

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

DISSERTATION

Die Lautstärkeabhängigkeit akustisch evozierter Potentiale als Indikator der zentralen serotonergen Funktion

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

vorgelegt der Medizinischen Fakultät
Charité – Universitätsmedizin Berlin

von

Alexander Wutzler

aus Martigny

Gutachter:

1.: Prof. Dr. G. Juckel

2.: Prof. Dr. R. W. Veh

3.: Prof. Dr. A. J. Fallgatter

Datum der Promotion: 16.05.2010

Inhaltsverzeichnis

I.Zusammenfassung der Publikationen	4
<i>I.1. Titel und Autoren der Publikationen.....</i>	<i>4</i>
<i>I.2 Abstract</i>	<i>5</i>
<i>I.3. Einleitung und Zielstellung.....</i>	<i>6</i>
<i>I.4. Methodik.....</i>	<i>7</i>
<i>I.5. Ergebnisse</i>	<i>10</i>
<i>I.5. Diskussion</i>	<i>12</i>
<i>I.6. Literatur</i>	<i>15</i>
II.Anteilserklärung	18
III.Publikationen	19
IV.Lebenslauf.....	20
V.Publikationsliste	21
VI.Selbstständigkeitserklärung	22

I.Zusammenfassung der Publikationen

I.1. Titel und Autoren der Publikationen

1. Loudness Dependence of Auditory Evoked Potentials as Indicator of Central Serotonergic Neurotransmission: Simultaneous Electrophysiological Recordings and In Vivo Microdialysis in the Rat Primary Auditory Cortex

Alexander Wutzler, Christine Winter, Werner Kitzrow, Idun Uhl, Rainer Wolf, Andreas Heinz, Georg Juckel

2. Is the loudness dependence of auditory evoked potentials modulated by the selective serotonin reuptake inhibitor citalopram in healthy subjects?

Idun Uhl, Inge Gorynia, Jürgen Gallinat, Christoph Mulert, Alexander Wutzler, Andreas Heinz, Georg Juckel

3. Association of 5-HT_{1B} Receptor Polymorphisms With the Loudness Dependence of Auditory Evoked Potentials in a Community-Based Sample of Healthy Volunteers

Georg Juckel, Ulrich Hegerl, Ina Giegling, Paraskevi Mavrogiorgou, Alexander Wutzler, Christiane Schuhmacher, Idun Uhl, Martin Brüne, Christoph Mulert, Oliver Pogarell, Dan Rujescu

I.2 Abstract

Das biogene Amin Serotonin (5-Hydroxytryptamin, 5-HT) und die serotonerge Neurotransmission haben große Bedeutung für eine Vielzahl pathophysiologischer und pharmakologischer Fragenstellungen in der Psychiatrie. Als nicht-invasiver in-vivo-Marker der zentralen serotonergen Funktion wird die Lautstärkeabhängigkeit akustisch evozierter Potentiale (LAAEP), insbesondere der N1/P2-Komponente, diskutiert. Verschiedene Arbeiten lieferten bislang sowohl im Tierversuch als auch bei gesunden Probanden und Patienten mit neurologischen und psychiatrischen Erkrankungen Hinweise dafür, dass ein inverser Zusammenhang zwischen serotonerger Aktivität und LAAEP besteht: ist die serotonerge Aktivität niedrig, besteht eine starke LAAEP und umgekehrt. In den drei hier zusammengefassten Arbeiten ist dieser Zusammenhang näher untersucht worden.

Tierexperimentell wurden an männlichen Wistar-Ratten simultan der Serotoningehalt im primären akustischen Kortex und die LAAEP gemessen. Hier konnte gezeigt werden, dass zwischen LAAEP und absolutem Serotoningehalt ein inverser Zusammenhang besteht und dass sich die LAAEP und der Serotoningehalt nach intravenöser Verabreichung des selektiven Serotoninwiederaufnahme-Inhibitors (SSRI) Citalopram mit dem Anstieg des Serotoningehalts vermindert.

In einer weiteren Arbeit wurde an einer Gruppe von gesunden Probandinnen getestet, ob die intravenöse Verabreichung des selektiven Serotoninwiederaufnahme-Hemmers (SSRI) Citalopram die LAAEP des primären akustischen Kortex moduliert. Hier fanden sich keine signifikanten Ergebnisse, möglicherweise aufgrund von Wechselwirkungen zwischen Prolaktin und Cortisol mit dem serotonergen System in der rein weiblichen Stichprobe.

Eine dritte Arbeit untersuchte schließlich den Zusammenhang zwischen Single-nucleotid-Polymorphismen des 5-HT_{1B}-Rezeptor-Gens und der LAAEP des primären akustischen Kortex in einer Gruppe von 127 gesunden Probanden. Hier konnte erstmals eine Assoziation zwischen 5-HT_{1B} SNPs und der LDAEP des tangentialen Dipols des primären akustischen Kortex gezeigt werden

I.3. Einleitung und Zielstellung

Die serotonerge Neurotransmission hat große Bedeutung für eine Vielzahl pathophysiologischer und pharmakologischer Fragenstellungen in der Psychiatrie. Eine Störung der zentrale serotonergen Neurotransmission wird in der Pathophysiologie von affektiven und schizophrenen Störungen, Zwangs-, Abhängigkeits- und Angsterkrankungen sowie gestörter Impuls- und Aggressionskontrolle als relevant angesehen. Vor diesem Hintergrund konzentriert sich die psychopharmakologische Forschung in den letzten Jahren zunehmend auf die Entwicklung serotonin-selektiver Pharmaka wie z. B. selektiver Serotonin-Reuptake-Inhibitoren (SSRI), 5-HT_{1a}-Agonisten, 5-HT₂- oder 5-HT₃-Antagonisten und auf die Beobachtung der klinischen Response auf diese Pharmaka bei Untergruppen psychiatrischer Patienten. Problematisch ist, dass ein peripherer biologischer Marker der serotonergen Funktion bislang nicht existiert, da z. B. die Messung von Serotonin in Vollblut und Liquor wenig aussagekräftig ist (Moret und Briley 1991). Ein valider Indikator der zentralen serotonergen Funktion würde die Untersuchung von psychiatrischen Krankheitsbildern oder psychopharmakologischen Fragen, wie z. B. die Prädiktion der Therapieresponse auf serotonerge Pharmaka, ermöglichen (Hegerl und Juckel 1993). Ein geeigneter Indikator im Sinne dieser Forderung ist die Lautstärkeabhängigkeit akustisch evozierter Potentiale (LAAEP), da die LAAEP zum einen direkt von der serotonergen Neurotransmission im primären akustischen Kortex, wo sie generiert wird, abhängt, zum anderen aber kein Teil des serotonergen Systems ist und somit als Zielgröße außerhalb des zu messenden Systems liegt (Juckel 2003). Mehrere Arbeiten legen die Indikatoreigenschaft der LDAEP, insbesondere der N1/P2-Komponente der AEP, nahe. So zeigten sich nach serotoninagonistischer Medikation Veränderungen in späten akustisch evozierten Potentialen (AEP) von Ratten (O'Connor et al. 1992). Patienten zeigen eine Abnahme der LAAEP nach mehrmaliger Gabe von serotoninagonistischen Substanzen (von Knorrung 1982, Juckel et al. 2002a). Ziel der hier vorgelegten Arbeiten ist es, mithilfe human- und tierexperimenteller Untersuchungen die Hypothese zu untermauern, dass die Lautstärkeabhängigkeit akustisch evozierter Potentiale zum zentralen serotonergen System in enger Beziehung steht und daher als ein valider Indikator des serotonergen System anzusehen ist.

I.4. Methodik

Evozierte Potentiale

Evozierte Potentiale (EP) sind hirnelektrische Massenaktivitäten nach standardisierten sensorischen Reizen, z. B. als visuell, akustisch oder somatosensorisch evozierte Potentiale. EP weisen einen definierten zeitlichen Bezug zum auslösenden Reiz auf und sind somit gut mit den physiologischen Entstehungsmechanismen in Zusammenhang zu bringen. EP sind reproduzierbar und spiegeln Regelmäßigkeiten der Massenaktivität kortikaler Neurone wieder (Freeman 1975). Durch Mittelung mehrerer ereigniskorrelierter Segmente (Einzel-Sweeps) des fortlaufenden EEGs wird erreicht, dass sich das EP, das mit immer gleicher Latenz zum Reiz auftritt, deutlicher gegenüber dem Hintergrundrauschen des EEGs abhebt, da sich die nicht ereigniskorrelierte Aktivität des EEG-Signals bei der Mittelung aufhebt. Parametrisiert werden die EP mit Latenz und Polarität, wobei die Latenz die Zeit vom Reizbeginn bis zum Gipfel des jeweiligen Potentials ist, der Gipfel der positivste oder negativste Wert innerhalb eines Zeitfensters (lokale Extrema) und die Polarität der Ausschlag in negative oder positive Richtung bezeichnet.

AEP im Menschen und in der Ratte sind bislang gut untersucht und zeigen stabile Ergebnisse bezüglich der Komponenten P1, N1, P2, N2. Die Latenzen der Komponenten erwiesen sich bei Ratten im Vergleich zum Menschen als kürzer. So sind die Komponenten am Rattengehirn etwa 1.8 mal früher ableitbar als beim Menschen (Sambeth et al. 2003, Barth und Di 1993). Die Eigenschaft eines sensorischen Kortex, auf Reize steigender Intensität entsprechend stärkere Reizantworten zu zeigen, wird beim akustischen Kortex mit der Lautstärkeabhängigkeit akustisch evozierter Potentiale (LAAEP) beschrieben. Verschiedene Stimulusintensitäten evozieren hier verschieden hohe Amplituden in den EEG-Sweeps. Für die AEP wurde gefunden, dass mit ansteigender Lautstärke der Stimuli die Amplituden von Komponenten im mittleren und längeren Latenzbereich zunehmen (z. B. Adler und Adler 1989).

Um die Aktivität des primären akustischen Kortex von der des sekundären akustischen Kortex getrennt darstellen zu können, kann die Dipolquellenanalyse

verwendet werden. Die beiden für die Generierung der AEP wichtigen elektrischen Dipole liegen im Bereich der Heschl'schen Querwindungen (primärer akustischer Kortex – tangentialer Dipol) und im lateralen Teil des Gyrus temporalis superior (sekundäre akustische Areale – radialer Dipol).

Im Tierexperiment (Arbeit Nr. 1) erfolgte die Präsentation reiner Sinustöne binaural (1000 Hz, 40 ms, 1800-2200 ms, 4 Intensitätsstufen, 70 Sweeps) frühestens 2 Stunden nach Implantation einer Mikrodialysesonde im primären akustischen Kortex und Befestigung der Schraubelektroden auf der Kalotte. Abgeleitet wurde bipolar, die ersten fünf Reizantworten jeder Intensitätsstufe wurden ebenfalls verworfen. Akustische Stimulation und Ableitung von AEP erfolgte jeweils simultan zur Sammlung des Mikrodialysates in Abständen von 20 Minuten. Nach Erreichen einer stabilen Serotonin-Baseline (3 Werte) erfolgte bei den Tieren der Verum-Gruppe (n=9) die intraperitoneale Gabe von Citalopram (10 mg/kg), bei den Tieren der Kontrollgruppe die Gabe von 0,3 ml 0,9%iger NaCl-Lösung.

Die Untersuchungen zu Arbeit Nr. 2 wurden an 18 gesunden Studentinnen durchgeführt, denen randomisiert entweder der selektive Serotonin-Wiederaufnahme-Hemmer Citalopram verabreicht wurde (20 mg in 250 ml 0,9%iger NaCl-Lösung) oder 0,9%ige NaCl-Lösung (250 ml ohne Zusatz von Citalopram). Abgeleitet wurde dabei eine EEG-Aufzeichnung mit 33 Elektroden. Akustische Stimulation und Aufzeichnung der AEP erfolgte vor Gabe des Medikaments/Placebos und 10 Minuten nach Beginn der Infusion, sowie 10, 30 und 60 Minuten nach Ende der Infusion. Dabei wurden reine Sinustöne binaural mit folgenden Charakteristika präsentiert: 1000 Hz, 40 ms, Interstimulusintervall (ISI) randomisiert zwischen 1800 und 2200 ms, 5 Intensitätsstufen, 70 Sweeps jeder Intensitätsstufe (insgesamt 350 Sweeps). Die ersten fünf Reizantworten jeder Intensitätsstufe wurden verworfen, um Kurzzeit-Habituationseffekte auszuschalten.

Die Untersuchungen zu Arbeit Nr. 3 wurden bei 127 gesunden Probanden in oben beschriebener Weise durchgeführt (hier allerdings mit 100 Sweeps jeder Intensitätsstufe). Die Probanden wurden Genotypisiert, der EEG-Untersucher war bezgl. der Genotypisierung verblindet.

Genotypisierung

HTR1B SNP rs1213368 wurde von Illumina (Illumina, Inc., San Diego, CA) mit Hilfe des Integrated Bead Array System genotypisiert. HTR1B SNP rs6296 wurde genotypisiert wie vorbeschrieben (Rujescu et al., 2003).

In-vivo-Mikrodialyse und Hochleistungsflüssigchromatographie

Mit Hilfe der Mikrodialyse lassen sich chemische Substanzen in einzelnen Regionen im lebenden Gehirn bestimmen. Die Sonde besteht aus einem doppelwandigen Zylinder, dessen äußere Wand eine semipermeable Membran ist. Über den inneren Zylinder strömt eine Pufferlösung in den Raum zwischen inneren und äußeren Zylinder. Entsprechend des Konzentrationsgefälles diffundieren Substanzen aus dem umliegenden Gewebe - beispielsweise Neurotransmitter aus dem Extrazellularraum - in den Puffer, der über den äußeren Zylinder nach außen gepumpt wird.

Die Operation und der anschließende Versuch wurden in der hier besprochenen Arbeit (Arbeit Nr. 3) an anästhesierten männlichen Wistar-Ratten (280-380 g) durchgeführt. Für die Implantation der Mikrodialysesonde im Gehirn und die Befestigung der Elektroden an der Kalotte werden die Tiere in einem stereotaktischen Rahmen nach Knopf fixiert.

Die Konzentration von Serotonin im Mikrodialysat wird mittels Hochleistungsflüssigchromatographie (reversed phase high performance liquid chromatography, HPCL) und eines elektrochemischen Detektors bestimmt (z. B. van der Vegt et al. 2003). Bei der HPLC wird eine mobile Phase mittels Hochdruckpumpen über eine stationäre Phase gepumpt. Die zu trennende Probe wird auf eine Trennsäule aufgetragen und durch die mobile Phase durch die Trennsäule transportiert. Bei der Wanderung durch die Säule treten die Komponenten der Probe, in Abhängigkeit von ihren physiko-chemischen Eigenschaften, unterschiedlich stark mit der Oberfläche der stationären Phase in Wechselwirkung. Je stärker diese Wechselwirkung ist, desto länger wird die Komponente zurückgehalten und desto langsamer bewegt sie sich durch die Säule. Nach dem Verlassen der Säule kann das Eluat mittels eines elektrochemischen Detektors untersucht werden: Die Probensubstanz wird an der Arbeitselektrode, an der ein elektrisches Potential angelegt ist, vorbeigeleitet und je nach dem, ob die Potentialdifferenz gegenüber der Arbeitselektrode positiv oder negativ ist, wird sie oxidiert oder reduziert. Die Elektronenübertragung an der Oberfläche der

Arbeitselektrode erzeugt in der Messzelle einen elektrischen Strom, der proportional zur Konzentration der Probensubstanz ist.

Statistische Auswertung

Die statistische Auswertung wurde mithilfe der Softwarepakete SPSS Version 12, Haploview 3.2 und R haplo.score durchgeführt.

Zweifaktorielle Varianzanalyse wurde durchgeführt, um den Einfluss der Faktoren verabreichte Substanz (i.v.-Infusion von Citalopram vs. Placebo) und Messzeitpunkt (vor Infusion; 10 min nach Beginn der Infusion; 10, 30, 60 min nach Ende der Infusion) auf die LDAEP zu ermitteln.

Zur Herstellung eines Linkage Disequilibrium Map und zur Überprüfung des Hardy-Weinberg-Gleichgewichtes wurde Haploview 3.2 benutzt (Gabriel et al., 2002; Barrett et al., 2005). Zum Vergleich der LDAEP zwischen Haplotypen wurde „Haplo-score“ benutzt (<http://www.R-project.org>) (Schaid et al., 2002).

Permutation (10,000 Permutationen) wurde verwendet um die Signifikanz der Haplotypen-Analyse abzuschätzen und zur Validierung der EM-Werte.

Weiterhin wurden Single-locus-marker-Tests durchgeführt. Varianzanalysen mit Messwiederholung wurden für den tangentialen Dipol der rechten und linken Hemisphäre durchgeführt und für die Covariablen Alter, Geschlecht und Bildungsniveau überprüft.

Korrelationsanalysen nach Pearson wurden durchgeführt, um den Zusammenhang zwischen der LDAEP und dem Serotoningehalt des primären akustischen Kortex der Ratte zu ermitteln, sowie zur Betrachtung der Änderung der LDAEP bei steigendem Serotoningehalt nach Applikation eines SSRI vs. Placebo. Mehrfaktorielle Varianzanalyse mit Messwiederholung wurde durchgeführt um den Einfluss der Faktoren verabreichte Substanz (i.p.-Applikation von Citalopram vs. NaCl) und Messzeitpunkt (vor Applikation, nach Applikation) auf die LDAEP zu ermitteln.

I.5. Ergebnisse

In der Untersuchung an gesunden Probandinnen (Arbeit Nr. 2) zeigte sich kein signifikanter Einfluss der Medikation (Citalopram/Placebo) auf die LDAEP ($p=0,16$, $df=1,0$). Signifikante Effekte des Einflussfaktors Zeitpunkt ($p=0,25$, $df=2,11$) oder der

Interaktion von Medikation und Zeitpunkt konnten ebenfalls nicht gefunden werden ($p=0,58$, $df=2,4$). Es zeigte sich allerdings ein signifikanter Effekt der Medikation auf die Aktivität des tangentialen Dipols der linken Hemisphäre ($p=0,0078$, $df=1,0$), jedoch nicht der rechten Hemisphäre ($p=0,10$, $df=1,0$). Weiterhin zeigte sich ein signifikanter Effekt des Faktors Zeitpunkt auf die Aktivität des tangentialen Dipols der rechten Hemisphäre ($p=0,016$, $df=2,02$), während kein signifikanter Einfluss auf den tangentialen Dipol der linken Hemisphäre gefunden werden konnte ($p=0,47$, $df=2,24$).

Die genetischen Untersuchungen und AEP-Aufzeichnungen an 127 gesunden Probanden (Arbeit Nr. 3) zeigten, dass beide Single-nucleotid-Polymorphismen (SNPs) im Hardy–Weinberg-Equilibrium ($rs1213368$ $p=0.689$, $rs6296$ $p=0.755$) und im Linkage-Disequilibrium waren ($D'=0.89$). Die Single-marker-Untersuchung ergab eine Region-Genotyp-Interaktion mit Hinweis auf einen Effekt der Hemisphäre auf die LDAEP bei beiden SNPs ($rs1213368$: Region Allele $F=4.612$, $df=1/248$, $p=0.033$; GG vs. A-carriers: Region Genotype $F=5.004$, $df=1/123$, $p=0.027$; $rs6296$: Region Allele $F=6.866$, $df=1/248$, $p=0.009$; GG vs. C-carriers: Region Genotype $F=7.605$, $df=1/123$, $p=0.007$). Daher wurden Analysen für jede Hemisphäre durchgeführt. Unterschiede der LDAEP zeigten sich für beide SNPs für den tangentialen Dipol der linken, jedoch nicht der rechten Hemisphäre, wobei G-Allel-Carriers höhere Werte bei beiden SNPs zeigten ($rs1213368$: Allele: $F=6.190$, $df=1/248$, $P=0.014$; Genotyp: $F=4.925$, $df=1/122$, $P=0.009$; GG vs. A-Carrier: $F=9.720$, $df=1/123$, $P=0.002$; $rs6296$: Allele: $F=6.576$, $df=1/248$, $p=0.011$; Genotyp: $F=3.796$, $df=1/122$, $p=0.025$; GG vs. C-Carrier: $F=7.641$, $df=1/123$, $p=0.007$). Die Haplotyp-Untersuchung zeigte eine Assoziation mit der LDAEP des tangentialen Dipols der linken Hemisphäre (global-stat= 10.174 , $df=3$, $p=0.017$, simulated $p=0.018$). Der Haplotyp G-G ($rs1213368$ - $rs6296$) war mit einer stärkeren LDAEP assoziiert (haplotype frequency: 0.67; haplotype score: 3.051; $p=0.0023$, simulated $p=0.0016$). Entsprechend zeigte der komplementäre A-C Haplotyp eine schwächere LDAEP (haplotype frequency: 0.2547; haplotype score: 2.02; $p=0.043$; simulated $p=0.045$). Es zeigte sich keine Assoziation mit der rechten tangentialen Dipol. Keiner der 31 SNPs der Kontrollgene zeigte eine Assoziation mit der LDAEP des tangentialen Dipols. Es wurde keine Einflüsse der Kovariablen Alter, Geschlecht und Bildungsniveau auf die Beziehung zwischen der LDAEP des rechten und linken tangentialen Dipols und den 5-HT1B-Polymorphismus gefunden.

Tierexperimentell zeigte sich eine klare Korrelation (Pearsons Korrelationskoeffizient) der absoluten Serotoninwerte im primären akustischen Kortex (Arbeit Nr. 1) und der LDAEP der Komponenten N1 ($p=0,004$) und P2 ($p=0,045$). In der Citalopram-Gruppe zeigte sich eine signifikante Korrelation zwischen der Änderung der LDAEP der N1-Komponente und der Änderung der Serotonin-Werte nach Citalopramgabe. Mit einer Erhöhung der Serotoninwerte ging eine Verminderung der LDAEP einher ($r=0.86$, $p=0.003$). In der Kontrollgruppe wurde ein solcher Effekt nicht beobachtet. Weiterhin wurde eine signifikante Interaktion der Komponenten Gruppe (citalopram/NaCl) und Änderung des Serotoninlevels (Baseline/nach Medikation) ermittelt [ANOVA mit Messwiderholung $F(1/16)=17.7$, $p=0.001$].

I.5. Diskussion

Die drei hier zusammengefassten Arbeiten wurden durchgeführt, um die Hypothese zu untermauern, dass die Lautstärkeabhängigkeit akustisch evozierter Potentiale ein zuverlässiger nicht-invasiver in vivo Marker der zentralen serotonergen Funktion ist.

Im Zentrum steht hierbei die direkte in vivo Messung von Serotonin im primären akustischen Kortex bei simultaner Ableitung von AEPs (Arbeit Nr. 1). Ein inverser Zusammenhang zwischen LDAEP und kortikalem Serotoningehalt wird durch die Ergebnisse bisheriger Untersuchungen an Mensch und Tier zwar nahegelegt, jedoch war bislang keine simultane in vivo Messung beider Parameter erfolgt. Dies wurde jetzt erstmals an männlichen adulten Wistar-Ratten durchgeführt. Hierbei konnte gezeigt werden, dass der Serotoningehalt des primären akustischen Kortex negativ mit der LDAEP der N1- und P2-Komponente korreliert. Weiterhin führt intraindividuell eine Erhöhung des Serotoningehaltes des primären akustischen Kortex mittels systemischer Citalopram-Injektion zu einer schwächeren LDAEP der N1-Komponente. Für die P2-Komponente war letzterer Effekt nicht signifikant. Dies liegt möglicherweise daran, dass die mittlere Amplitude der P2-Komponente bei Ratten und Menschen niedriger ist (Sambeth et al., 2003) und durch Anästhetika zusätzlich reduziert wird (Antunes et al., 2003).

In einer zweiten Arbeit (Arbeit Nr. 2) an gesunden Probandinnen, denen randomisiert der SSRI Citalopram oder Kochsalzlösung infundiert wurde, zeigten sich nach Infusion allerdings keine signifikanten Unterschiede in der LDAEP. Darüber hinaus

zeigte die Dipolquellenanalyse – im Widerspruch zur Hypothese - dass die Lautstärkeabhängigkeit des tangentialen Dipols der linken Hemisphäre mit Citalopram-Infusion signifikant ansteigt und mit Placebo abnimmt. Dieses Ergebnis kann mehrere Gründe haben: erstens wird die serotonerge Neurotransmission und die Generierung akustisch evozierter Potentiale bei Gesunden Personen möglicherweise durch weitere Faktoren als die pharmakologische Änderung der Serotonin-Wiederaufnahme beeinflusst. Zweitens ist in Zusammenschau der bisherigen Befunde auffällig, dass dieses Ergebnis den allermeisten Untersuchungen widerspricht, insbesondere einer kürzlich erschienen Arbeit mit ähnlichem Design (Nathan et al., 2006). Die hauptsächlichsten methodischen Unterschiede zu letzterer Arbeit bestehen in Verabreichungsart (orale vs. i. v.-Gabe von Citalopram), Messzeitpunkt (einmalige Messung 2 h nach Medikamentengabe vs. 4 Messungen während/nach Infusion) und Stichprobe (12 Frauen und Männer vs. 18 Frauen). Die Pharmakokinetik und die Wahl der Messzeitpunkte könnten die unterschiedlichen Ergebnisse erklären. Zudem wurden nach SSRI-Gabe erhöhte Prolaktin- (Seifritz et al. 1996) und Cortisolspiegel (Attenburrow et al. 2001) gemessen. Die komplexe und noch unklare Interaktion dieser und anderer Hormonsysteme könnte ebenfalls zu o. g. Ergebnissen beigetragen haben, insbesondere in einer rein weiblichen Stichprobe (ein Teil der Probanden nahm orale Kontrazeptiva ein). Schließlich berichteten bis auf zwei Ausnahmen alle Probanden über Nebenwirkungen wie Übelkeit, Kopfschmerzen, Herzrasen oder Müdigkeit nach Infusion, so dass die Nebenwirkungen während Ableitung der AEP möglicherweise zu Verfälschungen geführt haben.

Schließlich konnte in einer dritten Arbeit in einer Stichprobe von 127 gesunden Probanden erstmals eine Assoziation zwischen 5-HT_{1B} SNPs und der LDAEP des tangentialen Dipols des primären akustischen Kortex gezeigt werden (Arbeit Nr. 3). Der G-G (rs1213368-rs6296) Haplotyp und die G-Allele waren mit einer starken LDAEP assoziiert, was für eine höhere Sensitivität dieser Rezeptoren und eine stärkere Feedback-Hemmung der Serotonin-Freisetzung und damit niedrigere kortikale Serotoninspiegel sprechen könnte. Allerdings zeigte nur die LDAEP der linken Hemisphäre signifikante Ergebnisse. Dies könnte einer bereits beschriebenen interhemisphärischen serotonergen Asymmetrie (Jacobs und Azmitia, 1992; Pogarell, 2004) geschuldet sein. Diese Ergebnisse stützen Befunde, die nahelegen, dass 5HT_{1B}-Rezeptor-Polymorphismen bei verschiedenen psychiatrischen Erkrankungen

wie Zwangserkrankung (Mundo et al., 2002; Zohar et al., 2004), Alkoholabhängigkeit und Depression (Hegerl and Juckel, 1993; Fehr et al., 2000) eine wesentliche Rolle spielen.

Insgesamt wird durch die oben dargestellten Ergebnisse die Indikatoreigenschaft der LDAEP gestützt. Künftige Studien sollten allerdings den Zusammenhang zwischen dem endokrinen System, der serotonergen Neurotransmission und der Modulation akustisch evozierter Potentiale untersuchen, um Sensitivität und Spezifität der LDAEP zu erhöhen.

I.6. Literatur

Adler G, Adler J (1989) Influence of stimulus intensity on AEP components in the 80- to 200-millisecond range. *Audiology* 28: 316-324.

Antunes LM, Roughan JV, Flecknell PA (2003): Effects of different propofol infusion rates on EEG activity and AEP responses in rats. *J Vet Pharmacol Ther* 26(5): 369-76.

Attenburrow MJ, Mitter PR, Whale R, Terao T, Cowen PJ. 2001. Low-dose citalopram as a 5-HT neuroendocrine probe. *Psychopharmacology (Berl)* 155 (3):323 –326.

Barrett JC, Fry B, Maller J, Daly MJ. 2005. Haploview: Analysis and visualization of LDAEP and haplotype maps. *Bioinformatics* 21(2):263–265.

Fehr C, Grintschuk N, Szegedi A, Angheliescu I, Klawe C, Singer P, et al. 2000. The HTR1B 861G C receptor polymorphism among patients suffering from alcoholism, major depression, anxiety disorders and narcolepsy. *Psychiatry Res* 97(1):1–10.

Gabriel SB, Schaffner SF, Nguyen H, Moore JM, Roy J, Blumenstiel B, et al. 2002. The structure of haplotype blocks in the human genome. *Science* 296(5576):2225–2229.

Di S, Barth DS (1993): Binaural vs. monaural auditory evoked potentials in rat neocortex. *Brain Research* 630:303-314.

Freeman WJ (1975) Mass action in the nervous system. Academic, New York.

Hegerl U, Juckel G (1993): Intensity dependence of auditory evoked potentials as indicator of central serotonergic neurotransmission - A new hypothesis. *Biol Psychiatry* 33:173-187.

Jacobs BL, Azmitia EC, 1992. Structure and function of the brain serotonin system. *Physiol Rev* 72(1):165–229.

Juckel G, Gallinat J, Sokullu S, Riedel M, Schulz C, Möller HJ, et al (2003): Serotonergic dysfunction in schizophrenia assessed by the loudness dependence measure of primary auditory cortex evoked activity. *Schizophr Res* 64(2-3):115-124.

Von Knorring L (1982): Effect of imipramine and zimelidine on the augmenting-reducing response of visual-evoked potentials in healthy volunteers. *Adv Biol Psychiatry* 9:81-86.

Moret C, Briley M (1991): Platelet 3H-paroxetine binding to the serotonin transporter is insensitive to changes in central serotonergic innervation in the rat. *Psychiatry Res* 38:97-104.

Mundo E, Richter MA, Zai G, Sam F, McBride J, Macciardi F, et al. 2002. 5HT1D β receptor gene implicated in the pathogenesis of obsessive-compulsive disorder: Further evidence from a family-based association study. *Mol Psychiatry* 7(7):805–809.

Nathan, P.J., Segrave, R., Phan, K.L., O'Neill, B., Croft, R.J., 2006. Direct evidence that acutely enhancing serotonin with the selective serotonin reuptake inhibitor citalopram modulates the loudness dependence of the auditory evoked potential (LDAEP) marker of central serotonin function. *Human Psychopharmacology* 21, 47-52.

O'Connor JJ, Rowan MJ, Anwyl R (1992) Serotonergic depression of auditory evoked responses recorded in the rat hippocampus: effect of repeated buspirone treatment. *Brain Res* 573: 190-196.

Pogarell O, Tatsch K, Juckel G, Hamann C, Mulert C, Popperl G, Folkerts M, Chouker M, Riedel M, Zaudig M, Moller HJ, Hegerl U. 2004. Serotonin

and dopamine transporter availabilities correlate with the loudness dependence of auditory evoked potentials in patients with obsessive-compulsive disorder. *Neuropsychopharmacology* 29(10):1910–1917.

Rujescu D, Giegling I, Sato T, Moller HJ. 2003. Lack of association between serotonin 5-HT_{1B} receptor gene polymorphism and suicidal behavior. *Am J Med Genet Part B Neuropsychiatr Genet* 116B(1):69–71.

Sambeth A, Maes JH, Van Lujtelaar G, Molenkamp IB, Jongsma ML, Van Rijn CM (2003): Auditory event-related potentials in humans and rats: effects of task manipulation. *Psychophysiology* 40(1):60-8.

Schaid DJ, Rowland CM, Tines DE, Jacobson RM, Poland GA. 2002. Score tests for association of traits with haplotypes when linkage phase is ambiguous. *Am J Hum Genet* 70(2):425–434.

Seifritz E, Baumann P, Muller MJ, et al .1996. Neuroendocrine effects of a 20-mg citalopram infusion in healthy males. A placebo-controlled evaluation of citalopram as 5-HT function probe. *Neuropsychopharmacology* 14 (4):253 –263.

van der Vegt BJ, Lieuwes N, Cremers TI, de Boer SF, Koolhaas JM. 2003. Cerebrospinal fluid monoamine and metabolite concentrations and aggression in rats. *Horm Behav* 44(3):199–208.

Zohar J, Kennedy JL, Hollander E, Koran LM. 2004. Serotonin-1D hypothesis of obsessive-compulsive disorder: An update. *J Clin Psychiatry* 65(14):18–21.

II. Anteilserklärung

Der Promovend hatte folgenden Anteil an den vorgelegten Publikationen:

Publikation 1:

Anteil 85 Prozent

Beitrag im Einzelnen: Etablierung der elektrophysiologischen Ableitung und der AEP-Messung an anästhesierten Ratten. Etablierung von in vivo Mikrodialyse, HPLC und Serotoninmessung in unserem Labor, Durchführung der Experimente incl. Operation und histologische Aufarbeitung der Gewebeschnitte, Auswertung der AEP und der HPLC-Ergebnisse, statistische Auswertung.

Publikation 2:

Anteil 15 Prozent

Beitrag im Einzelnen: Messung von akustisch evozierten Potentialen, Auswertung der AEP, statistische Auswertung

Publikation 3:

Anteil 15 Prozent

Beitrag im Einzelnen: Patientenscreening, Messung von akustisch evozierten Potentialen, Auswertung der AEP

III. Publikationen

1. Wutzler A, Winter C, Kitzrow W, Uhl I, Wolf RJ, Heinz A, Juckel G. Loudness Dependence of Auditory Evoked Potentials as Indicator of Central Serotonergic Neurotransmission: Simultaneous Electrophysiological Recordings and In Vivo Microdialysis in the Rat Primary Auditory Cortex. *Neuropsychopharmacology*. 2008 Dec;33(13):3176-81.
2. Uhl I, Gorynia I, Gallinat J, Mulert C, Wutzler A, Heinz A, Juckel G. Is the loudness dependence of auditory evoked potentials modulated by the selective serotonin reuptake inhibitor citalopram in healthy subjects? *Hum Psychopharmacol*. 2006 Oct; 21(7):463-71.
3. Juckel G, Hegerl U, Giegling I, Mavrogiorgou P, Wutzler A, Schuhmacher C, Uhl I, Brüne M, Mulert C, Pogarell O, Rujescu D. Association of 5-HT1B receptor polymorphisms with the loudness dependence of auditory evoked potentials in a community-based sample of healthy volunteers. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet* 2008 Jun 5;147B(4):454-8.

IV. Lebenslauf

Aus Datenschutzgründen wurde der Lebenslauf aus der Onlineversion der Dissertation entfernt.

V. Publikationsliste

Uhl I, Gorynia I, Gallinat J, Mulert C, Wutzler A, Heinz A, Juckel G. Is the loudness dependence of auditory evoked potentials modulated by the selective serotonin reuptake inhibitor citalopram in healthy subjects? *Hum Psychopharmacol*. 2006 Oct; 21(7):463-71.

Juckel G, Hegerl U, Giegling I, Mavrogiorgou P, Wutzler A, Schuhmacher C, Uhl I, Brüne M, Mulert C, Pogarell O, Rujescu D. Association of 5-HT1B receptor polymorphisms with the loudness dependence of auditory evoked potentials in a community-based sample of healthy volunteers. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet* 2008 Jun 5;147B(4):454-8.

Wutzler A, Winter C, Kitzrow W, Uhl I, Wolf RJ, Heinz A, Juckel G. Loudness Dependence of Auditory Evoked Potentials as Indicator of Central Serotonergic Neurotransmission: Simultaneous Electrophysiological Recordings and In Vivo Microdialysis in the Rat Primary Auditory Cortex. *Neuropsychopharmacology*. 2008 Dec;33(13):3176-81.

Juckel G, Gudlowski Y, Müller D, Özgürdal S, Brüne M, Gallinat J, Frodl T, Witthaus H, Uhl I, Wutzler A, Pogarell O, Mulert C, Hegerl U, Meisenzahl EM. Loudness dependence of the auditory evoked N1/P2 component as an indicator of serotonergic dysfunction in patients with schizophrenia--a replication study. *Psychiatry Res*. 2008 Feb 28;158(1):79-82.

Mutational analysis of the PITX2 and NKX2-5 genes in patients with idiopathic atrial fibrillation.

Boldt LH, Posch MG, Perrot A, Polotzki M, Rolf S, Parwani AS, Huemer M, Wutzler A, Özcelik C, Haverkamp W. *Int J Cardiol*. 2009 Dec 16. [Epub ahead of print]

Sprachprodukt und serielle Ordnung: Fehleranalyse bei älteren Sprechern mit leichten kognitiven Einschränkungen und älteren Sprechern ohne kognitive Einschränkungen
Wutzler A.

Magisterarbeit TU Berlin, 2007.

VI.Selbstständigkeitserklärung

Ich, Alexander Wutzler, erkläre, dass ich die vorgelegte Dissertationsschrift mit dem Thema: „Die Lautstärkeabhängigkeit akustisch evozierter Potentiale als Indikator der

zentralen serotonergen Funktion“ 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