste SSRI [140], wobei der antidepressive Effekt nur durch das S-Enantiomer bedingt ist, während das R-Enantiomer klinisch inaktiv ist [8]. Diese Feststellung führte zur Einführung des S-Enantiomers als gesondertes Pharmakon unter dem Namen Escitalopram. Escitalopram gilt als potentester SSRI, wobei es bezüglich seiner klinischen Überlegenheit gegenüber Citalopram folgende Hypothese gibt: Der primäre Angriffspunkt der SSRI, der Serotonintransporter (SERT), besitzt neben der primären noch eine allosterische Bindungsstelle, über die Escitalopram eine Stabilisierung seiner eigenen Bindung an das aktive Zentrum des SERT bewirkt. Bei Citalopram führt die Konkurrenz des therapeutisch inaktiven R-Enantiomers mit dem S-Enantiomer um die niedrigaffine Bindungsstelle zu einem verminderten Effekt des S-Enantiomers an der hochaffinen, therapeutisch bedeutsamen Bindungsstelle [76, 97]. Dadurch ist Citalopram klinisch weniger effektiv als Escitalopram.

Im Vergleich zu den anderen SSRI zeigen Citalopram und Escitalopram weniger Wechselwirkungen mit dem Cytochrom-P-450-System [155, 170]; in Mitochondrien des Gehirns werden sie über MAO-A und in geringerem Ausmaß auch MAO-B abgebaut [85]. Beide SSRI reichern sich im ZNS an; der Plasmaspiegel scheint jedoch nicht direkt mit dem therapeutischen Effekt bzw. Nebenwirkungen zu korrelieren [50].

### *Fluoxetin*

Fluoxetin ist ein chiraler Wirkstoff mit einem Stereozentrum (s. Abb. 3); beide Enantiomere sind therapeutisch wirksam [140, 170]. Neben der Hemmung der Serotonin-Wiederaufnahme aus dem synaptischen Spalt zeigt Fluoxetin auch direkte Wirkungen am 5HT<sub>2C</sub>-Rezeptor und kann in

hohen Dosen auch die Noradrenalin-Wiederaufnahme hemmen. Die Substanz ist ein Inhibitor zahlreicher Arzneimittel-abbauender Enzyme wie beispielsweise CYP2D6, CYP2C9 und CYP2C19 [140, 170].

Fluoxetin hat eine relativ lange Halbwertszeit von etwa 4 bis 6 Tagen, sein aktiver Metabolit Norfluoxetin von bis zu 15 Tagen [170]. Dadurch verbleibt nach dem Absetzen von Fluoxetin noch über mehrere Wochen wirksame Substanz im Körper.

Fluoxetin zeigt zwar keine bevorzugte Anreicherung in bestimmten Hirnregionen, dafür aber eine hohe unspezifische Bindung an subzelluläre Strukturen, insbesondere Mitochondrien [115]. Zudem wurden Wechselwirkungen mit Lipidmembranen und dem Membrankanal VDAC (voltage-dependent anion channel) isolierter Mitochondrien und darüber hinaus eine Inhibition neuronaler und muskulärer nikotinerger Acetylcholinrezeptoren, spannungsabhängiger Natrium-, Kalium- und Calcium-Kanäle sowie beider MAO-Isoformen durch Fluoxetin nachgewiesen [118, 158]. Mögliche Implikationen von Fluoxetin in Bewegungsstörungen und Funktion der mitochondrialen Atmungskette werden an gesonderter Stelle besprochen (s. Abschnitt 2.2.5.).

#### ***2.2.4.4. Selektive Serotonin-Noradrenalin-Wiederaufnahme-Hemmer (SNRI)***

SNRI (Venlafaxin, Duloxetin) bewirken über eine Hemmung der Serotonin-, Noradrenalin- und geringfügig auch Dopamin-Wiederaufnahme eine Erhöhung der Monoamin-Spiegel im synaptischen Spalt sowie auf langfristige Sicht die bereits bei den anderen Antidepressiva-Klassen dargestellten Veränderungen [112, 114]. SNRI finden Einsatz bei Depressionen und Panikstörungen [92]. Zu den häufigen Nebenwirkungen der SNRI zählen vor allem Übelkeit, Mundtrockenheit, Kopfschmerzen, Schwindel, Schlafstörungen, sexuelle Dysfunktion und Benommenheit [92, 114].

Venlafaxin hemmt die Serotonin-Wiederaufnahme etwa 30fach stärker als die Noradrenalin-Wiederaufnahme [97], sodass die Substanz in niedriger Dosierung wie ein SSRI wirkt; bei klinischem Nichtansprechen kann jedoch durch Dosissteigerung ein dualer Wirkmechanismus und somit in manchen Fällen doch noch ein therapeutischer Erfolg erzielt werden [154]. Einigen Studien zufolge ist Venlafaxin den SSRI im Erzielen einer Remission bei therapieresistenten Depressionen überlegen, was durch den dualen Wirkmechanismus erklärt wird [150]; andere Quellen berichten demgegenüber eine therapeutische Überlegenheit von Escitalopram bei gleichzeitig geringeren Nebenwirkungen und Kosten [97]. Durch Einführung der Retard-Form Venlafaxin-XR konnten die vor allem zu Therapiebeginn auftretenden Nebenwirkungen ohne Einbußen der klinischen Wirksamkeit reduziert werden [49].

### 2.2.5. Antidepressiva und Bewegungsstörungen

Bereits Ende der 1970er Jahre fanden sich in der Literatur Hinweise für das Auftreten von Bewegungsstörungen unter der Therapie mit Antidepressiva [53,110]; erst in jüngster Zeit finden diese Nebenwirkungen antidepressiver Substanzen jedoch stärkere Beachtung.

Aus einer Zusammenschau von Literaturdaten zu Antidepressiva-induzierten Bewegungsstörungen (Tab. 2) wird ersichtlich, dass derartige Nebenwirkungen im Zusammenhang mit SSRI – insbesondere Fluoxetin – aber auch unter Therapie mit Venlafaxin und Amitriptylin auftreten können. Dabei werden Bewegungsstörungen in Form extrapyramidal-motorischer Störungen (EPMS) wie Akathisien, Dystonien, Parkinsonismus, Früh- und Spätdyskinesien beschrieben, die sonst eher von Neuroleptika-Therapien bekannt sind.

Auch für die Antidepressiva-induzierten EPMS ist die zugrunde liegende Pathophysiologie ungeklärt; diskutiert werden eine Dysbalance zwischen dopaminergem und cholinergem System [59], oder auch eine synaptische Potenzierung von Serotonin oder Noradrenalin im ZNS als Folge der Antidepressiva-bedingten MAO- bzw. Transporter-Hemmung. Dies könnte über eine verstärkte Serotonin-vermittelte Inhibition dopaminerger Neurone in den Basalganglien Dystonien oder Parkinson-ähnliche Bewegungsstörungen hervorrufen [20, 60, 157].

Betrachtet man im Vergleich die Erklärungsansätze zur Ätiopathogenese der unter Neuroleptika-Therapie auftretenden EPMS, so sind folgende Hypothesen zu erwähnen: die Dopamin-D<sub>2</sub>-Rezeptor-Hypersensibilitätstheorie, der zufolge Neuroleptika über ihre Dopamin-antagonistischen Effekte eine kompensatorische Upregulation und Überempfindlichkeit zentraler Dopamin-D<sub>2</sub>-Rezeptoren und damit EPMS bewirken [99]; die GABA-Defizit-Hypothese, die eine Schädigung striatopallidaler und striatonigraler GABA-Signalwege durch Neuroleptika annimmt, wodurch EPMS durch eine enthemmte Cortex-Erregung provoziert werden [5, 137]; die Theorie der veränderten Transmittersysteme, die besagt, dass konventionelle Neuroleptika EPMS über eine gesteigerte Empfindlichkeit somatodendritischer HT<sub>1A</sub>-Rezeptoren mit Ausfall der Serotonin-bedingten Hemmung des dopaminergen Systems bewirken [66]; schließlich die Theorie des oxidativen Stresses, wonach die Neuroleptika-vermittelte Blockade der Dopaminrezeptoren infolge des gesteigerten Dopamin-Turnovers über die MAO-B zu einer vermehrten Produktion freier Radikale (ROS = reaktive Sauerstoff-Spezies) und somit zu oxidativem Stress und EPMS führen soll [29]. Der Gedanke, dass zelluläre Schädigungen durch oxidativen Stress die Grundlage der Neuroleptika-induzierten EPMS darstellen könnten, gewinnt in den letzten Jahren zunehmend an Bedeutung. In mehreren Arbeiten wurden Zusammenhänge mit oxidativer Schädigung der Mitochondrien insbesondere durch Hemmung der Atmungskette



## Einleitung

herausgestellt, woraus ersichtlich wurde, dass die Inzidenz und auch der Schweregrad von Neuroleptika-induzierten EPMS positiv mit der Hemmung des Komplexes I der Atmungskette korrelieren [12, 106, 111].

Ein ähnlicher Pathomechanismus wäre auch für Antidepressiva-induzierte Bewegungsstörungen denkbar; dennoch scheint bis heute kein direkter Vergleich mit den EPMS unter Neuroleptika-Therapie durchgeführt worden zu sein.

Die „case reports“ über SSRI-induzierte EPMS identifizieren keine konstanten Risikofaktoren für das Auftreten solcher Bewegungsstörungen unter antidepressiver Therapie; die angegebenen möglichen Einflussfaktoren wie SSRI-Tagesdosis, neurologische Grunderkrankungen, hohes Alter, Comedikation mit Neuroleptika oder weibliches Geschlecht [28, 124] entsprechen den für die Neuroleptika-Therapie bekannten Risikofaktoren. Auch gibt es Überlegungen bezüglich neurobiologischer Störungen im Zusammenhang mit bestimmten Subformen der endogenen Depression, die für das Auftreten von Bewegungsstörungen unter Antidepressiva-Therapie prädisponieren könnten [89]. Ein „case report“ über Amoxapin-Überdosierung mit einem klinischen Bild ähnlich dem beim malignen Neuroleptika-Syndrom vermutet als Ursache der Bewegungsstörung eine toxische Schädigung der Mitochondrien durch das Antidepressivum [102]. In ähnlicher Weise wird auch bei Fluoxetin-induzierten Bewegungsstörungen eine Schädigung neuronaler Zellen, teilweise vermittelt über eine Störung der mitochondrialen Funktion, als Auslöser von EPMS vermutet [67].

Da der mögliche Zusammenhang zwischen neuropsychiatrischen Erkrankungen und Medikamenten-induzierten Nebenwirkungen mit Störungen des Energiestoffwechsels auf zellulärer Ebene zunehmend in den Mittelpunkt des Interesses rückt, soll im Folgenden kurz auf die Funktion der Mitochondrien eingegangen werden.

## Einleitung

**Tab. 2: Überblick über Berichte von Bewegungsstörungen unter Therapie mit Antidepressiva**

Jahr	Autor	Arbeit	Antidepressivum	Klinik
1976	Fann et al. [53]	2 Case Reports	1.) Amitriptylin 2.) Amitriptylin + Perphenazin + Trihexyphenidyl	1.) Orofaziale Dyskinesien 2.) Choreatische Athetose
1979	Meltzer et al. [110]	Case Report	Fluoxetin	Dystonie, Parkinsonoid
1989	Bouchard et al. [22]	Letter to the Editor: 2 Case Reports	Fluoxetin	1.) Parkinsonoid 2.) Aktionstremor, Akathisie, Parkinsonoid, "rabbit syndrome" (stereotype Gesichts- und Kaubewegungen)
1990	Baldessarini et al. [11]	Letter to the Editor	Fluoxetin	Fluoxetin-bedingte Hemmung der Katecholaminsynthese als zelluläres Korrelat von Bewegungsstörungen
1991	Budman et al. [24]	Case Report	Fluoxetin	Persistierende bukkolinguale Dyskinesien
1994	Mander et al. [103]	Case Report	Fluoxetin	Dyskinesien
1995	Coulter et al. [37]	Review	Fluoxetin	EPMS
1996	Fishbain [55]	Letter to the Editor	Fluoxetin	Spätdyskinesien
1996	Leo [93]	Review	SSRI	EPMS
1997	Caley [28]	Review	SSRI	EPMS
1997	Gill et al. [60]	Review	TCA, SSRI, MAO-I, andere	EPMS
1997	Vandel et al. [162]	2 Case Reports + Review	TCA	EPMS
1998	Gerber et al. [59]	Review	SSRI	EPMS
1998	Lane [89]	Review	SSRI	EPMS
1999	Conforti et al. [35]	Case Report	Venlafaxin + Valproat + Nortriptylin	Parkinsonoid
2002	Schillevoort et al. [146]	Fall-Kontroll-Studie	SSRI	EPMS
2004	Najjar et al. [119]	Case Report	Citalopram	Akute Dystonie
2004	Tarlaci [157]	Case Report	Citalopram	Kiefer-Tremor
2005	Altindag et al. [3]	Case Report	Escitalopram, Sertralin	Tics
2005	Parvin et al. [125]	Case Report	Citalopram, Escitalopram	"dystonic rabbit syndrome"
2006	Thwaites et al. [159]	Case Report	Citalopram	Neurotoxische Reaktion mit Bewegungsstörung
2007	Duggal et al. [44]	Case Report	Citalopram	Wiederauftreten Neuroleptika-induzierter Dyskinesien
2007	Lee et al. [92]	Case Report	Venlafaxin	Blepharospasmus
2008	Bilen et al. [20]	Case Report	Fluoxetin	Persistierende Dystonie
2008	Page et al. [121]	Case Report	Escitalopram	Restless-Legs-Syndrom
2008	Rottach et al. [138]	prospektive Vergleichsstudie	Zweitgenerations-Antidepressiva	Restless-Legs-Syndrom
2009	Koliscak et al. [82]	Review	SSRI	Akathisien
2009	Park et al. [124]	Case Report	Escitalopram + Itoprid	Spätdyskinesien
2009	Sinclair et al. [149]	Review	TCA, SSRI (v.a. Fluoxetin)	"jitteriness/anxiety syndrome" (Symptomkomplex mit motorischer und psychomotorischer Unruhe)
2010	Madhusoodanan et al. [100]	Review	TCA, MAO-I, SSRI, andere (v.a. Nefazodon, Bupropion, Duloxetin, Escitalopram, Citalopram)	EPMS

### 2.3. Mitochondrien und Atmungskette

Mitochondrien erfüllen in den Zellen unterschiedlicher Gewebe eine Vielzahl lebensnotwendiger Aufgaben. Darunter fallen metabolische Funktionen wie die  $\beta$ -Oxidation der Fettsäuren und der Zitratzyklus; essentielle Schritte in Häm-synthese, Steroidsynthese, Harnstoffzyklus und Aminosäurestoffwechsel; Homöostase des Calcium-Haushalts; Regulation der Apoptose; und vor allen Dingen die ATP-Synthese [4, 116].

Die mitochondriale Atmungskette ist über den Prozess der oxidativen Phosphorylierung verantwortlich für etwa 95% der zellulären ATP-Produktion [116].

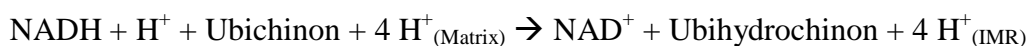
Um die Funktion der Atmungskette zu verstehen, muss man sich den Aufbau der Mitochondrien vergegenwärtigen. Diese Organellen bestehen aus einer Matrix, die von einer doppelten Membran umgeben ist. Die äußere Membran (OMM) ist cholesterolreich und enthält das spezifische mitochondriale Protein Porin, das sie durchlässig macht für Moleküle bis zu einer Größe von 5 kDa [98]. Die innere Membran (IMM) ist praktisch impermeabel und cholesterolfrei, enthält dafür aber das mitochondrien-spezifische Phosphoglycerid Cardiolipin, das für die Bindung bestimmter Substanzen – unter anderem der Proteinkomplexe der Atmungskette – verantwortlich ist [168]. Die Impermeabilität der IMM ist eine notwendige Voraussetzung für die Funktionsfähigkeit der ATP-Synthese: Im Rahmen der oxidativen Phosphorylierung werden über die Enzymkomplexe der Atmungskette, die in der IMM lokalisiert sind, in einer Kette aufeinanderfolgender Redoxreaktionen Elektronen in horizontaler Richtung weitertransportiert, bis sie schließlich auf das endgültige Empfänger-Substrat, molekularen Sauerstoff, übertragen werden. Gekoppelt an diesen Ladungsfluss ist das Pumpen von Protonen aus der Mitochondrienmatrix in den Intermembranraum (IMR), sodass der Matrixraum einen leicht alkalischen pH-Wert sowie eine negative Ladung erhält [144]. Die aus der Oxidation der Reduktionsäquivalente stammende Energie wird also in Form des Protonengradienten über der IMM „zwischengespeichert“. Da der elektrische Gradient (mitochondriales Membranpotential MMP:  $\sim -180$  bis  $-220$  mV) mit einem chemischen Gradienten (pH-Gradient:  $\sim 0,4$ - $0,6$  pH-Einheiten) einhergeht [168], spricht man auch vom Prinzip der elektrochemischen Kopplung als Triebkraft für den gerichteten Elektronenfluss und letztlich für die ATP-Synthese.

Die einzelnen Schritte und Komplexe der Atmungskette sollen nun kurz vorgestellt werden.

Der Elektronentransport entlang der IMM erfolgt über mehrere große Multiproteinkomplexe, die nach aktuellen Erkenntnissen nicht als einzelne Komplexe fungieren, sondern in Form supramolekularer Assoziationen, sogenannter „Respirasomen“, zusammenwirken [171].

## Einleitung

Haupteintrittspforte der Elektronen in die Atmungskette ist Komplex I, die NADH-Ubichinon-Oxidoreductase, ein Proteinkomplex mit 45 Untereinheiten [54]. Komplex I katalysiert folgende Reaktion:



Es werden also für jedes übertragene Elektronenpaar 4 Protonen aus der Mitochondrienmatrix in den Intermembranraum gepumpt. Der Elektronentransport erfolgt über das Coenzym FMN sowie acht Eisen-Schwefel-Zentren [98].

Komplex II, die Succinat-Ubichinon-Oxidoreductase, besteht bei Säugetieren aus 4 Untereinheiten, wobei die beiden hydrophilen Untereinheiten dem Enzym Succinatdehydrogenase (SDH) des Zitratzyklus entsprechen; das bedeutet, dass die Elektronen des im Zitratzyklus gebildeten  $\text{FADH}_2$  im selben Enzymkomplex gleich weiter auf Ubichinon übertragen werden, ohne dass hierbei Protonen über die IMM gepumpt werden:



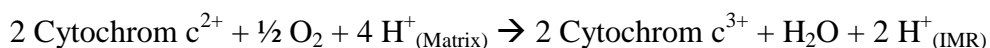
Komplex II enthält für den Elektronentransport drei Eisen-Schwefel-Zentren sowie ein Häm<sub>b560</sub>-Zentrum, dessen Bedeutung jedoch noch nicht abschließend geklärt ist [98].

Komplex III, die Ubihydrochinon-Cytochrom c-Oxidoreductase – auch als  $\text{bc}_1$ -Komplex bezeichnet – ist ein aus zwei identischen Monomeren à jeweils 11 Untereinheiten aufgebautes Dimer [54] und katalysiert folgende Reaktion:



Obwohl also im IMR laut dieser Gleichung 4 Protonen freigesetzt werden, werden nur 2 Protonen über die Membran gepumpt; die restlichen beiden Protonen dienen dem Ladungsausgleich nach Aufnahme von 2 Elektronen durch Cytochrom c im IMR. Der Elektronentransfer erfolgt über Cytochrom b, Cytochrom  $c_1$  sowie das „Rieske-Eisen-Schwefel-Protein“. Das Ubichinon-Reduktionszentrum des Komplexes III ist durch Antimycin hemmbar [98].

Komplex IV (Cytochrom c-Oxidase) besteht aus 13 Untereinheiten und überträgt über 2 Häm-Zentren Elektronen von reduziertem Cytochrom c auf Sauerstoff, wobei pro Sauerstoff-Atom 2 Protonen über die IMM gepumpt werden:



Diese Reaktion ist stark exergonisch und entspricht formal näherungsweise der Knallgasreaktion:

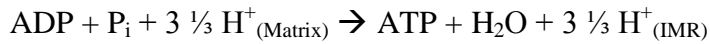


Insgesamt werden durch die Komplexe I, III und IV also für 1 Mol oxidiertes NADH 10 Protonen über die IMM gepumpt; bei Umgehung von Komplex I durch Einschleusung der

## Einleitung

Elektronen über Komplex II oder die anderen oben erwähnten Dehydrogenasen sind es nur 6 Protonen.

Komplex V, die  $F_1F_0$ -ATP-Synthase, ist ein Proteinkomplex aus 16 Untereinheiten und verantwortlich für die Nutzung des über die Elektronentransportkette erzeugten Protonengradienten zur ATP-Synthese gemäß folgendem Reaktionsprinzip:



Die Protonen fließen durch den in die IMM eingebetteten  $F_0$ -Teil; dabei wird durch den Protonengradienten eine Drehbewegung des  $F_0$ -Teils angetrieben, die eine Konformationsänderung des in die Matrix hineinragenden  $F_1$ -Teils induziert. In dieser neuen Konformation ist der  $F_1$ -Teil zur ATP-Synthese aus ADP und  $P_i$  befähigt. Der P/O-Quotient gibt an, wieviel Mol ATP pro Mol Sauerstoff gebildet werden; für NADH liegt er bei 2,3; für Succinat und andere Substrate, die Komplex I umgehen, beträgt der P/O-Quotient 1,4 [98].

### **2.4. Wirkungen von Psychopharmaka auf die mitochondriale Atmungskette**

Für Neuroleptika ist seit langem bekannt, dass sie hemmende Wirkungen auf die mitochondriale Atmungskette, insbesondere auf Komplex I, ausüben. Gezeigt wurde dies in-vivo und in-vitro an Mitochondrien aus Rattenhirn- und -lebergewebe sowie in-vitro an menschlichem Hirngewebe und in-vivo an menschlichen mononukleären Blutzellen [26, 29, 106, 111, 133]. Festgestellt wurden aber auch in-vivo-Effekte von Neuroleptika auf die SDH als Teil von Komplex II sowie auf Komplex IV und V in Rattenhirnmitochondrien [14, 133, 156]. Die Implikationen dieser Feststellungen konnten nicht immer vollständig geklärt werden; hingewiesen wurde allerdings auf eine positive Korrelation zwischen dem Grad der Komplex I-Inhibition durch Neuroleptika und dem Nebenwirkungsprofil der jeweiligen Substanz, insbesondere im Hinblick auf das Auftreten von EPMS [12, 106, 111].

Wie bereits ausgeführt (s. Abschnitt 2.2.5.), wurden auch unter antidepressiver Therapie in den letzten Jahren vermehrt Fälle von Bewegungsstörungen beobachtet, deren zugrundeliegende Pathophysiologie unbekannt ist. Untersuchenswert wäre hierbei also, ob sich bei diesen Nebenwirkungen, die eine gewisse Ähnlichkeit mit den Neuroleptika-induzierten EPMS aufweisen, ebenfalls Auswirkungen der eingesetzten Psychopharmaka auf die mitochondriale Atmungskette nachweisen lassen, die hierfür verantwortlich sein könnten.

Die Wirkungen von Antidepressiva auf die mitochondriale Atmungskette sind derzeit noch wenig untersucht. Bereits vor über 20 Jahren konnte gezeigt werden, dass die TCA Imipramin und Clomipramin eine entkoppelnde Wirkung in-vivo auf die Atmungskette von Rattenhirn- und

## Einleitung

Rattenherzmitochondrien und in-vitro auf Rattenleber-, Rattenherz- und Rinderherzmitochondrien haben [9, 41, 78, 169]; vermutet wurden eventuelle Veränderungen der mitochondrialen Lipidmembranen durch Wechselwirkungen mit den Antidepressiva [27, 52, 79]. An isolierten Rattenlebermitochondrien wurde in-vitro eine Hemmung von Komplex I der Atmungskette durch das aufgrund seiner Hepatotoxizität in Deutschland nicht mehr zugelassene Antidepressivum Nefazodon ( $IC_{50} = 14 \mu M$ ) und das Anxiolytikum Buspiron ( $IC_{50} = 48 \mu M$ ), nicht aber durch das atypische Antidepressivum Trazodon festgestellt; Nefazodon wirkte in höheren Konzentrationen auch hemmend auf Komplex IV ( $IC_{50} = 70 \mu M$ ). Alle drei Substanzen zeigten sich in-vitro zytotoxisch auf menschliche HepG2-Leberzellen, in denen der Sauerstoffverbrauch gehemmt wurde [46].

In einer aktuellen in-vitro-Untersuchung an Mitochondrienfraktionen aus Schweinehirn [73] wurden hemmende Effekte auf die Rotenon-sensitive NADH-Ubichinon-Oxidoreductase (Komplex I) der Atmungskette durch die Antidepressiva Amitriptylin, Desipramin, Imipramin, Citalopram und Mirtazapin, nicht aber durch Venlafaxin, Tianeptin und Moclobemid bei Konzentrationen von 0,5 mM beobachtet. Hemmende Wirkungen zeigten auch das atypische Neuroleptikum Olanzapin bei 0,5 mM Konzentration sowie Valproat in Konzentrationen von 5 mM, nicht hingegen Lithium. Desgleichen wurde für alle Testsubstanzen mit Ausnahme von Citalopram, Venlafaxin und Moclobemid eine Inhibition von Komplex IV der Atmungskette festgestellt. Eine signifikante Abnahme der Aktivität von Komplex II bewirkten hingegen nur Amitriptylin und Imipramin. Keines der getesteten Psychopharmaka hatte einen signifikanten Einfluss auf die SDH-Aktivität; die Aktivität des mitochondrialen Markerenzym Citratsynthase wurde durch Citalopram, Tianeptin und Olanzapin leicht gesteigert. Da in dieser Studie außer für Desipramin jeweils nur eine Konzentrationsstufe für die einzelnen Psychopharmaka getestet wurde, lassen sich keine Schlussfolgerungen über mögliche Dosis-Wirkungs-Beziehungen der beobachteten Effekte ziehen; lediglich für Desipramin wurde für die Hemmung der Komplex I-Aktivität ein  $IC_{50}$ -Wert von  $96,3 \pm 9,7 \mu M$  (Mittelwert aus drei Experimenten) ermittelt. Festzuhalten bleibt aber, dass fast alle aufgeführten Psychopharmaka in-vitro die Elektronentransportkette in Schweinehirnmitochondrien mehr oder weniger stark zu beeinflussen scheinen. Die genauen Mechanismen, über die die Testsubstanzen auf die Komplexe der Atmungskette wirken, bleiben jedoch ungeklärt. Die Autoren kommen zu dem Schluss, dass die Einflüsse der untersuchten Psychopharmaka auf die Atmungskette, insbesondere auf Komplex IV und Komplex I, sowohl in die therapeutischen Effekte als auch in die unerwünschten Nebenwirkungen dieser Wirkstoffe involviert sein könnten.

## Einleitung

In einer anderen Studie konnte für Amitriptylin bei einmaliger systemischer Applikation von 20 mg/kg bei Mäusen (therapeutische Dosis beim Menschen: maximal 300 mg/d [75]) eine Abnahme der Komplex IV-Aktivität in verschiedenen Hirnstrukturen nachgewiesen werden, unter anderem im limbischen System. Diese Amitriptylin-behandelten Mäuse waren nachfolgend nicht mehr in der Lage, bestimmte mit negativen Reizen gekoppelte Verhaltensweisen vermeiden zu lernen („inhibitory avoidance“-Lerntest) [62].

In-vitro-Untersuchungen an menschlichen Fibroblasten zeigten eine um rund 25% verminderte spezifische Aktivität von Komplex I und III nach Gabe von 50  $\mu$ M Amitriptylin; hierbei sowie durch 100  $\mu$ M Amitriptylin bei Zebrafisch-Embryonen in-vivo wurden zudem zytotoxische Effekte des Antidepressivums in Form gesteigerter Apoptoseraten beobachtet. Diese durch oxidative Schädigung erklärten Effekte konnten durch Zugabe der antioxidativen Substanzen  $\alpha$ -Tocopherol oder reduziertes Coenzym Q<sub>10</sub> verhindert werden [36].

Für Fluoxetin wurden an isolierten Rattenhirnmitochondrien Wechselwirkungen mit der IMM sowie eine Hemmung der Elektronentransportkette nachgewiesen [38]. In-vitro zeigte sich in Rattenlebermitochondrien zudem eine nicht-kompetitive Inhibition nur des membrangebundenen Anteils von Komplex V der Atmungskette durch Fluoxetin (IC<sub>50</sub>= 80  $\mu$ M); in-vivo wurde passend dazu nach akuter wie chronischer Fluoxetin-Behandlung eine Entkopplung der oxidativen Phosphorylierung beobachtet [151].

### **2.5. Mitochondriale Funktionsstörungen im Rahmen psychiatrischer Erkrankungen**

Problematisch gestaltet sich mitunter die Unterscheidung zwischen Arzneimittel-bedingten Funktionsstörungen der Mitochondrien einerseits und anderweitig erworbener mitochondrialer Dysfunktion andererseits, die mit neuropsychiatrischen Erkrankungen einhergehen oder diesen sogar möglicherweise zugrunde liegen könnte. Wie bereits einleitend erwähnt (s. Abschnitt 2.1.1.1.), ist aus post-mortem-Studien und Befunden mittels funktioneller Bildgebung bekannt, dass die Gehirne psychiatrischer Patienten bestimmte chemische und strukturelle Auffälligkeiten sowie Veränderungen intrazellulärer Signalkaskaden aufweisen [17, 42, 68, 113]. Darüber hinaus konnten jedoch in den letzten Jahren pathologische Abnormitäten der Morphologie und Funktion der Mitochondrien im Rahmen psychischer Erkrankungen nachgewiesen werden. In einer Übersichtsarbeit aus dem Jahre 2009 werden psychiatrische Erkrankungen sogar als „metabolic disease“ bezeichnet [74]. Es gibt Hypothesen, dass depressive Erkrankungen, bipolare Störungen und Schizophrenie mit Störungen der mitochondrialen Funktion und damit des Energiemetabolismus einhergehen. Hierfür lassen sich mehrere Begründungen anführen [74, 136, 143]: Zum einen manifestieren sich psychiatrische Symptome häufig als Comorbiditäten im

## Einleitung

Rahmen primärer Mitochondrienerkrankungen. Zum anderen wurde in post-mortem-Studien an Gehirnen schizophrener Patienten beobachtet, dass sowohl Anzahl als auch Dichte der Mitochondrien in bestimmten Gehirnregionen vermindert waren, insbesondere bei nicht-medikamentös behandelten (also Neuroleptika-freien) Patienten. Analoge Studien an Patienten mit affektiven Störungen wurden jedoch nicht durchgeführt [74, 143].

Festgestellt wurde darüber hinaus, dass die Expression bestimmter mitochondrialer Gene in einigen Hirnregionen bei psychiatrischen Patienten vermindert ist und dass zudem gehäuft Mutationen und Polymorphismen in mitochondrialer DNA vorkommen; die Ergebnisse dieser Studien ließen sich aber nicht in allen Fällen reproduzieren. Vielmehr wird darauf hingewiesen, dass der niedrige pH-Wert im untersuchten Hirngewebe möglicherweise für die gefundenen Abnormitäten verantwortlich zu machen sei [77, 131, 136, 143].

Mittels funktioneller Bildgebung konnte gezeigt werden, dass bei Patienten mit Schizophrenie oder affektiven Störungen der Energiemetabolismus in bestimmten Teilen des Gehirns vermindert ist [143]; in Tierstudien ließen sich durch Stimmungsstabilisierer wie Lithium und Valproinsäure dieser pathologisch verringerte Energiestoffwechsel sowie auch die Expression des anti-apoptotischen Proteins bcl-2 steigern [74, 143]. Die genauen Mechanismen, die der Wirkung der Stimmungsstabilisierer zugrunde liegen, sind jedoch noch nicht in allen Einzelheiten verstanden.

Erwähnenswert ist des Weiteren die Beobachtung, dass die Expression mitochondrialer Enzyme, unter anderem auch für die Komplexe der Atmungskette, im Skelettmuskel depressiver Patienten sowie chronisch Stress-exponierter Ratten verringert ist [136]. Zudem soll ein möglicher antidepressiver Wirkmechanismus der Elektrokrampftherapie darin bestehen, die pathologisch verminderte Aktivität der Komplexe II und IV der Elektronentransportkette zu steigern und gleichzeitig die Aktivität der Kreatinkinase zu dämpfen [136]. Die Ergebnisse dieser am Rattenmodell gewonnenen Erkenntnisse sind jedoch am Menschen bislang nicht reproduziert worden und daher nicht ohne weiteres übertragbar. In post-mortem-Studien an Hirngewebe psychiatrischer Patienten wurde allerdings festgestellt, dass es bestimmte pathologische Muster in der Expression von Komplex I-Untereinheiten der Atmungskette gibt, die teilweise für die jeweilige Krankheitsentität – Schizophrenie, Major Depression oder Bipolare Störung – spezifisch zu sein scheinen [16].

Insgesamt ergeben sich aus der aktuellen Literatur Hinweise darauf, dass mitochondriale Funktionsstörungen bei der Pathogenese neuropsychiatrischer Erkrankungen eine Rolle spielen könnten.



### 2.6. Herleitung der Fragestellung

Berichte über medikamentös-induzierte Organtoxizität, die durch mitochondriale Schädigung verursacht sein könnte, haben in den letzten Jahren einen regelrechten Aufschwung erfahren [31, 47, 116, 168]. „Mitotoxizität“ ist ein häufiger Grund für die Rücknahme bereits zugelassener Arzneimittel [116].

Toxische Schädigungen der Mitochondrien manifestieren sich dabei in erster Linie an Geweben mit hohem Mitochondriengehalt, wie Skelettmuskel, Herz, Leber und Gehirn [4]. Durch die große Anzahl an vorhandenen Mitochondrien besteht allerdings lange Zeit eine funktionelle Reserve; klinische Symptome treten also erst dann auf, wenn das Ausmaß der mitochondrialen Schädigung einen kritischen Schwellenwert überschreitet, sodass die Funktionsausfälle nicht mehr kompensiert werden können [144]. Gravierende Störungen der mitochondrialen Funktion können zur sogenannten „Mitoptose“, dem Absterben dieser Organellen, oder aber auch zur Apoptose, dem programmierten Tod der gesamten Zelle, führen; besonders empfindlich reagiert in diesem Zusammenhang Gehirngewebe [58].

Bekannt ist zudem, dass Mitochondrien nicht nur Angriffspunkt unerwünschter Arzneimittelwirkungen sind, sondern auch selbst die Ursache sekundärer Toxizität darstellen. Die Atmungskette gilt als Hauptproduktionsort freier Radikale (ROS) im zellulären Stoffwechsel, und während bereits unter Normalbedingungen aus 1-4% des Sauerstoffs Radikale entstehen [2], nimmt die ROS-Produktion durch mitochondriale Dysfunktion mit Störung der Atmungskette noch dramatisch zu [175], was zu schweren klinischen Symptomen aufgrund zellulärer Schäden durch oxidativen Stress führen kann.

Die Empfindlichkeit der Mitochondrien variiert von Gewebe zu Gewebe sowie spezieabhängig und ist beim Menschen am größten im Gehirngewebe [168]. Die Untersuchung möglicher, Antidepressiva-induzierter mitochondrialer Schädigungen ist daher in neuronalen Zellen von besonderem Interesse.

Aktuell spielen Untersuchungen über mögliche zytotoxische Wirkungen von Antidepressiva eine große Rolle auf dem Gebiet der Tumorforschung. Über die Entwicklung von Medikamenten, die gezielt Mitochondrien schädigen, erhofft man sich, Tumorzellen selektiv vernichten zu können.

Im Rahmen dieser Studien konnte gezeigt werden, dass Chlorimipramin in Konzentrationen von 20-25  $\mu\text{M}$  an isolierten Rattenmitochondrien unterschiedlicher Gewebe eine stark hemmende Wirkung auf Komplex III und geringfügig auch auf Komplex I der Atmungskette ausübt [39].

Insgesamt findet sich in der Literatur jedoch – abgesehen von der zitierten Studie von Hroudova und Fisar [73] – keine systematische Untersuchung von Wirkungen antidepressiver Substanzen

## Einleitung

auf die mitochondriale Elektronentransportkette. Zudem sind die meisten Untersuchungen nicht an menschlichem Gewebe durchgeführt.

Die vorliegende Arbeit sollte als Pilotstudie die Effekte mehrerer strukturell unterschiedlicher Antidepressiva auf die Enzymkomplexe der Atmungskette an menschlichem Hirngewebe *in vitro* untersuchen.

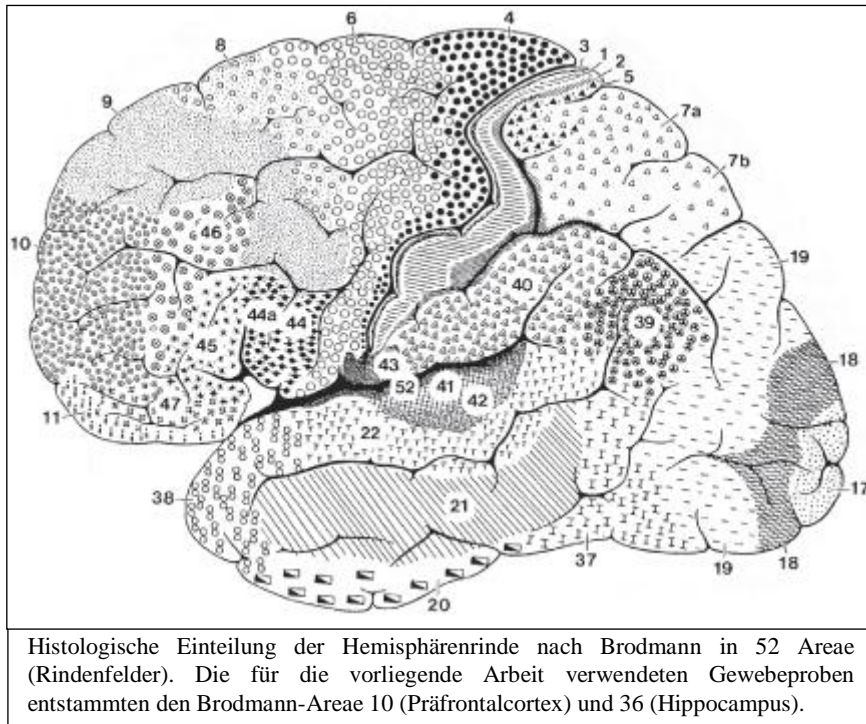
Für die Untersuchungen wurden zwei Hirnregionen ausgewählt: Brodmann-Area 36 des Hippocampus und Brodmann-Area 10 des Präfrontalcortex (s. Abb. 4). Wie in Abschnitt 2.1.1. geschildert, scheinen diese beiden Areale eine zentrale Stellung hinsichtlich der Pathophysiologie depressiver Erkrankungen einzunehmen [87]. Als Testsubstanzen wurden verfügbare Antidepressiva aller Klassen ausgewählt: von den TCA das tertiäre Amin Amitriptylin und das sekundäre Amin Nortriptylin; der MAO-I Brofaromin; der SNRI Venlafaxin; und die SSRI Fluoxetin, Citalopram und Escitalopram.

Folgende Fragen standen bei den Untersuchungen im Vordergrund:

- Üben Antidepressiva Effekte auf SDH, Komplex I/III und Komplex II/III der mitochondrialen Elektronentransportkette aus?
- An welchem Komplex manifestieren sich potentielle Effekte, und in welcher Form – aktivierend oder hemmend? Besteht eine lineare Dosis-Wirkungs-Beziehung?
- Lassen sich Unterschiede in den Wirkungen der einzelnen Testsubstanzen auf die Atmungskette feststellen? Stehen potentielle Einflüsse auf die Aktivität der Atmungskettenenzyme im Einklang mit dem jeweiligen Nebenwirkungsprofil bzw. der Inzidenz typischer Nebenwirkungen eines Antidepressivums?
- Welche klinischen Implikationen ziehen die Ergebnisse nach sich? Besteht eine Parallele zu den für Neuroleptika erhobenen Beobachtungen?

# Einleitung

Abb. 4 [160]



### 3. Methoden

#### 3.1. Gewebeproben

Alle Untersuchungen erfolgten an frischgefrorenem menschlichem Hirngewebe aus Präfrontalcortex (Area 10 nach Brodmann) und Hippocampus (Area 36 nach Brodmann) eines im Alter von 64 Jahren an einem Myokardinfarkt verstorbenen Mannes ohne neurologische und psychiatrische Grunderkrankungen. Das Gewebematerial entstammte einem Pool von Autopsieproben und wurde freundlicherweise von Frau Dr. I. Maurer zur Verfügung gestellt.

Mittels eines Skalpells wurde an vier verschiedenen Stellen des tiefgefrorenen Gewebestücks jeweils eine Scheibe abgeschnitten. Die Gewebeproben wurden gewogen, jeweils einzeln in einem 2 mL fassenden Hand-Glas-Potter der Firma Braun in einem Verhältnis von 1:30 (mg:µL) mit Chappel-Perry-Puffer (50 mM Tris-Puffer pH 7,5; 100 mM KCl; 5 mM MgSO<sub>4</sub>; 1 mM EDTA; 1,8 mM ATP) versetzt und homogenisiert.

Die Homogenate wurden anschließend in einer Eppendorf-Zentrifuge 5415c für 5 Minuten bei 2.500 Umdrehungen pro Minute (i.e. 500 g) zentrifugiert, um Zellkerne und größere zelluläre Bestandteile zu entfernen [33, 122]. Um eine ausreichende Kühlung während des Zentrifugierens zu gewährleisten, wurde der Rotor der Zentrifuge zuvor im Kühlschrank bei 4-6°C vorgekühlt. Für die weiteren Untersuchungen wurde ausschließlich der Überstand verwendet. Während der Versuche wurden sämtliche Proben und Reagenzien in einem isolierten Behälter mit Crushed-Ice gehalten.

#### 3.2. Enzymaktivitätsbestimmung

Die Ermittlung der Enzymaktivitäten erfolgte durch spektrophotometrische Bestimmung der Extinktionsänderung bei 30°C über einen Zeitraum von 420 Sekunden mit einem Spektrophotometer des Modells Lambda-35 der Firma Perkin Elmer. Das Gerät enthält einen automatischen Küvettenwechsler mit acht Stellplätzen, sodass die gleichzeitige Messung von Proben als Doppelbestimmung einschließlich Leerwerten möglich war. Die graphische Auswertung der Messergebnisse erfolgte mittels der zugehörigen Software UV WinLab, die eine Steigungsanalyse der aufgezeichneten Extinktion/Zeit-Kurven ermöglicht. Anschließend wurde anhand der Extinktionsänderung pro Zeit die Enzymaktivität nach dem Lambert-Beer-Gesetz gemäß folgender Formel ermittelt:

$$\Delta E = \epsilon_{\lambda} \cdot c \cdot d \Leftrightarrow c = \Delta E \cdot \epsilon_{\lambda}^{-1} \cdot d^{-1}$$

Die Angabe der spezifischen Aktivität erfolgte in Relation zum Proteingehalt des jeweiligen Homogenats unter Verwendung der Formel:

## Methoden

$$c_{\text{spezif}} (\text{in mol} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{mg Protein}^{-1}) = \Delta E \cdot \varepsilon_{\lambda}^{-1} \cdot d^{-1} \cdot \text{mg Protein}^{-1}$$

Hierbei gilt:

c – Konzentration [mol / L]

$\varepsilon_{\lambda}$  – molarer Extinktionskoeffizient bei der Wellenlänge  $\lambda$  [ $\text{L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ ]

$\Delta E$  = Extinktionsänderung [1 / min]

d = Schichtdicke der Küvette; für die verwendeten Küvetten gilt: d = 1 cm.

Die spezifische Enzymaktivität wurde abschließend auch noch auf die Aktivität des mitochondrialen Markerenzym Citratsynthase normiert, um Unterschiede durch die jeweilige Mitochondrienanzahl einer Gewebeprobe als Einflussfaktor zu minimieren [13, 32].

Um das Ausmaß eventueller durch externe Einflussfaktoren bedingter Verluste der Enzymaktivität zu bestimmen, wurden zunächst für alle Komplexe am Anfang und am Ende eines Labortages Aktivitätsbestimmungen durchgeführt. Die Aktivitätsverluste betragen hierbei unter 5% der Ausgangsaktivität.

Jede Messung erfolgte als Doppelbestimmung mit zwei unterschiedlichen Volumina Homogenat, wobei jeweils 15 und 30  $\mu\text{L}$  Homogenat für Komplex I/III sowie 30 und 60  $\mu\text{L}$  für die anderen Komplexe eingesetzt wurden. Alle Untersuchungen erfolgten nach den unten aufgeführten Methoden an Komplex I/III, SDH als Teil von Komplex II sowie Komplex II/III.

### 3.2.1. Aktivitätsbestimmung des mitochondrialen Markerenzym Citratsynthase (CS)

Die Aktivität der Citratsynthase wurde in jedem Homogenat vor der Messung der anderen Enzymaktivitäten bestimmt. Dieses in der Mitochondrienmatrix lokalisierte Enzym des Zitratzyklus dient als Marker für den Mitochondriengehalt einer Gewebeprobe; seine Aktivität korreliert nicht mit der der Atmungskettenenzyme. Die Aktivität der einzelnen Komplexe der Atmungskette wurde anschließend als „Citratsynthase-normierte spezifische Aktivität“ in Bezug auf die Aktivität dieses Markerenzym ausgedrückt, um auszuschließen, dass Unterschiede in der Aktivität der Atmungskette ausschließlich auf einen unterschiedlichen Mitochondriengehalt der jeweiligen Gewebeprobe zurückzuführen wären [32]. Diese Normierung wird üblicherweise durchgeführt, um die Vergleichbarkeit der Messergebnisse zwischen unterschiedlichen Proben oder auch Geweben zu gewährleisten [13].

Die Aktivitätsbestimmung der Citratsynthase basiert auf folgendem Reaktionsschema:



Zusammensetzung des Reaktionsansatzes:

## Methoden

- 2 mL (50 mM Tris/HCl pH 7,4 + 200 mM Mannitol) (Stammlösung: 9,11 g Mannitol + 250 mL Tris/HCl)
- 20 µL 10 mM DTNB (Stammlösung: 4 mg/mL 0,1 M Tris pH 8)
- 100 µL 2 mM Acetyl-Coenzym A
- 30 µL Homogenat (1:30 in Chappel-Perry-Puffer)

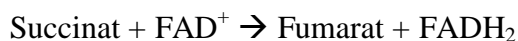
### Prinzip:

Nach 10-minütiger Inkubation im Photometer bei 30 °C wird die Reaktion durch Zugabe von 20 µL frisch angesetzter 50 mM Oxalacetat-Lösung (Stammlösung: 6,6 mg Oxalacetat / 1 mL H<sub>2</sub>O; pH durch Zugabe von 2 mM NaOH in den Bereich von 4-7 eingestellt) gestartet.

Die Citratsynthase katalysiert die Esterhydrolyse des Thioesters Acetyl-Coenzym A. Die entstandene Sulfhydryl-Gruppe des Coenzym A reagiert mit dem im Reaktionsansatz enthaltenen DTNB unter Freisetzung des gelben Farbstoffs 5-Thio-2-Nitrobenzoesäure (TNB), dessen Extinktionsänderung bei einer Wellenlänge von 412 nm photometrisch über 420 Sekunden (Intervall 30 Sekunden) verfolgt wird [152]. Anschließend kann die Aktivität der Citratsynthase nach dem Lambert-Beer-Gesetz ermittelt werden (s. oben). Hierfür gilt:  $\epsilon_{\lambda}$  für DTNB bei 412 nm = 13,6 mmol · L<sup>-1</sup> · cm<sup>-1</sup> [148].

### 3.2.2. Aktivitätsbestimmung der Succinatdehydrogenase (SDH) als Teil von Komplex II

Die Succinatdehydrogenase (SDH) als membrangebundener Teil von Komplex II katalysiert die Reaktion:



Zusammensetzung des Reaktionsansatzes:

- 50 µL 1 M Kalium-Natriumphosphatpuffer pH 7,4
- 10 µL 10 mM EDTA-Natrium pH 7,4
- 100 µL 1% BSA
- 25 µL 0,1 M NaN<sub>3</sub>
- 20 µL 0,5 M Succinat-Natrium pH 7,4
- Homogenat (1:30 in Chappel-Perry-Puffer)
- Aqua bidest. bis zu einem Gesamtvolumen von 1 mL

### Prinzip:

Als Substrat der SDH dient in diesem Ansatz PMS (Phenazinmethosulfat), das von dem Enzym Ubichinon-vermittelt reduziert wird und seinerseits Elektronen an den Farbstoff DCIP (2,6-Dichlorindophenol) weitergibt [71].

## Methoden

Nach 10-minütiger Inkubation bei 30 °C im Photometer wird die Reaktion durch Zugabe von 7,5 µL 4,65 mM DCIP und 25 µL 65 mM frisch angesetztem PMS (Ansatz: 19,9 mg PMS in 1 mL Aqua bidest. gelöst) gestartet. Durch Verfolgen der Extinktionsänderung von DCIP über 420 Sekunden bei 600 nm (Intervall: 10 Sekunden) wird die Aktivität der SDH bestimmt; es gilt:  $\epsilon_{\lambda}$  für DCIP bei 600 nm = 21 mmol · L<sup>-1</sup> · cm<sup>-1</sup> [70].

### 3.2.3. Aktivitätsbestimmung von Komplex I/III

In der Atmungskette werden – wie bereits dargelegt – Elektronen durch Komplex I, die NADH-Ubichinon-Oxidoreductase, von NADH zunächst auf Ubichinon übertragen. Das reduzierte Ubichinol bzw. Ubihydrochinon überträgt die Elektronen dann mittels Komplex III, der Ubichinol-Cytochrom c-Oxidoreductase, weiter auf Cytochrom c, das dadurch reduziert wird.

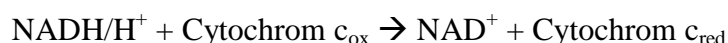
Um nur den Anteil der NADH-Cytochrom c-Reductase ohne den Beitrag durch den bc<sub>1</sub>-Komplex zu bestimmen, erfolgt die Zugabe von Antimycin A [69]. Der Anteil der Antimycin-sensitiven NADH-Cytochrom c-Oxidoreductase an der gesamten gemessenen Aktivität ergibt sich aus der Differenz der Messwerte mit und ohne Zugabe von Antimycin A.

Zusammensetzung des Reaktionsansatzes:

- 50 µL 1 M Kalium-Natriumphosphatpuffer pH 8
- 10 µL 10 mM EDTA-Natrium pH 8
- 25 µL 0,1 M NaN<sub>3</sub>
- 100 µL 1% Ferricytochrom c (i.e. oxidierte Form)
- 5 µL 1 mg/mL Antimycin A bzw. 5 µL Ethanol absolut
- Homogenat (1:30 in Chappel-Perry-Puffer)
- Aqua bidest. bis zu einem Gesamtvolumen von 1 mL

Prinzip:

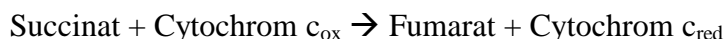
Nach Inkubation dieses Ansatzes bei 30 °C für 10 Minuten im Photometer wird die Reaktion durch Zugabe von 20 µL 10 mM NADH (Stammlösung: 10 mM NADH in 10 mM Tris/HCl pH 8) gestartet. Folgende Reaktion läuft dabei ab:



Die Reduktion von Cytochrom c wird im Photometer bei einer Wellenlänge von 550 nm (Intervall 30 Sekunden) über einen Zeitraum von 420 Sekunden verfolgt und aus der gemessenen Extinktionsänderung pro Zeit die Enzymaktivität wie oben erläutert berechnet. Dabei gilt:  $\epsilon_{\lambda}$  für Cytochrom c bei 550 nm = 21,1 mmol · L<sup>-1</sup> · cm<sup>-1</sup> [164].

### 3.2.4. Aktivitätsbestimmung von Komplex II/III

Die Succinat-Cytochrom c-Reductase (Komplex II/III) katalysiert folgende Reaktion:



Zusammensetzung des Reaktionsansatzes:

- 50  $\mu\text{L}$  1 M Kalium-Natriumphosphatpuffer pH 7,4
- 20  $\mu\text{L}$  10 mM EDTA-Natrium pH 7,4
- 100  $\mu\text{L}$  1% BSA
- 25  $\mu\text{L}$  0,1 M  $\text{NaN}_3$
- 20  $\mu\text{L}$  0,5 M Succinat pH 7,4
- Homogenat (1:30 in Chappel-Perry-Puffer)
- Aqua bidest. bis zu einem Gesamtvolumen von 1 mL

Prinzip:

Nach 10-minütiger Inkubation im Photometer bei 30 °C wird die Reaktion durch Zugabe von 100  $\mu\text{L}$  1% Ferricytochrom c gestartet. Die Messung der Extinktionsänderung und Berechnung der Enzymaktivität erfolgen wie in Abschnitt 3.2.3. beschrieben.

### 3.3. Reagenzien und Chemikalien

Die Auswahl der zu untersuchenden Antidepressiva erfolgte unter Berücksichtigung von Verfügbarkeit und finanziellen Möglichkeiten mit dem Ziel, möglichst alle Antidepressiva-Klassen einzubeziehen. Ausgewählt wurden die TCA Amitriptylin und Nortriptylin, der MAO-I Brofaromin, der SNRI Venlafaxin und die SSRI Fluoxetin, Citalopram und Escitalopram. Von allen Substanzen wurden 5 mM-Stammlösungen in Aqua bidest. unter Zusatz von Ethanol angesetzt.

Brofaromin, Citalopram, Escitalopram und Venlafaxin waren Leihgaben der Herstellerfirmen; alle anderen Reagenzien und Chemikalien wurden von der Firma Sigma bezogen.

### 3.4. Praktisches Vorgehen

Bei der Untersuchung der in-vitro-Effekte der ausgewählten Antidepressiva auf die mitochondriale Atmungskette im menschlichen Hippocampus und Präfrontalcortex wurde in zwei Schritten vorgegangen:

#### 1. Screening-Test:

Die Wirkung der Antidepressiva wurde bei einer relativ hohen Konzentration von 1 mM getestet. Nur die Testsubstanzen, die eine Veränderung der Ausgangsaktivität des



## Methoden

jeweiligen Atmungskettenkomplexes um mindestens 20% bewirkten, wurden für weitere Untersuchungen verwendet.

### 2. Prüfung der Konzentrationsabhängigkeit:

Die Effekte der Antidepressiva wurden bei neun Konzentrationsabstufungen zwischen 25  $\mu\text{M}$  und 3 mM untersucht und gegebenenfalls der  $\text{IC}_{50}$ -Wert bestimmt. Hierzu wurden die Ansätze ohne (Kontrolle) und mit Zusatz des jeweiligen Antidepressivums für zehn Minuten bei 30°C im Photometer vorinkubiert. Anschließend wurde die Reaktion wie unter 3.2. beschrieben gestartet und ausgewertet. Die Angabe des Effektes des jeweiligen Antidepressivums erfolgte als relative Enzymaktivität in Prozent der Ausgangsaktivität ohne Zusatz der Testsubstanz (Kontrolle). Alle Messungen erfolgten als Doppelbestimmung in vier bis acht separaten Experimenten.

### 3.5. Proteinbestimmung

Jeweils 20  $\mu\text{L}$  des Homogenats wurden im Verhältnis 1:10 mit 180  $\mu\text{L}$  Chappel-Perry-Puffer verdünnt. Anschließend wurde der Proteingehalt der Proben mit einem Micro BCA™ Protein Assay Reagent Kit der Firma PIERCE bestimmt. Die hierbei verwendete Methode beruht auf der Reduktion von  $\text{Cu}^{2+}$  zu  $\text{Cu}^{1+}$  durch Proteinseitenketten in alkalischem Milieu mit anschließendem colorimetrischem Nachweis des entstandenen  $\text{Cu}^{1+}$  durch Komplexbildung mit dem Farbstoff BCA (Bicinchoninsäure). Die Extinktion dieses Farbstoffkomplexes kann spektrophotometrisch bei 562 nm gemessen werden und ist direkt proportional zur Proteinkonzentration in der jeweiligen Probe [128]. BSA dient als Standard zur Erstellung einer Eichkurve von Extinktion und zugehöriger Proteinkonzentration, woraus dann die Proteinkonzentration der zu analysierenden Proben extrapoliert werden kann.

Die Angabe der spezifischen Aktivität der Atmungskettenenzyme erfolgte in Bezug zum jeweiligen Proteingehalt der Probe in  $\text{nmol} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{mg Protein}^{-1}$ .

### 3.6. Statistische Auswertung

Die zur Erstellung der Tabellen und Graphiken verwendeten Werte sind angegeben als Mittelwerte  $\pm$  SD (Standardabweichung) der in vier bis acht separaten Experimenten ermittelten spezifischen und auf die Citratsynthese-Aktivität normierten Enzymaktivitäten. Die statistische Analyse der Ergebnisse erfolgte mit Hilfe des Programms PASW Statistics 18. Mittels des Shapiro-Wilk-Tests wurden die erhobenen Daten zunächst auf Normalverteilung geprüft. Da eine Normalverteilung vorlag, wurden statistische Signifikanzen im Vergleich der Effekte

## Methoden

einzelner Antidepressiva untereinander sowie gegenüber der Kontrolle mittels des t-Tests für verbundene Stichproben ermittelt. Eine Irrtumswahrscheinlichkeit von  $p < 0,05$  wurde als signifikant zugrunde gelegt;  $p < 0,01$  galt als sehr signifikant,  $p < 0,001$  als höchst signifikant. Da es sich bei der durchgeführten Analyse um eine explorative Statistik handelte, wurde bei Mehrfachvergleichen auf eine Korrektur verzichtet.

Die Effekte der Antidepressiva auf die jeweiligen Atmungskettenkomplexe wurden als relative Aktivitäten in Prozent der Ausgangsaktivität graphisch dargestellt. Die Erstellung der Graphiken erfolgte mit Hilfe der Programme Sigma Plot 2001 und PASW Statistics 18. Die Ermittlung der  $IC_{50}$ -Werte erfolgte mittels Kurvenanpassung und nichtlinearer Regression mit Hilfe des Programms PASW Statistics 18.

## 4. Ergebnisse

### 4.1. Aktivitätsbestimmung der Atmungskettenenzyme in Präfrontalcortex und Hippocampus

Die spezifische Aktivität der Citratsynthase (CS) war im Durchschnitt im Präfrontalcortex um 14,1% höher als im Hippocampus; dieser Unterschied erreichte jedoch nicht das Signifikanzniveau ( $p = 0,11$ ).

Der Vergleich der Aktivitäten von SDH, Komplex I/III und Komplex II/III in Hippocampus und Präfrontalcortex erbrachte weder für die spezifischen noch für die CS-normierten Enzymaktivitäten statistisch signifikante Unterschiede zwischen diesen beiden Hirnregionen (Tab. 3).

<b>Tab. 3: Vergleich der spezifischen und CS-normierten Enzymaktivitäten in den untersuchten Hirnregionen</b>				
		n	Spezifische Aktivität [nmol/min·mg EW] (MW ± SD)	CS-normierte Aktivität (MW ± SD)
<b>CS</b>	Präfrontalcortex	45	39,42 ± 12,58	
	Hippocampus	44	34,55 ± 10,11	
<b>SDH</b>	Präfrontalcortex	7	15,29 ± 3,79	0,44 ± 0,16
	Hippocampus	8	15,27 ± 7,71	0,39 ± 0,13
<b>Komplex II/III</b>	Präfrontalcortex	24	15,64 ± 9,15	0,41 ± 0,21
	Hippocampus	21	14,49 ± 4,28	0,44 ± 0,06
<b>Komplex I/III</b>	Präfrontalcortex	24	23,81 ± 8,56	0,59 ± 0,22
	Hippocampus	28	20,35 ± 9,25	0,62 ± 0,26

### 4.2. Einfluss der ausgewählten Antidepressiva auf die Aktivität der Atmungskettenenzyme

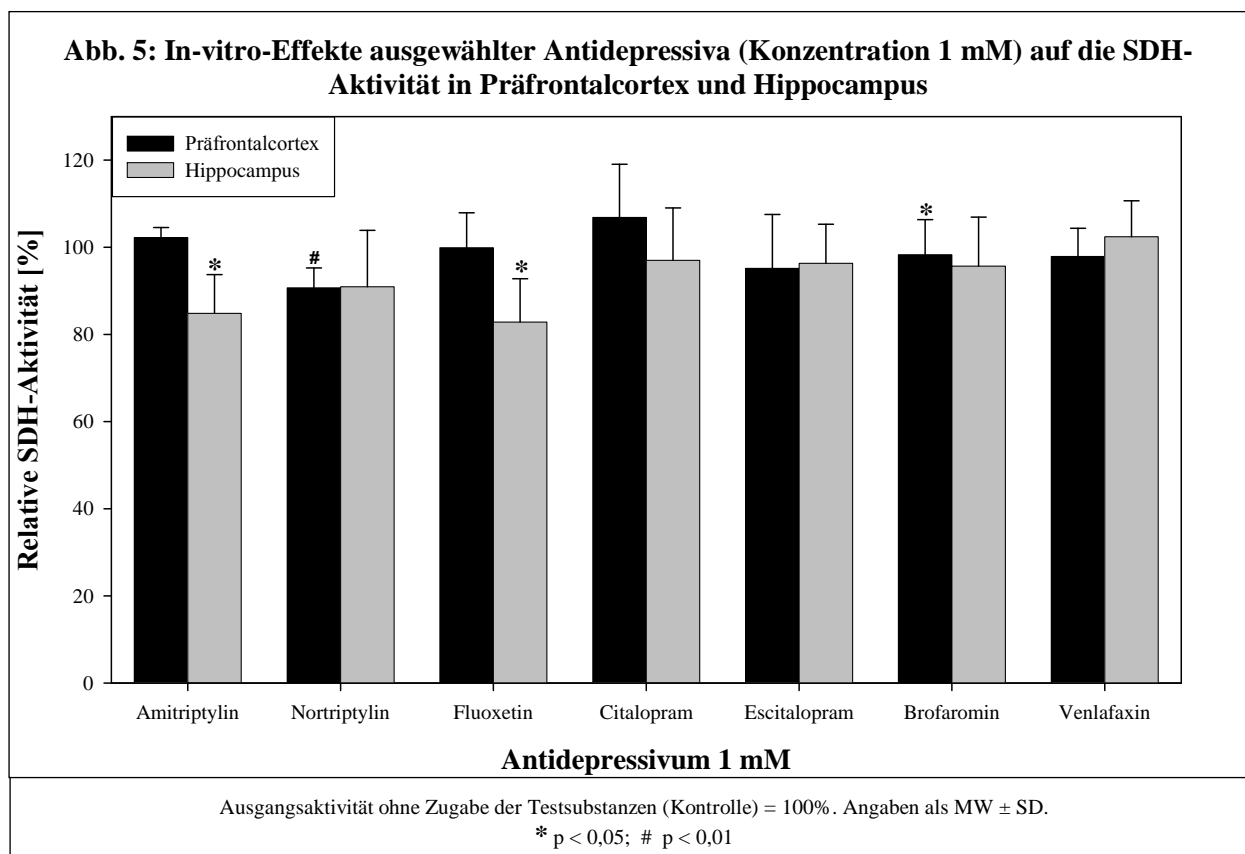
#### 4.2.1. Succinatdehydrogenase (SDH)

Wie Abb. 5 zeigt, wurden bei einer Konzentration von 1 mM nur sehr schwache Effekte der untersuchten Antidepressiva auf die SDH-Aktivität in Präfrontalcortex und Hippocampus beobachtet, sodass keine weiteren Konzentrationsabstufungen getestet wurden.

Eine leichte (< 20%), statistisch signifikante Hemmung der Enzymaktivität erzielten im Hippocampus nur Fluoxetin und Amitriptylin; im Präfrontalcortex zeigten bei der getesteten Konzentration von 1 mM nur Nortriptylin und Brofaromin signifikante Wirkungen (< 10% Hemmung der SDH-Aktivität).

## Ergebnisse

Die hemmenden Effekte schienen im Hippocampus insgesamt etwas deutlicher als im Präfrontalcortex ausgeprägt zu sein; diese regionalen Unterschiede waren jedoch statistisch nicht signifikant ( $p = 0,06$ ).



### 4.2.2. Komplex I/III

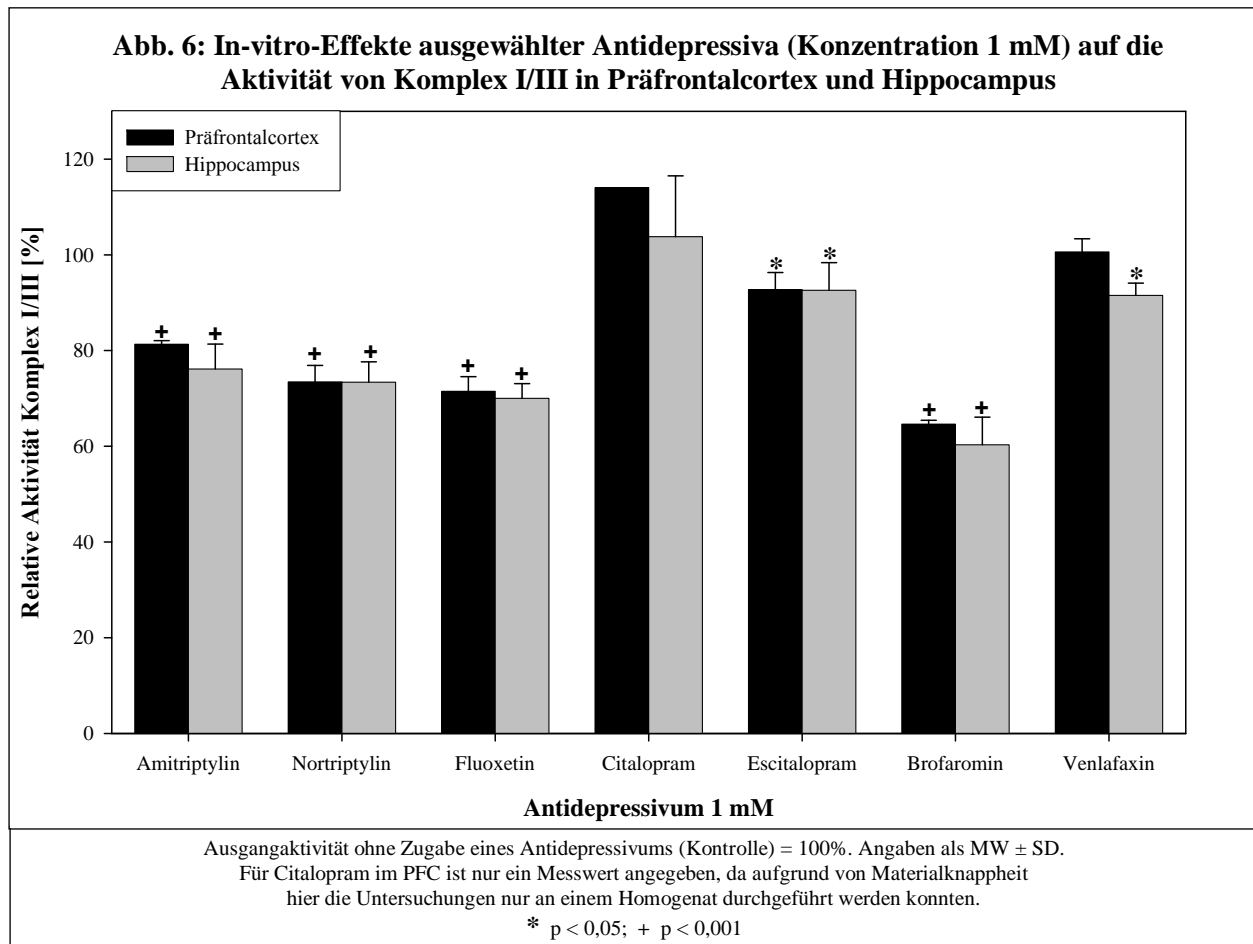
#### 4.2.2.1. Präfrontalcortex

Mit Ausnahme von Venlafaxin und Citalopram bewirkten alle untersuchten Antidepressiva bei der Testkonzentration von 1 mM eine signifikante Hemmung des Komplexes I/III im Präfrontalcortex ( $p$ -Werte zwischen 0,001 und 0,027). Die deutlichste Hemmung der Enzymaktivität erzielten Brofaromin ( $35,4 \pm 0,8\%$ ), Fluoxetin ( $28,5 \pm 3,1\%$ ) und Nortriptylin ( $26,5 \pm 3,4\%$ ). Bei Amitriptylin wurde die 20%-Marke zwar knapp verfehlt ( $18,7\% \pm 0,7\%$ ); da dieses Ergebnis jedoch nahe an der festgelegten Grenze lag und die Substanz zudem in ausreichenden Mengen verfügbar war, wurde auch hier eine Testung weiterer Konzentrationsabstufungen durchgeführt (s. Abb. 6). Die Verläufe der Dosis-Wirkungs-Kurven sind in Abb. 7 dargestellt.

Die stärkste inhibitorische Wirkung auf die Enzymaktivität von Komplex I/III bei der höchsten getesteten Konzentration (3 mM) bewirkte Nortriptylin ( $53,1 \pm 3,4\%$  Hemmung), gefolgt von

## Ergebnisse

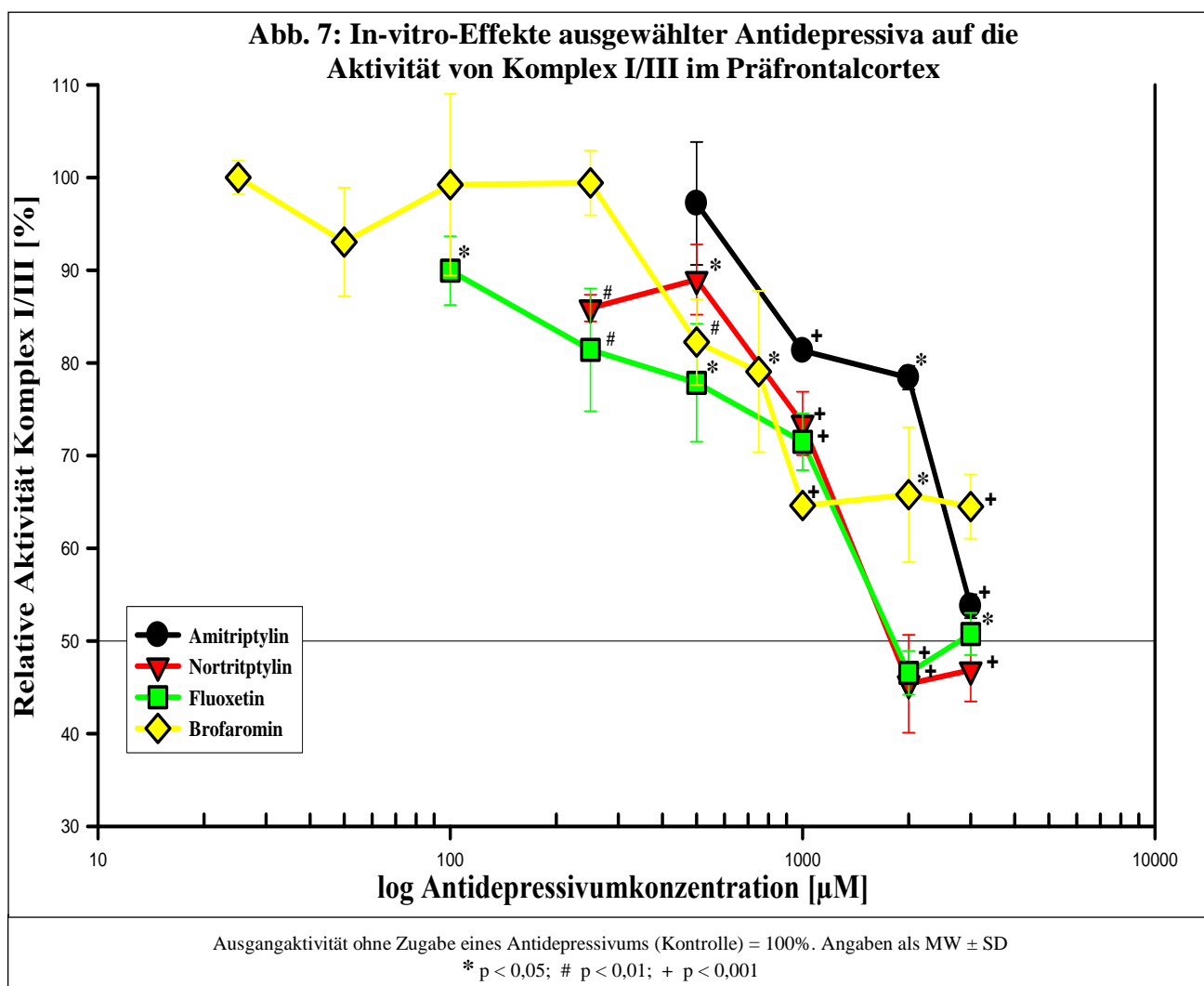
Fluoxetin ( $49,2 \pm 2,3\%$ ) und Amitriptylin ( $46,3 \pm 1,3\%$ ). Für Brofaromin hingegen war die maximal erreichbare Hemmung von rund 35% bereits bei einer Konzentration von 1 mM zu beobachten (Abb. 7). Somit konnten  $IC_{50}$ -Werte nur für Nortriptylin und Fluoxetin ermittelt werden (Tab. 4).



**Tab. 4: Zusammenfassende Übersicht der  $IC_{50}$ -Werte für Komplex I/III und Komplex II/III**

Antidepressivum	$IC_{50}$ -Werte für Komplex I/III		$IC_{50}$ -Werte für Komplex II/III	
	Präfrontalcortex	Hippocampus	Präfrontalcortex	Hippocampus
Amitriptylin	nicht erreicht	nicht erreicht	1,21 mM	0,81 mM
Nortriptylin	1,8 mM	2,69 mM	1,01 mM	1,76 mM
Fluoxetin	1,78 mM	2,96 mM	1,13 mM	0,59 mM
Citalopram	nicht erreicht	nicht erreicht	nicht erreicht	nicht erreicht
Escitalopram	nicht erreicht	nicht erreicht	1,59 mM	nicht erreicht
Brofaromin	nicht erreicht	nicht erreicht	0,74 mM	0,85 mM
Venlafaxin	nicht erreicht	nicht erreicht	nicht erreicht	nicht erreicht

Die Angabe „nicht erreicht“ bedeutet, dass die mit der höchsten eingesetzten Testkonzentration erzielte Hemmung unter 50% relativ zur Ausgangsaktivität betrug. In solchen Fällen sind entweder deutlich höhere Konzentrationen als 3 mM erforderlich, um eine 50%ige Hemmung zu erzielen, oder der maximal mögliche hemmende Effekt der jeweiligen Substanz beträgt unter 50%.



#### 4.2.2.2. Hippocampus

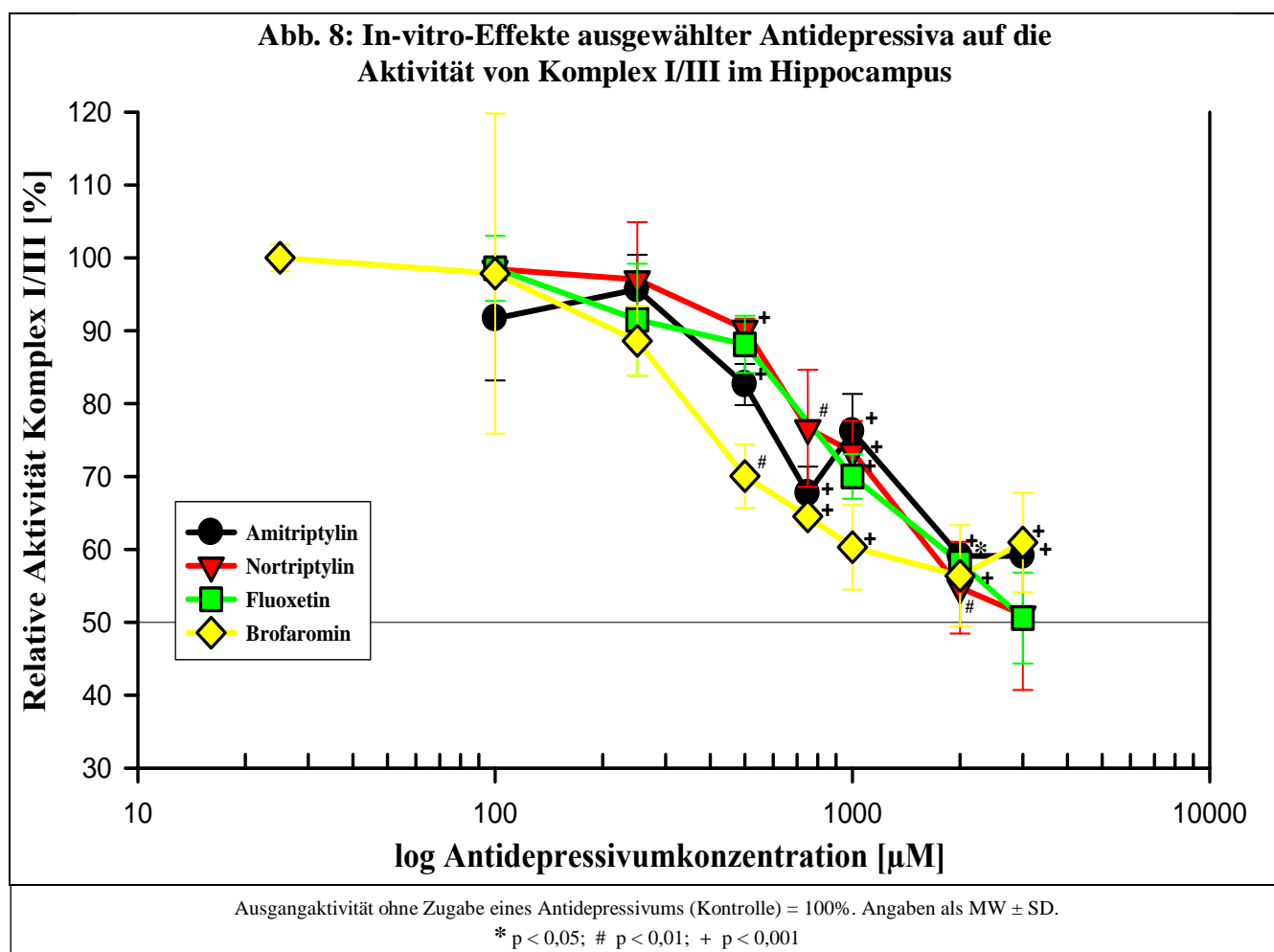
Eine statistisch signifikante Enzymhemmung bei 1 mM Konzentration im Hippocampus wurde für alle Antidepressiva mit Ausnahme von Citalopram ermittelt. Dabei bewirkten Brofaromin ( $39,7 \pm 5,8\%$  Hemmung), Fluoxetin ( $30 \pm 3,1\%$ ), Nortriptylin ( $26,6 \pm 4,2\%$ ) und Amitriptylin ( $23,9 \pm 5,2\%$ ) eine deutlich stärkere Hemmung der Enzymaktivität gegenüber Venlafaxin ( $8,5 \pm 2,6\%$ ) und Escitalopram ( $7,4 \pm 5,8\%$ ) (s. Abb. 6); diese Unterschiede waren statistisch signifikant (p-Werte zwischen 0,014 und 0,043).

Auch im hippocampalen Gewebe bewirkten bei der höchsten eingesetzten Testkonzentration Fluoxetin und Nortriptylin die stärkste Hemmung der enzymatischen Aktivität von Komplex I/III mit knapp 50% (s. Abb. 8); für beide Substanzen wurden  $IC_{50}$ -Werte ermittelt (s. Tab. 4).

4.2.2.3. Vergleich der untersuchten Hirnregionen

Abb. 6 stellt die Effekte der Testsubstanzen bei 1 mM Konzentration in beiden untersuchten Hirnregionen gegenüber. Statistisch signifikante Unterschiede hinsichtlich der Wirkungen der getesteten Antidepressiva in den beiden Hirnregionen fanden sich nur für Amitriptylin, das im hippocampalen Gewebe etwas stärker hemmend auf die Komplex I/III-Aktivität wirkte als im Präfrontalcortex ( $p = 0,01$ ).

Die errechneten  $IC_{50}$ -Werte für Nortriptylin und Fluoxetin zeigen, dass im Hippocampus gegenüber dem Präfrontalcortex eine um rund 50-66% höhere Konzentration dieser beiden Substanzen erforderlich war, um eine 50%ige Hemmung der Komplex I/III-Aktivität zu erzielen (Tab. 4).



### 4.2.3. Komplex II/III

#### 4.2.3.1. Präfrontalcortex

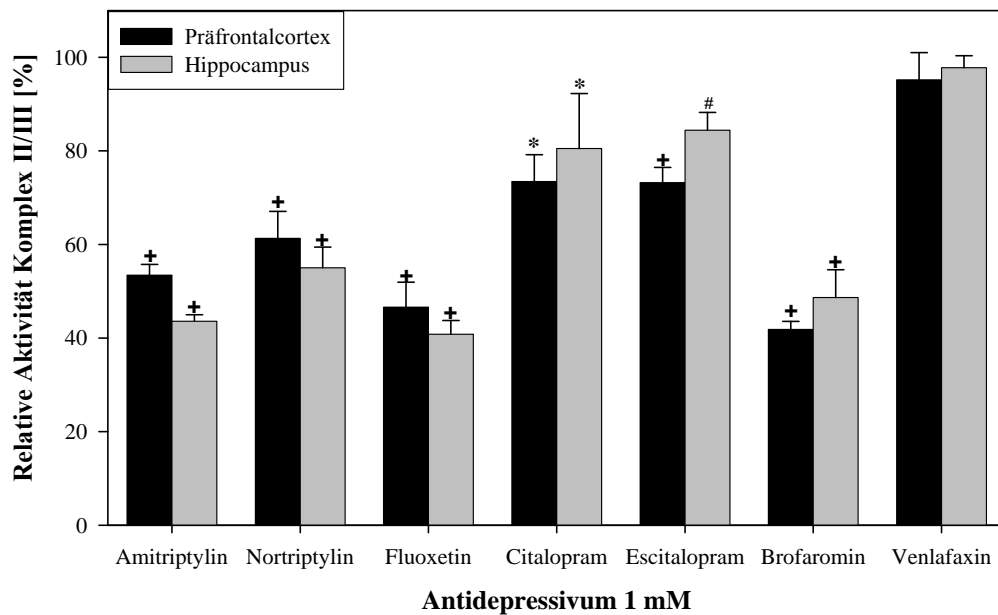
Mit Ausnahme von Venlafaxin zeigte sich für alle getesteten Antidepressiva bei einer Konzentration von 1 mM eine statistisch signifikante Hemmung der Enzymaktivität von Komplex II/III in Homogenaten des Präfrontalcortex (p-Werte zwischen 0,001 und 0,015). Im Vergleich der Antidepressiva untereinander ergab sich folgendes Bild: die stärkste Hemmung wurde durch Brofaromin erzielt ( $58,2 \pm 1,7\%$ ), gefolgt von Fluoxetin ( $53,4 \pm 5,4\%$ ) und Amitriptylin ( $46,6 \pm 2,3\%$ ) (s. Abb. 9); diese Unterschiede waren statistisch signifikant (p-Werte zwischen 0,041 und 0,043). Da Venlafaxin in ausreichendem Maße verfügbar war, wurde auch diese Substanz trotz fehlendem Effekt bei 1 mM Konzentration in die weiteren Untersuchungen einbezogen.

Für Fluoxetin, Amitriptylin, Escitalopram und Nortriptylin zeigte sich konzentrationsabhängig eine deutliche Zunahme der inhibitorischen Effekte (maximal erreichte Hemmung bei 3 mM: Fluoxetin:  $81,5 \pm 6,4\%$ ; Amitriptylin:  $77 \pm 2\%$ ; Escitalopram:  $74 \pm 3,5\%$ ; Nortriptylin:  $63,8 \pm 6,4\%$ ), während für Brofaromin die maximal erzielbare Hemmung der Komplex II/III-Aktivität von  $58,2 \pm 1,8\%$  bereits bei einer Konzentration von 1 mM beobachtet wurde. Die Dosis-Wirkungs-Kurven der strukturell unterschiedlichen Substanzen Nortriptylin und Brofaromin zeigten bei Konzentrationen  $\leq 1$  mM einen ähnlichen Verlauf. Amitriptylin bewirkte in Konzentrationen von 50 und 100  $\mu\text{M}$  eine leichte, statistisch signifikante Steigerung der Enzymaktivität, zeigte jedoch bei höheren Konzentrationsstufen deutlich hemmende Wirkungen ( $\text{IC}_{50} = 1,2$  mM, s. Tab. 4). Venlafaxin erzielte auch bei der höchsten Testkonzentration von 3 mM kaum mehr als eine 25%ige Abnahme der Enzymaktivität.

Zur besseren Übersichtlichkeit sind die Effekte der älteren Antidepressiva (TCA und MAO-I) und die der neueren Substanzen (SSRI und SNRI) in zwei getrennten Diagrammen dargestellt (Abb. 10). Für fünf Substanzen konnten  $\text{IC}_{50}$ -Werte ermittelt werden (Tab. 4).



**Abb. 9: In-vitro-Effekte ausgewählter Antidepressiva (Konzentration 1 mM) auf die Aktivität von Komplex II/III in Präfrontalcortex und Hippocampus**



Ausgangaktivität ohne Zugabe eines Antidepressivums (Kontrolle) = 100%. Angaben als MW ± SD.

\*  $p < 0,05$ ; #  $p < 0,01$ ; +  $p < 0,001$

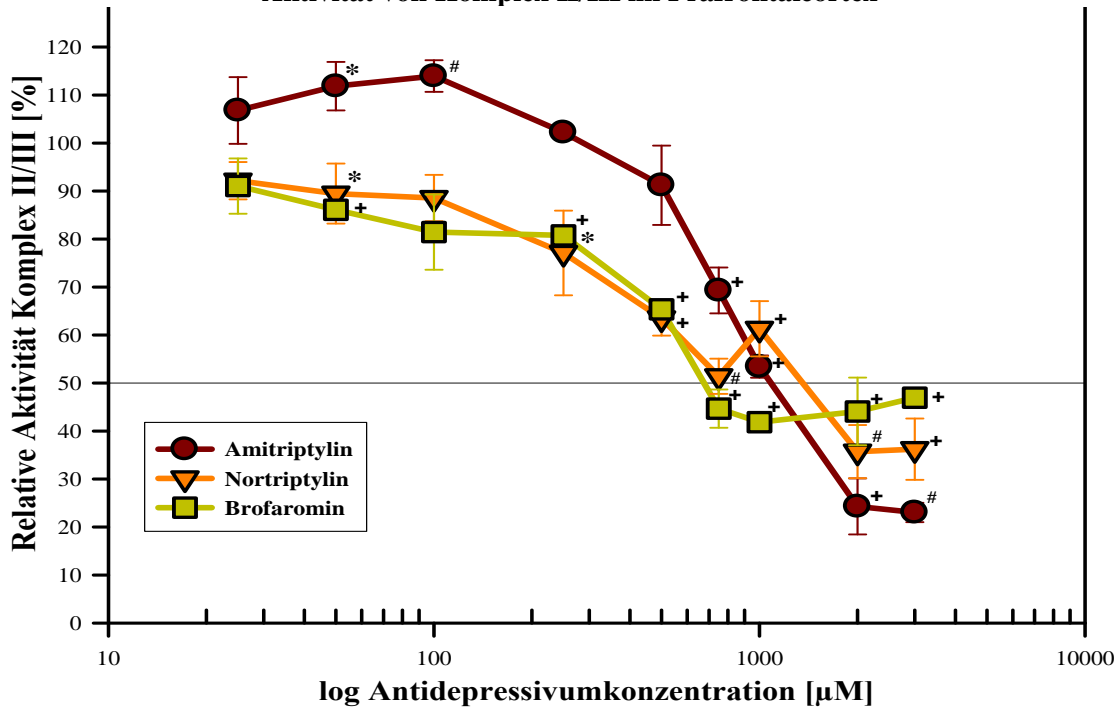
#### 4.2.3.2. Hippocampus

Alle Testsubstanzen mit Ausnahme von Venlafaxin bewirkten bei 1 mM Konzentration eine statistisch signifikante Hemmung der Komplex II/III-Aktivität (p-Werte zwischen 0,001 und 0,045). Der Vergleich der inhibitorischen Wirkungen der einzelnen Antidepressiva ergab folgende Rangordnung: Fluoxetin ( $59,17 \pm 2,9\%$  Hemmung); Amitriptylin ( $56,4 \pm 1,4\%$ ); Brofaromin ( $51,33 \pm 5,9\%$ ); Nortriptylin ( $44,98 \pm 4,4\%$ ). Weniger als 20% Hemmung der Enzymaktivität bewirkten Citalopram, Escitalopram und Venlafaxin (Abb. 9).

Bei der höchsten getesteten Konzentrationsstufe von 3 mM wurde die deutlichste Hemmung der Komplex II/III-Aktivität durch Fluoxetin erzielt (knapp 60%ige Hemmung); mit annähernd gleicher maximaler inhibitorischer Potenz (etwa 50% Hemmung) folgten Brofaromin, Nortriptylin und Amitriptylin. Die Dosis-Wirkungs-Kurven zeigen, dass die maximal erzielbare Hemmung für alle Substanzen bereits bei 1 mM Konzentration annähernd erreicht war (s. Abb. 11).

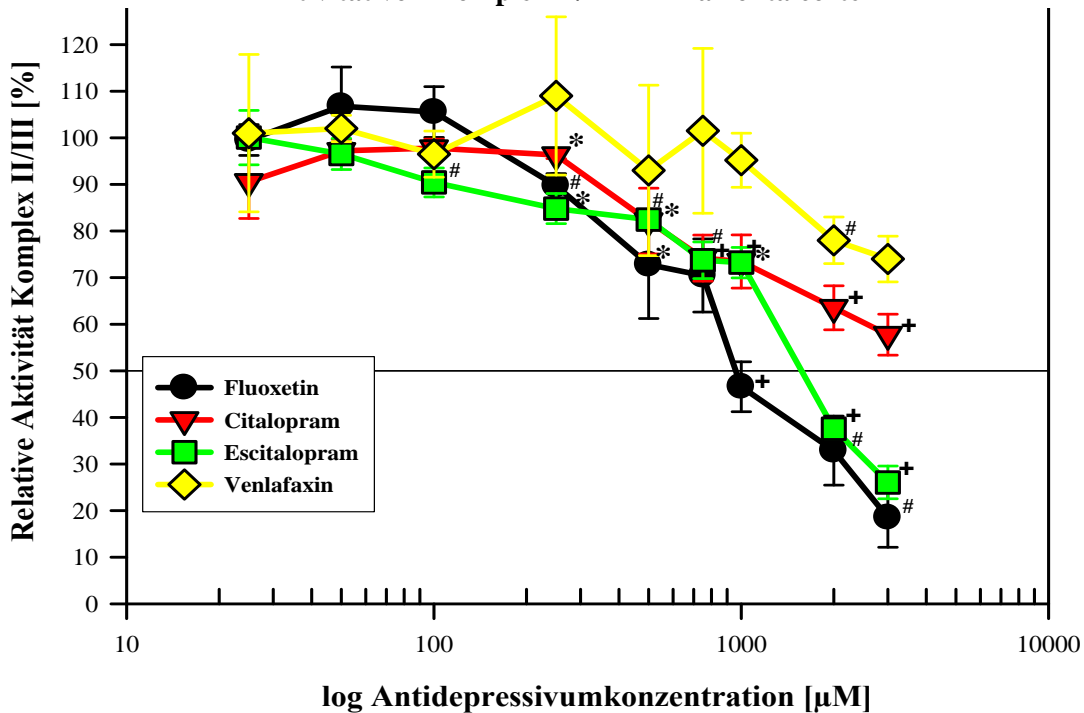
Ergebnisse

**Abb. 10a: In-vitro-Effekte ausgewählter Antidepressiva der ersten Generation auf die Aktivität von Komplex II/III im Präfrontalcortex**



Ausgangaktivität ohne Zugabe eines Antidepressivums (Kontrolle) = 100%. Angaben als MW ± SD.  
 \* p < 0,05; # p < 0,01; + p < 0,001

**Abb. 10b: In-vitro-Effekte ausgewählter Antidepressiva der zweiten Generation auf die Aktivität von Komplex II/III im Präfrontalcortex**

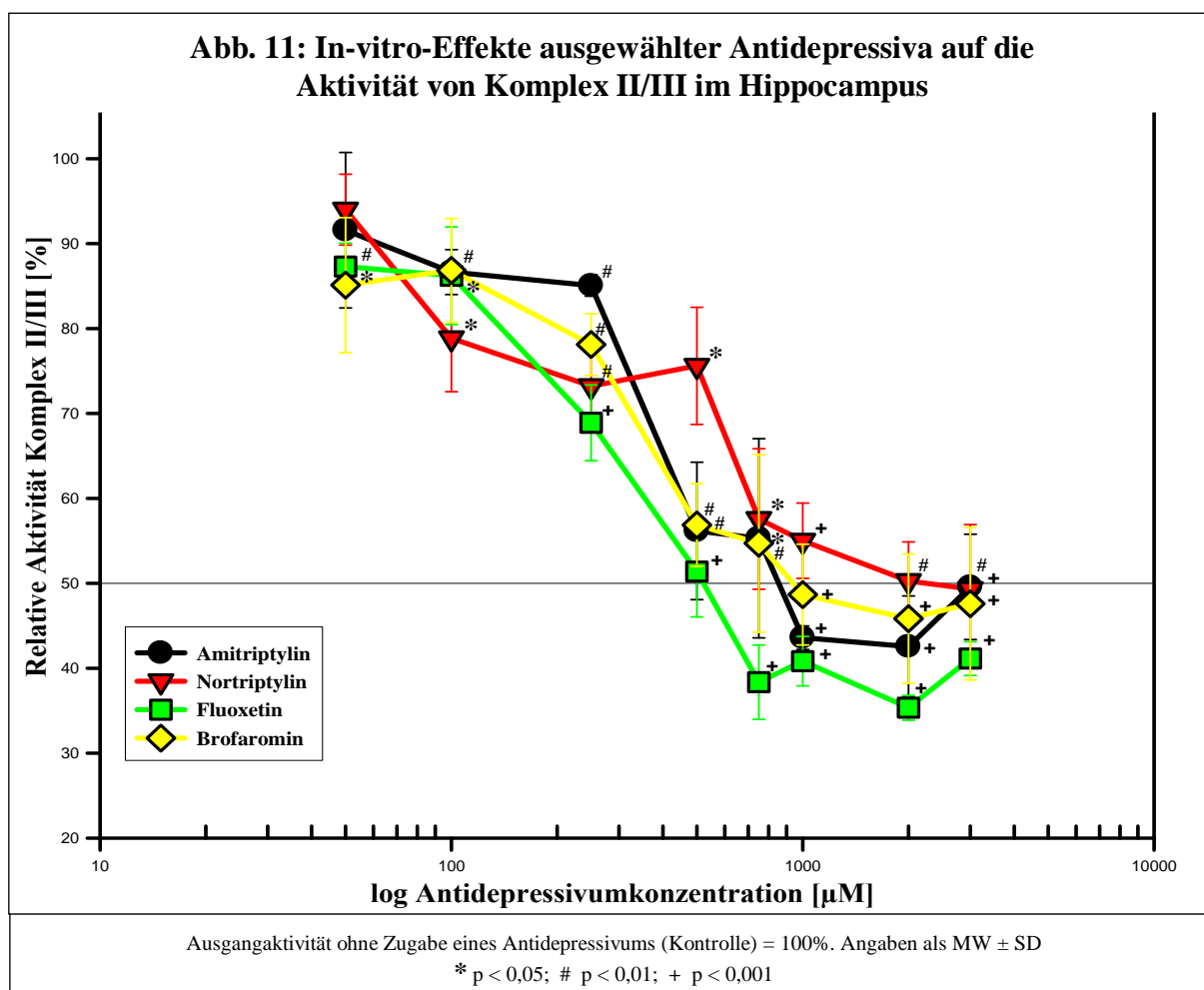


Ausgangaktivität ohne Zugabe eines Antidepressivums (Kontrolle) = 100%. Angaben als MW ± SD.  
 \* p < 0,05; # p < 0,01; + p < 0,001

#### 4.2.3.3. Vergleich der untersuchten Hirnregionen

Bei einer Konzentration von 1 mM bewirkten Fluoxetin, Amitriptylin und Nortriptylin eine deutlichere Hemmung der Komplex II/III-Aktivität in hippocampalen Homogenaten; dahingegen zeigten Brofaromin, Citalopram und Escitalopram hemmende Effekte etwas stärker im Präfrontalcortex als im Hippocampus (Abb. 9). Signifikanzniveau erreichten diese Unterschiede jedoch nur für Fluoxetin ( $p = 0,043$ ).

Die maximal erreichbare Hemmung der Enzymaktivität bei der höchsten eingesetzten Konzentration war allerdings insgesamt für alle Testsubstanzen deutlich größer an Homogenaten des Präfrontalcortex (s. Abb. 10, 11).



## **5. Diskussion**

Ausgehend von einigen wenigen Ergebnissen in der Literatur, die Hinweise auf eine mögliche Beeinflussung der mitochondrialen Atmungskette durch antidepressive Substanzen geben, verfolgte die vorliegende Untersuchung die Zielsetzung, die Effekte strukturell unterschiedlicher Antidepressiva auf die Aktivität der Atmungskettenkomplexe in menschlichen Hirnproben zu vergleichen.

### **5.1. Methodische Aspekte**

#### **5.1.1. Auswahl der zu untersuchenden Hirnregionen**

Für die Durchführung der beschriebenen Experimente wurden als zu untersuchende Hirnregionen der Hippocampus und der Präfrontalcortex ausgewählt. Diese Auswahl erschien aus mehrerlei Hinsicht sinnvoll: Zum einen unterscheiden sich diese beiden Regionen anatomisch-histologisch, denn der Hippocampus als Teil des Archi- und Allocortex ist entwicklungsgeschichtlich älter und feingeweblich anders aufgebaut als der zum Neo- und Isocortex gezählte Präfrontalcortex [160]. Es erschien also durchaus möglich, dass diese beiden strukturell verschiedenen Hirnregionen sich auch hinsichtlich ihrer Empfindlichkeit gegenüber dem Einfluss der Testsubstanzen auf die Atmungskette unterscheiden würden. Zum anderen spielten vor allem funktionelle Gesichtspunkte bei der Auswahl eine Rolle: Der Hippocampus ist als Teil des Limbischen Systems in vielfältige Funktionen im Zusammenhang mit Lernen und Gedächtnis, Emotion, Verhalten und vegetativen Aspekten involviert. Der Präfrontalcortex steht – neben seiner Funktion für das Kurzzeitgedächtnis – im Dienste höherer kognitiver sowie psychischer und sozialer Funktionen des Menschen; er wird für die individuelle Persönlichkeitsstruktur verantwortlich gemacht [160]. Für beide Gehirnteile wird eine enge Implikation in die Pathophysiologie der Depression sowie in die Wirkungen von Psychopharmaka angenommen [87] (s. Abschnitt 2.1.1.).

Eine ähnliche Auswahl der zu analysierenden Hirnregionen wurde auch in einer Arbeit von Maurer et al. getroffen [105], wobei hier die Aktivitäten der Atmungskettenenzyme in Homogenaten aus Hirngewebe schizophrener Patienten und gesunder Kontrollen verglichen wurden.

Eine Limitation der vorliegenden Arbeit stellt die Tatsache dar, dass das untersuchte Hirngewebe von einem einzigen Individuum ohne neurologische und psychiatrische Erkrankungen stammte, da kein anderes Material verfügbar war. Die Generalisierbarkeit der gefundenen Ergebnisse ist also mit Einschränkungen behaftet.

### 5.1.2. Auswahl des Untersuchungsverfahrens

Untersuchungen zur Aktivität der Atmungskettenenzyme erfolgen häufig an Mitochondrien aus Rattenhirn [14, 26, 39, 133, 156], Mäusehirn [12] oder Rinderherz [46] und viel seltener an menschlichen Zellen wie Fibroblasten [36], mononukleären Zellen [29] oder Thrombozyten [26]. Nachdem der experimentelle Teil der vorliegenden Arbeit abgeschlossen war, erschien in der Literatur eine Publikation, in der die Wirkungen von Psychopharmaka an Schweinehirn-mitochondrien untersucht wurden, da diese gegenüber Mitochondrien aus Nagetierhirnen eine größere Ähnlichkeit mit den menschlichen haben sollen [73]. Studien zur Beeinflussung der Atmungskette durch Neuroleptika sind an menschlichem Hirngewebe dahingegen bisher kaum durchgeführt worden [106]; für Antidepressiva finden sich diesbezüglich bislang keine Publikationen.

Für Untersuchungen zur Enzymaktivität der Atmungskettenkomplexe werden häufig polarographische Methoden eingesetzt [14, 26, 29, 111]. Polarographische Untersuchungen bieten den Vorteil, dass sie über die Funktionsfähigkeit der oxidativen Phosphorylierung hinaus zusätzliche Informationen liefern können beispielsweise über den Entkopplungsgrad der Atmungskette, mögliche Verluste an Cytochrom c sowie die Aktivität einzelner Substrat-Carrier. Dafür sind diese Untersuchungen allerdings nur an frischen Gewebeproben möglich und setzen die Intaktheit der Mitochondrien voraus [32].

Da die vorliegende Studie jedoch an menschlichem Hirngewebe durchgeführt wurde, mussten gefrorene Proben verwendet werden, für deren Analyse spektrophotometrische Verfahren als sehr sensitiv gelten; Voraussetzung hierbei ist, dass die innere Mitochondrienmembran aufgebrochen sein muss, um den Substraten den Zugang zu den Atmungskettenenzymen zu gewährleisten [13].

Eine Limitation der vorliegenden Arbeit ist, dass von den Komplexen der Atmungskette nur Komplex I/III, Komplex II/III sowie die SDH untersucht wurden. Eine ursprünglich geplante Einbeziehung auch von Komplex IV war aufgrund finanzieller Einschränkungen und technischer Schwierigkeiten nicht möglich. Dennoch erfährt die Aussagekraft der vorliegenden Ergebnisse – da die Effekte der Testsubstanzen für jeden Komplex der Atmungskette einzeln untersucht werden müssen – durch den Verzicht auf vollständige Untersuchung aller Komplexe per se keine Einschränkung.

### 5.1.3. Auswahl der Testsubstanzen und Testkonzentrationen

Die Auswahl der zu untersuchenden Antidepressiva wurde auf der Basis von Verfügbarkeit und finanziellen Gesichtspunkten so getroffen, dass alle Antidepressiva-Klassen miteinbezogen wurden, wobei die Testsubstanzen nach Möglichkeit klinische Relevanz haben sollten. Für die beiden TCA Amitriptylin und Nortriptylin sowie den SNRI Venlafaxin trifft dies uneingeschränkt zu. Besonders interessant erschien hier die Gegenüberstellung von Substanzen mit unterschiedlichem klinischen Nebenwirkungsprofil: Zum einen sollte Nortriptylin untersucht werden als ein Antidepressivum mit besonders guter Wirksamkeit und Verträglichkeit in Langzeitstudien; zum anderen wurde demgegenüber Fluoxetin ausgewählt, der älteste und am häufigsten verordnete SSRI, der in der Literatur besonders oft mit dem Auftreten von Bewegungsstörungen in Verbindung gebracht wird (s. Tab. 2). Hierbei ist insbesondere erwähnenswert, dass Fluoxetin als ein Wirkstoff erster Wahl in der Behandlung depressiver Störungen bei Kindern und Jugendlichen gilt [96]. Bei den SSRI fiel die Wahl zudem auf Citalopram und Escitalopram; besonders reizvoll erschien hier die Fragestellung, ob Escitalopram als die selektivere Substanz mit dem besseren Nebenwirkungsprofil und klinischen Effekt auch weniger Einfluss auf die Atmungskette ausüben würde. Als MAO-I war nur Brofaromin verfügbar, eine Substanz, die nie zugelassen worden ist. Dennoch sind auch diese Ergebnisse von praktischer Relevanz, da Moclobemid, ein klinisch noch verwendeter MAO-I, den gleichen Wirkmechanismus bei geringerer MAO-A-Selektivität aufweist [165]. Der für Brofaromin zusätzlich nachgewiesene hemmende Effekt auf die Serotonin-Wiederaufnahme machte die Untersuchung dieser Substanz zusätzlich interessant [86].

Eine Einschränkung der Arbeit besteht dabei darin, dass Fluoxetin und vor allem Citalopram nur in begrenzten Mengen verfügbar waren. Bei Citalopram war die Verfügbarkeit derartig eingeschränkt, dass bereits für die Screening-Untersuchung für Komplex I/III an präfrontalen Homogenaten an Stelle der bei allen anderen Substanzen durchgeführten vier bis acht separaten Experimente nur ein einzelner Versuch bei 1 mM Konzentration in Doppelbestimmung möglich war. Andererseits war der hierbei beobachtete Effekt so gering, dass auf eine Testung der Konzentrationsabhängigkeit im geplanten Bereich von 25  $\mu$ M bis 3 mM verzichtet werden konnte.

Bei der Auswahl der zu testenden Konzentrationsstufen diente die bereits zitierte Arbeit von Maurer et al. als Orientierung [106], in der die Wirkungen ausgewählter Neuroleptika auf die mitochondriale Atmungskette in Konzentrationsabstufungen zwischen 0 und 2,5 mM untersucht wurden. Da die in-vitro-Untersuchungen in der vorliegenden Studie unter Optimalbedingungen

für die jeweiligen Enzymkomplexe durchgeführt wurden (Substratsättigung, Temperatur- und pH-Optimum), waren erwartungsgemäß relativ hohe Konzentrationen der Antidepressiva erforderlich, um signifikante Effekte auf die Enzymaktivität zu erzielen. Doch selbst wenn im klinischen Alltag Konzentrationen im Bereich von 1 mM und höher sicherlich niemals erreicht werden können, so bleibt dennoch zu berücksichtigen, dass es sich bei antidepressiven Behandlungen häufig um eine langjährige Dauermedikation mit lipophilen Substanzen handelt, die zur Akkumulation in Mitochondrien neigen [47, 118, 169]. Wie hoch die Konzentration *in vivo* nach mehrjähriger Antidepressiva-Einnahme tatsächlich ist, bleibt zu klären. Nichtsdestotrotz hat aber ein allgemeines Verständnis der Effekte antidepressiver Substanzen auch in hohen Konzentrationen erhebliche klinische Relevanz, nicht zuletzt im Hinblick auf nicht selten vorkommende Überdosierungen, die teilweise in suizidaler Absicht bewusst herbeigeführt werden.

### **5.2. Aktivität der Atmungskettenenzyme**

Eine direkte Gegenüberstellung der ermittelten Enzymaktivitäten in beiden Hirnregionen mit den Ergebnissen anderer Arbeiten (s. Tab. 5-8) verdeutlicht, dass die Messwerte der vorliegenden Arbeit sich insgesamt nicht wesentlich von denen anderer Untersuchungen unterscheiden. Hierbei ist jedoch zu berücksichtigen, dass die Ergebnisse der einzelnen Studien nur begrenzt vergleichbar sind, da unterschiedliche Methoden zur Aktivitätsbestimmung der Atmungskettenkomplexe zum Einsatz kamen [109].

Es fällt allgemein auf, dass die spezifischen Aktivitäten der Atmungskettenenzyme im Nagerhirn gegenüber menschlichem Hirngewebe tendenziell höher zu sein scheinen (Tab. 5).

Bemerkenswert ist zudem die in der vorliegenden Studie beobachtete relativ hohe spezifische und auch CS-normierte Aktivität für Komplex I/III, für die in anderen Untersuchungen häufig niedrigere Werte ermittelt wurden. Die meisten aufgeführten Studien arbeiten jedoch nicht mit Antimycin, sondern bestimmen stattdessen die Aktivität des Rotenon-sensitiven Anteils der NADH-Ubichinon-Oxidoreductase [12, 14, 133]. Die Unterschiede in den Ergebnissen könnten folglich mit der beschriebenen Abhängigkeit von der Bestimmungsmethode im Zusammenhang stehen [109]. Zudem ist die Aktivitätsbestimmung von Komplex I/III als Verfahren generell recht anfällig für Fehler, da eine entscheidende Rolle unter anderem der Grad der Durchgängigkeit der aufgebrochenen Mitochondrienmembranen spielt [13].

Da für die Analyse der Antidepressiva-Wirkungen auf die Atmungskette jedoch vorrangig die relativen Aktivitäten betrachtet wurden, ist den Unterschieden in der absoluten Aktivität der

## Diskussion

Enzyme zwischen einzelnen Studien für die Interpretation der Ergebnisse nur untergeordnete Bedeutung beizumessen.



**Tab. 5: Übersicht über Angaben spezifischer und CS-normierter Aktivitäten der Atmungskettenenzyme aus spektrophotometrischen Untersuchungen in der Literatur**

Autoren / untersuchtes Gewebe	Ergebnisse: spezifische Enzymaktivität [nmol · min <sup>-1</sup> · mg Eiweiß <sup>-1</sup> ] (Angaben als MW ± SEM bzw. MW ± SD )	Ergebnisse: CS-normierte Enzymaktivität (Angaben als MW ± SEM bzw. MW ± SD)
Eigene Arbeit Menschliches Gehirn	Angaben als MW ± SD: Präfrontalcortex: Komplex II/III: 15,64 ± 9,15 Komplex I/III: 23,81 ± 8,56 SDH: 15,29 ± 3,79 CS: 39,42 ± 12,58 Hippocampus: Komplex II/III: 14,49 ± 4,28 Komplex I/III: 20,35 ± 9,25 SDH: 15,27 ± 7,71 CS: 34,55 ± 10,11	Angaben als MW ± SD: Präfrontalcortex: Komplex II/III: 0,41 ± 0,21 Komplex I/III: 0,59 ± 0,22 SDH: 0,44 ± 0,16 Hippocampus: Komplex II/III: 0,44 ± 0,06 Komplex I/III: 0,62 ± 0,26 SDH: 0,39 ± 0,13
Maurer et al., 2001 [105] Menschliches Gehirn	Angaben als MW ± SEM: Frontalcortex: Komplex II/III: 16,8 ± 1,5 Komplex I/III: 5,2 ± 0,7 CS : 32 ± 4,6 Temporalcortex : Komplex II/III : 17,6 ± 2,1 Komplex I/III: 4,4 ± 0,5 CS: 27,8 ± 3,4 Basalganglien: Komplex II/III: 12,8 ± 1,6 Komplex I/III: 3,4 ± 0,3 CS: 24,7 ± 3,9 Cerebellum: Komplex II/III: 19,5 ± 2,1 Komplex I/III: 4,3 ± 0,7 CS: 49 ± 7,9	Frontalcortex: Komplex II/III: 0,53 Komplex I/III: 0,16 Temporalcortex: Komplex II/III: 0,63 Komplex I/III: 0,16 Basalganglien: Komplex II/III: 0,52 Komplex I/III: 0,14 Cerebellum: Komplex II/III: 0,4 Komplex I/III: 0,09
Casademont et al., 2007 [29] Mononukleäre Zellen im Blut psychotischer Patienten	Angaben als MW ± SD: Komplex I: 25,8 ± 4,6 Komplex II: 32,9 ± 13,8 Komplex III: 98,4 ± 33,1 CS: 130,7 ± 23,2	Komplex I: 0,2 Komplex II: 0,25 Komplex III: 0,75
Barrientos et al., 1998 [14] Rattenhirn	Angaben als MW ± SD: Komplex I: 791 ± 217 Komplex II: 170 ± 54 Komplex III: 94 ± 28	Keine Angabe
Prince et al., 1997 [133] Rattenhirn	Angaben als MW ± SEM: Komplex I <sup>**</sup> : Striatum ~ 57,5 ± 2,86 Frontalcortex ~ 58,3 ± 2,5 Hippocampus ~ 49,5 ± 3 Cerebellum ~ 78,3 ± 3,93	Keine Angabe

\* Da die aufgeführte Publikation nur eine graphische Darstellung der Daten enthielt, wurden die in der Tabelle angegebenen Näherungswerte aus den jeweiligen Graphiken ermittelt.

# Angegebene Werte sind Mittelwerte, die aus den aus mehreren Graphiken ermittelten Näherungswerten gebildet wurden.

## Diskussion

<b>Autoren / untersuchtes Gewebe</b>	<b>Ergebnisse: spezifische Enzymaktivität [nmol · min<sup>-1</sup> · mg Eiweiß<sup>-1</sup>] (Angaben als MW ± SEM bzw. MW ± SD )</b>	<b>Ergebnisse: CS-normierte Enzymaktivität (Angaben als MW ± SEM bzw. MW ± SD)</b>
Streck et al., 2007 [156] Rattenhirn	Angaben als MW ± SD: Präfrontalcortex*: SDH: ~ 8,33 ± 2,22 Hippocampus*: SDH ~ 14,44 ± 1,58	Keine Angabe
Balijepalli et al., 2001 [12] Mäusehirn	Angaben als MW ± SEM: Komplex I*: Frontalcortex ~ 74 ± 1,8 Hippocampus ~ 76 ± 2,11 Striatum ~ 72 ± 2,21 Mesencephalon ~ 74,5 ± 1,68	Keine Angabe
Medja et al., 2009 [109] Vergleich verschiedener Untersuchungsergebnisse mit unterschiedlichen Methoden Rinderherzmitochondrien		SDH: 0,12-0,89 Komplex I: 0,14-0,72 Komplex III: 0,29-2,82

---

\* Da die aufgeführte Publikation nur eine graphische Darstellung der Daten enthielt, wurden die in der Tabelle angegebenen Näherungswerte aus den jeweiligen Graphiken ermittelt.

## Diskussion

**Tab. 6: Übersicht über die Ergebnisse anderer Studien mit SDH- oder Komplex II-Untersuchungen**

Literaturangabe	Untersuchtes Gewebe, Methoden	Testsubstanzen und -konzentrationen	Beobachtete Effekte auf die SDH-Aktivität
Eigene Arbeit	Menschliches Hirngewebe Spektrophotometer	Antidepressiva 1 mM in-vitro (Amitriptylin, Nortriptylin, Fluoxetin, Citalopram, Escitalopram, Brofaromin, Venlafaxin)	SDH: alle Testsubstanzen: Hemmung bei 1 mM Konzentration < 20% Kein signifikanter Unterschied Hippocampus / Präfrontalcortex
Casademont et al., 2007 [29]	Mononukleäre Zellen im Blut psychotischer Patienten Spektrophotometer	Neuroleptika in-vivo $\geq 28$ Monate: Haloperidol ( $13 \pm 2,3$ mg/d), Risperidon ( $5,2 \pm 0,8$ mg/d), Clozapin ( $317 \pm 57$ mg/d)	Komplex II: kein signifikanter Effekt
Barrientos et al., 1998 [14]	Rattenhirn- und -muskel-mitochondrien Spektrophotometer	Haloperidol in-vivo 21 d (1 mg/kg KG)	Rattenhirnmitochondrien: Komplex II: Abnahme der Aktivität auf $46 \pm 13\%$ des Ausgangswertes (Angabe als MW $\pm$ SD) Rattenmuskelmitochondrien: kein signifikanter Effekt
Daley et al., 2005 [39]	Isolierte Rattenherz-, -leber- und -nieren-mitochondrien Spektrophotometer	Chlorimipramin in-vitro 25 $\mu$ M	Komplex II: kein signifikanter Effekt
Streck et al., 2007 [156]	Rattenhirn-mitochondrien Spektrophotometer	Neuroleptika in-vivo 28d: Haloperidol (1,5 mg/kg KG), Clozapin (25 mg/kg KG), Olanzapin (2,5; 5; 10 mg/kg KG); Aripiprazol (2; 10; 20 mg/kg KG)	Haloperidol: SDH-Inhibition in Striatum, Hippocampus Clozapin: SDH-Inhibition im Striatum Olanzapin (alle Dosierungen): SDH-Inhibition im Cerebellum Aripiprazol (20 mg/kg): SDH-Aktivierung im Präfrontalcortex
Balijepalli et al., 2001 [12]	Mäusehirn-mitochondrien Spektrophotometer	Neuroleptika in-vivo 1malige Gabe; 45d; 90d: Haloperidol (2 mg/kg KG $\cdot$ d), Risperidon (1,5 mg/kg KG $\cdot$ d), Clozapin (10 mg/kg KG $\cdot$ d)	Komplex II: keine Inhibition
Hroudova et al., 2010 [73]	Schweinehirn-mitochondrien Spektrophotometer	Psychopharmaka in-vitro (0,5 mM Desipramin, Amitriptylin, Imipramin, Citalopram, Venlafaxin, Mirtazapin, Tianeptin, Moclobemid, Olanzapin; 5 mM Lithium, Valproat)	Komplex II* (Angaben als MW $\pm$ SD): signifikante Hemmung durch Amitriptylin (Abnahme auf $\sim 65,38 \pm 6,92\%$ der Ausgangsaktivität) und Imipramin (Abnahme auf $\sim 68,65 \pm 4,81\%$ der Ausgangsaktivität) SDH: kein signifikanter Effekt (Erwähnung im Text; keine Darstellung der Ergebnisse anhand der erhobenen Daten)
Nadanaciva et al., 2007 [116]	Rinderherz-mitochondrien Immunhistochemie/ Spektrophotometer	20 verschiedene Testsubstanzen 50 $\mu$ M, u.a. Nefazodon, Paroxetin, Chlorpromazin	Komplex II: keine Inhibition

\* Da die aufgeführte Publikation nur eine graphische Darstellung der Daten enthielt, wurden die in der Tabelle angegebenen Näherungswerte aus den jeweiligen Graphiken ermittelt.

**Tab. 7: Übersicht über die Ergebnisse anderer Studien mit Komplex I/III-Untersuchungen**

Literaturangabe	Untersuchtes Gewebe, Methoden	Testsubstanzen und -konzentrationen	Beobachtete Effekte auf die Komplex I/III-Aktivität
Eigene Arbeit	Menschliches Hirngewebe Spektrophotometer	Antidepressiva 0-3 mM in-vitro (Amitriptylin, Nortriptylin, Fluoxetin, Citalopram, Escitalopram, Brofaromin, Venlafaxin)	Komplex I/III: Amitriptylin: 1 mM: Inhibition PFC ~19%, HC ~24%; IC <sub>50</sub> > 3 mM für beide Gewebe Nortriptylin: 1 mM: Inhibition PFC und HC ~27%; IC <sub>50</sub> : PFC ~1,8 mM; HC ~2,69 mM Fluoxetin: 1 mM: Inhibition PFC ~29%, HC ~30%; IC <sub>50</sub> : PFC ~1,78 mM; HC: ~2,96 mM Citalopram: 1 mM: leichte Aktivierung PFC, HC Escitalopram: 1 mM: Inhibition PFC und HC < 10% Brofaromin: 1 mM: Inhibition PFC ~35%, HC ~40%; IC <sub>50</sub> : > 3 mM für beide Gewebe Venlafaxin: 1 mM: kein Effekt PFC; HC: Inhibition < 10%
Maurer et al., 1997 [106]	Menschliches Hirngewebe (Frontalcortex) Spektrophotometer	Neuroleptika 0-2,5 mM in-vitro (Haloperidol, Risperidon, Clozapin, Chlorpromazin, Zotepin)	Komplex I/III: Haloperidol: IC <sub>50</sub> = 0,1 mM Risperidon, Zotepin: IC <sub>50</sub> = 0,5 mM Clozapin: IC <sub>50</sub> = 2,5 mM Chlorpromazin: IC <sub>50</sub> ~0,4 mM
Casademont et al., 2007 [29]	Mononukleäre Zellen im Blut psychotischer Patienten Spektrophotometer	Neuroleptika in-vivo ≥ 28 Monate: Haloperidol (13 ± 2,3 mg/d), Risperidon (5,2 ± 0,8 mg/d), Clozapin (317 ± 57 mg/d)	Komplex I: Haloperidol: ~68% geringere Aktivität gegenüber unbehandelten Patienten Risperidon: ~25% geringere Aktivität Clozapin: ~11% geringere Aktivität Komplex III: kein signifikanter Unterschied
Cordero et al., 2009 [36]	Menschliche Fibroblasten Spektrophotometer	50 µM Amitriptylin 24 h in-vitro	Komplex I/III*: Inhibition ~25 %
Burkhardt et al., 1993 [26]	1.) Rattenhirn-mitochondrien 2.) Thrombozyten-mitochondrien von Patienten mit chronischer Neuroleptika-Therapie Spektrophotometer	1.) Neuroleptika in-vitro: Haloperidol (0-18 µM), Chlorpromazin (0-15 µM), Thiothixen (0-120 µM), Clozapin (0-300 µM) 2.) Chronische Therapie mit Fluphenazin, Loxapin, Haloperidol, Thiothixen	1.) Statistisch signifikante Komplex I-Inhibition: Haloperidol ≥ 0,18 µM; Chlorpromazin ≥ 1 µM; Thiothixen ≥ 60 µM; Clozapin ≥ 90 µM Komplex III: minimale Veränderungen unter ≥ 60 µM Thiothixen, ≥ 300 µM Clozapin 2.) Komplex I: statistisch signifikant verminderte Aktivität um 64% gegenüber unbehandelten Patienten

\* Da die aufgeführte Publikation nur eine graphische Darstellung der Daten enthielt, wurden die in der Tabelle angegebenen Näherungswerte aus den jeweiligen Graphiken ermittelt.

## Diskussion

Literaturangabe	Untersuchtes Gewebe, Methoden	Testsubstanzen und -konzentrationen	Beobachtete Effekte auf die Komplex I/III-Aktivität
Barrientos et al., 1998 [14]	Rattenhirn- und -muskel-mitochondrien Spektrophotometer	Haloperidol in-vivo 21 d (1 mg/kg KG)	Rattenhirnmitochondrien: Komplex I: Aktivitätsabnahme um $35 \pm 15\%$ des Ausgangswertes (Angabe als MW $\pm$ SD) Komplex III: Effekt nicht signifikant (Aktivitätszunahme um $40 \pm 60\%$ des Ausgangswertes) Rattenmuskelmitochondrien: kein signifikanter Effekt
Daley et al., 2005 [39]	Rattenherz-, -hirn-, -leber-, -nieren-mitochondrien Spektrophotometer	20-25 $\mu$ M Chlorimipramin in-vitro	Komplex I: leichte Inhibition in Rattenherz- und -nierenmitochondrien; kein Effekt in Rattenlebermitochondrien Komplex III: starke Inhibition in allen getesteten Geweben
Modica-Napolitano et al., 2003 [111]	Isolierte Rattenleber-mitochondrien Spektrophotometer	Neuroleptika 25-200 $\mu$ M in-vitro: Haloperidol, Chlorpromazin, Clozapin, Olanzapin, Thioridazin, Risperidon, Quetiapin	Komplex I: Haloperidol, Chlorpromazin, Thioridazin: Inhibition mit $IC_{50} = 35 \mu$ M Risperidon: $IC_{50} = 65 \mu$ M Quetiapin: $IC_{50} = 125 \mu$ M Clozapin: $\sim 30\%$ Inhibition bei 200 $\mu$ M Olanzapin: $\sim 12\%$ Inhibition bei 200 $\mu$ M
Prince et al., 1997 [133]	Rattenhirn-mitochondrien Spektrophotometer	Neuroleptika in-vivo 2; 14; 28d: Haloperidol (1 mg/kg KG), Fluphenazin (1 mg/kg KG), Clozapin (20 mg/kg KG)	Komplex I: Haloperidol: Inhibition nach 2; 14; 28 d Clozapin: kein Effekt Fluphenazin: Inhibition nach 14; 28 d Aufgeführte Effekte in allen untersuchten Hirnregionen (Striatum, Cerebellum, Hippocampus, Frontalcortex)
Balijepalli et al., 2001 [12]	Mäusehirn-mitochondrien Spektrophotometer	Neuroleptika in-vivo 1malige Gabe; 45d; 90d: Haloperidol (2 mg/kg KG · d), Risperidon (1,5 mg/kg KG · d), Clozapin (10 mg/kg KG · d)	Komplex I: Haloperidol 1malige Gabe (akut): Inhibition Striatum (41%), Mesencephalon (26%) früher als Frontalcortex (45%), Hippocampus (36%) Haloperidol chronisch: signifikante Inhibition in allen getesteten Regionen ( $\sim 25-45\%$ Inhibition)* Risperidon: 29% Inhibition (Frontalcortex: nach 45 und 90 d; Hippocampus, Striatum: nach 90 d); Mesencephalon: kein Effekt Clozapin: Inhibition Frontalcortex 16%, Hippocampus 15% nach 90 d; kein Effekt Striatum, Mesencephalon

\* Da die aufgeführte Publikation nur eine graphische Darstellung der Daten enthielt, wurden die in der Tabelle angegebenen Näherungswerte aus den jeweiligen Graphiken ermittelt.

## Diskussion

<b>Literaturangabe</b>	<b>Untersuchtes Gewebe, Methoden</b>	<b>Testsubstanzen und -konzentrationen</b>	<b>Beobachtete Effekte auf die Komplex I/III-Aktivität</b>
Hroudova et al., 2010 [73]	Schweinehirn-mitochondrien Spektrophotometer	Psychopharmaka in-vitro (0,5 mM Desipramin, Amitriptylin, Imipramin, Citalopram, Venlafaxin, Mirtazapin, Tianeptin, Moclobemid, Olanzapin; 5 mM Lithium, Valproat)	Komplex I (Angaben als MW $\pm$ SD)*: signifikante Hemmung durch Desipramin (Inhibition $\sim 77,31 \pm 12,31\%$ ); Amitriptylin ( $\sim 53,65 \pm 10,38\%$ ); Imipramin ( $\sim 61,92 \pm 16,35\%$ ); Citalopram ( $\sim 38,85 \pm 20,38\%$ ); Mirtazapin ( $\sim 26,54 \pm 19,62\%$ ); Valproat ( $\sim 38,85 \pm 19,42\%$ ); Olanzapin ( $\sim 23,08 \pm 15,38\%$ )
Dykens et al., 2008 [46]	Rinderherz-mitochondrien Immunhistochemie/ Spektrophotometer	0-150 $\mu$ M Nefazodon, Trazodon, Bupiron in-vitro	Nefazodon: Inhibition Komplex I: $IC_{50} = 14 \mu$ M Trazodon: kein Effekt Bupiron: Inhibition Komplex I: $IC_{50} = 48 \mu$ M
Nadanaciva et al., 2007 [116]	Rinderherz-mitochondrien Immunhistochemie/ Spektrophotometer	20 verschiedene Testsubstanzen 50 $\mu$ M, u.a. Nefazodon, Paroxetin, Chlorpromazin	Komplex I: Inhibition durch Nefazodon ( $IC_{50} = 4 \mu$ M) > Paroxetin, Chlorpromazin ( $IC_{50} > 50\mu$ M)

---

\* Da die aufgeführte Publikation nur eine graphische Darstellung der Daten enthielt, wurden die in der Tabelle angegebenen Näherungswerte aus den jeweiligen Graphiken ermittelt.

**Tab. 8: Übersicht über die Ergebnisse anderer Studien mit Komplex II/III-Untersuchungen**

Literaturangabe	Untersuchtes Gewebe, Methoden	Testsubstanzen und -konzentrationen	Beobachtete Effekte auf die Komplex II/III-Aktivität
Eigene Arbeit	Menschliches Hirngewebe Spektrophotometer	Antidepressiva 0-3 mM in-vitro (Amitriptylin, Nortriptylin, Fluoxetin, Citalopram, Escitalopram, Brofaromin, Venlafaxin)	Komplex II/III: Amitriptylin: 1 mM: Inhibition PFC ~47%, HC ~56 %; IC <sub>50</sub> : PFC ~1,21 mM; HC ~0,81 mM Nortriptylin: 1 mM: Inhibition PFC ~39%, HC ~45%; IC <sub>50</sub> : PFC ~1,01 mM; HC ~1,76 mM Fluoxetin: 1 mM: Inhibition PFC ~53%, HC ~59%; IC <sub>50</sub> : PFC ~1,13 mM; HC: ~0,59 mM Citalopram: 1 mM: Inhibition PFC ~26%, HC ~19% Escitalopram: 1 mM: Inhibition PFC ~27%, HC ~16 %; IC <sub>50</sub> : PFC: ~1,59 mM Brofaromin: 1 mM: Inhibition PFC ~58%, HC ~51%; IC <sub>50</sub> : PFC ~0,74 mM; HC ~0,85 mM Venlafaxin: 1 mM: kein Effekt PFC, HC (Inhibition < 5%)
Maurer et al., 1997 [106]	Menschliches Hirngewebe (Frontalcortex) Spektrophotometer	Neuroleptika 0-2,5 mM in-vitro (Haloperidol, Risperidon, Clozapin, Chlorpromazin, Zotepin)	Komplex II/III: kein signifikanter Effekt ≤ 1 mM; konzentrationsabhängige Hemmung bei Konzentrationen > 1 mM
Casademont et al., 2007 [29]	Mononukleäre Zellen im Blut psychotischer Patienten Spektrophotometer	Neuroleptika in-vivo ≥ 28 Monate: Haloperidol (13 ± 2,3 mg/d), Risperidon (5,2 ± 0,8 mg/d), Clozapin (317 ± 57 mg/d)	Komplex II, III: kein signifikanter Unterschied gegenüber unbehandelten Patienten
Burkhardt et al., 1993 [26]	1.) Rattenhirn-mitochondrien 2.) Thrombozyten-mitochondrien von Patienten mit chronischer Neuroleptika-Therapie Spektrophotometer	1.) Neuroleptika in-vitro: Haloperidol (0-18 µM), Chlorpromazin (0-15 µM), Thiothixen (0-120 µM), Clozapin (0-300 µM) 2.) Chronische Therapie mit Fluphenazin, Loxapin, Haloperidol, Thiothixen	1.) Statistisch signifikante Komplex I-Inhibition: Haloperidol ≥ 0,18 µM; Chlorpromazin ≥ 1 µM; Thiothixen ≥ 60 µM; Clozapin ≥ 90 µM Komplex III: minimale Veränderungen unter ≥ 60 µM Thiothixen, ≥ 300 µM Clozapin 2.) Komplex II/III: leicht verminderte Aktivität gegenüber unbehandelten Patienten (statistisch nicht signifikant)
Barrientos et al., 1998 [14]	Rattenhirn- und -muskel-mitochondrien Spektrophotometer	Haloperidol in-vivo 21 d (1 mg/kg KG)	Rattenhirnmitochondrien: Komplex II: Aktivitätsabnahme um 54 ± 13% (Angabe als MW ± SD) Komplex III: Effekt nicht signifikant (Aktivitätszunahme um 40 ± 60% des Ausgangswertes) Rattenmuskelmitochondrien: kein signifikanter Effekt

## Diskussion

<b>Literaturangabe</b>	<b>Untersuchtes Gewebe, Methoden</b>	<b>Testsubstanzen und -konzentrationen</b>	<b>Beobachtete Effekte auf die Komplex II/III-Aktivität</b>
Daley et al., 2005 [39]	Rattenherz-, -hirn-, -leber-, -nierenmitochondrien Spektrophotometer	20-25 $\mu\text{M}$ Chlorimipramin in-vitro	Komplex II/III: vollständige Inhibition in Rattenherz-, -leber- und -nierenmitochondrien Komplex II: kein signifikanter Effekt Komplex III: starke Inhibition in allen getesteten Geweben
Modica-Napolitano et al., 2003 [111]	Isolierte Rattenlebermitochondrien Spektrophotometer	Neuroleptika 25-200 $\mu\text{M}$ in-vitro: Haloperidol, Chlorpromazin, Clozapin, Olanzapin, Thioridazin, Risperidon, Quetiapin	Chlorpromazin: 60% Inhibition bei 200 $\mu\text{M}$ Thioridazin: 25% Inhibition bei 50 $\mu\text{M}$ Clozapin: ~25% Inhibition bei 200 $\mu\text{M}$ Haloperidol, Olanzapin, Risperidon, Quetiapin: kein Effekt
Dykens et al., 2008 [46]	Rinderherzmitochondrien Immunhistochemie/ Spektrophotometer	0-150 $\mu\text{M}$ Nefazodon, Trazodon, Buspiron in-vitro	Komplex II/III: kein Effekt
Nadanaciva et al., 2007 [116]	Rinderherzmitochondrien Immunhistochemie/ Spektrophotometer	20 verschiedene Testsubstanzen 50 $\mu\text{M}$ , u.a. Nefazodon, Paroxetin, Chlorpromazin	Komplex II/III: leichte Inhibition durch Paroxetin, Chlorpromazin, Nefazodon ( $\text{IC}_{50} > 50\mu\text{M}$ )



### **5.3. Effekte der Antidepressiva auf die Atmungskette**

#### **5.3.1. Succinatdehydrogenase (SDH)**

In beiden getesteten Hirnregionen zeigte sich bei 1 mM Konzentration für keines der Antidepressiva eine wesentliche Beeinflussung der SDH-Aktivität. Eine schwache, jedoch signifikante Hemmung der Enzymaktivität wurde lediglich für Fluoxetin (~17%) und Amitriptylin (~15%) im Hippocampus sowie Nortriptylin (~9%) im Präfrontalcortex ermittelt. Brofaromin bewirkte zwar in präfrontalen Homogenaten ebenfalls eine statistisch signifikante Enzymhemmung (< 5%); dieser Effekt war jedoch ebenso wie die für alle anderen Testsubstanzen beobachteten Wirkungen vernachlässigbar gering. Obwohl die Empfindlichkeit der SDH im hippocampalen Gewebe ein wenig größer zu sein schien als im Präfrontalcortex, war dieser Unterschied nicht signifikant (Abb. 5).

Dieses Resultat steht im Einklang mit den in Tab. 6 zusammengefassten Ergebnissen anderer Arbeiten: Zwar ergaben sich in manchen in-vivo-Studien mit Neuroleptika je nach Hirnregion und Testsubstanz hemmende und teilweise auch aktivierende Effekte auf die SDH-Aktivität in Rattenhirnmitochondrien [14, 156]; demgegenüber wird von den meisten anderen Autoren kein signifikanter Effekt von Neuroleptika und Antidepressiva in-vivo und auch in-vitro festgestellt. Eine aktuelle Studie von Hroudova und Fisar [73] beobachtete bei in-vitro-Untersuchungen an Mitochondrienfraktionen aus Schweinehirn-Homogenaten eine Hemmung der Komplex II-Aktivität durch 0,5 mM Amitriptylin (um rund 35%) und Imipramin (um rund 31%). Hierbei kamen jedoch andere Methoden zur Probenaufbereitung (Gewinnung von Mitochondrien aus frischem Gesamtcortex eines Schweins, die nach Abtrennung von Zellkernen und Zellbruchstücken in hypotonem Medium eingefroren wurden) und Untersuchung der Enzymaktivität zum Einsatz als in der vorliegenden Arbeit, und die untersuchten Mitochondrien entstammten auch einer anderen Spezies, was die Unterschiede in den Ergebnissen bedingen könnte. Zudem wurden in der zitierten Studie bei der Untersuchung nur der SDH als Teil von Komplex II keine signifikanten Effekte der Testsubstanzen auf die Enzymaktivität festgestellt [73], was mit den Ergebnissen der vorliegenden Arbeit übereinstimmt.

Freilich bleibt zu beachten, dass die eingesetzten Testsubstanzen in den meisten der zitierten Publikationen andere sind als in der vorliegenden Arbeit und auch keine der aufgeführten Studien in-vitro-Untersuchungen an menschlichem Hirngewebe beinhaltet. Dennoch erscheinen die vorliegenden Ergebnisse plausibel vor dem Hintergrund, dass auch in anderen Spezies und an anderen Gewebetypen die Empfindlichkeit von SDH und auch Komplex II insgesamt gegenüber

Psychopharmaka im Vergleich mit den anderen Komplexen der Atmungskette gering zu sein scheint. In Übereinstimmung damit zeigte sich auch in der vorliegenden Studie, dass selbst die Substanzen mit dem stärksten inhibitorischen Effekt auf die anderen Enzymkomplexe der Atmungskette, namentlich Fluoxetin und Brofaromin, die Aktivität der SDH nur minimal beeinflussten. Bestätigt wird dies auch durch die oben erwähnten Untersuchungen an Schweinehirnmitochondrien, wo für alle der elf Testsubstanzen mit Ausnahme von Venlafaxin und Moclobemid deutlich stärkere hemmende Wirkungen auf Komplex I gegenüber Komplex II beobachtet wurden; die deutlichste Hemmung der Komplex I-Aktivität (> 50%) bewirkten hier bei einer Konzentration von 0,5 mM die Antidepressiva Desipramin, Imipramin und Amitriptylin [73].

### 5.3.2. Komplex I/III

Ein besonderes Augenmerk der vorliegenden Arbeit lag auf Komplex I/III der Atmungskette, zumal es zunehmend mehr Belege dafür gibt, dass die Komplex I-Aktivität in Thrombozyten, Skelettmuskel- und Hirngewebe von Parkinson-Patienten reduziert ist [145]. Die Bedeutung dieses Enzymkomplexes wird auch noch einmal dadurch unterstrichen, dass verschiedenste Komplex I-Hemmstoffe – wie Rotenon und andere Pestizide oder auch typische Neuroleptika – in der Lage sind, motorische Störungen auszulösen [12, 106, 111, 147].

Von allen untersuchten Antidepressiva zeigten nur Brofaromin, Fluoxetin, Nortriptylin und Amitriptylin im Screening-Test bei 1 mM Konzentration eine nennenswerte Hemmung der Komplex I/III-Aktivität in Hippocampus und Präfrontalcortex von rund 20-40%.

Brofaromin als der einzige getestete MAO-I unterschied sich dabei bezüglich des Verlaufs der Dosis-Wirkungs-Kurven in beiden untersuchten Hirnregionen deutlich von den anderen Testsubstanzen: Bei Konzentrationen  $\geq 1\text{mM}$  zeigte sich keine weitere Zunahme der inhibitorischen Wirkung auf die Komplex I/III-Aktivität, und auch die maximal erreichbare Hemmung der Enzymaktivität durch Brofaromin war mit 35-40% deutlich geringer, als für die TCA und den SSRI Fluoxetin zu beobachten war.

Beim Vergleich der beiden strukturverwandten TCA Amitriptylin und Nortriptylin fällt auf, dass die maximal erreichbare Hemmung der Komplex I/III-Aktivität für beide Substanzen im Präfrontalcortex gegenüber dem Hippocampus etwas stärker zu sein schien (Abb. 7, 8). Bemerkenswert ist, dass in präfrontalen Homogenaten Nortriptylin ein stärkerer Inhibitor des Komplexes I/III zu sein schien als Amitriptylin: Eine knapp 15%ige Hemmung der Enzymaktivität wurde durch Nortriptylin bereits bei einer Konzentration von 250  $\mu\text{M}$ , durch

## Diskussion

Amitriptylin hingegen erst bei 1 mM erreicht; über den gesamten getesteten Konzentrationsbereich hinweg verliefen die Dosis-Wirkungs-Kurven der beiden Substanzen annähernd parallel, wobei die durch Nortriptylin bewirkte Hemmung jeweils etwa 10% über der seiner Muttersubstanz Amitriptylin lag (Abb. 7). Im Gegensatz dazu zeigte sich im Hippocampus bis zu einer Konzentration von 750  $\mu$ M eine rund 5-10% stärkere Enzyminhibition durch Amitriptylin. Bei höheren Konzentrationen ab etwa 1 mM erwies sich jedoch auch im hippocampalen Gewebe Nortriptylin als der potentere Hemmstoff der Komplex I/III-Aktivität, wobei an den  $IC_{50}$ -Werten (1,8 mM im Präfrontalcortex versus 2,69 mM im Hippocampus; s. Tab. 4) deutlich wird, dass die Empfindlichkeit gegenüber diesem Antidepressivum in präfrontalen Homogenaten offensichtlich höher war. Durch Amitriptylin wurde demgegenüber weder im präfrontalen noch im hippocampalen Gewebe eine 50%ige Hemmung der Enzymaktivität erreicht.

Über Ursachen dieser Unterschiede zwischen Amitriptylin und Nortriptylin kann nur spekuliert werden. Es liegt jedoch die Vermutung nahe, dass die fehlende Methylgruppe bei Nortriptylin den Zugang zu Strukturen des Komplexes I/III erleichtert. Andererseits sprechen die Untersuchungsergebnisse im Hippocampus mit sehr ähnlichen Dosis-Wirkungs-Kurven für die beiden TCA und einer maximal erreichbaren Hemmung von rund 50% (Abb. 8) dafür, dass der kleine strukturelle Unterschied zwischen Amitriptylin und Nortriptylin keine hinreichende Bedingung ist; es müssen noch andere Faktoren eine Rolle spielen.

Auch für den SSRI Fluoxetin erbrachten die Untersuchungen Hinweise darauf, dass die maximal erreichbare Hemmung der Komplex I/III-Aktivität vermutlich bei knapp über 50% liegen könnte. Die Dosis-Wirkungs-Kurve für Fluoxetin ähnelte besonders im hippocampalen Gewebe der für Nortriptylin; sowohl im Hippocampus als auch im Präfrontalcortex waren diese beiden Antidepressiva die einzigen Testsubstanzen, die eine 50%ige Hemmung der Komplex I/III-Aktivität erzielten. Die  $IC_{50}$ -Werte lagen dabei relativ hoch im mM-Bereich. Im Präfrontalcortex bestanden praktisch keine Unterschiede in den Wirkungen dieser beiden strukturell unterschiedlichen Substanzen (Fluoxetin:  $IC_{50} = 1,78$  mM; Nortriptylin:  $IC_{50} = 1,8$  mM), während die hippocampalen Homogenate eine etwas größere Empfindlichkeit gegenüber Nortriptylin zeigten ( $IC_{50} = 2,96$  mM versus 2,69 mM) (Tab. 4).

Insgesamt kann das vorliegende Ergebnis so gedeutet werden, dass die untersuchten Antidepressiva entweder keine oder nur eine geringe Wirkung auf den Komplex I/III der mitochondrialen Atmungskette in menschlichem Hirngewebe haben.

## Diskussion

Wie aus der Gegenüberstellung mit anderen Komplex I/III-Untersuchungen in der Literatur hervorgeht (Tab. 7), beeinflussen Antidepressiva die Aktivität dieses Enzymkomplexes offensichtlich in deutlich geringerem Maße als Neuroleptika. Den besten Vergleich hierzu bietet die zitierte Studie von Maurer und Möller [106], da hier mit den gleichen Methoden die in-vitro-Effekte von Neuroleptika an Roh-Homogenaten aus tiefgefrorenem menschlichen Frontalcortex untersucht wurden. Dabei zeigt sich, dass eine 50%ige Hemmung der Enzymaktivität von Komplex I/III durch die Antidepressiva Fluoxetin und Nortriptylin durchschnittlich erst in Konzentrationen erreicht wird, die dem vier- bis sechsfachen der  $IC_{50}$  der Neuroleptika Risperidon, Zotepin und Chlorpromazin und dem 20- bis 30-fachen der  $IC_{50}$  von Haloperidol entsprechen (Tab. 7). Vergleichbar ist die inhibitorische Potenz der getesteten Antidepressiva mit der des atypischen Neuroleptikums Clozapin.

Da die Autoren der erwähnten Arbeit einen Zusammenhang zwischen dem Grad der Komplex I-Inhibition durch Neuroleptika und der Inzidenz von EPMS postulieren, legt dies die Schlussfolgerung nahe, dass Antidepressiva, die hinsichtlich ihres inhibitorischen Effektes auf Komplex I/III in etwa mit Clozapin – dem Neuroleptikum mit dem niedrigsten EPMS-Risiko – vergleichbar sind, ein ähnlich geringes Risiko für das Auftreten dieser unerwünschten Arzneimittelwirkung bergen könnten. Dabei muss jedoch berücksichtigt werden, dass die den EPMS zugrunde liegenden Pathomechanismen noch nicht hinreichend geklärt sind, sodass eine eindeutige Interpretation der Implikationen der Komplex I/III-Inhibition nicht möglich ist.

In der bereits zitierten, im August 2010 publizierten Arbeit von Hroudova und Fisar [73] wurde eine deutliche Hemmung der Komplex I-Aktivität in durch Frieren und Tauen zerstörten Schweinecortex-Mitochondrien durch 0,5 mM Amitriptylin (um knapp 54%) sowie Citalopram (~39%), nicht aber durch Venlafaxin beobachtet. Die durch die Antidepressiva bewirkte Hemmung war dabei deutlich stärker als der Effekt durch das atypische Neuroleptikum Olanzapin (~23% Inhibition). Wenn also tatsächlich der Grad der Komplex I-Inhibition durch Psychopharmaka positiv mit dem Risiko für das Auftreten von EPMS korreliert, so müsste folglich eine Therapie mit Antidepressiva eine größere Gefahr für diese Nebenwirkung mit sich bringen als eine Behandlung mit atypischen Neuroleptika. Die Abweichung dieser Beobachtungen von den Ergebnissen der vorliegenden Arbeit ist auffallend; ein derart starker Effekt für Amitriptylin und Citalopram konnte hier auch bei höheren Konzentrationen nicht nachgewiesen werden. Eine mögliche Ursache hierfür liegt in der Anwendung unterschiedlicher Methoden für die Untersuchung der Enzymaktivität; so wurde von Hroudova und Fisar mit Rotenon gearbeitet, und nicht der Antimycin-sensitive Teil der NADH-Ubichinon-

Oxidoreductase bestimmt. Zudem stammten die untersuchten Atmungskettenenzyme aus dem gesamten Schweinecortex und nicht aus menschlichem Gewebe; folglich könnten auch Speziesunterschiede eine Rolle spielen.

Interessanterweise konnte in einer Studie an menschlichen Fibroblasten-Zellkulturen in-vitro nach 24-stündiger Inkubation mit 50  $\mu\text{M}$  Amitriptylin eine reduzierte Expression von Elektronen-Carriern und demzufolge eine rund 25%ige Abnahme der Komplex I/III-Aktivität beobachtet werden [36]. Das bedeutet, dass unter ähnlichen Bedingungen in-vivo möglicherweise auch andere Effekte eine Rolle spielen als die direkte Einwirkung einer Testsubstanz auf die Komplexe der Atmungskette.

Erwähnenswert ist an dieser Stelle auch eine in-vitro-Untersuchung zur Wirkung von Chlorimipramin auf die Atmungskettenkomplexe in Mitochondrienpräparationen aus Hirn, Herz, Leber und Niere der Ratte [39]: In dieser Studie bewirkte Chlorimipramin in Konzentrationen von 20-25  $\mu\text{M}$  einen signifikanten und starken hemmenden Effekt auf die Aktivität von Komplex III (75 bis > 90% Hemmung in allen Gewebearten), jedoch eine wesentlich geringere Hemmung der Komplex I-Aktivität (rund 35% in Herz und Niere; Gehirn wurde nicht untersucht). Diese Feststellung stimmt überein mit den eigenen Beobachtungen, dass die getesteten Antidepressiva – einschließlich der TCA – eine deutlich stärkere Hemmung von Komplex II/III gegenüber Komplex I/III bewirken, die möglicherweise vorrangig auf die Beeinflussung von Komplex III zurückzuführen sein könnte.

### **5.3.3. Komplex II/III**

In der Screening-Untersuchung bei 1 mM Konzentration bewirkten mit Ausnahme von Venlafaxin alle getesteten Antidepressiva eine signifikante Hemmung der Komplex II/III-Aktivität; die stärksten inhibitorischen Wirkungen erzielten wiederum Fluoxetin und Brofaromin (durchschnittlich 51-59% Hemmung). Dennoch zeigten sich deutliche Unterschiede in den Wirkungen der Testsubstanzen auf Komplex II/III gegenüber Komplex I/III.

Für die TCA fällt auf, dass in beiden untersuchten Hirnregionen bei Konzentrationen bis etwa 750  $\mu\text{M}$  Nortriptylin gegenüber Amitriptylin eine stärkere Hemmung der Komplex II/III-Aktivität bewirkte; im Bereich  $\geq 1$  mM erwies sich – anders als bei Komplex I/III – jedoch die Muttersubstanz Amitriptylin als der potentere Inhibitor mit einer rund 10% stärkeren Enzymhemmung (s. Abb. 10a, 11). Auch für Komplex II/III war die maximal erreichbare Hemmung durch die TCA wiederum im Präfrontalcortex stärker ausgeprägt als im Hippocampus; die Unterschiede hinsichtlich des Gewebetyps waren jedoch gegenüber den für

## Diskussion

Komplex I/III beobachteten Effekten deutlicher. Zudem bewirkte Amitriptylin nur in präfrontalen Homogenaten im Konzentrationsbereich zwischen 50 und 100  $\mu\text{M}$  eine leichte, statistisch signifikante Aktivierung des Komplexes II/III. Insgesamt schienen die TCA ihre hemmenden Einflüsse auf die Atmungskette hauptsächlich über Komplex II/III zu vermitteln: Für beide Substanzen konnten sowohl im Präfrontalcortex als auch im Hippocampus  $\text{IC}_{50}$ -Werte ermittelt werden. Hierbei ist bemerkenswert, dass die hippocampalen Homogenate gegenüber dem präfrontalen Gewebe sehr viel empfindlicher auf Amitriptylin zu reagieren schienen ( $\text{IC}_{50} = 0,81 \text{ mM}$  versus  $1,21 \text{ mM}$ ); für Nortriptylin zeigte sich im Gegensatz dazu eine höhere Empfindlichkeit im Präfrontalcortex ( $\text{IC}_{50} = 1,01 \text{ mM}$  versus  $1,76 \text{ mM}$ ) (s. Tab. 4).

Auch die drei getesteten SSRI unterschieden sich hinsichtlich ihrer Wirkungen auf Komplex II/III: Citalopram und Escitalopram bewirkten bei der Screening-Konzentration von  $1 \text{ mM}$  ähnliche Effekte auf die Komplex II/III-Aktivität mit einer etwas ausgeprägteren Hemmung im Präfrontalcortex (s. Abb. 9); diese regionalen Unterschiede waren jedoch statistisch nicht signifikant. Für Escitalopram zeigte sich in Homogenaten des Präfrontalcortex nach einem annähernd linearen Verlauf der Dosis-Wirkungs-Kurve bis zu einer Konzentration von  $1 \text{ mM}$  mit rund 27%iger Hemmung des Komplexes II/III ein drastischer, konzentrationsabhängiger Abfall der Enzymaktivität auf 26% bei  $3 \text{ mM}$ ; vom groben Verlauf her ähnelte die Dosis-Wirkungs-Kurve für Escitalopram damit am ehesten der des ebenfalls zu den SSRI zählenden Fluoxetin (Abb. 10b).

Dennoch unterschied sich Fluoxetin deutlich von den beiden anderen SSRI: Bei den höchsten Testkonzentrationen erzielte es in beiden untersuchten Hirnregionen mit rund 60-80% die stärkste Hemmung der Komplex II/III-Aktivität von allen Testsubstanzen; der Verlauf der Dosis-Wirkungs-Kurven war dabei am ehesten mit den für Amitriptylin ermittelten Kurven vergleichbar (Abb. 10, 11). Hierbei ist bemerkenswert, dass – ähnlich wie für Amitriptylin beobachtet – auch gegenüber Fluoxetin die Empfindlichkeit des Komplexes II/III im Hippocampus deutlich größer zu sein schien als im Präfrontalcortex ( $\text{IC}_{50} = 0,59 \text{ mM}$  versus  $1,13 \text{ mM}$ ). Wie diese regionalen Unterschiede zustande kommen, lässt sich aus den vorliegenden Daten nicht ableiten. Möglicherweise nehmen Unterschiede in der chemischen Struktur der Testsubstanzen Einfluss auf ihre jeweiligen Wechselwirkungen mit den Atmungskettenenzymen; auf welche Weise dies jedoch genau vonstattengeht, bleibt zu klären.

Erwähnenswert sind auch die Beobachtungen, die für Brofaromin erhoben werden konnten: Im Unterschied zu Komplex I/III, wo die Wirkungen des MAO-I sich deutlich von denen aller anderen Testsubstanzen unterschieden, zeigten sich für Komplex II/III starke Gemeinsamkeiten

## Diskussion

mit den TCA. Der Verlauf der Dosis-Wirkungs-Kurven für Brofaromin ähnelte im Präfrontalcortex bis zu Konzentrationen von 750  $\mu\text{M}$  dem für Nortriptylin und im Hippocampus ab  $\geq 100 \mu\text{M}$  dem für Amitriptylin (s. Abb. 10a, 11); im Gegensatz zu den anderen Antidepressiva fanden sich für Brofaromin allerdings kaum Unterschiede in den Effekten auf die Komplex II/III-Aktivität in Präfrontalcortex ( $\text{IC}_{50} = 0,74$ ) und Hippocampus ( $\text{IC}_{50} = 0,85$ ) (s. Tab.4).

Vergleicht man die Effekte der getesteten Antidepressiva auf die Aktivität von Komplex II/III der Atmungskette mit denen von Neuroleptika an menschlichem Hirngewebe in-vitro [106] (s. Tab. 8), so lässt sich ein umgekehrtes Verhältnis gegenüber Komplex I/III feststellen: Während Neuroleptika vorrangig auf die Aktivität von Komplex I der mitochondrialen Atmungskette zu wirken scheinen, zeigt sich der hauptsächliche Angriffspunkt der Antidepressiva in Komplex II/III. Darüber hinaus scheint auch die maximal erreichbare Enzymhemmung durch Antidepressiva – sofern die unterschiedlichen Studiendesigns einen Vergleich zulassen – mindestens genauso stark zu sein wie für Neuroleptika beobachtet, in manchen Fällen sogar noch stärker.

Eine Bestätigung dieser Beobachtungen liefert die bereits erwähnte in-vitro-Untersuchung mit 20-25  $\mu\text{M}$  Chlorimipramin an Rattenmitochondrien [39]: Hier wird eine vollständige Inhibition der Komplex II/III-Aktivität in unterschiedlichen Gewebetypen berichtet, die fast ausschließlich auf eine Hemmung von Komplex III zurückgeführt wird. Im Kontext des fehlenden Effektes der Antidepressiva auf die Aktivität der SDH in der vorliegenden Arbeit ist annehmbar, dass auch in diesem Falle die festgestellten Wirkungen der Testsubstanzen vorrangig auf Wechselwirkungen mit Komplex III zurückzuführen sein könnten; dies lässt sich jedoch aus den erhobenen Daten allein nicht mit Sicherheit belegen.

Festzustellen bleibt zudem, dass sich die beobachteten Effekte der Psychopharmaka schwerlich quantifizieren lassen: An isolierten Rattenlebermitochondrien beispielsweise scheint eine deutlich geringere Konzentration für eine 50%ige Hemmung der Komplex II/III-Aktivität erforderlich zu sein als an Homogenaten des menschlichen Frontalcortex [106, 111]. Dennoch stimmen die aufgeführten Arbeiten tendenziell darin überein, dass Neuroleptika einen weitaus stärkeren inhibitorischen Einfluss auf Komplex I/III als auf Komplex II/III ausüben.

Dahingegen zeigen die Ergebnisse von Hroudova und Fisar [73] zwar für alle getesteten Psychopharmaka mit Ausnahme von Venlafaxin und Moclobemid einen deutlicheren inhibitorischen Effekt auf Komplex I gegenüber Komplex II; mögliche Einflüsse auf Komplex III wurden hierbei jedoch nicht untersucht, sodass diese Beobachtungen der These,

dass Antidepressiva stärkere hemmende Wirkungen auf Komplex III gegenüber Komplex I ausüben, nicht entgegenstehen.

### **5.4. Beurteilung der Ergebnisse**

Bei der zusammenfassenden Beurteilung der gefundenen Ergebnisse lassen sich folgende Feststellungen treffen: Die untersuchten Antidepressiva scheinen in menschlichem Hirngewebe in-vitro unterschiedlich starke, hemmende Effekte auf die mitochondriale Elektronentransportkette auszuüben. Dabei wurden generell stärker ausgeprägte inhibitorische Wirkungen auf die Atmungskettenkomplexe durch die Antidepressiva der ersten Generation Amitriptylin, Nortriptylin und Brofaromin sowie den SSRI Fluoxetin bewirkt; der SNRI Venlafaxin zeichnete sich demgegenüber durch die geringste Beeinflussung der Enzymaktivität aus.

Die vorliegende Untersuchung erbrachte, dass der Hauptangriffspunkt der Testsubstanzen in Komplex II/III der Atmungskette zu liegen scheint; diese Feststellung steht im Gegensatz zu den für Neuroleptika erhobenen Beobachtungen, die ihre hemmenden Wirkungen vorrangig über Komplex I vermitteln. Dabei veranschaulichen die Dosis-Wirkungs-Kurven die Konzentrationsabhängigkeit der beobachteten Effekte auf die Enzymaktivität. Für Komplex II/III ließ sich durch die potentesten Inhibitoren unter den Testsubstanzen bei den höchsten getesteten Konzentrationen eine rund 80%ige Hemmung erzielen, wohingegen keines der untersuchten Antidepressiva eine mehr als 50%ige Hemmung der Komplex I/III-Aktivität bewirkte. Die SDH-Aktivität wurde von allen getesteten Substanzen in ähnlich geringer Weise beeinflusst.

Zwischen den untersuchten Hirnregionen zeigten sich Unterschiede mit einer tendenziell etwas höheren Empfindlichkeit von Komplex I/III im Präfrontalcortex und Komplex II/III im Hippocampus; diese Tendenzen fanden sich aber nicht in gleicher Weise für alle Testsubstanzen. Des Weiteren stellte sich heraus, dass allein die chemische Struktur und die Zugehörigkeit eines Antidepressivums zu einer bestimmten Untergruppe dieser Substanzklasse nur bedingt Rückschlüsse auf seine Wirkungen auf die mitochondriale Atmungskette erlauben: Die strukturverwandten TCA Amitriptylin und Nortriptylin unterschieden sich deutlich in ihren Wirkungen auf die Atmungskettenenzyme. In niedrigeren Konzentrationsbereichen – die am ehesten von klinischem Interesse sein mögen – erwies sich Nortriptylin als stärkerer Inhibitor der Enzymaktivität von Komplex II/III sowie Komplex I/III (hier allerdings nur im Präfrontalcortex). Da Nortriptylin sich jedoch gegenüber der Muttersubstanz Amitriptylin durch ein günstigeres Nebenwirkungsprofil auszeichnet, würde das dafür sprechen, dass eine Hemmung der Atmungskette sich klinisch nicht unmittelbar negativ auswirken muss.



## Diskussion

Andererseits ließe sich aus den gefundenen Ergebnissen unter Umständen auch ein Zusammenhang mit den Unterschieden im klinischen Wirkprofil zwischen Nortriptylin und Amitriptylin (psychomotorisch aktivierend versus sedierend) ableiten. Doch auch wenn das an dieser Stelle zu gewagt erscheinen mag, so ist es in jedem Fall im Hinblick auf die klinisch zu beobachtenden Nebenwirkungsprofile plausibel, dass sich diese beiden Substanzen hinsichtlich ihrer Effekte auf die Atmungskette unterscheiden.

Vergleicht man die drei getesteten SSRI untereinander, so werden auf den ersten Blick Unterschiede zwischen Fluoxetin einerseits und Citalopram und Escitalopram andererseits deutlich. Während Escitalopram bei 1 mM Konzentration gegenüber Citalopram tendenziell etwas stärker hemmend auf alle getesteten Enzymkomplexe wirkte, schien Fluoxetin in seinen Wirkungen auf die Enzymkomplexe der Atmungskette größere Ähnlichkeit mit den TCA als mit den anderen untersuchten SSRI aufzuweisen. Diese Beobachtungen sind zunächst überraschend; Citalopram scheint den vorliegenden Ergebnissen zufolge eher weniger Einfluss auf die Atmungskettenenzyme auszuüben als das isolierte S-Enantiomer Escitalopram, das als der selektivste SSRI gilt und sich durch ein schnelleres klinisches Ansprechen bei günstigerem Nebenwirkungsprofil auszeichnet. Demgegenüber erscheint es durchaus plausibel, dass Fluoxetin als der SSRI mit den meisten Berichten über unerwünschte Nebenwirkungen und der höchsten Inzidenz von EPMS auch eine stärkere Hemmung der Atmungskette bewirkt. Zu beachten bleibt ferner, dass die maximale therapeutische Dosierung bei Citalopram mit 60 mg/d dreimal so hoch ist wie die von Escitalopram (20 mg/d), während die Tageshöchstdosis für Fluoxetin 80 mg/d beträgt [75]. Vom klinischen Standpunkt aus wäre also tatsächlich der stärkste hemmende Effekt durch Fluoxetin zu erwarten, wohingegen sich die geringfügig größere inhibitorische Potenz von Escitalopram gegenüber Citalopram aufgrund der unterschiedlichen Dosierung eher nicht bemerkbar machen sollte.

Ein möglicher Erklärungsansatz für die beobachteten Unterschiede in den Wirkungen der untersuchten Antidepressiva auf die Elektronentransportkette ist in der chemischen Struktur der Substanzen zu suchen, die für spezifische Wechselwirkungen mit Komponenten der jeweiligen Enzymkomplexe mitverantwortlich sein mag.

Der SNRI Venlafaxin, der sich im Vergleich mit den anderen Testsubstanzen durch die geringste Einflussnahme auf die Aktivität der Atmungskettenenzyme auszeichnet, ist auch strukturell mit keiner der anderen Substanzen verwandt [114, 170], was die Hypothese stützen würde, dass die chemische Struktur eines Antidepressivums unter anderem ein entscheidender Faktor für seine Wirkungen auf die Enzymkomplexe der Atmungskette ist. Dennoch kann dies allein keine

hinreichende Erklärung für die Beobachtungen der vorliegenden Studie sein; so wurden für Brofaromin und Fluoxetin beispielsweise trotz fehlender Strukturgemeinsamkeiten teilweise starke Ähnlichkeiten mit den beiden TCA bezüglich der Effekte auf die Elektronentransportkette herausgestellt.

Hinsichtlich der Mechanismen, über die die Testsubstanzen die Atmungskettenenzyme beeinflussen, lassen sich an dieser Stelle nur Vermutungen äußern. Für Fluoxetin wurde an isolierten Rattenlebermitochondrien nachgewiesen, dass es einen spannungsabhängigen Anionenkanal (VDAC, voltage-dependent anion channel) der Mitochondrienmembran inhibiert und somit mitochondriale Funktionen verändert [118]. Der Einfluss auf die Atmungskette könnte aber insbesondere im Falle von Fluoxetin und den beiden TCA ebenso durch Wechselwirkungen mit Lipidmembranen der Mitochondrien und daraus resultierende Inhibition der Elektronentransportkette bedingt sein. Bereits frühere Studien berichten derartige Effekte für diese Substanzen [9, 151, 169]. Infolge ihrer ausgeprägten Lipophilie zeigen die genannten Antidepressiva die Tendenz zur Akkumulation in Membranen und subzellulären Strukturen insbesondere des ZNS, was die vermehrte Empfindlichkeit neuronaler Mitochondrien gegenüber diesen Pharmaka erklärt [81, 115, 123]. Zudem wirken die getesteten Antidepressiva – wenngleich in unterschiedlichem Ausmaß – auf mehrere Komplexe der Atmungskette, was auch eher gegen eine direkte Enzyminhibition durch Blockade des katalytischen Zentrums spricht [116].

Insgesamt lässt sich zusammenfassend festhalten, dass der SNRI Venlafaxin und die getesteten SSRI weniger hemmend auf die Atmungskettenenzyme zu wirken scheinen als die TCA und der MAO-I Brofaromin; hierbei muss als Ausnahme aber Fluoxetin gelten, das zwar auch zu den SSRI zählt, sich in seinen Effekten auf die mitochondriale Elektronentransportkette aber deutlich von den anderen getesteten Vertretern dieser Substanzklasse unterscheidet.

### **5.5. Bedeutung der Ergebnisse**

Es stellt sich nun die Frage, welche Folgen auf zellulärer Ebene sich aus einer Hemmung der Atmungskettenenzyme ergeben könnten.

Eine Inhibition der Elektronentransportkette hat eine Zunahme der ROS-Produktion zur Folge, da die Elektronen gewissermaßen von ihrem physiologischen Weg „abgelenkt“ werden. Im zweiten Schritt zieht dies eine weitere oxidative Schädigung der Atmungskettenkomplexe nach sich, sodass der eingeleitete Prozess sich selbst verstärkt. Es gibt beispielsweise Vermutungen darüber, dass eine primäre Komplex III-Inhibition durch Chlorimipramin über gesteigerte ROS-

Produktion und oxidativen Stress sekundär möglicherweise eine Hemmung von Komplex I bewirken und somit schließlich zum Zelltod führen könnte [39]. Eine entscheidende Rolle kommt hier der aktuellen Theorie der ROS-induzierten ROS-Freisetzung („ROS-induced ROS-release“, RIRR) zu [175]. Dieser Annahme zufolge bewirkt eine Steigerung der ROS-Produktion bei Überschreiten eines gewissen Schwellenwertes eine Öffnung der mitochondrialen Permeabilitäts-Transitions-Poren (mPTP) und eine Abnahme des mitochondrialen Membranpotentials (MMP). In der weiteren Folge nimmt die ROS-Produktion über die Elektronentransportkette zu, und es kommt schließlich zur ROS-Freisetzung ins Zytosol der Zelle, was dann als RIRR bezeichnet wird. Gemäß dieser Theorie müsste also eine Hemmung eines jeden Komplexes der Atmungskette, sofern sie ein entsprechendes Ausmaß annimmt, über den RIRR-Mechanismus oxidativen Stress in einer Zelle induzieren können. Die Schädigungen, die mit oxidativem Stress einhergehen, sind vielfältiger Natur: Durch Oxidation funktioneller Gruppen kann es zur Funktionsbeeinträchtigung zellulärer Enzyme kommen. Ein prominentes Beispiel hierfür ist der in der Zellmembran von Neuronen und Gliazellen lokalisierte Glutamat-Transporter, dessen Sulfhydryl-Gruppen oxidiert werden können. Hieraus resultiert ein Funktionsverlust des Transporters, Glutamat kann nicht mehr aus dem Extrazellulärraum aufgenommen werden und akkumuliert in Folge; die Konsequenz ist eine Glutamat-abhängige Exzitotoxizität mit Calcium-Überladung der Zelle [25]. Oxidativer Stress kann aber auch sekundär zur sogenannten „indirekten Exzitotoxizität“ beitragen: Der durch Hemmung der Atmungskette provozierte ATP-Mangel bewirkt eine Abnahme des MMP, was zur Aktivierung von NMDA-Rezeptoren und nachfolgend zum Einstrom von Glutamat und damit letztlich wiederum von Calcium führt; letzte Konsequenz all dieser Veränderungen kann schließlich der apoptotische Zelltod sein [5].

Ein Argument für die zentrale Rolle von oxidativem Stress in der Pathophysiologie Antidepressiva-bedingter Nebenwirkungen ist auch die Tatsache, dass zytotoxische Effekte von Psychopharmaka in-vitro teilweise durch Zugabe antioxidativer Substanzen verhindert oder zumindest abgemildert werden können [36].

Des Weiteren resultiert aus einer Hemmung der mitochondrialen Atmungskette eine verminderte ATP-Bereitstellung, wodurch alle zellulären Funktionen beeinträchtigt werden.

### **5.6. Klinische Implikationen**

Hinsichtlich der klinisch-praktischen Implikationen der gefundenen Ergebnisse ist von Interesse, wie stark eine Inhibition der Atmungskettenenzyme sein muss, um sich klinisch bemerkbar zu

## Diskussion

machen, und ob sich aus den Beobachtungen Rückschlüsse hinsichtlich des Nebenwirkungsprofils der jeweiligen Psychopharmaka ziehen lassen.

Einem Review zufolge kommt es zu einer signifikanten Zunahme der ROS-Produktion durch die mitochondriale Atmungskette bei einer Inhibition von Komplex I um etwa 25-30%. Bei Komplex III und IV hingegen findet sich dieser Effekt erst bei einer über 70%igen Inhibition, wobei dann die ROS-Produktion absolut gesehen deutlich stärker zunimmt. Der ausgelöste Effekt ist dabei stark Zelltyp-abhängig: Während bei synaptischen Gehirnmitochondrien bereits durch eine 25%ige Komplex I-Inhibition die ROS-Produktion signifikant zunimmt, ist hierfür bei Homogenaten, die auch neuronale Zellkörper und Glia enthalten – wie es etwa bei der vorliegenden Arbeit der Fall ist – eine Inhibition von mehr als 70% erforderlich. Eine 10%ige Komplex I-Inhibition ist jedoch bereits ausreichend, um die Empfindlichkeit der Mitochondrien gegenüber oxidativem Stress zu steigern, erkenntlich an einer Abnahme des MMP [2].

Die getesteten Antidepressiva verursachen eine Hemmung vorrangig von Komplex II/III, in geringerem Maße auch von Komplex I/III, und haben nur einen minimalen Einfluss auf die SDH-Aktivität. Da jedoch die Atmungskettenenzyme in-vivo nicht unabhängig voneinander betrachtet werden können, sondern in Form supramolekularer „Respirasomen“ miteinander assoziiert sind, ist davon auszugehen, dass eine Störung größeren Ausmaßes sich auf die Gesamtfunktion der Elektronentransportkette auswirken wird, unabhängig davon, welcher der Enzymkomplexe primär betroffen ist [54, 171].

Hierbei ist allgemein anzumerken, dass die Ergebnisse von in-vitro-Untersuchungen keineswegs ohne jegliche Modifikationen auf die Verhältnisse am lebenden Organismus übertragbar sind. Aus dem Vergleich in Tab. 6-8 geht bereits hervor, dass im Allgemeinen signifikante Effekte auf die Atmungskette an isolierten und zerstörten Mitochondrien in-vitro durch geringere Psychopharmaka-Konzentrationen ausgelöst werden als an Gewebe-Homogenaten oder intakten Zellen. Die Beurteilung der Verhältnisse in-vivo ist noch deutlich schwieriger, da zum einen die in den einzelnen Geweben erzielten Psychopharmaka-Konzentrationen sich kaum exakt bestimmen lassen und zum anderen die ausgeprägten interindividuellen Unterschiede unkalkulierbare Einflussfaktoren darstellen. Generell ist aber zu erwarten, dass im lebenden Organismus die Psychopharmaka-induzierten Effekte auf die Atmungskette eher geringer sein werden als in den vorliegenden Experimenten, da einerseits so hohe Konzentrationen selbst im Falle einer Akkumulation der lipophilen Antidepressiva in Mitochondrien des ZNS wohl kaum erreicht werden und andererseits in-vivo komplexe Wechselwirkungen mit metabolisierenden Enzymen und gegebenenfalls mit anderen Arzneimitteln bestehen.

Des Weiteren ist bislang nicht genau bekannt, in welcher Weise sich Störungen der Elektronentransportkette klinisch manifestieren. Mitochondrien sind in derart viele komplexe Stoffwechselwege und darüber hinausgehende Funktionen im menschlichen Organismus eingebunden, dass ein Ausfall ihrer Funktion eine unüberschaubare Mannigfaltigkeit klinischer Symptome bedingen kann, darunter Lactatazidose, Kardiomyopathien, Myopathien, Neuropathien, Retinopathien, gastrointestinale Störungen, Ototoxizität, Diabetes mellitus, hepatische Steatose und Hämatoxizität. Häufig findet sich eine Kombination unterschiedlicher Symptome, was eine eindeutige Zuordnung zur auslösenden Ursache zusätzlich erschwert [144]. Ferner ist zu bedenken, dass Patienten, die sich aufgrund einer depressiven Erkrankung einer längerfristigen medikamentösen Therapie unterziehen müssen, nicht selten Comorbiditäten aufweisen. Schon für sich genommen impliziert diese Tatsache die Schwierigkeit der Differenzierung zwischen „endogenen“ Krankheitssymptomen und Antidepressiva-induzierten Nebenwirkungen. Zusätzlich bedeutet dies aber auch, dass viele Patienten neben Antidepressiva noch weitere Medikamente einnehmen, die ihrerseits wiederum Ursache vielseitiger Neben- und Wechselwirkungen sein können.

Zu beachten bleibt außerdem, dass sich eine mitochondriale Funktionsstörung aufgrund der großen funktionellen Reserve erst offenbaren wird, wenn das Ausmaß der Schädigung eine gewisse kritische Schwelle überschritten hat und der Funktionsausfall nicht länger kompensiert werden kann [47]. Effekte auf zellulärer Ebene stellen also ein sehr sensibles Element zum Nachweis mitochondrialer Schäden noch vor dem Auftreten erster klinischer Symptome dar.

Aus diesen Ausführungen wird ersichtlich, dass eine klare Zuordnung klinischer Symptome zu bestimmten Dysfunktionen der mitochondrialen Atmungskette nie mit absoluter Sicherheit erfolgen kann. Wohl aber lassen sich Hypothesen über mögliche Zusammenhänge anhand der vorliegenden Ergebnisse aufstellen.

### **5.7. Nebenwirkungen durch Hemmung der Atmungskette**

Aufgrund der vorliegenden Ergebnisse erscheint es plausibel, anzunehmen, dass Effekte der Antidepressiva auf die mitochondriale Atmungskette zumindest mitverantwortlich sein könnten für manche unter antidepressiver Therapie beobachtete Nebenwirkungen. Für diese Hypothese würde unter anderem sprechen, dass mögliche Nebenwirkungen antidepressiver Langzeitmedikation wie beispielsweise kardiotoxische Effekte, neurologische Symptome in Form kognitiver Störungen oder auch Bewegungsstörungen gerade die Gewebe mit einer überdurchschnittlich hohen Mitochondriendichte betreffen, wie etwa Gehirn, Herz und Skelettmuskel. In diesen Organen mit dem höchsten Energiebedarf wird sich ein durch

## Diskussion

mitochondriale Dysfunktion bedingter ATP-Mangel in erster Linie manifestieren. Daran wird erkennbar, dass sich allein anhand der klinischen Symptomatik keine eindeutigen Rückschlüsse auf den zugrunde liegenden Pathomechanismus ziehen lassen; vermutlich werden jedoch ATP-Depletion und Schädigungen durch oxidativen Stress parallel auftreten und synergistisch zur Manifestation klinischer Symptome beitragen.

Wenn Mitochondrien ein Angriffspunkt von Arzneimittel-Toxizität sind – wie es bei einigen Antidepressiva zumindest in hohen Konzentrationen der Fall zu sein scheint –, so liegt die Annahme nahe, dass sie dadurch gleichermaßen die Ursache sekundärer Toxizität sind, bewirkt durch eine gesteigerte ROS-Produktion, wie es bereits 1999 für Imipramin, Clomipramin und Citalopram an menschlichen Leukämie-Zellen gezeigt werden konnte [172]. In diesem Falle ist davon auszugehen, dass diese Prozesse sich in klinischen Korrelaten widerspiegeln.

Störungen der mitochondrialen Elektronentransportkette werden mit einer Vielzahl degenerativer Erkrankungen und Bewegungsstörungen in Verbindung gebracht, darunter Chorea Huntington, Morbus Parkinson und idiopathische Dystonien [61, 145]. Auch im Zusammenhang mit medikamentösen antidepressiven Therapien finden sich in der Literatur der letzten Jahre gehäuft Berichte über das Auftreten von Bewegungsstörungen (Akathisien, Dystonien, Parkinson-ähnliche Symptome, Restless-Legs-Syndrom), die teilweise in ihrer klinischen Manifestation den unter Neuroleptika-Therapie zu beobachtenden EPMS entsprechen. Interessant ist diesbezüglich, dass ein Erklärungsmodell der Spätdyskinesien oxidative Schädigungen in Folge der Neuroleptika-bedingten Hemmung des Komplexes I der Atmungskette als Ursache der Bewegungsstörungen annimmt [106]. Es gibt Überlegungen, dass ein durch den gestörten Energiemetabolismus bedingtes ständiges Schwanken zwischen Depolarisation und Hyperpolarisation neuronaler Zellen zu Exzitotoxizität und Dysregulationen im Neurotransmitter-Metabolismus führen könnte [133]. Klinisch wären hier Manifestationen in Form unterschiedlicher neurologischer Dysfunktionen denkbar. Bezeichnend ist in diesem Zusammenhang, dass gerade Fluoxetin, das Antidepressivum, das in der Literatur am häufigsten mit der Auslösung EPMS-artiger Bewegungsstörungen in Verbindung gebracht wird, unter den getesteten Antidepressiva zu den stärksten Inhibitoren der Elektronentransportkette gehört. Es könnte also ein Zusammenhang zwischen der Antidepressiva-bedingten Hemmung der Atmungskettenenzyme und dem Risiko für das Auftreten von Nebenwirkungen wie etwa Bewegungsstörungen angenommen werden. Hierbei darf man jedoch nicht vergessen, dass es sich bei Fluoxetin um den am häufigsten eingesetzten und am längsten auf dem Arzneimittelmarkt befindlichen SSRI handelt, sodass allein aus der Tatsache, dass hier die

## Diskussion

meisten Berichte über unerwünschte Nebenwirkungen wie Bewegungsstörungen vorliegen, noch nicht allzu viel geschlossen werden kann. Auch im Zusammenhang mit anderen Antidepressiva wird – wie oben ausführlich dargestellt – über Bewegungsstörungen berichtet. Zudem werden viele Metaanalysen, die neuere Antidepressiva mit älteren Substanzen vergleichen, von der jeweiligen Herstellerfirma finanziert, sodass ein gewisses Maß an „publication bias“ nicht auszuschließen ist [49, 57, 150, 163]. Insgesamt finden sich in der Literatur für alle untersuchten Antidepressiva Berichte über ähnliche Nebenwirkungen; diese scheinen jedoch häufiger zu sein bei den Substanzen, für die in der vorliegenden Arbeit ein stärkerer hemmender Effekt auf die mitochondriale Atmungskette herausgestellt werden konnte, namentlich Fluoxetin, die anderen SSRI, die TCA, und sehr selten nur Venlafaxin (s. Tab. 2). Da Brofaromin klinisch nicht eingesetzt worden ist, finden sich diesbezüglich auch keine Berichte über Nebenwirkungen einer Therapie.

Demgegenüber stehen die Ergebnisse einer Studie aus dem Jahre 2000, in der in-vitro neurotoxische Effekte durch TCA und SSRI, nicht aber durch MAO-I, auf Hippocampus-Zellen von Mäusen beobachtet wurden [130]. In der vorliegenden Arbeit fanden sich jedoch im Vergleich mit den anderen getesteten Antidepressiva besonders starke inhibitorische Effekte auf die untersuchten Atmungskettenkomplexe durch den MAO-I Brofaromin. Dieser scheinbare Widerspruch ist vermutlich zum einen auf Unterschiede in den verwendeten Testsubstanzen, zum anderen auf die unterschiedlichen Untersuchungsmethoden zurückzuführen, denn in der erwähnten Publikation stehen die Einflüsse der Antidepressiva auf Glutathion-Gehalt, NFκB-Aktivität und Zellüberleben im Vordergrund, sodass diese Ergebnisse den beobachteten Effekten auf die Atmungskette und deren möglichen Implikationen nicht entgegenstehen.

An Mäusen wurde beobachtet, dass neurologischer Funktionszustand und Lebenserwartung positiv mit der Aktivität der Atmungskettenkomplexe I und IV und negativ mit dem Ausmaß oxidativer Schädigungen der Mitochondrien korrelieren [23]. Im Hinblick auf die Tatsache, dass die einzelnen Komplexe der Atmungskette als Funktionseinheit zusammenarbeiten, könnte man hieraus schlussfolgern, dass sich auch beim Menschen eine Störung der mitochondrialen Atmungskette negativ auf bestimmte neurologische Funktionen auswirken mag. Diesbezüglich liegen zwar keine konkreten Daten vor, aber es gibt Berichte über eine gesteigerte Rate an Suiziden oder Suizidversuchen unter Therapie mit Antidepressiva, gerade bei jugendlichen Patienten mit SSRI-Medikation (hier insbesondere Fluoxetin) [96, 134]. Die pathophysiologischen Mechanismen auf zellulärer Ebene, die der gesteigerten Suizidalität zugrunde liegen, sind bislang nicht geklärt. Denkbar wäre jedoch, dass eine durch die Antidepressiva

ausgelöste Dysfunktion der mitochondrialen Atmungskette mit daraus resultierender energetischer Unterversorgung bestimmter Gehirnareale hierbei mit eine Rolle spielt. Einer Theorie zufolge besteht ein Zusammenhang zwischen affektiven Störungen und einer Dysfunktion im Energiemetabolismus. Basierend auf der Beobachtung, dass depressive Erkrankungen häufig mit kardiovaskulären Comorbiditäten assoziiert sind, gibt es Vermutungen, dass durch Probleme seitens des Herz-Kreislauf-Systems hypoxische Zustände im ZNS bewirkt werden, die ihrerseits Störungen des zerebralen Energiemetabolismus bedingen. Dies wird als Mitauslöser depressiver Erkrankungen angesehen [113]. Man könnte nun anhand der vorliegenden Ergebnisse mutmaßen, dass einem Nichtansprechen auf medikamentöse antidepressive Therapie oder auch einer vermehrten Suizidalität möglicherweise ein ähnlicher Effekt zugrunde liegt, nämlich eine durch Hemmung der Elektronentransportkette – eventuell bei Patienten mit entsprechender Prädisposition aufgrund kardiovaskulärer Grunderkrankungen – ausgelöste Störung des Energiemetabolismus im ZNS, wodurch die depressive Symptomatik aufrechterhalten oder sogar noch verstärkt werden könnte.

### **5.8. Protektive Effekte durch Hemmung der Atmungskette**

Andererseits könnten von einer Antidepressiva-induzierten Hemmung der Atmungskette auch protektive und gewissermaßen therapeutische Effekte ausgehen.

Einigen Studien zufolge wirken Antidepressiva oxidativem Stress entgegen. Die zugrunde liegenden Mechanismen sind bislang nicht abschließend geklärt; diskutiert werden unter anderem eine gesteigerte Expression antioxidativer Enzyme wie der Glutathion-Peroxidase und der Superoxid-Dismutase und antioxidativer Coenzyme wie Vitamin C und  $\beta$ -Carotin, sowie eine Verminderung der Immunantwort [51, 94].

Zwar finden sich in der Literatur diesbezüglich bislang keine konkreten Untersuchungen, doch wäre es durchaus möglich, dass diese beobachteten protektiven Wirkungen auf Effekte der Antidepressiva auf die Atmungskette zurückzuführen sein könnten. Wie aus Abb. 10 ersichtlich wird, könnten Antidepressiva in sehr geringen Konzentrationen – wie bei den im menschlichen Körper erzielten therapeutischen Konzentrationen – eine leichte Aktivierung einzelner Atmungskettenenzyme bewirken. Dies könnte eine vermehrte Bereitstellung von ATP und somit eine Verbesserung kognitiver sowie körperlicher Funktionen im Allgemeinen zur Folge haben und in gewissem Sinne neue Energie zur Überwindung der Depression bieten. Für diese Hypothese spräche, dass auch für die therapeutischen Effekte der Elektrokrampftherapie im Rahmen depressiver Erkrankungen eine Beeinflussung der Atmungskettenaktivität, vornehmlich



eine Aktivitätssteigerung der Komplexe II und IV, als potentieller Wirkmechanismus angenommen wird [136]. Zudem wurde bereits 1995 nach in-vivo-Gabe von Imipramin über einen Zeitraum von ein bis zwei Wochen an Rattenhirnmitochondrien eine Stimulation der zellulären Atmung beobachtet. Die Autoren schlossen aus der gesteigerten ATP-Produktion, dass hier ein antidepressiver Effekt durch vermehrte Energiebereitstellung unter anderem für Neurotransmittersynthese und -freisetzung erzielt werden könnte [79]. Analog dazu könnten auch die vorliegenden Ergebnisse interpretiert werden.

Aber auch der entgegengesetzte Sachverhalt wäre denkbar, nämlich ein protektiver oder auch therapeutischer Effekt durch eine milde Hemmung der Elektronentransportkette: Einer Studie an Mäusen zufolge könnte eine leichte Aktivitätsminderung der Atmungskette Calcium-abhängige exzitotoxische Hirnschädigungen verhindern und die Lebenserwartung verlängern [40].

Es wird angenommen, dass depressive Erkrankungen mit einem verminderten Gehalt mehrfach ungesättigter Fettsäuren in zellulären Membranen sowie einer verringerten Expression antioxidativer Enzyme und Coenzyme bei gleichzeitig vermehrter Expression pro-inflammatorischer Zytokine einhergehen [51]. Zudem soll durch den bereits geschilderten Neurotrophin-Mangel die Empfindlichkeit neuronaler Zellen gegenüber neurotoxischen Schädigungen erhöht sein [6]. Zunehmend finden sich in der Literatur Hinweise dafür, dass psychiatrische Erkrankungen mit strukturellen und funktionellen Veränderungen der Mitochondrien einhergehen. So wurden beispielsweise neuroanatomische Auffälligkeiten hinsichtlich der Morphologie von Komplex I-Untereinheiten in Gehirnmitochondrien sowie pathologische Aktivitäten mitochondrialer Enzyme im Muskelgewebe depressiver Patienten nachgewiesen [16, 136]. Vor diesem Hintergrund wäre es denkbar, dass depressive Störungen von vorn herein mit einer Dysfunktion der mitochondrialen Atmungskette einhergehen, sodass die Beeinflussung der Atmungskette durch Antidepressiva hier möglicherweise therapeutischen Nutzen im Sinne einer Normalisierung des gestörten Energiemetabolismus darstellen könnte. Zur Verifizierung dieser Hypothese wären jedoch weitere Untersuchungen nötig; die vorliegenden Daten können hier lediglich Anlass zu Vermutungen bieten.

### **5.9. Ausblick und weiterer Forschungsbedarf**

Die vorliegende Arbeit zeigt, dass Antidepressiva in-vitro vor allem in hohen Konzentrationen hemmende Wirkungen auf die mitochondriale Atmungskette in menschlichem Hirngewebe ausüben.

Die dargestellten Ergebnisse könnten unter Umständen weitreichende klinische Implikationen haben. Zum einen gewinnt das Thema der „Mitotoxizität“ gerade im Rahmen langjähriger

## Diskussion

medikamentöser Therapien immer mehr an Bedeutung. Die Kenntnis möglicher Spätfolgen einer antidepressiven Therapie kann dazu beitragen, eventuelle Schädigungen auf zellulärer Ebene nach Möglichkeit zu verhindern oder zumindest rechtzeitig zu erkennen und somit Patienten künftig vor unerwünschten Nebenwirkungen einer Medikation mit Antidepressiva zu schützen. Dies ist aus klinischer sowie sozioökonomischer Sicht umso bedeutender, als die Prävalenz depressiver Erkrankungen gerade auch unter Kindern und Jugendlichen zunimmt [96] und Antidepressiva darüber hinaus vielfältige Anwendung in anderen Gebieten der Medizin, wie etwa der Schmerz- und Tumorthherapie, finden.

Hierbei besteht noch Forschungsbedarf. Zum einen wäre es wünschenswert, in die durchgeführte Testung noch weitere, insbesondere neuere Substanzen aus der Klasse der Antidepressiva aufzunehmen (wie beispielsweise den NARI Reboxetin, den NDRI Bupropion und den Melatonin-Rezeptoragonisten Agomelatin), und auch Komplex IV der Elektronentransportkette mit in die Untersuchungen einzubeziehen. Zum anderen sollten auch zusätzliche Hirnregionen untersucht werden, beispielsweise weitere Cortexregionen, Cerebellum und Amygdala, da auch für diese Gebiete eine Implikation in die Pathophysiologie depressiver Erkrankungen angenommen wird. Eine Limitation der vorliegenden Arbeit ist, dass das untersuchte Gehirngewebe von einem einzigen Individuum stammte; um eine größere Verallgemeinerbarkeit zu erzielen, wäre es erforderlich, weiteres Probenmaterial zu untersuchen, vorzugsweise als Vergleich zwischen Gehirngewebe gesunder Probanden und Patienten mit depressiven Erkrankungen, nach Möglichkeit auch unter Verwendung von Material von Menschen unterschiedlicher Altersstufen.

Mit der eingesetzten Methode ist zudem keine Aussage über den genauen Mechanismus möglich, über den Antidepressiva die Atmungskette hemmen. Eine diesbezügliche Aufklärung wäre jedoch von Interesse, um gezielt in diese Vorgänge eingreifen zu können. Darüber hinaus böte es sich an, die durchgeführten Experimente unter Zugabe von Substanzen mit antioxidativen Eigenschaften, wie etwa Glutathion, Ascorbinsäure oder  $\alpha$ -Tocopherol, zu wiederholen unter der Fragestellung, ob diese Substanzen möglicherweise eine Antidepressiva-induzierte Hemmung der Atmungskette verhindern können.

Ein Vorzug der vorliegenden Arbeit liegt in der Verwendung menschlichen Hirngewebes, was durch die stark begrenzte Verfügbarkeit jedoch zwangsläufig die oben genannten Einschränkungen mit sich bringt. Da aber die Ergebnisse von in-vitro durchgeführten Studien nicht ohne weiteres auf die Verhältnisse in-vivo übertragbar sind, wären Studien an Tiermodellen und in weiteren Schritten klinische Studien an menschlichen Probanden

## Diskussion

wünschenswert, um die in-vitro gefundenen Zusammenhänge zu bestätigen. Basierend auf den Ergebnissen entsprechender in-vitro-Versuche wäre beispielsweise zu prüfen, ob die Coadministration antioxidativer Substanzen zusammen mit der erforderlichen antidepressiven Medikation die Inzidenz von Nebenwirkungen senken kann.

Weiterreichende Implikationen könnten die gefundenen Ergebnisse auch auf dem Gebiet der Tumorthherapie haben, zumal Antidepressiva in der Tumorforschung immer mehr ins Zentrum des Interesses rücken. Es ist bekannt, dass Antidepressiva – unter anderem Amitriptylin, Citalopram und Fluoxetin – in-vitro zytotoxische Wirkungen auf menschliche Tumorzellen ausüben. Über die genauen Mechanismen, die letztlich zur Apoptose dieser Zellen führen, herrscht größtenteils noch Unklarheit; vermutet wird jedoch ein nicht-mitochondrialer Weg des Zelltods [7, 67, 171]. Es gibt allerdings auch Hinweise, dass die zytotoxische Wirkung antidepressiver Substanzen auf Tumorzellen über eine Hemmung der Atmungskette vermittelt wird: In einer in-vitro-Studie wurde nachgewiesen, dass Chlorimipramin Apoptose in menschlichen Glioblastomzellen induziert und die Elektronentransportkette, insbesondere Komplex III, in isolierten Rattenmitochondrien unterschiedlicher Gewebetypen inhibiert [39]. Die Autoren schlossen daraus, dass eine Hemmung von Komplex III mit nachfolgend gesteigerter ROS-Produktion über oxidative Schädigung sekundär auch eine Komplex I-Inhibition und letztlich den Zelltod über den Weg der Apoptose oder auch Nekrose bewirkt. Dieser Befund könnte von Bedeutung sein für die Tumorthherapie, da maligne Tumoren häufig bereits funktionskompromittierte Mitochondrien mit einer verminderten Aktivität der Elektronentransportkette aufweisen. Eine Therapie mit Medikamenten, die die mitochondriale Atmungskette hemmen, würde daher selektiv gerade die Tumorzellen schädigen, da diese im Vergleich zu den gesunden Gewebezellen über eine geringere funktionelle Reservekapazität bezüglich der Mitochondrien verfügen und somit eine mitochondriale Dysfunktion mit ihren Folgen auf den Energiemetabolismus schlechter kompensieren können. Wie aus der vorliegenden Arbeit hervorgeht, wären die getesteten TCA sowie Brofaromin und Fluoxetin potentielle Kandidaten für eine solche medikamentöse Tumorthherapie.

Insgesamt liefert die vorliegende Arbeit einen Beitrag zu einem bislang zu wenig beachteten Themenkomplex im Zusammenhang mit antidepressiven Therapien. Trotz aller oben genannten Einschränkungen können die gefundenen Ergebnisse weitreichende Implikationen für mehrere Bereiche der Medizin darstellen und bieten einen Ansatzpunkt für weitergehende gezielte Forschung auf diesem Themengebiet.

## 6. Zusammenfassung

Ausgehend von Literaturdaten, die auf einen möglichen Zusammenhang zwischen dem Auftreten extrapyramidal-motorischer Störungen (EPMS) unter Neuroleptika-Therapie und hemmenden Effekten dieser Psychopharmaka auf die Enzymkomplexe der mitochondrialen Atmungskette (hierbei insbesondere Komplex I) hinweisen, sollte die vorliegende Untersuchung prüfen, ob auch Antidepressiva in der Lage sind, die Elektronentransportkette der Mitochondrien zu beeinflussen. Da EPMS auch als Nebenwirkung einer Behandlung mit Antidepressiva beobachtet werden, bestand die Vermutung, dass bestimmte antidepressiv wirksame Substanzen ähnliche hemmende Wirkungen auf die Enzyme der Atmungskette ausüben könnten wie Neuroleptika.

In der vorliegenden Pilotstudie wurden in-vitro-Effekte von Amitriptylin, Nortriptylin, Fluoxetin, Citalopram, Escitalopram, Brofaromin und Venlafaxin auf die Atmungskettenenzyme SDH, Komplex I/III und Komplex II/III in Homogenaten aus tiefgefrorenen Proben des Hippocampus und Präfrontalcortex eines an einem Myokardinfarkt verstorbenen Mannes ohne psychiatrische und neurodegenerative Erkrankungen untersucht. Es sollte geprüft werden, welches der ausgewählten Antidepressiva die stärkste inhibitorische Potenz hat und ob die Enzymkomplexe der Atmungskette in den beiden untersuchten Hirnregionen unterschiedlich empfindlich auf Antidepressiva reagieren würden.

Die Untersuchung erfolgte in zwei Schritten: Ein Screening-Test bei einer relativ hohen Konzentration der Testsubstanzen von 1 mM sollte zunächst dazu dienen, diejenigen Wirkstoffe zu identifizieren, die mehr als 20% Hemmung der Enzymaktivität bewirkten. Im zweiten Schritt wurde nur für diese Substanzen die Konzentrationsabhängigkeit der beobachteten Effekte analysiert. Alle Messungen erfolgten als Doppelbestimmung in vier bis acht separaten Experimenten.

Die Untersuchungsergebnisse zeigten, dass bei einer Konzentration von 1 mM keine der Testsubstanzen eine nennenswerte Beeinflussung der SDH-Aktivität in den untersuchten Hirnregionen bewirkte (Hemmung < 20%).

Komplex I/III erfuhr bei 1 mM Konzentration eine mehr oder weniger starke, jedoch signifikante Hemmung durch alle Antidepressiva mit Ausnahme von Venlafaxin und Citalopram im Präfrontalcortex bzw. mit Ausnahme von Citalopram im Hippocampus. Die stärkste Inhibition bei dieser Konzentration erzielten die Substanzen Brofaromin, Fluoxetin und Nortriptylin, wobei die Effekte in beiden Hirnregionen ähnlich waren (zwischen 27% und 40% Hemmung der Enzymaktivität).

## Zusammenfassung

Die stärksten hemmenden Wirkungen waren für alle Antidepressiva außer Venlafaxin an Komplex II/III in beiden Hirnregionen zu beobachten. Bei einer Konzentration von 1 mM bewirkten Brofaromin, Fluoxetin, Nortriptylin und Amitriptylin eine Hemmung der Komplex II/III-Aktivität im Bereich von 45% bis 59%.

Für alle untersuchten Antidepressiva fand sich eine Konzentrationsabhängigkeit der auf Komplex I/III und Komplex II/III erzielten Effekte. Im Präfrontalcortex zeigten sich für Brofaromin und Nortriptylin sehr ähnliche Verläufe der Dosis-Wirkungs-Kurven für Komplex II/III mit einer schwachen Hemmung der Enzymaktivität im Konzentrationsbereich zwischen 25  $\mu$ M und 250  $\mu$ M. Die maximal erzielbare Hemmung der Komplex II/III-Aktivität lag bei durchschnittlich 58-82% und wurde bei Konzentrationen ab etwa 1 mM erreicht.

Amitriptylin, die Muttersubstanz des Nortriptylins, bewirkte dagegen zunächst eine leichte, jedoch signifikante Aktivierung des Komplexes II/III im Präfrontalcortex bei Konzentrationen zwischen 50  $\mu$ M und 100  $\mu$ M; ab 500-750  $\mu$ M kam es zu einem steilen Aktivitätsabfall mit maximaler Hemmung von knapp 80% bei einer Konzentration von 2-3 mM. Im Hippocampus dahingegen wirkte Amitriptylin im gesamten getesteten Konzentrationsbereich inhibitorisch auf Komplex II/III. Dieser Befund erklärt möglicherweise die unterschiedlichen  $IC_{50}$ -Werte für Amitriptylin in den untersuchten Hirnregionen (Präfrontalcortex: 1,21 mM; Hippocampus: 0,81 mM).

Fluoxetin und Brofaromin erwiesen sich von allen untersuchten Antidepressiva als die potentesten Inhibitoren des Komplexes II/III. Die  $IC_{50}$ -Werte für Brofaromin waren in beiden Hirnregionen ähnlich (Präfrontalcortex: 0,74 mM; Hippocampus: 0,85 mM). Für Fluoxetin zeigten sich Unterschiede zwischen den  $IC_{50}$ -Werten in Präfrontalcortex und Hippocampus: Hier war eine deutlich größere Empfindlichkeit des Komplexes II/III im hippocampalen Gewebe zu beobachten ( $IC_{50} = 0,59$  mM versus  $IC_{50} = 1,13$  mM im Präfrontalcortex).

Die Ergebnisse der vorliegenden Pilotuntersuchung an menschlichem Hirngewebe zeigen, dass einige Antidepressiva unter in-vitro-Bedingungen im Unterschied zu Neuroleptika weniger Komplex I/III, sondern eher Komplex II/III der Atmungskette hemmen.

Da die Ergebnisse von in-vitro-Studien nicht ohne weiteres auf die Verhältnisse am lebenden Organismus übertragbar sind und zudem das untersuchte Hirngewebe nur von einem Probanden stammte, besteht hier weiterer Forschungsbedarf, auch hinsichtlich der Aufklärung der exakten Mechanismen, über die Antidepressiva die Atmungskettenenzyme inhibieren. Als Beitrag zu einem bislang wenig untersuchten, aber klinisch bedeutsamen Themenkomplex können die vorliegenden Ergebnisse Anstoß zu weiterführenden gezielten Untersuchungen bieten.

## 7. Literaturverzeichnis

1. Achee FM, Gabay S. Studies of monoamine oxidases. Inhibition of bovine brain MAO in intact mitochondria by tricyclic antidepressant drugs. *Biochem Pharmacol* 1979;28(7):1197–1203.
2. Adam-Vizi V. Production of reactive oxygen species in brain mitochondria: contribution by electron transport chain and non-electron transport chain sources. *Antioxid Redox Signal* 2005;7(9-10):1140–1149.
3. Altindag A, Yanik M, Asoglu M. The emergence of tics during escitalopram and sertraline treatment. *Int Clin Psychopharmacol* 2005;20(3):177–178.
4. Amacher DE. Drug-associated mitochondrial toxicity and its detection. *Curr Med Chem* 2005;12(16):1829–1839.
5. Andreassen OA, Jørgensen HA. Neurotoxicity associated with neuroleptic-induced oral dyskinesias in rats. Implications for tardive dyskinesia? *Prog Neurobiol* 2000;61(5):525–541.
6. Angelucci F, Brenè S, Mathé AA. BDNF in schizophrenia, depression and corresponding animal models. *Mol Psychiatry* 2005;10(4):345–352.
7. Arimochi H, Morita K. Characterization of cytotoxic actions of tricyclic antidepressants on human HT29 colon carcinoma cells. *Eur J Pharmacol* 2006;541(1-2):17–23.
8. Aronson S, Delgado P. Escitalopram. *Drugs Today (Barc)* 2004;40(2):121–131.
9. Bachmann E, Zbinden G. Effect of antidepressant and neuroleptic drugs on respiratory function of rat heart mitochondria. *Biochem Pharmacol* 1979;28(24):3519–3524.
10. Bähr M, Frotscher M. *Neurologisch-topische Diagnostik*. 9. Auflage. Stuttgart. Thieme Verlag, 2009.
11. Baldessarini RJ, Marsh E. Fluoxetine and side effects. *Arch Gen Psychiatry* 1990;47(2):191–192.
12. Balijepalli S, Kenchappa RS, Boyd MR, et al. Protein thiol oxidation by haloperidol results in inhibition of mitochondrial complex I in brain regions: comparison with atypical antipsychotics. *Neurochem Int* 2001;38(5):425–435.
13. Barrientos A, Fontanesi F, Díaz F. Evaluation of the mitochondrial respiratory chain and oxidative phosphorylation system using polarography and spectrophotometric enzyme assays. *Curr Protoc Hum Genet* 2009;Chapter 19:Unit 19.3.

## Literaturverzeichnis

14. Barrientos A, Marín C, Miró O, et al. Biochemical and molecular effects of chronic haloperidol administration on brain and muscle mitochondria of rats. *J Neurosci Res* 1998;53(4):475–481.
15. Bauer M, Tharmanathan P, Volz HP, et al. The effect of venlafaxine compared with other antidepressants and placebo in the treatment of major depression: a meta-analysis. *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci* 2009;259(3):172–185.
16. Ben-Shachar D, Karry R. Neuroanatomical pattern of mitochondrial complex I pathology varies between schizophrenia, bipolar disorder and major depression. *PLoS One* 2008;3(11):e3676.
17. Berton O, Nestler EJ. New approaches to antidepressant drug discovery: beyond monoamines. *Nat Rev Neurosci* 2006;7(2):137–151.
18. Bessa JM, Ferreira D, Melo I, et al. The mood-improving actions of antidepressants do not depend on neurogenesis but are associated with neuronal remodeling. *Mol Psychiatry* 2009;14(8):767–773.
19. Bigos KL, Pollock BG, Aizenstein HJ, et al. Acute 5-HT reuptake blockade potentiates human amygdala reactivity. *Neuropsychopharmacology* 2008;33(13):3221–3225.
20. Bilen S, Saka M, Ak F, et al. Persistent dystonia induced by fluoxetine. *Intern Med J* 2008;38(8):672–674.
21. Billups SJ, Delate T, Dugan D. Evaluation of risk factors for elevated tricyclic antidepressant plasma concentrations. *Pharmacoepidemiol Drug Saf* 2009;18(3):253–257.
22. Bouchard R, Pourcher E, Vincent P. Fluoxetine and Extrapiramidal Side Effects. *Am J Psychiatry* 1989;146(10):1352-1353.
23. Boveris A, Navarro A. Brain mitochondrial dysfunction in aging. *IUBMB Life* 2008;60(5):308–314.
24. Budman CL, Bruun RD. Persistent dyskinesia in a patient receiving fluoxetine. *Am J Psychiatry* 1991;148(10):1403.
25. Burger ME, Fachineto R, Alves A, et al. Acute reserpine and subchronic haloperidol treatments change synaptosomal brain glutamate uptake and elicit orofacial dyskinesia in rats. *Brain Res* 2005;1031(2):202–210
26. Burkhardt C, Kelly JP, Lim YH, et al. Neuroleptic medications inhibit complex I of the electron transport chain. *Ann Neurol* 1993;33(5):512–517.

## Literaturverzeichnis

27. Byczkowski JZ, Borysewicz R. The action of chlorpromazine and imipramine on rat brain mitochondria. *Gen Pharmacol* 1979;10(5):369–372.
28. Caley CF. Extrapyramidal reactions and the selective serotonin-reuptake inhibitors. *Ann Pharmacother* 1997;31(12):1481–1489.
29. Casademont J, Garrabou G, Miró O, et al. Neuroleptic treatment effect on mitochondrial electron transport chain: peripheral blood mononuclear cells analysis in psychotic patients. *J Clin Psychopharmacol* 2007;3(27):284–288.
30. Casey DE. Tardive dyskinesia: pathophysiology and animal models. *J Clin Psychiatry* 2000;61(Suppl 4):5–9.
31. Chan K, Truong D, Shangari N, et al. Drug-induced mitochondrial toxicity. *Expert Opin Drug Metab Toxicol* 2005;1(4):655–669.
32. Chretien D, Rustin P. Mitochondrial oxidative phosphorylation: pitfalls and tips in measuring and interpreting enzyme activities. *J Inher Metab Dis* 2003;26(2-3):189–198.
33. Clark JB, Nicklas WJ. The metabolism of rat brain mitochondria. Preparation and characterization. *J Biol Chem* 1970;245(18):4724–4731.
34. Clayton AH. Antidepressant-induced tardive dyskinesia: review and case report. *Psychopharmacol Bull* 1995;31(2):259-264.
35. Conforti D, Borgherini G, Fiorellini Bernardis LA, et al. Extrapyramidal symptoms associated with the adjunct of nortriptyline to a venlafaxine-valproic acid combination. *Int Clin Psychopharmacol* 1999;14(3):197-198.
36. Cordero MD, Moreno-Fernández AM, Gomez-Skarmeta JL, et al. Coenzyme Q10 and alpha-tocopherol protect against amitriptyline toxicity. *Toxicol Appl Pharmacol* 2009;235(3):329–337.
37. Coulter DM, Pillans PI. Fluoxetine and extrapyramidal side effects. *Am J Psychiatry* 1995;152(1):122-125.
38. Curti C, Mingatto FE, Polizello AC, et al. Fluoxetine interacts with the lipid bilayer of the inner membrane in isolated rat brain mitochondria, inhibiting electron transport and  $F_1F_0$ -ATPase activity. *Mol Cell Biochem* 1999;199(1-2):103–109.
39. Daley E, Wilkie D, Loesch A, et al. Chlorimipramine: a novel anticancer agent with a mitochondrial target. *Biochem Biophys Res Commun* 2005;328(2):623-632.
40. Dell'agnello C, Leo S, Agostino A, et al. Increased longevity and refractoriness to  $Ca^{2+}$ -dependent neurodegeneration in Surf1 knockout mice. *Hum Mol Genet* 2007;16(4):431–444.



## Literaturverzeichnis

41. Dhalla NS, Lee SL, Takeo S, et al. Effects of chlorpromazine and imipramine on rat heart subcellular membranes. *Biochem Pharmacol* 1980;29(4):629–633.
42. Drevets WC. Neuroimaging and neuropathological studies of depression: implications for the cognitive-emotional features of mood disorders. *Curr Opin Neurobiol* 2001;11(2):240–249.
43. Duggal HS, Kithas J. Possible neuroleptic malignant syndrome with aripiprazole and fluoxetine. *Am J Psychiatry* 2005;162(2):397–398.
44. Duggal HS, Mendhekar DN. A case report of reemergence of antipsychotic-induced dyskinesia with citalopram. *J Clin Psychiatry* 2007;68(5):803.
45. Duman RS, Monteggia LM. A neurotrophic model for stress-related mood disorders. *Biol Psychiatry* 2006;59(12):1116–1127.
46. Dykens JA, Jamieson JD, Marroquin LD, et al. In vitro assessment of mitochondrial dysfunction and cytotoxicity of nefazodone, trazodone, and buspirone. *Toxicol Sci* 2008;103(2):335–345.
47. Dykens JA, Will Y. The significance of mitochondrial toxicity testing in drug development. *Drug Discov Today* 2007;12(17-18):777–785.
48. Egashira T, Takayama F, Yamanaka Y. Effects of long-term treatment with dicyclic, tricyclic, tetracyclic, and noncyclic antidepressant drugs on monoamine oxidase activity in mouse brain. *Gen Pharmacol* 1996;27(5):773–778.
49. Einarson TR, Arikian SR, Casciano J, et al. Comparison of extended-release venlafaxine, selective serotonin reuptake inhibitors, and tricyclic antidepressants in the treatment of depression: a meta-analysis of randomized controlled trials. *Clin Ther* 1999;21(2):296–308.
50. El-Armouche A, Zolk O, Eschenhagen T. Citalopram. *Dtsch Med Wochenschr* 2003;128(43):2253–2256.
51. Eren I, Naziroğlu M, Demirdaş A. Protective effects of lamotrigine, aripiprazole and escitalopram on depression-induced oxidative stress in rat brain. *Neurochem Res* 2007;32(7):1188–1195.
52. Eto K, Fukuda T, Araki Y, et al. Effect of tricyclic drugs on mitochondrial membrane. *Acta Med Okayama* 1985;39(4):289–295.
53. Fann WE, Sullivan JL, Richman BW. Dyskinesias associated with tricyclic antidepressants. *Br J Psychiatry* 1976;128:490–493.

## Literaturverzeichnis

54. Fernández-Vizarra E, Tiranti V, Zeviani M. Assembly of the oxidative phosphorylation system in humans: what we have learned by studying its defects. *Biochim Biophys Acta* 2009;1793(1):200–211.
55. Fishbain, DA. Fluoxetine and Extrapyramidal Side Effects. *Am J Psychiatry* 1996;153(3):449.
56. Fossati P, Radtchenko A, Boyer P. Neuroplasticity: from MRI to depressive symptoms. *Eur Neuropsychopharmacol* 2004;14(Suppl 5):503–510.
57. Gartlehner G, Gaynes BN, Hansen RA, et al. Comparative benefits and harms of second-generation antidepressants: background paper for the American College of Physicians. *Ann Intern Med* 2008;149(10):734–750.
58. Gellerich FN, Trumbeckaite S, Müller T, et al. Energetic depression caused by mitochondrial dysfunction. *Mol Cell Biochem* 2004;256-257(1-2):391–405.
59. Gerber PE, Lynd LD. Selective serotonin-reuptake inhibitor-induced movement disorders. *Ann Pharmacother* 1998;32(6):692–698.
60. Gill HS, DeVane CL, Risch SC. Extrapyramidal symptoms associated with cyclic antidepressant treatment: a review of the literature and consolidating hypotheses. *J Clin Psychopharmacol* 1997;17(5):377–389.
61. Goff DC, Tsai G, Beal MF, et al. Tardive dyskinesia and substrates of energy metabolism in CSF. *Am J Psychiatry* 1995;152(12):1730–1736.
62. González-Pardo H, Conejo NM, Arias JL, et al. Changes in brain oxidative metabolism induced by inhibitory avoidance learning and acute administration of amitriptyline. *Pharmacol Biochem Behav* 2008;89(3):456–462.
63. Gruber AJ, Hudson JI, Pope HG Jr. The management of treatment-resistant depression in disorders on the interface of psychiatry and medicine. Fibromyalgia, chronic fatigue syndrome, migraine, irritable bowel syndrome, atypical facial pain, and premenstrual dysphoric disorder. *Psychiatr Clin North Am* 1996;19(2):351–369.
64. Guaiana G, Barbui C, Hotopf M. Amitriptyline for depression. *Cochrane Database Syst Rev* 2007;18(3):CD004186.
65. Härter M, Klesse C, Bermejo I, et al. Evidence-based therapy of depression: S3 guidelines on unipolar depression. *Nervenarzt* 2010;81(9):1049-1068.
66. Haleem DJ, Samad N, Haleem MA. Reversal of haloperidol-induced tardive vacuous chewing movements and supersensitive somatodendritic serotonergic response by buspirone in rats. *Pharmacol Biochem Behav* 2007;87(1):115–121.

## Literaturverzeichnis

67. Han YS, Lee CS. Antidepressants reveal differential effect against 1-methyl-4-phenylpyridinium toxicity in differentiated PC12 cells. *Eur J Pharmacol* 2009;604(1-3):36–44.
68. Harrison PJ. The neuropathology of primary mood disorder. *Brain* 2002;125(Pt 7):1428–1449.
69. Hatefi Y. Preparation and properties of NADH: Ubiquinone oxidoreductase (complex I), EC 1.6.5.3. *Methods Enzymol* 1978;53:11–14.
70. Hatefi Y. Resolution of complex II and isolation of succinate dehydrogenase (EC 1.3.99.1). *Methods Enzymol* 1978;53:27–35.
71. Hatefi Y, Stiggall DL. Preparation and properties of succinate: ubiquinone oxidoreductase (complex II). *Methods Enzymol* 1978;53:21–27.
72. Heninger GR, Delgado PL, Charney DS. The revised monoamine theory of depression: a modulatory role for monoamines, based on new findings from monoamine depletion experiments in humans. *Pharmacopsychiatry* 1996;29(1):2–11.
73. Hroudova J, Fisar Z. Activities of respiratory chain complexes and citrate synthase influenced by pharmacologically different antidepressants and mood stabilizers. *Neuro Endocrinol Lett* 2010;31(3):336-342.
74. Jou SH, Chiu NY, Liu CS. Mitochondrial dysfunction and psychiatric disorders. *Chang Gung Med J* 2009;32(4):370-379.
75. Karow T, Lang-Roth R. *Allgemeine und Spezielle Pharmakologie und Toxikologie*. 18. Auflage. Pulheim, 2010.
76. Kasper S, Sacher J, Klein N, et al. Differences in the dynamics of serotonin reuptake transporter occupancy may explain superior clinical efficacy of escitalopram versus citalopram. *Int Clin Psychopharmacol* 2009;24(3):119–125.
77. Kato T, Kato N. Mitochondrial dysfunction in bipolar disorder. *Bipolar Disord* 2000;2(3 Pt 1):180–190.
78. Katyare SS, Rajan RR. Enhanced oxidative phosphorylation in rat liver mitochondria following prolonged in vivo treatment with imipramine. *Br J Pharmacol* 1988;95(3):914–922.
79. Katyare SS, Rajan RR. Effect of long-term in vivo treatment with imipramine on the oxidative energy metabolism in rat brain mitochondria. *Comp Biochem Physiol C Pharmacol Toxicol Endocrinol* 1995;112(3):353–357.

## Literaturverzeichnis

80. Kerr JS, Powell J, Hindmarch I. The effects of reboxetine and amitriptyline, with and without alcohol on cognitive function and psychomotor performance. *Br J Clin Pharmacol* 1996;42(2):239–241.
81. Kitagawa N, Oda M, Nobutaka I, et al. A proposed mechanism for amitriptyline neurotoxicity based on its detergent nature. *Toxicol Appl Pharmacol* 2006;217(1):100–106.
82. Koliscak LP, Makela EH. Selective serotonin reuptake inhibitor-induced akathisia. *J Am Pharm Assoc (2003)* 2009;49(2):e28-e36.
83. Kolla N, Wei Z, Richardson JS, et al. Amitriptyline and fluoxetine protect PC12 cells from cell death induced by hydrogen peroxide. *J Psychiatry Neurosci* 2005;30(3):196–201.
84. Konradi C, Eaton M, MacDonald ML, et al. Molecular evidence for mitochondrial dysfunction in bipolar disorder. *Arch Gen Psychiatry* 2004;61(3):300–308.
85. Kosel M, Gnerre C, Voirol P, et al. In vitro biotransformation of the selective serotonin reuptake inhibitor citalopram, its enantiomers and demethylated metabolites by monoamine oxidase in rat and human brain preparations. *Mol Psychiatry* 2002;7(2):181–188.
86. Krishnan KR. Revisiting monoamine oxidase inhibitors. *J Clin Psychiatry* 2007;68(Suppl. 8):35–41.
87. Krishnan V, Nestler EJ. The molecular neurobiology of depression. *Nature* 2008;455(7315):894–902.
88. Kulkarni SK, Dhir A. Current investigational drugs for major depression. *Expert Opin Investig Drugs* 2009;18(6):767-788.
89. Lane RM. SSRI-induced extrapyramidal side-effects and akathisia: implications for treatment. *J Psychopharmacol* 1998;12(2):192–214.
90. Lanni C, Govoni S, Lucchelli A, et al. Depression and antidepressants: molecular and cellular aspects. *Cell Mol Life Sci* 2009;66(18):2985-3008
91. Lavretsky H, Roybal DJ, Ballmaier M, et al. Antidepressant exposure may protect against decrement in frontal gray matter volumes in geriatric depression. *J Clin Psychiatry* 2005;66(8):964–967.
92. Lee Y, Yeh WC, Chong MY, et al. Venlafaxine and tardive blepharospasm: a case report. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 2007;31(5):1139–1140.

93. Leo RJ. Movement disorders associated with the serotonin selective reuptake inhibitors. *J Clin Psychiatry* 1996 Oct;57(10):449-454.
94. Li XM, Chlan-Fourney J, Juorio AV, et al. Antidepressants upregulate messenger RNA levels of the neuroprotective enzyme superoxide dismutase (SOD1). *J Psychiatry Neurosci* 2000;25(1):43-47.
95. Licinio J, Wong ML. The role of inflammatory mediators in the biology of major depression: central nervous system cytokines modulate the biological substrate of depressive symptoms; regulate stress-responsive systems; and contribute to neurotoxicity and neuroprotection. *Mol Psychiatry* 1999;4(4):317-327.
96. Liebelt EL. An Update on Antidepressant Toxicity: An Evolution of Unique Toxicities to Master. *Clin Ped Emerg Med* 2008;9:24-34.
97. Llorca PM, Fernandez JL. Escitalopram in the treatment of major depressive disorder: clinical efficacy, tolerability and cost-effectiveness vs. venlafaxine extended-release formulation. *Int J Clin Pract* 2007;61(4):702-710.
98. Löffler G, Petrides PE, Heinrich PC. *Biochemie und Pathobiochemie*. 8. Auflage. Heidelberg. Springer Verlag, 2007.
99. Lohr JB, Kuczenski R, Niculescu AB. Oxidative mechanisms and tardive dyskinesia. *CNS Drugs* 2003;17(1):47-62.
100. Madhusoodanan S, Alexeenko L, Sanders R, et al. Extrapiramidal symptoms associated with antidepressants – a review of the literature and an analysis of spontaneous reports. *Ann Clin Psychiatry* 2010;22(3):148-156.
101. Malberg JE, Eisch AJ, Nestler EJ, et al. Chronic antidepressant treatment increases neurogenesis in adult rat hippocampus. *J Neurosci* 2000;20(24):9104-9110.
102. Mancias P, Kramer L, Butler IJ. Amoxapine overdose in a young man: a transient mitochondrial abnormality? *Pharmacotherapy* 1995;15(4):528-532.
103. Mander A, McCausland M, Workman B, et al. Fluoxetine induced dyskinesia. *Aust N Z J Psychiatry* 1994;28(2):328-330.
104. Martins MR, Petronilho FC, Gomes KM, et al. Antipsychotic-induced oxidative stress in rat brain. *Neurotox Res* 2008;13(1):63-69.
105. Maurer I, Zierz S, Möller H. Evidence for a mitochondrial oxidative phosphorylation defect in brains from patients with schizophrenia. *Schizophr Res* 2001;48(1):125-136.

## Literaturverzeichnis

106. Maurer I, Möller HJ. Inhibition of complex I by neuroleptics in normal human brain cortex parallels the extrapyramidal toxicity of neuroleptics. *Mol Cell Biochem* 1997;174(1-2):255–259.
107. Maurer I, Volz HP. Cell-mediated side effects of psychopharmacological treatment. *Arzneimittelforschung* 2001;51(10):785–792.
108. Mc Ewen BS. Protection and damage from acute and chronic stress: allostasis and allostatic overload and relevance to the pathophysiology of psychiatric disorders. *Ann N Y Acad Sci* 2004;1032:1-7.
109. Medja F, Allouche S, Frachon P, et al. Development and implementation of standardized respiratory chain spectrophotometric assays for clinical diagnosis. *Mitochondrion* 2009;9(5):331–339.
110. Meltzer HY, Young M, Metz J, et al. Extrapyramidal side effects and increased serum prolactin following fluoxetine, a new antidepressant. *J Neural Transm* 1979;45(2):165-275
111. Modica-Napolitano JS, Lagace CJ, Brennan WA, et al. Differential effects of typical and atypical neuroleptics on mitochondrial function in vitro. *Arch Pharm Res* 2003;26(11):951–959.
112. Möller HJ, Laux G, Deister A. *Psychiatrie und Psychotherapie*. 4. Auflage. Stuttgart. MLP Thieme Verlag, 2009.
113. Moretti A, Gorini A, Villa RF. Affective disorders, antidepressant drugs and brain metabolism. *Mol Psychiatry* 2003;8(9):773–785.
114. Morton WA, Sonne SC, Verga MA. Venlafaxine: a structurally unique and novel antidepressant. *Ann Pharmacother* 1995;29(4):387–395.
115. Mukherjee J, Das MK, Yang ZY, et al. Evaluation of the binding of the radiolabeled antidepressant drug, 18F-fluoxetine in the rodent brain: an in vitro and in vivo study. *Nucl Med Biol* 1998;25(7):605–610.
116. Nadanaciva S, Bernal A, Aggeler R, et al. Target identification of drug induced mitochondrial toxicity using immunocapture based OXPHOS activity assays. *Toxicol In Vitro* 2007;21(5):902–911.
117. Nadanaciva S, Will Y. The role of mitochondrial dysfunction and drug safety. *IDrugs* 2009;12(11):706–710.

## Literaturverzeichnis

118. Nahon E, Israelson A, Abu-Hamad S, et al. Fluoxetine (Prozac) interaction with the mitochondrial voltage-dependent anion channel and protection against apoptotic cell death. *FEBS Lett* 2005;579(22):5105–5110.
119. Najjar F, Price LH. Citalopram and dystonia. *J Am Acad Child Adolesc Psychiatry* 2004;43(1):8–9.
120. Pacher P, Kecskemeti V. Trends in the development of new antidepressants. Is there a light at the end of the tunnel? *Curr Med Chem* 2004;11(7):925-943.
121. Page RL 2nd, Ruscin JM, Bainbridge JL, et al. Restless legs syndrome induced by escitalopram: case report and review of the literature. *Pharmacotherapy* 2008;28(2):271–280.
122. Pallotti F, Lenaz G. Isolation and subfractionation of mitochondria from animal cells and tissue culture lines. *Methods Cell Biol* 2001;65:1–35.
123. Pancrazio JJ, Kamatchi GL, Roscoe AK, et al. Inhibition of neuronal Na<sup>+</sup> channels by antidepressant drugs. *J Pharmacol Exp Ther* 1998;284(1):208–214.
124. Park YM, Lee HJ, Kang SG, et al. Tardive dyskinesia associated with long-term administration of escitalopram and itopride in major depressive disorder. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 2009;33(2):380–381.
125. Parvin MM, Swartz CM. Dystonic rabbit syndrome from citalopram. *Clin Neuropharmacol* 2005;28(6):289–291.
126. Patris M, Bouchard JM, Bougerol T, et al. Citalopram versus fluoxetine: a double-blind, controlled, multicentre, phase III trial in patients with unipolar major depression treated in general practice. *Int Clin Psychopharmacol* 1996;11(2):129–136.
127. Petersén A, Wörtwein G, Gruber SH, et al. Nortriptyline mediates behavioral effects without affecting hippocampal cytogenesis in a genetic rat depression model. *Neurosci Lett* 2009;451(2):148–151.
128. Pierce, Instructions. Micro BCA<sup>TM</sup> Protein Assay Kit. (Accessed May 7<sup>th</sup>, 2010 at: <http://www.piercenet.com/files/0412as8.pdf>)
129. Pittenger C, Duman RS. Stress, depression, and neuroplasticity: a convergence of mechanisms. *Neuropsychopharmacology* 2008;33(1):88–109.
130. Post A, Crochemore C, Uhr M, et al. Differential induction of NF-kappaB activity and neural cell death by antidepressants in vitro. *Eur J Neurosci* 2000;12(12):4331–4337.

## Literaturverzeichnis

131. Prabakaran S, Swatton JE, Ryan MM, et al. Mitochondrial dysfunction in schizophrenia: evidence for compromised brain metabolism and oxidative stress. *Mol Psychiatry* 2004;9(7):684–697.
132. Preskorn SH, Dorey RC, Jerkovich GS. Therapeutic drug monitoring of tricyclic antidepressants. *Clin Chem* 1988;34(5):822–828.
133. Prince JA, Yassin MS, Oreland L. Neuroleptic-induced mitochondrial enzyme alterations in the rat brain. *J Pharmacol Exp Ther* 1997;280(1):261–267.
134. Qaseem A, Snow V, Denberg TD, et al. Using second-generation antidepressants to treat depressive disorders: a clinical practice guideline from the American College of Physicians. *Ann Intern Med* 2008;149(10):725–733.
135. Reif A, Fritzen S, Finger M, et al. Neural stem cell proliferation is decreased in schizophrenia, but not in depression. *Mol Psychiatry* 2006;11(5):514–522.
136. Rezin GT, Amboni G, Zugno AI, et al. Mitochondrial dysfunction and psychiatric disorders. *Neurochem Res* 2009;34(6):1021-1029.
137. Roberts RC, Lapidus B. Ultrastructural correlates of haloperidol-induced oral dyskinesias in rats: a study of unlabeled and enkephalin-labeled striatal terminals. *J Neural Transm* 2003;110(9):961–975.
138. Rottach KG, Schaner BM, Kirch MH, et al. Restless legs syndrome as side effect of second generation antidepressants. *J Psychiatr Res* 2008;43(1):70–75.
139. Sairanen M, O'Leary OF, Knuutila JE, et al. Chronic antidepressant treatment selectively increases expression of plasticity-related proteins in the hippocampus and medial prefrontal cortex of the rat. *Neuroscience* 2007;144(1):368–374.
140. Sánchez C, Hyttel J. Comparison of the effects of antidepressants and their metabolites on reuptake of biogenic amines and on receptor binding. *Cell Mol Neurobiol* 1999;19(4):467-489.
141. Santarelli L, Saxe M, Gross C, et al. Requirement of hippocampal neurogenesis for the behavioral effects of antidepressants. *Science* 2003;301(5634):805–809.
142. Sauer H, Huppertz-Helmhold S, Dierkes W. Efficacy and safety of venlafaxine ER vs. amitriptyline ER in patients with major depression of moderate severity. *Pharmacopsychiatry* 2003;36(5):169–175.
143. Scaglia F. The role of mitochondrial dysfunction in psychiatric disease. *Dev Disabil Res Rev* 2010;16(2):136-143.



## Literaturverzeichnis

144. Scatena R, Bottoni P, Botta G, et al. The role of mitochondria in pharmacotoxicology: a reevaluation of an old, newly emerging topic. *Am J Physiol Cell Physiol* 2007;293(1):C12-21.
145. Schapira AH. Mitochondria in the aetiology and pathogenesis of Parkinson's disease. *Lancet Neurol* 2008;7(1):97-109.
146. Schillevoort I, van Puijenbroek EP, de Boer A, et al. Extrapyramidal syndromes associated with selective serotonin reuptake inhibitors: a case-control study using spontaneous reports. *Int Clin Psychopharmacol* 2002;17(2):75-79.
147. Sherer TB, Richardson JR, Testa CM, et al. Mechanism of toxicity of pesticides acting at complex I: relevance to environmental etiologies of Parkinson's disease. *J Neurochem* 2007;100(6):1469-1479.
148. Sigma Aldrich. Technical Bulletin (Product Information Citrate Synthase Assay Kit) (Accessed May 7<sup>th</sup>, 2010, at: <http://www.sigmaaldrich.com/etc/medialib/docs/Sigma/Bulletin/cs0720bul.Par.0001.File.tmp/cs0720bul.pdf>).
149. Sinclair LI, Christmas DM, Hood SD, et al. Antidepressant-induced jitteriness/anxiety syndrome: systematic review. *Br J Psychiatry* 2009;194(6):483–490.
150. Smith D, Dempster C, Glanville J, et al. Efficacy and tolerability of venlafaxine compared with selective serotonin reuptake inhibitors and other antidepressants: a meta-analysis. *Br J Psychiatry* 2002;180:396–404.
151. Souza ME, Polizello AC, Uyemura SA, et al. Effect of fluoxetine on rat liver mitochondria. *Biochem Pharmacol* 1994;48(3):535–541.
152. Srere PA. Citrate Synthase. *Methods Enzymol* 1969;13:3–11.
153. Stahl SM. Basic psychopharmacology of antidepressants, part 1: Antidepressants have seven distinct mechanisms of action. *J Clin Psychiatry* 1998;59 Suppl 4:5-14.
154. Stahl SM. Selecting an antidepressant by using mechanism of action to enhance efficacy and avoid side effects. *J Clin Psychiatry* 1998;59(Suppl 18):23–29.
155. Stevens DL. Association between selective serotonin-reuptake inhibitors, second-generation antipsychotics, and neuroleptic malignant syndrome. *Ann Pharmacother.* 2008;42(9):1290-1297.
156. Streck EL, Rezin GT, Barbosa LM, et al. Effect of antipsychotics on succinate dehydrogenase and cytochrome oxidase activities in rat brain. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol* 2007;376(1-2):127–133.

## Literaturverzeichnis

157. Tarlaci S. Citalopram-induced jaw tremor. *Clin Neurol Neurosurg* 2004;107(1):73–75.
158. Thinnes FP. Does fluoxetine (Prozak) block mitochondrial permeability transition by blocking VDAC as part of permeability transition pores? *Mol Genet Metab* 2005;84(4):378.
159. Thwaites JH, Hutchinson C, Collins C. Neurotoxic reaction to citalopram. *N Z Med J* 2006;119(1235):U2019.
160. Trepel M. *Neuroanatomie. Struktur und Funktion*. 4. Auflage. München. Elsevier Verlag Urban & Fischer, 2008.
161. Urichuk LJ, Allison K, Holt A, et al. Comparison of neurochemical effects of the monoamine oxidase inhibitors phenelzine, moclobemide and brofaromine in the rat after short- and long-term administration. *J Affect Disord* 2000;58(2):135–144.
162. Vandel P, Bonin B, Leveque E, et al. Tricyclic antidepressant-induced extrapyramidal side effects. *Eur Neuropsychopharmacol* 1997;7(3):207–212.
163. van den Broek WW, Mulder PG, van Os E, et al. Efficacy of venlafaxine compared with tricyclic antidepressants in depressive disorder: a meta-analysis. *J Psychopharmacol* 2009;23(6):708–713.
164. van Gelder B, Slater EC. The extinction coefficient of cytochrome c. *Biochim Biophys Acta* 1962;58:593–595.
165. Volz HP, Gleiter CH, Waldmeier PC, et al. Brofaromine – a review of its pharmacological properties and therapeutic use. *J Neural Transm* 1996;103(1-2):217–245.
166. Waldmeier PC, Glatt A, Jaekel J, et al. Brofaromine: a monoamine oxidase-A and serotonin uptake inhibitor. *Clin Neuropharmacol* 1993;16(Suppl 2):S19–S24.
167. Waldmeier PC, Graf T, Germer M, et al. Serotonin uptake inhibition by the monoamine oxidase inhibitor brofaromine. *Biol Psychiatry* 1993;33(5):373–379.
168. Wallace KB, Starkov AA. Mitochondrial targets of drug toxicity. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 2000(40):353–388.
169. Weinbach EC, Costa JL, Nelson BD, et al. Effects of tricyclic antidepressant drugs on energy-linked reactions in mitochondria. *Biochem Pharmacol* 1986;35(9):1445–1451.
170. Wille SM, Cooreman SG, Neels HM, et al. Relevant issues in the monitoring and the toxicology of antidepressants. *Crit Rev Clin Lab Sci* 2008;45(1):25–89.

## Literaturverzeichnis

171. Wittig I, Carozzo R, Santorelli FM, et al. Supercomplexes and subcomplexes of mitochondrial oxidative phosphorylation. *Biochim Biophys Acta* 2006;1757(9-10):1066–1072.
172. Xia Z, Bergstrand A, DePierre JW, et al. The antidepressants imipramine, clomipramine, and citalopram induce apoptosis in human acute myeloid leukemia HL-60 cells via caspase-3 activation. *J Biochem Mol Toxicol* 1999;13(6):338–347.
173. Xia Z, Lundgren B, Bergstrand A, et al. Changes in the generation of reactive oxygen species and in mitochondrial membrane potential during apoptosis induced by the antidepressants imipramine, clomipramine, and citalopram and the effects on these changes by Bcl-2 and Bcl-X(L). *Biochem Pharmacol* 1999;57(10):1199–1208.
174. Zettl H, Schubert-Zsilavecz M, Siebert CD. The medicinal chemistry of tricyclic antidepressives. Targets and stereochemistry. *Pharm Unserer Zeit* 2008;37(3):206-213.
175. Zorov DB, Juhaszova M, Sollott SJ. Mitochondrial ROS-induced ROS release: an update and review. *Biochim Biophys Acta* 2006;1757(5-6):509–517.

## **8. Lebenslauf**

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

## **9. Eidesstattliche Erklärung**

„Ich, Barbara Schellhaas, erkläre, dass ich die vorgelegte Dissertation mit dem Thema: „In-vitro-Untersuchungen zur Wirkung ausgewählter Antidepressiva auf die mitochondriale Atmungskette an Homogenaten des menschlichen Hippocampus und Präfrontalcortex“ 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.“

Datum

Unterschrift

### **10. Danksagung**

Bedanken möchte ich mich bei meinem Doktorvater, Herrn Prof. Dr. Ralf Uebelhack, für die Überlassung meines Promotionsthemas, den Freiraum, den er mir bei dessen Bearbeitung stets gelassen hat, sowie die finanzielle Unterstützung durch die studienbegleitende Forschungsförderung, die mir auf seinen Antrag hin gewährt wurde.

Besonderer Dank gilt Frau Dr. Leonora Franke für die intensive Betreuung und die unzähligen Diskussionen über den gesamten Zeitraum meiner Arbeit hinweg; ohne sie wäre die Durchführung meines Promotionsvorhabens in dieser Form nicht möglich gewesen.

Bei Frau Ilona Kamenzky möchte ich mich bedanken für ihre unschätzbare Hilfe bei der Durchführung des experimentellen Teils dieser Arbeit sowie ihre stets freundliche Art, die die Arbeit im Labor für mich sehr viel angenehmer gemacht hat.

Frau Dr. Iris Maurer danke ich dafür, dass sie mir freundlicherweise die Gewebeproben und Materialien zur Durchführung der Experimente zur Verfügung gestellt und mir bei der Einarbeitung in den praktischen Teil dieser Arbeit geholfen hat.

Frau Dr. Iris Rapoport danke ich für die Vermittlung des Promotionsthemas.

Der Studienstiftung des Deutschen Volkes danke ich für die ideelle und materielle Förderung.

Herzlicher Dank gilt meiner Schwester Elisabeth, die mir bei Fragen und Problemen stets eine große Unterstützung war, meinem Bruder Fabian, der mir unter anderem bei der Formatierung dieser Arbeit sehr geholfen hat, und meinen Freunden, die mit aufmunternden Worten immer für mich da waren. Ganz besonders möchte ich mich bei meinen Eltern bedanken, die mich während meines gesamten Studiums unterstützt haben und mir immer mit Rat und Tat zur Seite standen.