

## 4 Diskussion

### 4.1 Methodische Überlegungen

Bevor die hier dargestellten Ergebnisse inhaltlich in bezug auf ihre psychopharmakologische Relevanz diskutiert werden, sollten einige kritische Überlegungen in bezug auf die angewandten Methoden vorangestellt werden.

In bezug auf die *statistische Auswertung* der Ergebnisse wurde im Abschnitt „Methoden“ dargelegt, warum die P-Werte nicht anhand der durchgeführten statistischen Berechnungen mittels der Bonferroni-Korrektur korrigiert werden. Daher muss kritisch diskutiert werden, inwieweit es wahrscheinlich ist, dass signifikante Ergebnisse nur „statistische Artefakte“ darstellen, welche aufgrund der hohen Anzahl der statistischen Berechnungen fälschlicherweise entstanden sind. Insgesamt wurden 615 Einzelvergleiche durchgeführt. Bei einem Signifikanzniveau von  $P < 0,05$  würde dies ca. 31 „falsch-signifikante“ Ergebnisse erwarten lassen. Wie im Ergebnisteil dargestellt, wurden insgesamt 215 statistisch signifikante Ergebnisse berechnet. Es ist daher davon auszugehen, dass nur ein geringer Anteil dieser statistisch signifikanten Ergebnisse in Wirklichkeit Artefakte darstellen, die durch den Verzicht auf die Bonferroni-Korrektur zustande gekommen sind. In den Ergebnissen finden sich jedoch auch Hinweise, dass einige der signifikanten Ergebnisse mit an Sicherheit grenzender Wahrscheinlichkeit nicht zufällig entstanden sind. Dies gilt in erster Linie für die in der Amygdala gemessenen Ergebnisse. In diesem Hirnareal induzierten alle vier eingesetzten, chemisch völlig unterschiedlichen Antidepressiva überraschenderweise eine ausgeprägte Zunahme der T3-Konzentrationen in der Myelinfraktion. Die Medikamente steigerten den T3-Gehalt im Myelin um 200 bis 300 %. In dem selben Hirnareal induzierten auch Lithium und Carbamazepin einerseits und Schlafentzug andererseits eine Zunahme der synaptosomalen T3-Konzentrationen. Weiterhin induzierte Desipramin eine Zunahme der mitochondrialen 3,5-T2-Konzentrationen und eine Zunahme der mitochondrialen T3-Konzentrationen nach Tranylcypromin wurde bereits in der früheren Studie berichtet (Pregel et al. 2000). Schließlich war die Amygdala das einzige Hirnareal, in welchem die antidepressiven Pharmaka gleichgerichtete Effekte auf die Proteinkonzentrationen einer Subfraktion bewirkten, nämlich eine Zunahme der mitochondrialen Proteine. All diese in

bezug auf die Amygdala konsistenten Befunde lassen es äußerst unwahrscheinlich erscheinen, dass es sich bei diesen signifikanten Ergebnissen um „statistische Artefakte“ handelt. Ebenso konsistent ist die Abnahme der nukleären T3-Konzentrationen nach chronischer i.p.-Behandlung, welche in insgesamt 4 Hirnarealen gleichermaßen beobachtet wurde. Schließlich induzierte Desipramin in 6 Hirnarealen eine gleichgerichtete Abnahme der synaptosomalen T4-Konzentrationen. Auch dieser Befund ist daher mit hoher Wahrscheinlichkeit kein „statistischer Artefakt“.

Anders hingegen verhält es sich mit „isolierten“ Einzelergebnissen, welche nur von einem Medikament oder in einem Hirnareal nachgewiesen wurden, z.B. die Zunahme der T3-Konzentration im Homogenat des Hypothalamus nach Behandlung mit 40mg Desipramin pro Kilogramm Körpergewicht (Abbildung 3.3.8). In bezug auf diese „isolierten“ Einzelergebnisse gilt theoretisch, dass sie in einer unabhängigen Untersuchung repliziert werden müssen, um als abgesichert angesehen zu werden. In der Praxis besteht jedoch der Sinn der vorliegenden Studie darin, *gemeinsame Effekte* verschiedener Antidepressiva und Phasenprophylaktika auf die Hormonkonzentrationen zu finden. Aus diesem Grunde sind die genannten Einzelergebnisse vermutlich die am wenigsten relevanten Daten der vorliegenden Arbeit – selbst unter der Annahme, dass es sich dabei um valide Resultate handelt. Aus diesem Grunde kann auch problemlos darauf verzichtet werden, die Untersuchung zu wiederholen, um diese Einzelergebnisse zu replizieren.

Die eigentlich interessanten Ergebnisse der Untersuchung sind die von ganz verschiedenen Psychopharmaka induzierten Zunahmen der T3- bzw. 3,5-T2-Konzentrationen in verschiedenen Subfraktionen der Amygdala. Auch diese Ergebnisse müssten rein theoretisch in einer unabhängigen Untersuchung repliziert werden, um ihre Validität abzusichern. Aus dem folgenden Grunde erscheint jedoch ein anderer Weg sinnvoller: Zunahmen der Schilddrüsenhormonkonzentrationen in einzelnen subzellulären Fraktionen sagen, isoliert gesehen, noch wenig bis gar nichts über die *physiologischen Konsequenzen* für die neuronale Aktivität in den betreffenden Hirnarealen aus. Dies gilt umso mehr für die Messung von T3 in der Myelinfraktion, denn endogene Schilddrüsenhormone sind in der weißen Substanz des Gehirns noch nie nachgewiesen worden und es ist daher auch völlig unbekannt, ob bzw. welche physiologische Bedeutung sie in diesen Strukturen haben. Die Ergebnisse sind

vielmehr ein Hinweis darauf, in welchen Gehirnstrukturen antidepressive Medikamente gemeinsame Effekte ausüben, die dementsprechend eine gemeinsame Endstrecke ihrer psychopharmakologischen Wirkung darstellen könnten. Die nächsten Untersuchungen sollten daher weniger die bisherigen Ergebnisse schlicht replizieren, sondern darauf abzielen, die physiologischen Konsequenzen der Veränderungen der T3- bzw. 3,5-T2-Konzentrationen zu untersuchen. Die Messung der Succinatdehydrogenase-Aktivität in den Mitochondrien der Amygdala nach Desipraminbehandlung ist ein erster Schritt in diese Richtung (Diskussion dazu weiter unten). Weitere Untersuchungen über die Effekte von Antidepressiva auf spezifische Charakteristika des Myelins und der Synaptosomen der Amygdala sollten folgen (siehe unten).

Weiterhin muss diskutiert werden, ob die *Methodik der subzellulären Fraktionierung* als valide betrachtet werden kann. Es wurde große Mühe darauf verwendet, die Reinheit und „Ausbeute“ der subzellulären Fraktionen zu optimieren. Beide Parameter wurden sowohl mit Hilfe elektronenmikroskopischer Untersuchungen als auch durch die Bestimmung von verschiedenen subzellulären „Markern“ überprüft. Die Ergebnisse zeigen, dass die einzelnen Fraktionen in hoher Reinheit vorliegen. Alle subzellulären Marker waren in „ihren“ jeweiligen Fraktionen mehrfach gegenüber der Konzentration des Homogenats angereichert. Die einzige nennenswerte Kontamination bestand im Bereich der Mitochondrien, deren Markerenzym (die Succinatdehydrogenase-Aktivität) auch in nennenswerten Konzentrationen in den Synaptosomen gemessen wurde. Dies ist auch so zu erwarten, da Synaptosomen eine größere Anzahl von Mitochondrien enthalten.

Eine Problematik der Methodik der subzellulären Fraktionierung wurde anhand der quantitativen Bestimmungen von Syntaxin und Synapsin deutlich. Der Großteil dieser Proteine wurde nicht in der synaptosomalen Fraktion, sondern in den Überständen wiedergefunden. Das heißt, nur relativ locker, z. B. über Wasserstoffbrückenbindungen oder elektrostatische Bindungen fixierte Moleküle können sich offenbar während der Prozedur der subzellulären Fraktionierung von ihren „Ursprungsstrukturen“ loslösen. Die hier vorgestellte Methodik ist also nur für die Analyse von Parametern geeignet, welche genügend fest an den jeweiligen Strukturen fixiert sind (Diskussion in bezug auf die Schilddrüsenhormone siehe unten).

Selbstverständlich sind auch nicht alle Bestandteile eines Gehirns den hier dargestellten subzellulären Fraktionen eindeutig zuzuordnen. So ist die hier vorgelegte Arbeit zum Beispiel die erste, welche untersucht hat, in welchen Fraktionen sich Astrozytenmembranen ansammeln. Die Bestimmung des Glutamattransporters 1, eines astrozytären Markers, zeigte, dass diese Membranen sowohl in den Synaptosomen als auch im Myelin und in den Mikrosomen „landen“. Dieses Beispiel zeigt, dass eine eindeutige Zuordnung der Schilddrüsenhormonkonzentrationen zu bestimmten subzellulären Fraktionen natürlich nicht zu 100 % gelingt, da die einzelnen Fraktionen, insbesondere die Synaptosomen, wiederum heterogen sein können. Die Ergebnisse der Hormonquantifizierungen weisen jedoch auf eine hohe Reinheit und Spezifität der Befunde hin. So sind z. B. die T3-Konzentrationen nach Desipraminbehandlung in der Amygdala ausschließlich im Myelin erhöht und nach Lithium- und Carbamazepinbehandlung bzw. Schlafentzug ausschließlich in den Synaptosomen, nicht jedoch in den anderen Subfraktionen. Diese Befunde sprechen dafür, dass die Hormonkonzentrationen tatsächlich in relativ selektiven Fraktionen gemessen werden und nicht in einem „Mischmasch“ verschiedenster Bestandteile.

Schließlich sollte diskutiert werden, ob die Methodik der *Messung der T3-Konzentrationen* in subzellulären Fraktionen reliabel ist. Denn eine Fehlermöglichkeit könnte darin bestehen, dass die Schilddrüsenhormon-Moleküle im Laufe des mehrere Stunden dauernden Prozesses der subzellulären Fraktionierung von ihrer ursprünglichen Lokalisation (z. B. Zellkerne oder Zytosol) abgelöst werden und sich mehr oder weniger gleichmäßig an andere subzelluläre Strukturen anlagern. Umgekehrt kann auch nicht ausgeschlossen werden, dass sich nicht-kovalent gebundene Hormone von Strukturen wie den Synaptosomen oder dem Myelin während der Zentrifugationsprozesse ablösen und sich in den Überständen wiederfinden. Dies würde zu falsch-niedrigen Konzentrationen in den betreffenden Subfraktionen führen.

Die hier ermittelten nukleären T3-Konzentrationen können mit den Ergebnissen früherer Studien mit ähnlichen Fragestellungen verglichen werden. Die Arbeitsgruppe von Oppenheimer berichtete, dass der Rattenkortex die höchste Konzentration von T3-Bindungsstellen enthielt, nämlich 0,73ng T3/mg DNA. Der Hypothalamus hatte eine geringere Bindungskapazität (0,1ng T3/mg DNA) und das Cerebellum die geringste Bindungskapazität (0,01ng T3/mg DNA). Die Sättigung der Rezeptoren wurde unter

physiologischen Bedingungen mit etwa 50 % berechnet (Oppenheimer et al. 1974, Schwartz und Oppenheimer 1978). Ähnliche Ergebnisse wurden auch von anderen Arbeitsgruppen berichtet (Ruel et al. 1985, Gullo et al. 1987). Diese Daten stimmen vollständig mit den in dieser Arbeit, mittels einer gänzlich anderen Methodik berechneten nukleären T3-Konzentrationen, überein. Sie zeigen auch, dass die fehlende Anreicherung von T3 in den nukleären Fraktionen des Hypothalamus, des Cerebellums und des Mittelhirns auf eine geringere Rezeptordichte in diesen Arealen zurückzuführen ist.

In bezug auf die Synaptosomen berechneten Mashio et al. (1983) eine maximale Bindungskapazität von hochaffinen synaptosomalen Bindungsstellen von 4,2pg T3/mg Protein in gebrochenen Synaptosomen, verglichen mit 3,0pg T3/mg Protein in intakten Synaptosomen des erwachsenen Rattenkortex. Im Hypothalamus betrug die Bindungskapazität 3,3pg T3/mg Protein und im Cerebellum 1,7pg T3/mg Protein. Diese Ergebnisse sind fast identisch mit den in der vorgelegten Arbeit errechneten synaptosomalen Konzentrationen (Abbildung 3.2.1). Sie zeigen, dass die spezifischen T3-Bindungsstellen auf Synaptosomen offensichtlich auf deren Membranen, und nicht auf Vesikeln oder auf zytosolischen Rezeptoren lokalisiert sind. Die Quantifizierung von T3 in rupturierten synaptosomalen Fraktionen stellt daher kein Problem dar.

Diese Ergebnisse sprechen nicht dafür, dass T3-Moleküle während der Prozedur der subzellulären Fraktionierung an den einzelnen Fraktionen „hängen bleiben“ oder, umgekehrt, von den Fraktionen in die Überstände übertreten. Darüber hinaus wurde das vor der Homogenisation zugegebene T3 ausschließlich im Homogenat, nicht jedoch in den subzellulären Fraktionen wiedergefunden (Abbildung 3.1.8). Schließlich zeigen die selektiven Erhöhungen der T3-Konzentrationen in ganz spezifischen Subfraktionen, dass hier offenbar T3 „in situ“ gemessen wird und es sich nicht um eine Umverteilung z. B. des T3 aus dem Homogenat handelt. Dementsprechend erscheint die hier entwickelte Methodik zur Quantifizierung von Schilddrüsenhormonen in subzellulären Fraktionen valide, „Umverteilungsartefakte“ sind nicht wahrscheinlich.

Eine weitere „Artefaktmöglichkeit“ besteht darin, dass in einer spezifischen Subfraktion in-situ nicht eine höhere oder geringere Konzentration an Hormon tatsächlich vorhanden ist, sondern ihre chemische und/oder physikalische Eigenschaft so verändert wird, dass sozusagen

mehr oder weniger Hormon daran „hängen bleiben“ kann (z. B. erhöhter oder veränderter Lipidanteil im Myelin). Diese Artefaktmöglichkeit wurde bei den mit Desipramin-behandelten Tieren im Hinblick auf die Zunahmen der T3-Konzentrationen im Myelin getestet. Ein Zusatz von  $^{125}\text{JodT3}$  zum Homogenat führte jedoch nicht zu vermehrter Anreicherung der radioaktiv-markierten T3-Moleküle in der Myelinfraktion (siehe Kapitel 3.1.7.3).

Die „entgegengesetzte Artefaktmöglichkeit“ kann jedoch nicht ausgeschlossen werden, dass sich nämlich insbesondere nicht-kovalent gebundene Hormone von speziell den nicht-nukleären Subfraktionen während des Zentrifugationsprozesses ablösen und schließlich in den Überständen gemessen werden. In diesem Falle wären die Hormonkonzentrationen der Subfraktionen Mitochondrien, Myelin, Synaptosomen und Mikrosomen höher als hier gemessen. Trotz dieser potentiellen Fehlermöglichkeit gelingt es jedoch ganz offensichtlich in der vorliegenden Arbeit Effekte von Psychopharmaka und anderen Interventionen auf die Schilddrüsenhormonkonzentrationen in ganz *spezifischen* Subfraktionen nachzuweisen (siehe oben). Wichtig erscheint dabei insbesondere, dass diese Effekte bei den „herkömmlichen“ Messungen der Hormonkonzentrationen in Homogenaten nicht entdeckt worden wären. In der vorliegenden Untersuchung wird dies wiederum am Beispiel der Amygdala besonders deutlich: Die Zunahmen der T3-Konzentrationen in der Myelinfraktion nach Antidepressiva sowie die Zunahme der T3-Spiegel in der synaptosomalen Fraktion nach Lithium und Carbamazepin einerseits und Schlafentzug andererseits war aus den Ergebnissen der Homogenate dieses Hirnareals nicht ersichtlich.

Zusammenfassend ist daher festzuhalten, dass sowohl die große Anzahl der statistischen Berechnungen als auch die Methodik der Messung von Schilddrüsenhormonen in subzellulären Fraktionen gewisse Artefaktmöglichkeiten beinhalten. Auf der anderen Seite erscheint aber mit dieser Methodik eine tatsächlich selektive Messung von Hormonkonzentrationen in subzellulären Fraktionen möglich und dadurch ergeben sich präzisere Hinweise auf die subzellulären Strukturen, in welchen Psychopharmaka ihre Wirkung entfalten. Diese Effekte wären bei Messungen in Homogenaten übersehen worden. Im folgenden werden nun die potentiell relevantesten inhaltlichen Ergebnisse diskutiert.

## 4.2 Effekte von Antidepressiva, Phasenprophylaktika und Schlafentzug

Wie in Kapitel 1.2 ausgeführt, lassen verschiedene Zusammenhänge zwischen Schilddrüsenhormonen und manisch-depressiven Erkrankungen darauf schließen, dass antidepressiv und phasenprophylaktisch wirksame Pharmaka die Konzentrationen von T3 oder von anderen physiologisch wirksamen Jodthyroninen in relevanten Hirnarealen *erhöhen*. Nur so könnte erklärt werden, warum die Zusatzmedikation von suprphysiologischen Dosierungen von T4 bei therapieresistenten depressiven Patienten effektiv ist (siehe Kapitel 1.2.4).

In der vorliegenden Untersuchung kristallisierte sich tatsächlich ein Hirnareal heraus, bei dem alle genannten antidepressiven bzw. phasenprophylaktischen Therapien zu einer Erhöhung der T3-Konzentrationen führten: die Amygdala. Dennoch waren die Ergebnisse in mehrerer Hinsicht unerwartet. Überraschend war zunächst, *keine* übereinstimmenden Effekte der Antidepressiva auf die T3-Konzentrationen in den Nuklearfraktionen zu finden. Es ist heute allgemein akzeptiert, dass die „klassischen“ Wirkungen von T3 über Bindung an nukleäre Rezeptoren vermittelt wird (siehe Kapitel 1.1). Die Ergebnisse sprechen daher nicht dafür, dass Antidepressiva und Phasenprophylaktika Effekte auf die Transkription von Zielgenen ausüben, welche über Schilddrüsenhormone vermittelt werden. Überraschend war außerdem, T3-Konzentrationen überhaupt in der Myelinfraktion messen zu können. In der Literatur findet sich lediglich eine Arbeit von Dratman et al. (1976), in welcher die Lokalisierung von radioaktiv-markiertem T3 in synaptosomalen Fraktionen des Rattenhirn berichtet wird. Aus einer Tabelle dieser Arbeit geht hervor, dass  $^{125}\text{JodT3}$  auch in der gleichzeitig isolierten Myelinfraktion angereichert wird. So beschreiben die Autoren zehn Stunden nach Injektion von  $^{125}\text{JodT3}$  eine Radioaktivität von 13,3 cpm/mg Gewebe in den Synaptosomen im Vergleich zu 10,4 cpm/mg Gewebe im Myelin. Die Anreicherung im Myelin wird in dieser Arbeit nicht weiter kommentiert. Calvo et al. (1998) bestimmten die T3- und T4-Konzentrationen in Biopsien von menschlichen Hirntumoren und sie umgebenden normalen ZNS-Gewebe. Diese Arbeitsgruppe fand sogar höhere T4- und T3-Konzentrationen in „white matter“ als in „cortical tissue“. Die Reinheit dieser sogenannten „white matter“ ist allerdings etwas fraglich angesichts der Tatsache, dass sie mehr Milligramm Protein pro Gramm Gewebe enthielt als

das „cortical tissue“. Wenn es sich bei „white matter“ wirklich um Myelin handeln würde, so müsste der Proteingehalt deutlich niedriger sein als in der grauen Substanz.

Es ist bekannt, dass T3 die Myelinreifung in der postnatalen Periode der Ratte in vielfacher Weise beeinflusst. So werden sowohl die Genexpression der vier wesentlichsten Myelinproteine als auch die Synthese der wesentlichsten Lipidklassen durch T3 stimuliert (z. B. Munoz et al. 1991, Tosic et al. 1992, Ibarrola et al. 1997). Es wird jedoch davon ausgegangen, dass die multiplen Effekte von T3 auf die Myelinisierung über nukleäre T3-Rezeptoren in den Oligodendrozyten vermittelt werden. Tatsächlich wurden in diesen Zellen Schilddrüsenhormonrezeptoren (TR $\alpha$ 1, TR $\alpha$ 2, TR $\beta$ 1 und TR $\beta$ 2) nachgewiesen (z. B. Baas et al. 1994a und 1994b, Fierro-Renoy et al. 1995). In der Promoterregion des Myelin-Basic-Proteins wurde ein „Thyroid-Hormone-Responsive-Element“ beschrieben (Farsetti et al. 1991). Interessant erscheint, dass eine Arbeitsgruppe Effekte einer Hypothyreose auf die Lipidzusammensetzung des Myelins im ZNS von adulten Ratten nachgewiesen hat: Salvati et al. (1993) fanden eine signifikante Abnahme der Sulfatidkonzentrationen im Myelin hypothyreoter Ratten. Gnoni et al. (1985) beschrieben, dass T3 die Fettsäure- und Cholesterinsynthese von Hepatozyten *unabhängig* von seinen Wirkungen am nukleären Rezeptor stimuliert. Die wesentliche Frage besteht daher darin, ob T3 tatsächlich direkte, von der Bindung an nukleäre Rezeptoren der Oligodendrozyten unabhängige Effekte auf die Eigenschaften des Myelins hat. Denn für die Interpretation der Ergebnisse dieser Arbeit ist es wesentlich, ob die durch Antidepressiva erhöhten T3-Konzentrationen im Myelin der Amygdala *funktionelle Konsequenzen* haben. Die Arbeitsgruppe des Verfassers hat daher inzwischen bereits die Effekt einer 14-tägigen Behandlung mit Desipramin auf die Lipidkomposition des Myelins mit der Methodik der Dünnschicht-Chromatographie untersucht. Die Ergebnisse zeigen, dass unter allen untersuchten Lipidklassen nur das Cholesterin im Myelin der Amygdala signifikant absinkt. In einem Kontrollareal, nämlich dem Mittelhirn, in welchem Desipramin keine Zunahmen der T3-Konzentrationen im Myelin induziert hatte, waren die Cholesterinkonzentrationen unverändert (Eravci, Brödel und Baumgartner, in Vorbereitung). Die Abnahme der Cholesterinkonzentrationen im Myelin der Amygdala nach Desipraminbehandlung ist insofern von potentiell Interesse, als aus Cholesterin durch verschiedene Metabolisierungswege die sogenannten „neuroaktiven Steroidhormone“ gebildet werden (Übersicht bei Baulieu und Schumacher 1996). Eine



Dysregulation der Feed-back-Mechanismen bzw. der Rezeptorfunktionen insbesondere von Glukokortikoiden steht jedoch im Mittelpunkt des Interesses der Depressionsforschung (Übersicht bei Barden et al. 1995). Auch wurden bereits Effekte von Antidepressiva auf die Konzentrationen von neuroaktiven Steroiden im Rattenhirn nachgewiesen (z. B. Uzunov et al. 1996). Andererseits ist bekannt, dass einige, für die Metabolisierung der Steroidhormone wesentlichen Enzyme offenbar im Myelin lokalisiert sind, z. B. die  $5\alpha$ -Reduktase (z. B. Melcangi et al. 1988). Sinnvoll erscheint daher eine zielgerichtete Untersuchung, ob Antidepressiva die Metabolisierung bzw. die Konzentrationen von neuroaktiven Steroidhormonen im Myelin und auch in den anderen Subfraktionen der Amygdala beeinflussen (siehe unten). Abschließend soll nur kurz erwähnt werden, dass Untersuchungen in den letzten Jahren darauf hinweisen, dass das Myelin nicht nur eine chemisch inerte Schutzhülle ist, sondern einen außerordentlich aktiven Stoffwechsel besitzt. So wurden zum Beispiel Ionenkanäle, verschiedene Enzyme wie  $\text{Na}^+\text{K}^+\text{ATPase}$ , die Adenylatcyclase, sowie verschiedene Proteinkinasen und auch Neurotransmitterrezeptoren und G-Proteine im Myelin nachgewiesen (z. B. Larocca et al. 1987, Black et al. 1990, Ledeen 1992).

In bezug auf Zusammenhänge zwischen weißer Gehirnschubstanz und manisch-depressiven Erkrankungen gibt es bisher keine plausiblen Hypothesen. Ein indirekter Hinweis auf eine Rolle des Myelins bei Pathogenese manisch-depressiver Symptome ergibt sich jedoch aus der hohen Inzidenz von manischen, aber auch depressiven Syndromen bei Patienten mit multipler Sklerose (Übersicht bei Minden et al. 1990). Ein gut replizierter Befund im Rahmen der Untersuchung depressiver Patienten durch MRT sind sogenannte „Hyperintensitäten“ der weißen Substanz. Die Bedeutung dieser Befunde für die Pathogenese der Depression ist jedoch insbesondere deshalb unklar, weil derartige „Hyperintensitäten“ auch bei einer Vielzahl anderer Gehirnerkrankungen und sogar bei einer Reihe von Gesunden vorkommen (Übersicht bei Soares und Mann 1997).

Die in den oben dargestellten Experimenten eingesetzten Antidepressiva haben jedoch nicht nur Effekte auf die T3-Konzentrationen des Myelins der Amygdala ausgeübt, sondern auch mitochondriale Parameter der Amygdala beeinflusst. Überraschend war vor allem die signifikante Zunahme der mitochondrialen Proteine in der Amygdala nach Behandlung mit den genannten, chemisch sehr unterschiedlichen Antidepressiva. Dieser Befund deutet auf

eine erhöhte mitochondriale Funktion der Amygdala hin. Der Effekt von Desipramin auf die Aktivität der Succinatdehydrogenase zeigte tatsächlich eine Zunahme der Enzymaktivität in den Mitochondrien der Amygdala. Inzwischen hat die Arbeitsgruppe des Verfassers damit begonnen, eine genauere topographische Lokalisation der Effekte von Antidepressiva in der Amygdala mit Hilfe der Messung der Cytochromoxidase-Aktivität in-situ vorzunehmen. Die Aktivität der Cytochromoxidase spiegelt neuronale Aktivität wieder (Wong und Riley 1989). Vorläufige Ergebnisse zeigen, dass eine 14-tägige Behandlung mit Desipramin die Cytochromoxidase insbesondere im basolateralen und lateralen Kerngebiet der Amygdala erhöht (Brödel und Baumgartner, in Vorbereitung).

Die Zunahme der Proteinkonzentrationen sowie der Succinatdehydrogenase-Aktivität in den Mitochondrien der Amygdala gehen jedoch nicht mit einem Anstieg der mitochondrialen T3-Konzentrationen einher. Die in einem Vorversuch durch das Antidepressivum Tranylcypromin beschriebene Zunahme der mitochondrialen T3-Konzentrationen in der Amygdala konnte damit nicht repliziert werden (Prenzel et al. 2000). Da auch dem T3-Metaboliten 3,5-T2 physiologische Effekte an den Mitochondrien nachgesagt werden (siehe Kapitel 1.3.2.1), wurde der Versuch unternommen, die Effekte von Desipramin auf die Konzentrationen dieses Hormons in den Mitochondrien der Amygdala zu messen. Während 3,5-T2 in den Mitochondrien der Kontrolltiere nicht nachweisbar war, konnte dieses Hormon nach Desipraminbehandlung sowohl in der mitochondrialen als auch in der Myelinfraktion der Amygdala gemessen werden. Ob die Zunahme der mitochondrialen Proteinkonzentrationen bzw. der Succinatdehydrogenase-Aktivität durch 3,5-T2 induziert wurde, ist unklar. Mehrere Arbeitsgruppen haben, unabhängig voneinander, allerdings über physiologische Effekte von 3,5-T2 an den Mitochondrien berichtet (Übersicht bei Goglia et al. 1999). Direkte Messungen von Parametern der Mitochondrien und des Myelins der Amygdala nach Applikation von 3,5-T2 erscheinen sinnvoll, um die Frage zu klären, ob die erhöhten 3,5-T2-Konzentrationen ursächlich mit der Stimulation mitochondrialer Funktionen in Zusammenhang stehen.

Systematische Untersuchungen der Effekte von Antidepressiva auf mitochondriale Funktionen im ZNS liegen bisher nicht vor. Interessant sind jedoch zwei Arbeiten, welche die Effekte von mehreren Elektroschockbehandlungen sowie chronischer Lithiumapplikation auf

die Aktivität der Cytochromoxidase in-situ untersuchten. Nobrega et al. (1993) berichteten, dass Elektroschockbehandlungen zu einer Zunahme der Cytochromoxidase-Aktivität in den basolateralen und medialen Kernen der Amygdala führt. Außerdem wurde ein Anstieg der Enzymaktivitäten im Bed-Nucleus der Stria terminalis und ein Abfall im cingulären Kortex berichtet. Die Befunde in bezug auf die Amygdala sind daher in sehr guter Übereinstimmung mit den hier vorgestellten Daten. Lambert et al. beschrieben 1999, dass eine chronische Lithiumbehandlung zur Abnahme der Cytochromoxidase-Aktivität im cingulären Kortex und im Nucleus accumbens führt. Außerdem ergaben sich in dieser Arbeit durch Berechnung der Korrelationen der einzelnen Cytochromoxidase-Aktivitäten zwischen den Kernen der Amygdala Hinweise auf eine gesteigerte neuronale Aktivität in diesem Areal. Beide Arbeiten weisen daher, ebenso wie die hier vorgelegten Befunde auf eine Schlüsselrolle der Amygdala beim Wirkungsmechanismus antidepressiver und phasenprophylaktischer Medikamente hin. Die Ergebnisse der Arbeitsgruppen von Nobrega und Lambert zeigen allerdings auch eine Schwäche der hier vorliegenden Arbeit auf. Zwar wurden die Effekte von Antidepressiva bereits in insgesamt 8 Hirnarealen gemessen, während die große Mehrzahl anderer diesbezüglicher Studien nur ein oder höchstens zwei Hirnareale in die Untersuchungen einbeziehen. Andererseits sind jedoch auch bei der vorliegenden Untersuchung große Hirnareale wie z. B. der frontale oder der parietooccipitale Kortex zunächst homogenisiert worden. Dadurch wird es unter Umständen erschwert oder gar verunmöglicht Effekte in einzelnen Substrukturen wie z. B. dem cingulären Kortex zu erkennen. Dies gilt auch in bezug auf den Nucleus accumbens, welcher in der im Rahmen dieser Dissertation durchgeführten Präparation nur eine von vielen Strukturen des „limbischen Vorderhirns“ darstellt.

Zusammenfassend ergibt sich, dass der einzige gemeinsame Effekt von vier chemisch unterschiedlichen Antidepressiva auf die Schilddrüsenhormonkonzentrationen eine Erhöhung von T3 bzw. 3,5-T2 im Myelin und den Mitochondrien der Amygdala war. Die ersten funktionellen Untersuchungen ergaben bereits, dass sowohl der Lipidgehalt des Myelins als auch die funktionelle Aktivität der Mitochondrien nach diesen Antidepressiva ebenfalls stimuliert ist. Eine besondere Relevanz erhalten diese Befunde durch drei zusätzliche Ergebnisse bzw. Überlegungen: 1. Es erscheint besonders wichtig, dass das atypische Antidepressivum Tianeptin, welches in der Psychopharmakologie bisher vor allem als „Hypothesenkiller“ bekannt wurde, dieselben Effekte bewirkte wie die anderen untersuchten

Pharmaka; 2. auch phasenprophylaktische Medikamente bzw. Schlafentzug bewirkten Zunahmen der T3-Konzentrationen im Hirnareal Amygdala (siehe unten) und 3. das Hirnareal Amygdala ist von besonderer potentieller Relevanz für die Pathogenese der Depression und dem Wirkungsmechanismus von Antidepressiva (Diskussion siehe unten).

### 4.3 Effekte von Phasenprophylaktika

Beide, chemisch völlig unterschiedlichen Phasenprophylaktika induzierten Erhöhungen der T3-Konzentrationen in den Synaptosomen der Amygdala. Dieser Effekt war für Lithium auf dem 1%-Niveau, bei Carbamazepin auf dem 5%-Niveau signifikant. Der weniger ausgeprägte Effekt von Carbamazepin könnte darauf zurückzuführen sein, dass der Carbamazepinspiegel der Versuchstiere an der unteren Grenze der in der Psychopharmakologie als wirksam angesehenen Serumkonzentrationen lag: Er betrug 3,87 mg/l (siehe Kapitel 3.11), während der effektive klinische Wirkungsbereich in der Psychopharmakologie zwischen 4 und 12 mg/l angenommen wird. Sechs der 12 mit Carbamazepin behandelten Tiere hatten Serumspiegel unter 4 mg/l. Warum der Carbamazepinserumspiegel dieser Versuchsgruppe niedriger lag als bei einer anderen, vor mehreren Jahren mit derselben Carbamazepindosierung behandelten Tiergruppe (Baumgartner et al. 1997), ist unklar.

Im Zusammenhang mit dem Wirkungsmechanismus von Antidepressiva einerseits und Phasenprophylaktika andererseits erscheinen die Ergebnisse insofern interessant und plausibel, als Carbamazepin und Lithium ja eben *keine* Antidepressiva im eigentlichen Sinne sind, sondern in erster Linie als Phasenprophylaktika bzw. als antimanische Medikamente wirken. Es ist daher zu erwarten, dass Antidepressiva einerseits und Phasenprophylaktika andererseits zwar im selben Hirnareal oder zumindest auf dieselben neuronalen Kreisläufe wirken, jedoch in unterschiedlicher Art und Weise. Insofern weisen die hier vorgelegten Ergebnisse darauf hin, dass Antidepressiva einerseits und Phasenprophylaktika andererseits die neuronalen Funktionen der Amygdala auf unterschiedliche Weise beeinflussen und dabei in einem Fall zu einem antidepressiven Effekt, im anderen Fall zu einer Stabilisierung im Sinne eines phasenprophylaktischen Effektes führen. Diese Überlegungen sind jedoch solange spekulativ, als die physiologischen Konsequenzen von erhöhten T3-Konzentrationen in den Synaptosomen nach Lithium- und Carbamazepinbehandlung nicht geklärt sind. In bezug auf

Lithium wurde mehrfach beschrieben, dass dieses Kation in den Synaptosomen des Rattenhirns angereichert wird und dort mit den Funktionen von Magnesium und Kalium interferiert sowie Membranpotentiale verändern kann (z. B. Schmalzing 1986, Lam und Christensen 1992).

#### **4.4 Effekte eines Schlafentzuges**

Auch ein achtstündiger Schlafentzug induzierte eine Zunahme der T3-Konzentrationen in den Synaptosomen der Amygdala. Die antidepressive Wirkung eines Schlafentzuges ist im Gegensatz zu jener von antidepressiven Medikamenten nur kurz anhaltend. Nach einer dem Schlafentzug folgenden Nacht kehrt die depressive Symptomatik in aller Regel in voller Stärke zurück. Der antidepressive Effekt des Schlafentzugs entsteht auf der anderen Seite akut innerhalb von Stunden, während antidepressive Pharmaka, zumindest bei schwereren Depressionen, erst innerhalb von Wochen über bislang nicht genau bekannte Adaptationsmechanismen ihre Wirkung entfalten. Auch hier ist es plausibel, dass Antidepressiva und Schlafentzug Effekte zwar auf dieselben oder inhaltlich zusammenhängende neuronale System ausüben, jedoch in unterschiedlicher Art und Weise. Insofern ist es auch hier plausibel, dass Schlafentzug die T3-Konzentrationen in den Synaptosomen und Antidepressiva diejenigen im Myelin der Amygdala erhöhen. Wiederum müssen funktionelle Untersuchungen klären, welche physiologischen Konsequenzen ein Schlafentzug für die synaptosomalen Funktionen der Amygdala haben.

#### **4.5 Das Hirnareal Amygdala**

Die Amygdala ist jenes Hirnareal, in welchem nach übereinstimmender Ansicht verschiedener Arbeitsgruppen die „emotionale Färbung“ von Sinneseindrücken aller sensorischer Systeme stattfinden soll (Übersichten bei Aggleton 1992, LeDoux 1992, Kandel et al. 1995). In zahlreichen Arbeiten wird die Amygdala insbesondere mit den emotionalen Qualitäten Furcht und Angst in Zusammenhang gebracht (z. B. Rogan und LeDoux 1996, Davis 1998). Andere Arbeiten haben jedoch gezeigt, dass auch positive Emotionen über die Amygdala vermittelt werden können (z. B. Gaffan 1992, Breiter et al. 1996, Schneider et al. 1997). Die Übersichtsarbeit von Aggleton (1992) fasst die funktionellen Defizite zusammen, die bei

Läsionen der Amygdala bei Affen und bei Menschen aufgetreten sind. Das Kernsyndrom ist der Verlust von Emotionalität, von Aggleton „Hypoemotionality“ genannt. Dies ist mit einem Verlust von emotionalen Qualitäten wie z. B. Furcht und Angst verbunden. Das heißt, sensorische Stimuli werden nach wie vor wahrgenommen und erkannt, sie besitzen jedoch keine emotionale Färbung mehr. So haben z. B. amygdalektomierte Affen keine Angst mehr vor ehemals ängstlich besetzten Objekten, andererseits können sie positiv besetzte Objekte von negativ besetzten nicht mehr unterscheiden. Z. B. fressen amygdalektomierte Affen dann nicht mehr nur die ehemals bevorzugte Nahrung (z. B. Bananen), sondern auch Fleisch und sogar Faeces, wenn dies angeboten wird.

Eine gestörte bzw. fehlende emotionale Färbung von Sinneseindrücken ist jedoch genau ein Kernsyndrom depressiver Erkrankungen. Bei depressiven Patienten fehlt insbesondere die positive Färbung der Sinneseindrücke. Andererseits sind emotionale Qualitäten wie Furcht und Angst in krankhafter Weise überrepräsentiert. In Anbetracht der soeben beschriebenen, bisher bekannten Funktionen der Amygdala erscheint es daher naheliegend, dass dieses Areal in die Pathogenese depressiver Erkrankungen und den Wirkungsmechanismus antidepressiver Therapien involviert sein könnte.

Erstaunlich ist jedoch, dass die Amygdala im Rahmen psychopharmakologischer Untersuchungen zum Wirkungsmechanismus antidepressiver Pharmaka nur relativ selten mituntersucht worden ist. Die entsprechenden, inzwischen sehr zahlreichen Studien untersuchen meistens den Kortex, manchmal auch den Hippocampus oder ein anderes Kontrollareal. So begründet sich z. B. eine der Hypothesen zum Wirkungsmechanismus von Antidepressiva, welcher auf der durch Antidepressiva induzierte Induktion verstärkter serotonerger Aktivität beruht, ausschließlich auf Befunde im Hippocampus (Blier und DeMontigny 1994). Auch die von Nestler formulierte Hypothese über die Effekte von Antidepressiva auf neurotrophe Faktoren, wie z. B. BDNF, bezieht sich auf Untersuchungen im Hippocampus (Duman et al. 1997). Dasselbe gilt für die Hypothesen in bezug auf die Effekte von Antidepressiva auf funktionelle Parameter neuroaktiver Steroide (z. B. Glukokortikoidrezeptoren) (z. B. Barden et al. 1995). Der Grund für diese Präferenz des Hippocampus bei Untersuchungen zum Wirkungsmechanismus antidepressiver Medikamente ist nicht von vornherein ersichtlich, da der Hippocampus in den meisten bisherigen

Untersuchungen eher mit Gedächtnisqualitäten als mit der Entstehung von Emotionen in Zusammenhang gebracht wurde. Auch die Ergebnisse von Untersuchungen mittels bildgebender Verfahren bei Patienten mit manisch-depressiven Erkrankungen ergaben keinen Hinweis auf eine gestörte Funktion des Hippocampus (Übersicht bei Drevets 2000). Andererseits zeigen die wenigen Studien, die eine mögliche Rolle der Amygdala bei affektiven Psychosen untersuchten, sehr eindrucksvolle Ergebnisse. Die Übersichtsarbeit von Drevets et al. (2000) zeigt die Amygdala neben verschiedenen Anteilen des cingulären Kortex als eines von zwei Hirnarealen, bei welchen die konsistentesten pathologischen Befunde bei depressiven Patienten gefunden wurden. So berichteten z. B. Drevets et al. (1992) über erhöhte Blutflusswerte in der linken Amygdala depressiver Patienten, die auch im remittierten Zustand noch nachweisbar waren. Sheline et al. (1998) fanden eine bilaterale Volumenreduktion der sogenannten „Core-Nuklei“ der Amygdala bei depressiven Patienten, gemessen mit MRT. Die „Core-Nuklei“ sind definiert als der laterale Nukleus, der basale Nukleus und der akzessorische basale Nukleus. Diese Nuklei entsprechen den von der Arbeitsgruppe des Antragstellers oben referierten Befunden zur Untersuchung der Effekte von Desipramin auf die Cytochromoxidase-Aktivität. Keine Effekte fanden Sheline et al. (1998) im zentralen, medialen und periamygdaloiden Nukleus der Amygdala. Dieselbe Arbeitsgruppe berichtete später, dass depressive Patienten in funktionellen MRI-Untersuchungen eine pathologische Antwort in der linken Amygdala nach Präsentation von angstmachenden Gesichtern zeigten. Dieser Effekte normalisierte sich nach antidepressiver Behandlung (Sheline et al. 2001). Im Rahmen der Grundlagenforschung beschrieben Ordway et al. (1991), dass eine sogenannte „down regulation“ des  $\beta$ 1-adrenergen Rezeptors nach sechs chemisch verschiedenen Antidepressiva nur im basolateralen und im lateralen Nucleus der Amygdala, jedoch in keinem anderen Hirnareal gefunden werden konnte. Duncan et al. fanden ebenfalls eine Reduktion der  $\beta$ 1-adrenergen Rezeptoren nach Imipraminbehandlung im basolateralen Kern der Amygdala, während im zentralen und im medialen Kern keine Effekte gemessen werden konnten (Duncan et al. 1989). Dieselbe Arbeitsgruppe berichteten auch, dass der zentrale, der basolaterale und der laterale Nucleus der Amygdala die einzigen unter zahlreichen untersuchten Hirnregionen waren, welche die Wirkung von Antidepressiva im sogenannten „Porsolt-Swim-Test“ vermittelten (Duncan et al. 1986). Die Arbeitsgruppe Duman untersuchte, in welchen Hirnarealen drei verschiedene Antidepressiva zu einer Zunahme der Phosphorylierung der CREB bzw. der über CRE vermittelten Genexpression

führen. Die Befunde zeigen, dass ein gemeinsamer Effekt der Antidepressiva Fluoxetin, Desipramin und Tranylcypromin nur in der Amygdala, nicht jedoch in fünf anderen Hirnarealen nachzuweisen war (Thome et al. 2000). Boyer fand gemeinsame Effekte der Antidepressiva Imipramin und Citalopram auf die mRNA-Konzentrationen verschiedener NMDA-Rezeptor-Untereinheiten nur in der Amygdala (Boyer et al. 1998). Aubry et al. berichteten 1999, dass eine vierwöchige Behandlung von Ratten mit dem Antidepressivum Amitriptylin zu einer Reduktion der mRNA-Spiegel des CRF-Rezeptors-1 im lateralen, basolateralen und medialen Kern der Amygdala führte. Im Nucleus paraventricularis des Hypothalamus wurden keine Effekte gefunden. Die physiologischen Konsequenzen dieses Befundes für die Regulation der Glukokortikoidhormonproduktion und –sekretion sowie ihr Zusammenhang mit den bei Depressiven beobachteten Auffälligkeiten des Glukokortikoidstoffwechsels (z. B. Barden et al. 1995) müssen weiteruntersucht werden.

Im Gegensatz zur chronischen Behandlung mit Antidepressiva erzeugt die Akutbehandlung mit diesen Pharmaka eine Zunahme der Expression von C-Fos vor allem im zentralen Nucleus der Amygdala (z. B. Veening et al. 1998, Morelli et al. 1999). Ebenso führten die im Rahmen sogenannter „taste-aversion-Paradigmen“ eingesetzten toxischen Lithiumkonzentrationen akut zu einer Zunahme der C-Fos-Expression im zentralen Nucleus der Amygdala (z. B. Yamamoto et al. 1997, Swank 2000). Diese Effekte im Nucleus centralis der Amygdala stellen daher vermutlich akute Stressantworten dar.

Zusammenfassend kann festgehalten werden, dass die Amygdala in Zusammenhang mit dem Wirkungsmechanismus von Antidepressiva und Phasenprophylaktika zwar relativ selten untersucht worden ist. Die wenigen vorliegenden Studien der Grundlagenforschung einerseits, die physiologische Rolle der Amygdala im Rahmen der Generierung von Emotionen andererseits und schließlich auch die Ergebnisse der Studien mit bildgebenden Verfahren bei depressiven Patienten lassen jedoch die Hypothese plausibel erscheinen, dass die Amygdala sowohl bei der Pathogenese depressiver Erkrankungen als auch beim Wirkungsmechanismus von Antidepressiva und Phasenprophylaktika eine herausragende Rolle spielt. Inwieweit andere Areale, die mit den in der hier vorliegenden und anderen Studien angewandten, zu „groben“ Präparationsmethoden nicht erfasst werden können, wie z. B. der cinguläre Kortex oder der Nucleus accumbens, für die Wirkung von Antidepressiva ebenfalls von Bedeutung sind, bedarf weiterer Untersuchungen. Abschließend darf darauf hingewiesen werden, dass die hier beschriebene „topographische Spezifität“ von biochemischen Effekten von



Antidepressiva einerseits und Phasenprophylaktika andererseits nach Wissen des Verfassers in der psychopharmakologischen Literatur bisher nicht anzutreffen ist. Wie bereits in der Einleitung dargelegt, wurde eine kaum noch überschaubare Anzahl von Einzeleffekten verschiedener Antidepressiva und Phasenprophylaktika auf verschiedenste Parameter in mehreren Rattenhirnarealen beschrieben. *Gemeinsame* Effekte all dieser Pharmaka auf relevante biochemische oder physiologische Parameter in *einem spezifische* Hirnareal wurden bisher jedoch nicht nachgewiesen. Da der manisch-depressiven Erkrankung jedoch vermutlich weniger eine Störung des „gesamten Gehirns“ als vielmehr eine – bislang unbekannte – Beeinträchtigung ganz spezifischer Strukturen zugrunde liegt, ist die Lokalisation von relevanten Effekten auch eher in spezifischen topographischen Strukturen zu erwarten als ubiquitär im gesamten Gehirn. Die topographische Spezifität der hier vorgelegten Befunde verleiht daher den Ergebnissen eine potentielle Relevanz. Diese wird noch unterstrichen durch die Tatsache, dass Untersuchungen der Schilddrüsenhormonkonzentrationen nach Applikation von Antidepressiva bzw. Phasenprophylaktika direkt aus den in Kapitel 1 genannten klinisch-psychiatrischen Zusammenhängen zwischen diesen Hormonen und manisch-depressiven Erkrankungen abgeleitet wurde. Es sei jedoch abschließend nochmals betont, dass die hier erarbeiteten Ergebnisse erst dann eine Bedeutung bekommen, wenn es gelingt, *funktionelle* Effekte der genannten Pharmaka im Myelin, Mitochondrien und Synaptosomen noch besser nachzuweisen. In der Arbeitsgruppe des Verfassers wird seit einiger Zeit die Methode der Proteomanalyse mittels der 2D-Gelelektrophorese aufgebaut. Ziel ist, die Effekte verschiedener Antidepressiva und Phasenprophylaktika auf die Konzentrationen einer möglichst großen Anzahl von Proteinen in relevanten Hirnarealen und subzellulären Strukturen, also z. B. in der Amygdala zu messen.

#### **4.6 Effekte verschiedener Stressfaktoren**

In der vorliegenden Arbeit wurden die Effekte einer einmaligen i.p.-Injektion mit Kochsalz sowie einer über einen Zeitraum von 14 Tagen einmal täglich wiederholten i.p.-Injektion mit Kochsalz auf die Schilddrüsenhormonkonzentrationen untersucht. Schließlich können auch die Effekte eines achtstündigen Schlafentzugs unter dem Oberbegriff „Stress“ diskutiert werden. Zunächst erscheint wichtig, dass eine 14-tägige i.p.-Injektion zu keiner Zunahme der T3-Konzentrationen im Myelin, den Mitochondrien oder den Synaptosomen der Amygdala

fürte. Dies ist ein Hinweis auf die Spezifität der mit Antidepressiva und Phasenprophylaktika gefundenen Ergebnisse und weist darauf hin, dass diese vermutlich nicht stressinduziert sind. Eine dreimalige, in halbstündigen Abständen vorgenommene i.p.-Injektion mit Kochsalz führte zu einer signifikanten Erhöhung der T3-Konzentrationen im Homogenat des frontalen Kortex. Dieses Ergebnis bestätigt entsprechende Voruntersuchungen (Baumgartner et al. 1998). Erstaunlicherweise waren jedoch die T3-Konzentrationen in keiner der untersuchten Subfraktionen erhöht. Dieser Befund lässt Zweifel daran aufkommen, ob die stressinduzierten Veränderungen der T3-Konzentrationen tatsächlich von physiologischer Relevanz sind. Es ist jedoch nicht auszuschließen, dass Veränderungen der T3-Konzentrationen einzelner Subfraktionen entweder vor Ablauf von 2 Stunden oder auch später auftreten und daher hier nicht gemessen werden konnten. Die Zunahme der T3-Konzentrationen im Homogenat des frontalen Kortex war arealspezifisch, denn weder im parietooccipitalen Kortex noch im Mittelhirn konnten entsprechende Veränderungen nachgewiesen werden. Auch dies entspricht den Vorbefunden (Baumgartner et al. 1998). Ob schließlich die „isolierten“ Einzelergebnisse, die eine Zunahme der T3-Konzentrationen im Myelin des parietooccipitalen Kortex oder eine Abnahme der T4-Konzentrationen im Myelin des frontalen Kortex nach den i.p.-Injektionen physiologisch bedeutsam sind oder eher einen „statistischen Artefakt“ darstellen, kann hier nicht beurteilt werden.

Eine einmal tägliche i.p.-Injektion induzierte über einen Zeitraum von 14 Tagen eine signifikante Abnahme der nukleären T3-Konzentrationen von vier Hirnarealen (Abb. 3.8.1 bis 3.8.3). In drei weiteren Arealen war keine entsprechende Veränderung festzustellen. Dieser Befund ist ein besonders gutes Beispiel dafür, dass selbst Veränderungen nukleärer T3-Konzentrationen nicht detektiert werden können, wenn das Hormon nur im Homogenat quantifiziert wird. Mit molekularbiologischen Methoden müsste nun geklärt werden, die Expression welcher Gene durch diese Form von Stress beeinflusst wird bzw. welche dieser Effekte über T3 vermittelt wird. An diesem Befund ist außerdem noch interessant, dass eine routinemäßig im Rahmen von pharmakologischen Tierexperimenten angewandte Prozedur, nämlich die intraperitoneale Applikation von Kochsalz, über eine verminderte nukleäre T3-Konzentration die Genexpression bereits bei Kontrolltieren beeinflusst. Umso wichtiger ist es, über Alternativen der Pharmaapplikation, z. B. über eine Darreichung im Trinkwasser oder im Futter, nachzudenken.

#### **4.7 Messung der Schilddrüsenhormonkonzentrationen und physiologische Parameter bei Hypothyreose und Hyperthyreose**

Eines der erstaunlichsten Befunde der vorliegenden Arbeit betrifft die Quantifizierung von T3 in Homogenaten und subzellulären Fraktionen von Ratten, bei denen eine hyperthyreote Stoffwechsellage induziert wurde. Die Induktion einer Hyperthyreose mit T3 führte zu einem etwa sechsfachen Anstieg der T3-Serumspiegel, auch die T4-Serumspiegel waren bei den beiden mit zwei unterschiedlichen T4-Dosierungen unterschiedlich lange behandelten Tiergruppen signifikant erhöht. In allen vier untersuchten Hirnarealen führte die Applikation von T4 zu signifikanten Erhöhungen der T4-Konzentrationen sowohl in den entsprechenden Homogenaten als auch in allen Subfraktionen. In den hypothyreoten Tieren sowie in den mit T3-behandelten Tieren waren die T4-Konzentrationen erwartungsgemäß entweder nicht mehr nachweisbar oder massiv abgesunken. Erstaunlich war nun, dass in drei von vier Hirnarealen, nämlich den beiden kortikalen Arealen und der Amygdala, keine Zunahme der T3-Konzentrationen in den Homogenaten oder den subzellulären Fraktionen bei den hyperthyreoten Tieren messbar war. Die T3-Konzentrationen der mit 24 µg T4 behandelten Tiere waren in einigen Fällen sogar niedriger als jene der Kontrolltiere. Nur im Mittelhirn waren die T3-Gewebespiegel der mit T3- und der höheren T4-Dosis behandelten Tiere fast durchgehend signifikant erhöht. Die trotz massiv erhöhter T4-Werte unverändert gebliebenen T3-Konzentrationen in den drei genannten Hirnarealen zeigen, dass der von den beiden Deiodaseisoenzymen D2 und D3 konstituierte „Autoregulationsmechanismus“ offenkundig sehr effizient funktioniert. Im Falle einer Hyperthyreose wird die Aktivität der D2 vermindert, jene der D3 erhöht (Übersicht bei Leonard und Köhrle 2000). Dies führt zu einer Konstanthaltung der T3-Gewebespiegel trotz supraphysiologischem T4-Angebot. Bei einer T3-induzierten Hyperthyreose metabolisiert eine erhöhte D3-Aktivität das vermehrt angebotene T3 offenbar so effizient, dass die Gewebespiegel wiederum gleichbleibend unverändert bleiben können. Dieser Mechanismus scheint jedoch nicht mehr zu funktionieren, wenn, wie im Falle einer Hypothyreose, praktisch kein T4 mehr aus dem Blut angeboten wird. Die Tatsache, dass im Mittelhirn als einzigem Areal erhöhte T3-Gewebekonzentrationen messbar waren, in diesem Areal also der Autoregulationsmechanismus offenbar weniger gut funktioniert hat, könnte damit zusammenhängen, dass in diesem Areal sehr niedrige D2- und D3-Aktivitäten gemessen wurden (z. B. Pinna et al. 2002). Die Kapazitäten der

Dejodaseisoenzyme, insbesondere jene der D3, könnten in diesem Falle möglicherweise nicht mehr ausreichen, um die T3-Gewebekonzentrationen konstant zu halten.

Angesichts dieser erstmalig erhobenen Befunde stellt sich die Frage, über welche Mechanismen denn die bekannten biochemischen und auch psychopathologischen Wirkungen einer hyperthyreoten Stoffwechsellaage vermittelt werden. Zur Klärung dieser Frage ist die Quantifizierung der Schilddrüsenhormone in Homogenaten und subzellulären Fraktionen aller weiteren Hirnareale erforderlich. So könnte es sein, dass die Zunahme der T3-Konzentrationen in Arealen wie dem Mittelhirn und vielleicht noch anderen Hirnregionen dort „in situ“ physiologische Effekte bewirken, welche über neuronale Kreisläufe auch die Funktionen anderer von solchen Arealen beeinflussen, in welchen die T3-Konzentrationen konstant geblieben sind. Theoretisch ist auch nicht auszuschließen, dass die Zunahme der Gewebekonzentrationen anderer Hormone, wie z. B. T4 oder 3,5-T2, zu den biochemischen und psychopathologischen Effekten einer hyperthyreoten Stoffwechsellaage beitragen könnten (siehe Einleitung).

#### **4.8 Zusammenhänge zwischen Aktivitäten der Dejodaseisoenzyme und Schilddrüsenhormonkonzentrationen**

Die Effekte einiger der in dieser Untersuchung verwandten Psychopharmaka sowie jene von Schlafentzug und einer einmaligen i.p.-Behandlung auf die Aktivitäten der Dejodaseisoenzyme D2 und D3 wurden bereits in früheren Studien untersucht. Es liegt daher nahe, zu analysieren, ob die hier berichteten Veränderungen in den Hormonkonzentrationen in subzellulären Fraktionen in irgendeiner Weise auf spezifische Änderungen der Aktivitäten der Dejodaseisoenzyme zurückgeführt werden können.

Eine 14-tägige Behandlung mit 5 mg/kg Desipramin induzierte keine Änderungen der D2 und D3-Aktivitäten, während nach 20 mg/kg und – in verstärkter Form – nach 40 mg/kg Desipramin eine signifikante Zunahme der D2-Aktivitäten in mehreren Rattenhirnarealen gemessen werden konnte (Campos-Barros et al. 1994). Die Applikation von 20 mg/kg Desipramin induzierte eine signifikante Zunahme der D2-Aktivität in den Arealen frontaler Kortex, parietaler Kortex, Hippocampus, Amygdala, limbisches Vorderhirn und Mittelhirn. Keine signifikanten Effekte konnten hingegen im Striatum und im Hypothalamus

nachgewiesen werden. Die Dosis von 40 mg/kg indizierte eine Zunahme der D2-Aktivität im Striatum, jedoch nicht im Hypothalamus. Dieses „Muster“ der Effekte von Desipramin auf die D2-Aktivitäten entspricht nicht ganz genau, aber doch relativ gut den in dieser Arbeit beschriebenen Abnahmen der T4-Konzentrationen in den Synaptosomen (und in einigen Arealen auch im Myelin) nach Desipraminbehandlung. Diese war am stärksten in jenen Arealen, in welchen die Typ II-Dejodaseaktivität zunahm, war im Striatum nur noch der höchsten Dosis von 40 mg/kg Desipramin sichtbar und im Hypothalamus überhaupt nicht erkennbar. Es ist unklar, wie eine Erhöhung der D2-Aktivität mit einer Abnahme der T4- und, in den meisten Fällen, auch der T3-Konzentrationen in den betroffenen Hirnarealen einhergehen kann. Eine gesteigerte D2-Aktivität könnte zwar T4 metabolisieren und dadurch dessen Konzentrationen vermindern, zu erwarten wäre dann jedoch eine *Zunahme* und nicht eine Abnahme der T3-Konzentrationen in den betroffenen Strukturen. Hypothetisch wäre denkbar, dass Desipramin auf bisher unbekannte Weise T3 metabolisiert und damit eine kompensatorische Zunahme der D2-Aktivität und der T4-Metabolisierung zu T3 bewirkt mit dem Ziel, die T3-Konzentrationen möglichst lange im physiologischen Bereich zu halten (siehe Kapitel 1.1.2). Interessant ist in diesem Zusammenhang allerdings wiederum, dass auch massive Veränderungen der D2-Aktivitäten, wie sie nach hochdosierter Desipraminbehandlung zu beobachten waren (Campos-Barros et al. 1994), mit keinerlei Änderungen der nukleären T3-Konzentrationen verbunden sind.

Die weiteren Ergebnisse der vorliegenden Arbeit sind jedoch fast alle nicht mit den jeweiligen Ergebnissen der Messungen der Dejodaseaktivitäten in Einklang zu bringen. So induzierte Desipramin auch in der Amygdala, wie in den oben genannten anderen Arealen, „nur“ eine Zunahme der D2-Aktivität, die D3-Aktivität blieb unverändert. Warum bzw. über welchen Mechanismus gerade in diesem Areal die T3-Konzentrationen im Myelin ansteigen, ist daher unbekannt. Eine 14-tägige Behandlung mit Lithium bzw. Carbamazepin induzierte in einer früheren Studie keine signifikanten Effekte auf die Dejodaseaktivitäten der D2 und D3 in der Amygdala (Baumgartner et al. 1997). Auch hier ist unklar, wie diese beiden Pharmaka die gemessene Zunahme der T3-Konzentrationen in den Synaptosomen dieses Hirnareals induzieren.

