

1. Einleitung

Tabakrauchen ist weltweit der größte vermeidbare Auslöser für Morbidität und Mortalität. Dafür maßgeblich sind viele der im Tabakrauch enthaltenen über 4800 Substanzen (Deutsches Krebsforschungszentrum, Heidelberg 2006), zum Beispiel über 60 Carcinogene, von denen 20 allein Lungenkarzinome verursachen (Hecht, 1999). Aus dem Jahre 2000 ist bekannt, dass 18% der Todesfälle in den USA auf das Rauchen von Zigaretten zurückzuführen sind (Centers for Disease Control and Prevention). Es trägt substantiell zu den Todesfällen an Krebs bei (11–30%), besonders der Lunge, des Larynx, der Mundhöhle, des Ösophagus, des Pankreas, der Nieren und der Harnblase. Es führt zu Erkrankungen des kardiovaskulären Systems (17–30%, z.B. KHK, Schlaganfall, Bluthochdruck), zu Lungenerkrankungen (30%, insbesondere chronisch obstruktive Atemwegserkrankungen und Pneumonien) sowie niedrigem Geburtsgewicht und anderen Neugeborenenkrankheiten (10%). Ebenso scheint es bei der Entstehung von Demenzen und kognitiven Defiziten eine Rolle zu spielen (Fratiglioni & Wang, 2000). Dennoch wirkt sich Rauchen, auch ohne die konfundierende Variable der Nikotinabhängigkeit, positiv auf etliche kognitive Fähigkeiten aus (Sahakian et al., 1989; Rusted et al., 1992, Jones et al., 1992). Es muss sogar von einem neuroprotektiven Effekt des Rauchens ausgegangen werden, da die Prävalenz von Rauchern unter Patienten mit Morbus Parkinson signifikant geringer ist (Baron, 1986; Morens et al., 1995, Gorell et al., 1999; Checkoway et Nelson, 1999, Werneck et al. 1999). Der neuroprotektive Effekt lässt sich vermutlich auf die Beeinflussung des dopaminergen-serotonergen Systems zurückführen. Unterstützt wird diese Theorie dadurch, dass solch ein neuroprotektiver Effekt beim Morbus Alzheimer, einer dem Morbus Parkinson wegen seiner neurodegenerativen Pathogenese ähnlichen Erkrankung, unlängst widerlegt werden konnte. Im Gegensatz zum M. Parkinson betrifft der M. Alzheimer im Anfangsstadium besonders das cholinerge System. Je nach genetischer Disposition sind Raucher einem relativen Risiko von 1,9–2,1 ausgesetzt an M. Alzheimer zu erkranken (Merchant et al., 1999). Ott et al. (1998) fanden für Raucher ohne das APOEε4-Allel gegenüber Nichtrauchern gar ein 4,6fach erhöhtes Risiko an M. Alzheimer zu erkranken.

Die Suche nach Bestandteilen des Zigarettenrauches, die diese Neuroprotektion bei Personen bewirken, mit einem Risiko an M. Parkinson zu erkranken, ist von allgemeinem Interesse. Bisher verlief diese Suche allerdings erfolglos. Bekannt hingegen ist, dass Norharman sowohl im Zigarettenrauch als auch endogen in der substantia nigra des Gehirns vorkommt (Matsubara et al.

1993). Hier ist es in der höchsten Konzentration von 60 nM nachweisbar (Fekkes & Bode, 1993). Norharman wirkt dopaminerg im Sinne einer Stimulierung dopaminerger Neurone im mesolimbischen System (Sällström-Baum et al., 1995). Aufgrund dieser Befunde könnte Norharman eine der Wirksubstanzen sein, die für die Neuroprotektion eine Rolle spielen.

Im Weiteren folgt ein Überblick über die wesentlichen Aminoxidasen.

1.1. Aminoxidasen

Aminoxidasen sind die Schlüsselenzyme der oxidativen Desaminierung zahlreicher biogener Amine. Dazu gehören zum Beispiel monoaminerge Neurotransmitter und andere biogene Amine wie z. B. Histamin und Polyamine. Die Aminoxidasen können in Abhängigkeit von ihrem Kofaktor in zwei nicht miteinander verwandte Subgruppen unterteilt werden: die FAD-abhängigen Aminoxidasen, zu denen die Monoaminoxidasen A und B (MAO-A und MAO-B) und die Polyaminoxidase gehören, sowie die kupferabhängigen, semicarbazidsensitiven Aminoxidasen (SSAO), zu denen die Plasma SSAO, die Diaminoxidasen und die Lysyloxidasen gehören. Im Folgenden soll vornehmlich auf die MAO und die Plasma SSAO eingegangen werden.

1.1.1. Monoaminoxidase (MAO)

Hare entdeckte 1928 ein Enzym, das die oxidative Desaminierung von Tyramin katalysiert. Später wurde festgestellt, dass dieses Enzym auch Katecholamine oxidiert. Deshalb wurde es Monoaminoxidase (MAO, EC 1.4.3.4) genannt.

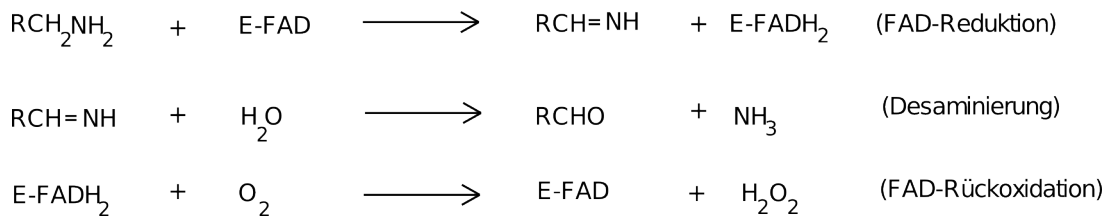
Die Monoaminoxidase ist ein Flavin-Adenin-Dinukleotid (FAD) abhängiges Enzym, das sich hauptsächlich an der äußeren mitochondrialen Membran befindet, in geringeren Mengen jedoch auch im Cytosol (Myanil et al., 1984 Westlund et al., 1993). Es existieren zwei funktionelle Isoformen: MAO-A und MAO-B (Johnston, 1968; Squires, 1968, Hsu et al., 1989; Powell et al., 1989; Weyler et al., 1990; Chen et al., 1993). Die beiden kodierenden Gene bestehen aus 15 Exons und zeigen eine identische Exon-Intron-Organisation, was auf ein gemeinsames Ursprungsgen schließen lässt. Sie sind auf den humanen X-Chromosomen benachbart lokalisiert (Hsu et al., 1989). Die aktiven Formen des Enzyms sind Homodimere mit Molekulargewichten von 59700 Dalton (MAO-A) und 58800 Dalton (MAO-B). Die zwei Formen des Enzyms unterscheiden sich bezüglich ihrer bevorzugten Substrate, Hemmstoffspezifität, Gewebeverteilung,

immunologischen Eigenschaften und der Aminosäuresequenz. Bei der X-chromosomal rezessiven Krankheit M. Norrie liegt ein fast kompletter Ausfall von MAO-A und -B vor. Im Vollblut findet sich bei diesen Patienten keine MAO-B-Aktivität, aber ein stark erhöhter Serotoninspiegel (Vossler et al., 1996).

Das bevorzugte Substrat der MAO-A ist Serotonin (5-Hydroxytryptamin, 5-HT). Die MAO-B baut bevorzugt Benzylamin und Phenylethylamin ab. Die Substratspezifität der jeweiligen Isoform nimmt jedoch bei höheren Substratkonzentrationen ab. Dann kann die eine Isoform die Aufgaben der anderen Isoform übernehmen. So wird beispielsweise 5-HT in höheren Konzentrationen durch die MAO-B oxidiert (Azmitia & Whitaker-Azmitia, 1995). Tyramin und Dopamin sind Substrate beider Isoformen der MAO. Diese werden in den meisten Geweben des Menschen exprimiert. Die Plazenta enthält jedoch vorwiegend MAO-A, in den Thrombozyten wird nur MAO-B exprimiert. Im Gehirn ist die MAO-B Aktivität am stärksten in Basalganglien, Thalamus, Frontallappen, Cerebellum und Parietallappen in absteigender Reihenfolge exprimiert und wird hauptsächlich in serotonergen Neuronen und Glia gefunden (Levitt P et al., 1982; Thorpe LW et al., 1987). Daher ist die Präferenz von 5-HT für die MAO-A überraschend.

Hemmstoffe der MAO-A werden zur Therapie von Depressionen eingesetzt, (Lipper et al., 1979; Murphy et al., 1983; Glover & Sandler, 1986; Cesura & Pletscher, 1992) wohingegen Hemmstoffe der MAO-B erfolgreich bei der Therapie des M. Parkinson angewendet werden (Rinne, 1987; Tetrad & Langston, 1989; Cesura & Pletscher, 1992; The Parkinson Study Group, 1993; Goldberg et al., 1994). Darüber hinaus hat l-Deprenyl, ein irreversibler Hemmstoff der MAO-B, einen dem Rauchen ähnlichen positiven Effekt auf die kognitive Leistung (Schneider et al. 1994). Als selektiver, irreversibler Hemmstoff der A-Isoform der Monoaminoxidase wirkt in niedrigen Konzentrationen Clorgylin (Johnston, 1968), der B-Isoform der MAO (R)-Deprenyl. In hohen Konzentrationen zeigt sich eine umgekehrte Spezifität der Inhibitoren (Knoll & Magyar, 1972). Zu den reversiblen Inhibitoren gehört eine Vielzahl von Substanzen. Als Prototyp der reversiblen MAO-A-Inhibitoren gilt Brofaromin. Ro 41-1049 und Ro 16-6491 gelten als Prototypen der MAO-B-Inhibitoren.

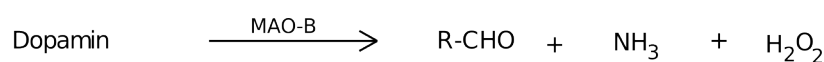
Die Monoaminoxidasen katalysieren die oxidative Desaminierung verschiedener endogener und exogener biogener Amine wie beispielsweise der Neurotransmitter. Diese werden zu ihren korrespondierenden Iminen, die nicht enzymatisch zu Aldehyden oxidiert werden, desaminiert. Der Kofaktor FAD nimmt aktiv an der Enzymreaktion teil (Weyler, 1989). Der Abbauprozess findet in drei Schritten statt:



Die enzymatische Reaktion benötigt molekularen Sauerstoff und führt zur Bildung von Aldehyd und Wasserstoffperoxid. Unter hypoxischen Bedingungen nimmt die Aktivität des Enzyms ab, beziehungsweise führt eine verstärkte Enzymaktivität zu erhöhtem Sauerstoffverbrauch und lokaler Hypoxie. Das Aldehydprodukt wird mittels einer Aldehydreduktase bzw. einer Aldehyddehydrogenase schnell zu einem Alkohol reduziert oder zu einer Karboxylsäure oxidiert. Silverman (1992) geht davon aus, dass bei diversen pathologischen Vorgängen unter gewissen Voraussetzungen der Dopaminumsatz in den Basalganglien des Gehirns gesteigert ist, was zu einer erhöhten Bildung von Wasserstoffperoxid führt. Dieses wiederum kann bei Anwesenheit von Eisen in hochreaktive, zytotoxische Hydroxylradikale ($\bullet\text{OH}$) umgewandelt werden (Fenton-Reaktion, Chiueh et al., 1992a).

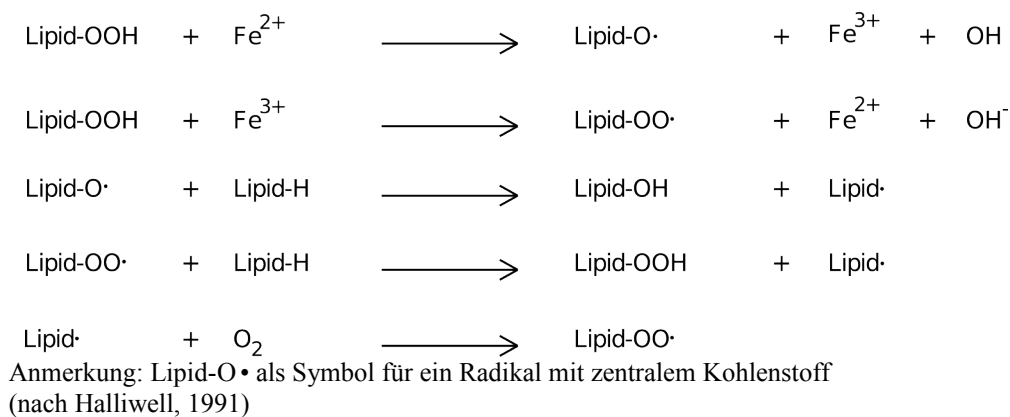
Dopamin wird außerdem in einer gering-antioxidativen Umgebung spontan und/oder durch eine Oxygenase zum Dopamin-Chinon oxidiert. Da diese Reaktion reversibel ist (durch Glutathion, α -Liponsäure, Carotenoide, NADH, sowie Vitamin E und C), stellt Dopamin eine Redox-maschinerie für die Neuronen dar, in denen es gebildet wird bzw. an den Stellen, an denen es freigesetzt wird (bouton en passage, Kötter, 1994). Unter neuronalen Bedingungen, mit geringen Mengen der oben erwähnten Antioxidantien, zyklisiert das Dopamin-o-Chinon weiter zu Dopaminochrom, aus dem entweder das Dopamin-o-Hydrochinon oder das neurotoxische Dopamin-o-Semichinon spontan entstehen. Beide können zu 5,6-Dihydroxyindol weiteroxidiert werden, der Vorstufe des Neuromelanins.

Die nicht-enzymatische Oxidation von Dopamin wird durch Sauerstoff und Übergangsmetallionen wie beispielsweise Fe^{2+} , Cu^{2+} und Mn katalysiert (Donaldson et al., 1989, Poirier et al., 1985). In vivo führt die Dopamin-Autoxidation durch reaktive Sauerstoff- und Stickstoffradikale zur Bildung von Semichinonradikalen:



Fenton Reaktion (Halliwell 1992, Cadenas & Davies 2000)

Die bei der oxidativen Desaminierung entstehenden Hydroxylradikale zerfallen innerhalb von Nanosekunden und können Kettenreaktionen mit Bildung freier Radikale in Gang setzen. Das führt in Membran- oder Lipoproteinnähe zum Angriff auf die Fettsäureseitenkette der Phospholipide. Hier werden, indem die freien Radikale mit Lipiden, DNA und Aminosäuren in den Proteinen reagieren, degenerative Prozesse ausgelöst. Dabei bildet sich Wasser und ein Radikal mit zentralem Kohlenstoffatom. Das Radikal reagiert mittels Sauerstoff zum Peroxyradikal weiter. Peroxyradikale sind reaktionsfreudig genug, um die Fettsäureseitenketten anzugreifen, so dass es zur eben genannten Kettenreaktion kommt, die auch als Lipidperoxidation bekannt ist:



Dieser Prozess ist insbesondere in der zona compacta der substantia nigra von großer Bedeutung, da dort Eisenionen in besonders hohen Konzentrationen vorkommen (Chiueh et al., 1992). Außerdem reagiert Dopamin mit Eisen, was wahrscheinlich zu noch höherer Zytotoxizität führt (Sofic et al., 1991a, b). Die beschriebenen Prozesse haben zur Folge, dass die Neurone „undicht“ werden und die Plasmamembran dem Kalziumeinstrom nicht mehr standhalten kann. Kalzium steigt intrazellulär zu toxischen Konzentrationen an und induziert die Apoptose der Neurone (Fahn & Cohen, 1992; Berman & Hastings, 1999). Dieser Prozess ist wahrscheinlich für die Pathogenese des M. Parkinson von Bedeutung.

Selegilin (l-Deprenyl) hemmt die MAO-B irreversibel und wurde als eine der ersten Substanzen in einer doppelblinden, prospektiven, klinischen Studie untersucht (The Parkinson Study Group, 1989). Neuropathologische Analysen zeigten, dass l-Deprenyl das Ausmaß des Neuronenuntergangs im lateralen Teil der substantia nigra der pars compacta reduzierten (Rinne, 1991). Riederer et al. (1991) konnten die neuroprotektiven Wirkungen des l-Deprenyls auf die dopaminergen Neurone nachweisen. L-Deprenyl schwächt die Wirkungen des für dopaminerge Neurone spezifischen Neurotoxins MPP⁺ ab, dessen Bildung aus 1-Methyl-4-Phenyl-1, 2, 3, 6 Tetrahydro-

pyridin (MPTP) durch die MAO katalysiert wird. In deutlichem Widerspruch hierzu steht das Ergebnis einer großen klinischen Studie, die eine erhöhte Mortalität bei Patienten zeigt, die mit einer Kombination aus Levodopa und L-Deprenyl behandelt wurden (Ben-Shlomo et al., 1998). Ungeachtet der inkonsistenten Befunde über den MAO-Hemmstoff L-Deprenyl bleibt die Frage, welcher Anteil des Tabakrauches für die immer wieder nachgewiesene Hemmung der MAO-B verantwortlich ist (Oreland et al., 1981, Berlin et al., 1995). Die selektive Hemmung der MAO-B vermindert die Desaminierung von Dopamin, was die MAO-B Hemmstoffe zu einem recht attraktiven Medikament bei der Behandlung des Morbus Parkinson macht. Da die dopaminergen Neuronen der Basalganglien bei Ausbruch des Morbus Parkinson jedoch bereits um 80% reduziert sind (Bernheimer et al., 1973), ist der therapeutische Effekt nicht so zufrieden stellend, wie ursprünglich erhofft. Ob genau an dieser Stelle die neuroprotektive Wirkung des Rauchens angreift, da die MAO-B Inhibition bereits vor dem Untergang großer Mengen an Neuronen stattfindet, oder ob es noch der zusätzlichen Enzyminhibition der MAO-A bedarf und/oder weitere komplexe Prozesse in diese Neuroprotektion involviert sind, muss zunächst offen bleiben.

MAO und Rauchen

Durch das Rauchen einer Zigarette konnte tierexperimentell an einzelnen Nervenzellkörpern der substantia nigra und des nucleus reticularis pontis caudalis eine MAO-Hemmung von 37% und bei vier Zigaretten gar eine Hemmung von 100% erreicht werden (Pavlin & Sket, 1993). Hierbei war die Aktivität der MAO-A stärker als die der MAO-B betroffen. Dass im Zigarettenrauch eine oder mehrere Substanzen enthalten sind, die eine Hemmung der MAO-B-Aktivität in den Thrombozyten bewirken, wiesen mehrere Forschergruppen nach (Oreland et al., 1981; Yong et al., 1986; Berlin et al., 1995). In peripheren Organen wie Herz, Lunge, Nieren (Fowler et al., 2003) und im zentralen Nervensystem ist bei Rauchern eine etwa 40%ige Reduktion der Enzymaktivität mittels PET-Untersuchungen nachweisbar (Fowler et al., 1996). Berlin et al. (1995) fanden bei 88 Rauchern (zwei Drittel Männer, ein Drittel Frauen) eine Minderung der MAO-B-Aktivität um 53%, wobei der K_m -Wert nicht bestimmt wurde (zur Definition des K_m -Wertes siehe unten, S.27). Der für diesen Effekt verantwortliche Inhibitor wurde bisher noch nicht identifiziert. Die Substanzen Nikotin, Cotinin, Cyanid und Thiocyanat konnten ausgeschlossen werden. Yu und Boulton (1987) bestimmten die Hemmkonstante des Nikotin bei $K_i = 4 \cdot 10^{-2}$ M; für eine 20%ige Hemmung benötigten Oreland et al. (1981) eine Konzentration von $5 \cdot 10^{-4}$ M, was bereits einer 2000fach höheren Konzentration, als sie selbst im Blut von starken Rauchern

gefunden wird, entspricht. Fowler et al. (1998) konnten mittels einer PET-Studie im Gehirn von Pavianen, denen sie zuvor Nikotin injiziert hatten, den Befund bestätigen, dass Nikotin auch im zentralen Nervensystem nicht als Hemmstoff der MAO-B in Frage kommt. Durch Cotinin, Cyanid und Hydrazin, drei weiteren Bestandteilen des Zigarettenrauches ließ sich in vitro ebenfalls keine Inhibition der MAO-B erreichen (Yong et al., 1986). Ebenso hatte Thiocyanat in einer Konzentration von 10^{-2} M keinen Effekt auf die MAO-Aktivität (Yu & Boulton, 1987). Untersuchungen im Rattenhirn ergaben für 2-Naphtylamin, das ebenfalls im Tabakrauch vorkommt, lediglich eine Hemmkonstante für die MAO-A von $K_i = 52 \mu\text{M}$ und für die MAO-B von $K_i = 40 \mu\text{M}$ (Hauptmann & Shih, 2001). Aus Tabakblättern konnten Khalil et al. (2000) die Substanz 2,3,6 Trimethyl-Benzoquinon isolieren und stellten für humane gastrointestinale MAO-A eine $K_i = 3 \mu\text{M}$ und für humane Leber-MAO-B eine Hemmkonstante von $K_i = 6 \mu\text{M}$ fest. Eine Untersuchung des Tabakrauches auf diese Substanz wurde jedoch nicht durchgeführt.

Glassmann und Koob (1996) vermuten, dass die durch Rauchen induzierte Reduktion der Peroxidasebildung und der damit vergesellschaftete oxidative Stress bereits bei einer geringgradigeren Hemmung der MAO-B Aktivität stattfindet, als sie durch l-Deprenyl erreicht wird. Diese Vermutung begründen sie damit, dass bei lediglich einem der acht Probanden der Fowler Studie eine Hemmung der MAO-B, vergleichbar der Wirkung von l-Deprenyl, nachweisbar war.

1.1.2. Semicarbazid-sensitive Aminoxidasen (SSAO)

Die SSAO (EC 1.4.3.6) stellen eine Gruppe von Enzymen dar, die Kupfer und im aktiven Zentrum eine Carbonylgruppe enthalten. Sie kommen beim Menschen und den meisten Säugetiergeweben sowohl membrangebunden als auch frei löslich wie zum Beispiel im Blutplasma vor (Banchelli, 1983; Bond, 1977; Precious, 1988).

Die Plasma SSAO oder auch Benzylaminoxidase genannt, findet sich im Blutplasma und in hohen Konzentrationen in den Blutgefäßen. Die SSAO können eine Reihe biogener Amine, (z. B. Benzylamin) desaminieren, wobei jedoch noch nicht abschließend geklärt ist, welcher Stoff ihr wichtigstes endogenes Substrat darstellt (Buffoni, 1995; Callingham, 1995). Sie haben je nach SSAO Molekulargewichte von etwa 97 KD.

Inhibitoren im menschlichen Plasma sind Carbonylreagentien z.B. Semicarbazid ($IC_{50} = 5 \mu\text{M}$ im Blutplasma von Schweinen), Carbidopa, Hydralazin ($IC_{50} = 2 \mu\text{M}$ im Blutplasma von

Schweinen), Benserazid, jedoch nicht Deprenyl (10^{-5} M) oder Pargylin (10^{-4} M) (Pino et al., 1997). Zur Definition von IC_{50} siehe unten, S. 28.

1.2. Thrombozyten als Modell für neuronale Synapsen

Thrombozyten gelten als adäquates Modell sowohl für die 5-HT Neurone bezüglich Aufnahme, Speicherung und Ausschüttung (Maes & Meltzer, 1995) als auch für die zentrale MAO-Aktivität und die monoaminerge Funktion des Gehirns (Oreland et al., 1981; Stahl, 1985; Da Prada et al., 1988). In Einklang damit zeigte eine PET-Untersuchung der MAO-B-Hemmung in den Thrombozyten durch einen reversiblen MAO-B-Inhibitor (Ro 19-6327), dass dieser Befund auf die zentrale MAO-B Hemmung mit diesem Hemmstoff übertragbar ist (Bench et al., 1991). Chen et al. (1993) wiesen nach, dass die Nukleotidsequenz humaner MAO-B cDNA aus Thrombozyten und dem frontalen Kortex identisch ist. Außerdem ist die Primärstruktur des 5-HT_{2a}-Rezeptors im Gehirn und den Thrombozyten, in denen er den nahezu ausschließlich exprimierten 5-HT-Rezeptorsubtyp darstellt, identisch (Hrdina, 1996).

1.3. β -Carbolin-Alkaloide

Norharman und Harman gehören chemisch zur Gruppe der β -Carboline. Bei Norharman und Harman (Pyrido[3,4-b]Indole) handelt es sich um aktive Metaboliten von Indolalkylaminen, wie beispielsweise Tryptamin und 5-Hydroxytryptamin. Ihre Bildung und ihr Vorkommen sind in mehreren Säugetierspezies und dem Menschen nachgewiesen (Honecker & Rommelspacher, 1978, Shoemaker et al., 1980; Airaksinen & Kari, 1981a; Holmstedt, 1982; Bosin et al., 1989; Rommelspacher et al., 1991a; Brossi, 1993; Fekkes & Bode 1993). Die höchste natürlich aufgetretene Konzentration bei Menschen fand sich in der substantia nigra (16 nmol/kg Gewebe) (Matsubara et al., 1993). Die Synthese von Norharman erfolgt spontan durch Kondensation von Tryptamin mit Formaldehyd. Dieser wird enzymatisch aus Methylentetrahydrofolat (MTHF) gebildet. Harman entsteht analog durch Kondensation von Tryptamin mit Pyruvat.

Entstehungswege einiger β -Carboline

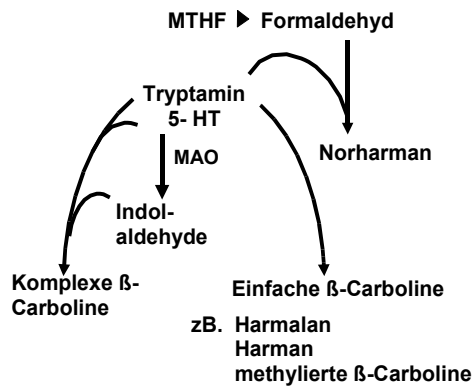


Abbildung 1: **Entstehungswege einiger β -Carboline.**

Legende: MAO: Monoaminoxidase,
MTHF: Methyltetrahydrofolat,
5-HT: 5-Hydroxytryptamin, Serotonin.
Schema vereinfacht nach H. Rommelspacher

Die Gruppe der β -Carboline kommt zudem in verschiedenen Pflanzen, Lebensmitteln (Pfau & Skog, 2004) und Genussstoffen vor: in der *Passiflora incarnata* (Passionsblume), in Kaffee (Herraiz & Chaparro, 2006) sowie beispielsweise in Soja und Bier (Rommelspacher et al., 1994) vor. In gut messbaren Mengen entsteht Norharman im Tabakrauch durch Pyrolyse aus der Aminosäure Tryptophan (Poindexter, 1962). Eine Steigerung der Konzentration von Norharman und Harman im Blutplasma von rauchenden Probanden konnte von Breyer-Pfaff et al. (1996) im Zeitverlauf dokumentiert werden. Erhöhte Werte auf endogenem Weg entstandenen Norharmans finden sich bei chronisch Alkoholkranken im Entzug und dabei auffallenderweise zu Beginn von Halluzinationen bei intensivmedizinisch behandelten Alkoholikern z. B. mit einem Trauma nach Unfällen (Rommelspacher et al., 1991, Spies et al., 1998). Norharman ist biologisch aktiv. Gesteigerte Konzentrationen vermögen bei Probanden halluzinogene Wirkungen zu entfalten (Spies et al., 1998). Im Tierexperiment löste Norharman tonisch-klonische Krämpfe aus (Rommelspacher et al., 1981), induzierte im Geller-Seifter-Paradigma Pro-Konfliktverhalten

(Rommelspacher et al., 1982) und bewirkte eine Steigerung der Lokomotorik (Gunn, 1935; Sigg et al., 1964; Naranjo, 1979; Airaksinen & Kari, 1981b; Holmstedt, 1982; Airaksinen et al., 1987; Pranzatelli & Snodgrass, 1987). Autoradiographische Studien zeigten hochaffine Bindungsstellen für Norharman im hypothalamus, im n. accumbens, den amygdala, im hippocampus, dem neocortex und den olfaktorischen Strukturen (Pawlik et al., 1988). Norharman interagiert mit einigen Rezeptorsystemen im menschlichen Gehirn, Benzodiazepinrezeptoren und (in höheren Konzentrationen) mit 5-HT- und Dopaminrezeptoren, sowie mit einer spezifischen, hochaffinen β -Carbolin-Bindungsstelle (May et al. 1994, Müller et al. 1981). Norharman hemmt bevorzugt die MAO-B ($K_i = 730\text{nM}$) im Hirngewebe von Ratten (May et al. 1991a). Es kann die Blut-Hirnschranke gut passieren und akkumuliert im Gehirn (Partitionsfaktor ~ 3) (Fekkes & Bode, 1993).

Harman und einige andere Harmala-Alkaloide, die auch im Zigarettenrauch vorkommen, sind als potente Inhibitoren der Monoaminoxidase A bekannt (Pletscher et al., 1959; Buckholtz und Boggan, 1977; Meller et al., 1977; Airaksinen und Kari, 1981b; Glover et al., 1982; Cesura & Pletscher, 1992, Soto-Otero, 1998). Harman bindet an eine einzelne hochaffine Bindungsstelle der MAO-A im ZNS von Ratten (May et al., 1991a) ($K_D \sim 3\text{ nM}$), Marmosets (May et al., 1991b) und Schweinen (May et al., 1990). In vitro hemmt Harman die MAO-A-Aktivität ($K_i = 220\text{ nM}$) (May et al., 1991a).

β -Carboline stehen auch in der Diskussion als Vorläufer von Neurotoxinen M. Parkinson zu verursachen (Matsubara et al., 1998, Gearhart et al., 2000). Hintergrund der Vermutung ist die Tatsache, dass die N-Methyl- β -Carbolin-Kationen Struktur der von MPP^+ , das aus MPTP entsteht, ähnelt. Gegen diese Hypothese sprechen jedoch die stabilen epidemiologischen Studien, die bei Rauchern das signifikant geringere Vorkommen von M. Parkinson als bei Nichtrauchern nachweisen.

1.4. 5-Hydroxytryptamin (5-HT, Serotonin)

Der Neurotransmitter 5-Hydroxytryptamin (5-HT, Serotonin), ein biogenes Amin, kommt in vielen Geweben wie Milz, Lunge, Schilddrüse, Herz, in den enterochromaffinen Zellen des Gastrointestinaltraktes, den Mastzellen, den Thrombozyten und im ZNS, dort vorwiegend in den Raphekernen und im hypothalamus vor. In den enterochromaffinen Zellen des Gastrointestinaltraktes, wo das Indolamin aus enteral aufgenommenem L-Tryptophan synthetisiert wird, finden

sich 90% dieser Substanz. Obwohl Thrombozyten 5-HT nicht selbst synthetisieren können, sondern es über einen aktiven Transportmechanismus aufnehmen, kommt es in ihnen in hohen Konzentrationen vor. Das im Blut vorhandene 5-HT wird zu 90% in den Thrombozyten (ca. $500 \text{ ng}/10^9 \text{ Thr}$) (Schmidt et al., 1997) gespeichert. Die restlichen 10% zirkulieren frei im Plasma (ca. 20 µg/ml). In Lunge und Leber wird 5-HT zu 5-Hydroxyindolessigsäure metabolisiert und mit dem Urin ausgeschieden. Andere Wege der Inaktivierung verlaufen über die Bindung an Serumproteine und Oxidation durch Aminoxidasen.

Die MAO-A beeinflusst die Konzentration von 5-Hydroxy-Indol-Essigsäure (5 HIAA), dem Hauptmetaboliten von 5-HT (Donnelly & Murphy, 1977). Obwohl die MAO-A 5-HT besser abbauen kann als die MAO-B, scheinen Neuronen, die 5-HT als Transmitter nutzen, hauptsächlich MAO-B zu exprimieren (Westlund et al., 1985). 5-HT ist für die Regulation fundamentaler physiologischer Vorgänge im menschlichen Körper verantwortlich. Darunter fallen Motorik, Herzkreislaufaktivität, Atmung und die Kontrolle der Körpertemperatur. Ebenso beeinflusst Serotonin das Essverhalten, den Schlaf und aggressives Verhalten. Veränderte 5-HT-Konzentrationen sind mit diversen psychiatrischen Erkrankungen in Verbindung gebracht worden, wie zum Beispiel Depression, Selbst- und Fremdaggression, Angst- und Panikzuständen, Bulimie, Schizophrenie und Alkoholismus (van Praag et al., 1987, Jacobs, 1999).

Im Zusammenhang mit dem Thema der Dissertation ist die Tatsache auffallend, dass die Prävalenz von Rauchern unter psychisch Kranken höher als in der Normalbevölkerung ist. Das gibt Anlass zu verschiedenen Hypothesen. Es könnte sein, dass eine gemeinsame Prädisposition zum Rauchen und zur Depression vorliegt, bzw. dass das Vorhandensein bestimmter Genvarianten die beiden Zustände prädisponiert, so dass Raucher gefährdeter sind psychische Krankheiten zu entwickeln (Kendler, 1993). Auch könnte es sein, dass Tabakrauchen quasi als Selbstmedikation zur Linderung der Symptome und unerwünschten Wirkungen der Medikamente genutzt wird (Goldstein, 1987). Ohne näher auf die Hypothesen im einzelnen einzugehen, erschien es aufschlussreich, den Einfluss des Rauchens auf die Konzentration von 5-HT im Blutplasma und den Thrombozyten zu untersuchen, insbesondere, da bisher in der Literatur wenig und widersprüchlich berichtet wird. Schmidt et al. (1997) berichten zwar über eine relative Erhöhung der 5-HT-Konzentration bei rauchenden im Vergleich zu nichtrauchenden Alkoholpatienten und eine generelle Erhöhung der 5-HT-Konzentration bei Opiatabhängigen, jedoch über keinen Effekt bei den gesunden Probanden. Racké et al. (1992) stellten fest, dass die Ausgangs-5-HT-Werte der Raucher signifikant höher als die der Nichtraucher lagen. Beim Rauchen einer Zigarette kam es in

den Thrombozyten von Nichtrauchern zu einem vorübergehenden Anstieg des 5-HT um 350%. Bei Rauchern ließ sich dieser zusätzliche Effekt nicht nachweisen. Ähnliches ließ sich für Nikotinkaugummi feststellen. Marasini et al. (1986) fanden bei Rauchern vor dem Rauchen nur leicht aber nicht signifikant erhöhte 5-HT-Konzentrationen. Nach dem Rauchen kam es weder bei Rauchern noch bei Nichtrauchern zu Anstieg oder Abfall der 5-HT-Konzentration (6+6 Probanden). Tuncel et al. (1994) untersuchten lediglich die Effekte von drei Bestandteilen des Zigarettenrauches, Cyanid, Thiocyanat und Nikotin auf das 5-HT. Sparrow et al. (1992) fanden erhöhte 5-HT-Konzentrationen im Urin von Rauchern zwei Stunden nach dem Rauchen. Benwell et al. (1990) fanden in einer post-mortem-Studie eine signifikante Reduktion der 5-HT Konzentrationen im hippocampus von Rauchern.

1.5. 5-HT- und Dopamininteraktionen

Serotonin und Dopamin stehen in einem fragilen Gleichgewicht zueinander, so dass Einflüsse auf eine Substanz Auswirkungen auf die andere haben können. So bewirkt das Entfernen von Dopamin durch selektive Läsion bei neonatalen Ratten die Überwachsung von Serotoninendigungen im nucleus caudatus. Dies führt zu dreifach höheren Konzentrationen an 5-HT als bei neonatalen Kontrollen ohne diese Läsion. Bei erwachsenen Ratten bewirkte die Injektion von 6-Hydroxydopamin in das striatum die Degeneration von dopaminergen Nervenendigungen aber nicht die Sprossung von 5-HT-Axonon. Bei direkter Injektion in die Substantia nigra kommt es allerdings zur starken Sprossung serotonerger Neuriten.

Methylendioxyamphetamin (MDMA), auch Ecstasy genannt, gilt insbesondere bei Einmalgabe als starker 5-HT-Ausschütter. Die Konzentration an 5-HT wird in einigen Hirnregionen bis auf 20% herabgesetzt. Die Langzeitgabe von MDMA führt zum Neuronenuntergang. Substanzen, die sowohl Serotonin als auch Dopamin ausschütten können, wie beispielsweise Methamphetamin gelten als besonders neurotoxisch.

Im Rahmen ihrer neurodegenerativen Erkrankung kommt es bei Alzheimerpatienten zur Abnahme von cholinergen und serotonergen Neuronen.

1.6. Nikotinabbau im menschlichen Organismus

Nikotin wird im Organismus rasch oxidativ abgebaut, seine Eliminationshalbwertszeit im venösen Blutplasma beträgt 2,5 Stunden (Benowitz et al., 1990). Die Hauptmetaboliten sind Pyridinmethylaminobuttersäure und Cotinin. Cotinin hat eine Halbwertszeit von 16–22 Stunden (Swan et al., 2005).

1.7. Zielsetzung

Ziel meiner Forschung war es, den unmittelbaren (bereits nachgewiesenen) Konzentrationsanstieg von Norharman und Harman im Blutplasma durch das Rauchen von Zigaretten zu bestätigen und diese Forschung auf die Thrombozyten, in denen MAO-B vorhanden ist, auszuweiten. Untersucht werden sollte auch, ob Norharman die MAO-B-Enzymaktivität in den Thrombozyten hemmt und ab welcher Konzentration an Norharman die Enzymhemmung eintritt. Außerdem galt es zu prüfen, ob aufgrund der Hemmung der MAO-B eine Erhöhung der 5-HT-Konzentration stattfindet und 5-HT im Plasma und in den Thrombozyten dann als Indikator für die Hemmung dienen kann. Darüber hinaus sollten die pharmakokinetischen Charakteristika sowohl von Norharman als auch von Harman in beiden Kompartimenten bestimmt werden.

1.8. Hypothesen und Fragestellungen

Vorbefunde: Im Zigarettenrauch sind die β -Carboline Harman und Norharman enthalten. Im Blutplasma kommt Norharman in etwa sechsfach höherer Konzentration als Harman vor. Beim Rauchen steigen die Norharman- und Harman-Konzentrationen sowohl im Plasma als auch in den Thrombozyten an und kehren nach einer Rauchpause von 2 h aufgrund ihrer HWZ von 15–30 min (Breyer-Pfaff et al., 1997) wieder auf ihre Ausgangswerte zurück.

Hypothese 1: Der Konzentrationsanstieg von Norharman und Harman sowohl in den Thrombozyten als auch im Plasma hängt von der Anzahl der gerauchten Zigaretten ab, ist also dosisabhängig.

Hypothese 2: Es besteht eine positive Korrelation zwischen den Norharman Werten im Plasma und den Thrombozyten und zwischen den Harman Werten im Plasma und den Thrombozyten.

Hypothese 3: Es besteht eine positive Korrelation zwischen Harman und Norharman zu allen Zeitpunkten im Plasma und den Thrombozyten.

Vorbefunde: Norharman ist ein Hemmstoff der MAO-B und Harman ein Hemmstoff der MAO-A.

Hypothese 4: Aufgrund des im Zigarettenrauch enthaltenen Norharmans kommt es zu einer Hemmung der Aktivität der MAO-B, beurteilt durch ex vivo Untersuchungen. Die Ergebnisse sollen im Zusammenhang mit den Hypothesen diskutiert werden, dass die Hemmung beider Isoformen für die protektive Wirkung des Rauchens bei M. Parkinson bedeutsam ist. Die Hemmung beider Isoformen erfolgt durch den gleichzeitigen Konzentrationsanstieg von Norharman und Harman beim Rauchen.

Hypothese 5: Aufgrund des kompetitiven Hemmmodus steigt der K_m -Wert bei den Rauchern nach dem Rauchen an und ist nach zwei Stunden fast wieder auf seinen Ausgangswert abgefallen. Die maximale Umsatzgeschwindigkeit des Enzyms (V_{max}) bleibt erhalten bzw. sinkt bei nichtkompetitiver Hemmung.

Hypothese 6: Nichtraucher haben etwas höhere V_{max} Ausgangswerte, da im Zigarettenrauch auch irreversible Hemmstoffe enthalten sind.

Hypothese 7: Durch die Hemmung der MAO-B Enzymaktivität kann 5-HT als Substrat der MAO-B (bei hohen Konzentrationen) in den Thrombozyten nicht mehr metabolisiert werden. Es kommt zu einem Anstieg der 5-HT-Konzentration in den Thrombozyten und konsekutiv auch im Blutplasma.