

1 Einleitung

1.1 Schilddrüsenhormone und Gehirn

1.1.1 Aufnahme und Verteilung

Seit den 50er Jahren des letzten Jahrhunderts wurde von mehreren Arbeitsgruppen berichtet, dass radioaktiv-markierte Schilddrüsenhormone im Gehirn von Versuchstieren aufgenommen werden (z.B. Ford et al. 1959, Dratman et al. 1976). Eine direkte Messung der Konzentrationen von Thyroxin (T4) sowie Trijodthyronin (T3) erfolgte in den 80er Jahren mit der von Morreale de Escobar et al. (1985) entwickelten RIA-Methode. Diese Arbeitsgruppe quantifizierte die Schilddrüsenhormonkonzentrationen in den Gehirnen von Rattenembryos. Sie fanden eine T4-Konzentration von 1,1 ng/g Gewebe und eine T3-Konzentration von 1,3 ng/g. Diese Ergebnisse waren insofern überraschend, als die Konzentration von T3 im Gehirn etwa jener von T4 entsprach, während das entsprechende T3/T4-Verhältnis in nicht-zentralnervösen Organen wesentlich niedriger war, z.B. ca. 1 : 6 in der Leber oder 1 : 4 in der Lunge. Die erste topographisch selektive Quantifizierung der T3- und T4-Gewebekonzentrationen des Rattenhirns wurde 1995 von Campos-Barros et al. publiziert. Auch diese Arbeitsgruppe beschrieb etwa gleich hohe T3- und T4-Konzentrationen in einzelnen Rattenhirnarealen. Die T4-Konzentrationen variierten zwischen 1 ng/g im frontalen Kortex und zwischen 4 und 5 ng/g in den Arealen Hippocampus und Hirnstamm. Die T3-Konzentrationen lagen zwischen 1,5 ng/g in den Arealen Cerebellum und limbisches Vorderhirn und fast 5 ng/g im Mittelhirn. Entsprechende Konzentrationen von T4 und T3 wurden inzwischen auch in verschiedenen Hirnarealen des Menschen in intraoperativ gewonnenen Gewebeproben oder post-mortem gemessen (Campos-Barros et al. 1996).

1.1.2 Metabolismus der Schilddrüsenhormone im ZNS

Der Hauptabbauweg der verschiedenen Schilddrüsenhormonmetabolite ist die Monodejodierung. Man unterscheidet zwischen Dejodierung am Phenolring (5'-Dejodierung) bzw. Dejodierung am Tyrosylring (5-Dejodierung). Die physiologisch bedeutendsten Abbauwege sind die Dejodierung des phenolischen Rings des Thyroxins, aus welchem das

physiologisch aktive T₃ entsteht sowie die Innenring- oder Tyrosylring-Dejodierung des T₃, welche dieses Hormon zu 3,3'-T₂ metabolisiert.

Diese verschiedenen Dejodierungsschritte werden von Jodthyronin-Dejodasen katalysiert, von denen bisher drei verschiedene Isoenzyme charakterisiert wurden. Die Typ I 5'-Jodthyronin-Dejodase (D1), die Typ II 5'-Jodthyronin-Dejodase (D2) und die Typ III 5-Jodthyronin-Dejodase (D3). Alle drei Dejodaseisoenzyme wurden in den letzten Jahren kloniert (Berry et al. 1991, Salvatore et al. 1995, Croteau et al. 1996). Bei allen drei Isoenzymen handelt es sich um Seleno-Proteine. Sie unterscheiden sich durch verschiedene biochemische und physiologische Eigenschaften sowie durch ihre Gewebeverteilung im Organismus (Übersicht bei Leonard und Köhrle 2000).

Die D1 katalysiert sowohl die 5'- als auch die 5-Dejodierung. Die höchste Affinität dieses Enzyms besteht zu rT₃, gefolgt von T₃ und T₄. Hohe Aktivitäten dieses Isoenzym wurden in der Schilddrüse, der Leber, der Niere, dem Darm, der Haut, der Plazenta sowie auch dem Gehirn der Ratte nachgewiesen (Übersicht bei Leonard und Köhrle 2000). Im ZNS des Menschen konnte keine D1-Aktivität mehr gefunden werden (Campos-Barros et al. 1996). Im menschlichen Gehirn erfolgt die Dejodierung von T₄ zu T₃ daher ausschließlich und im ZNS der Ratte überwiegend durch die D2. Die D2 ist eine selektive Phenolring-Dejodase, welche die Dejodierung von T₄ zu T₃ und von rT₃ zu 3,3'-T₂ katalysiert. Ihre Affinität für T₄ ist höher als jene für rT₃, die Michaelis-Menten-Konstante liegt für beide Substrate im niedrigen nanomolaren Bereich (Visser et al. 1982, Übersicht bei Leonard und Köhrle 2000). Die wichtigste physiologische Funktion der D2 besteht in der Produktion des physiologisch aktiven Hormons T₃ durch Außenring-Dejodierung von T₄. Die D2 wurde in dem ZNS sowie im braunen Fettgewebe, dem Ovar, der Haut, dem Herzmuskel, der Plazenta und der Schilddrüse der Ratte sowie im ZNS des Menschen nachgewiesen. (Befunde bei Campos-Barros et al. 1996, Salvatore et al. 1996, Bates et al. 1999, Übersicht bei Leonard und Köhrle 2000).

Die D3 ist eine selektive Innenring-Dejodase, deren wichtigste physiologische Funktion die Inaktivierung von T₃ zu 3,3'-T₂ ist. Die Michaelis-Menten-Konstanten für die Substrate T₄ und T₃ liegen ebenfalls im niedrignanomolaren Bereich (Übersicht bei Leonard und Köhrle 2000). Die D3 wurde im ZNS sowie in der Plazenta, der Haut, der Ovarien und den Hoden von Ratten nachgewiesen (Befunde bei Campos-Barros et al. 1994, 1996, Bates et al. 1999, Eravci et al. 2000, Pinna et al. 2002).

Die D2- und D3-Isoenzyme unterscheiden sich aber nicht nur im Hinblick auf ihre Substratspezifität sowie ihre topographische Verteilung von der D1, sondern auch hinsichtlich ihrer Reaktion auf Änderungen der Schilddrüsenhormonkonzentrationen im Blut. Während eine Hypothyreose die Aktivität der D1 und damit auch die Produktion von T3 in mehreren Organen (z. B. Leber und Niere) hemmt, werden im ZNS die D2-Aktivität stimuliert und die D3-Aktivität gehemmt. Bei einer Hyperthyreose verhalten sich die beiden letztgenannten Enzyme umgekehrt und bilden so eine Art „Autoregulationsmechanismus“, dessen „physiologischer Sinn“ vermutlich darin besteht, auch bei peripheren Stoffwechselstörungen wie Hypo- oder Hyperthyreose den T3-Gehalt des ZNS noch möglichst lange im physiologischen Bereich zu halten (Befunde z. B. bei Leonard et al. 1981, Burmeister et al. 1997, Übersicht bei Leonard und Köhrle 2000).

Eine weitere Besonderheit der Schilddrüsenhormonhomöostase im ZNS besteht darin, dass in diesem Organ ca. 70 bis 80 % des T3 durch lokale, intrazelluläre Dejodierung aus T4 entstehen (Crantz et al. 1982, van Doorn et al. 1984). In anderen Organen wie z. B. der Lunge oder der Leber wird der Großteil des T3-Gehaltes direkt aus dem Blut aufgenommen. Dies bedeutet, dass die T4-Serumkonzentrationen von wesentlicher Bedeutung für die Konzentrationen und Funktionen von T3 im ZNS sind.

Die topographische Verteilung der Aktivitäten der D2- und D3-Isoenzyme im Rattengehirn wurde von mehreren Arbeitsgruppen beschrieben (z. B. Baumgartner et al. 1994, Eravci et al. 2000, Pinna et al. 2002). Die D2-Aktivität schwankt zwischen 60 fmol Jodid/mg Protein/h im Mittelhirn und etwa 200 fmol Jodid/mg Protein/h im Cerebellum. Die Aktivität der D3 ist wesentlich höher, sie schwankt zwischen 500 fmol Jodid/mg Protein/h im Mittelhirn und 16.000 fmol Jodid/mg Protein/h in der Amygdala. Im Cerebellum und in der Medulla ist eine D2-Aktivität, jedoch keine D3-Aktivität nachweisbar.

Die Berechnung der Korrelationen zwischen den Aktivitäten der Dejodaseisoenzyme einerseits und den T3- bzw. T4-Gewebekonzentrationen andererseits über die verschiedenen Hirnareale ergab signifikant negative Korrelationen zwischen der D3-Aktivität und den T3-Konzentrationen (Santini et al. 2001, Pinna et al. 2002). Dieses Ergebnis deutet darauf hin, dass die unterschiedlichen T3-Konzentrationen der einzelnen Hirnareale durch die Aktivität der D3 determiniert werden. Dieses Ergebnis ist insofern plausibel, als die D3-Aktivität 20- bis 100-mal höher ist als jene der D2.

1.1.3 Wirkungen von Schilddrüsenhormonen im Gehirn

1.1.3.1 Effekte an nukleären Rezeptoren

Die am besten charakterisierten Effekte von Schilddrüsenhormonen werden sowohl im ZNS als auch in allen anderen Organen durch Bindung von T3 an seine nukleären Rezeptoren vermittelt (Übersicht bei Anderson et al. 2000). Bereits 1963 entwickelten Tata et al. die Hypothese, dass Schilddrüsenhormone die Transkription von mRNA stimuliert. Im Jahre 1986 berichteten dann zwei Gruppen unabhängig voneinander über die Charakterisierung von Schilddrüsenhormonrezeptoren. Die Gruppe von Sap beschrieb die Isolation eines cDNA-Klons aus Hühnerembryonen und Weinbergers Gruppe isolierte einen cDNA-Klon aus menschlicher Plazenta (Sap et al. 1986, Weinberger et al. 1986). Die aus diesen cDNA-Sequenzen kodierten Proteine hatten Molekulargewichte von 50 bzw. 55 kDa und banden T3 mit hoher Affinität. Das von Weinbergers Gruppe beschriebene Genprodukt wurde T3- β -Rezeptor und das von Sap et al. gefundene Protein T3 Rezeptor- α genannt. Inzwischen konnten insgesamt vier nukleäre T3-Rezeptoren nachgewiesen werden: die Jodthyroninrezeptoren TR α 1, TR α 2, TR β 1 und TR β 2. Über eine Bindung von T3 an die Rezeptoren α 1, β 1 und β 2 wird die Genexpression beeinflusst. Der Rezeptor TR α 2 ist eine Splicing-Variante des α 1-Rezeptors. Er bindet T3 nicht, hemmt aber durch Bindung an spezifische DNA-Sequenzen die Genexpression. Alle vier Schilddrüsenhormonrezeptoren wurden in jeweils unterschiedlicher Dichte im Rattenhirn nachgewiesen (z. B. Thompson et al. 1987, Bradley et al. 1989).

Während zahlreiche Effekte von T3 auf die Genexpression im Stadium der Hirnreifung seit längerer Zeit beschrieben wurden, wurden derartige Effekte am ausgereiften Gehirn erst vor kurzer Zeit nachgewiesen. Das erwachsene Gehirn galt daher bis in die 80er Jahre hinein als „Thyroid Hormone -Resistant“. Die Arbeitsgruppe von Bernal zeigte 1992 erstmals, dass T3 die Expression des RC3-Neurogranin-Gens auch im ausgereiften Rattenhirn beeinflusst (Iniguez et al. 1992). In den letzten Jahren wurden dann Effekte von T3 auf die mRNA-Konzentrationen weiterer Peptide und Proteine im ausgereiften ZNS nachgewiesen, z. B. auf die neurotrophen Faktoren NGF und NT-3 (Giordano et al. 1992) oder auch verschiedene

Neuropeptide wie TRH oder CRF (Ceccatelli et al. 1992). Mit Ausnahme des RC3-Neurogranin-Gens ist allerdings bisher nicht bekannt, ob die gemessenen Effekte direkte Wirkungen von T3 auf die Genexpression der entsprechenden Genprodukte sind, oder ob die T3-Wirkungen indirekt vermittelt werden.

1.1.3.2 Extranukleäre Effekte von Schilddrüsenhormonen

1.1.3.2.1 Effekte an Mitochondrien

Bevor die Effekte von T3 auf die Genexpression zum Hauptgegenstand der funktionellen Schilddrüsenhormonforschung wurde, standen die Effekte von Schilddrüsenhormonen auf den Sauerstoffverbrauch verschiedener Gewebe im Mittelpunkt des Interesses. In den 70er Jahren postulierte die Arbeitsgruppe von Sterling, dass Schilddrüsenhormone an Mitochondrien binden und dort eine Reihe physiologischer Effekte induzieren (z. B. Sterling und Milch 1975, Übersicht über diese älteren Forschungsergebnisse bei Soboll 1993). Diese lang umstrittenen Sterling'schen Hypothesen haben in jüngster Zeit durch Identifizierung von Schilddrüsenhormonrezeptoren an Mitochondrien wieder neue Aktualität gewonnen. So gelangten Ardail et al. (1993) mit immunozytochemischen Methoden der Nachweis von T3-Rezeptoren ($TR\alpha$ und $TR\beta$) an Mitochondrien der Leber. Ähnliche Befunde wurden später auch von Wrutniak et al. (1995) beschrieben. Iglesias et al. (1995) identifizierten zum ersten Mal ein Thyroid-Hormone-Responsive-Element in einem mitochondrial kodierten Gen, der mitochondrialen NADH-Dehydrogenase, Untereinheit 3. Vega-Núñez et al. (1995) zeigten, dass T3 tatsächlich die Expression verschiedener mitochondrial kodierter Gene stimuliert. Eine Reihe der Effekte von T3 auf mitochondriale Funktionen wurden innerhalb von Minuten nach Hormonapplikation oder nach Blockierung der über nukleäre Rezeptoren vermittelten Proteinbiosynthese beobachtet. Diese Befunde sprechen daher für nicht-genomische, direkte Effekte von T3 an den Mitochondrien (Übersicht bei Soboll 1993). Mehrere Arbeitsgruppen berichteten unabhängig voneinander auch über physiologische Effekte des T3-Metaboliten 3,5-T2 an Mitochondrien (z. B. Horst et al. 1989, Lanni et al. 1994). So fanden z. B. Arnold et al. (1998), dass 3,5-T2 an die Untereinheit Va der Cytochromoxidase des Rinderherzens bindet. 3,5-T2 induziert dort eine Aufhebung der allosterischen Hemmung, welche ATP auf die Aktivität der Cytochromoxidase ausübt. Dieser Effekt resultiert daher in einer Zunahme

der Cytochromoxidase-Aktivität. Bei diesen und anderen Berichten über physiologische Funktionen von 3,5-T₂ ist jedoch kritisch anzumerken, dass häufig hohe Dosierungen eingesetzt wurden. So konnte der von Arnold et al. (1998) berichtete Effekt nur nach einer Dosis von 1 µmol 3,5-T₂ beobachtet werden. Diese Dosis liegt etwa millionenfach über den endogenen T₃-Konzentrationen der Leber (Pinna et al. 2002).

In der Zusammenfassung erscheint es heute sehr wahrscheinlich, dass Schilddrüsenhormone physiologische Funktionen an Mitochondrien ausüben. Die Forschungsaktivitäten sind jedoch, insbesondere in bezug auf das ZNS, in diesem Bereich noch lange nicht so systematisch und die Ergebnisse auch nicht so konsistent wie in bezug auf die Effekte von T₃ auf die Genexpression.

1.1.3.2.2 Effekte von T₃ auf die neuronale Erregungsleitung

Von verschiedenen Arbeitsgruppen wurden Effekte von Schilddrüsenhormonen an Synaptosomen beschrieben. Bereits 1972 beschrieben Davidoff und Ruskin, dass mikrojontophoretische Applikation von T₃ zur Auslösung von Aktionspotentialen in spinalen, kortikalen und hypothalamischen Neuronen der lebenden Katze führt. Die Potentiale spontan feuender Neurone wurden ebenso verstärkt wie die inhibitorische Wirkung von GABA oder Glyzin. Die Interpretierbarkeit dieser Studie leidet allerdings darunter, dass die exakt eingesetzten Konzentrationen von T₃ bzw. T₄ nicht angegeben wurden. Mason et al. (1990) beschrieben, dass T₃, jedoch nicht rT₃ oder T₄, die durch Depolarisation induzierte Kalziumaufnahme in den Synaptosomen des Rattenkortex verstärkt. In einer weiteren Arbeit dieser Gruppe wurde nachgewiesen, dass über diesen Mechanismus eine verstärkte Freisetzung von GABA bewirkt wird (Hashimoto et al. 1991). 1996 berichteten Martin et al. über eine durch T₃ vermittelte Hemmung des Chlorideinstroms an GABA-A-Rezeptoren. Dies würde bedeuten, dass T₃ den sogenannten „neuroaktiven Steroiden“ entgegengesetzte Wirkungen an diesem Rezeptor hat. Das Problem besteht jedoch auch hier wiederum darin, dass dieser Effekt bei einer T₃-Konzentration von 100 nM erzielt wurde, welche um mehrere Zehnerpotenzen über den physiologischen T₃-Konzentrationen liegt (siehe Kapitel 1.1.1). Mashio et al. (1992) berichteten über den Nachweis von T₃-Bindungsstellen an Synaptosomen des Rattenkortex. Dratman et al. (1976) beschrieben, dass radioaktiv-

markiertes T3 nach peripherer Injektion in synaptosomalen Fraktionen und auch in Myelinfraktionen von Rattengehirnen angereichert werden. Schließlich zeigte die Arbeitsgruppe von Leonard in einer Reihe von Experimenten, dass nicht nur T3, sondern auch T4 physiologische Effekte an der Zytoplasmamembran bewirkt: Die Bindung von T4 führt einerseits zur Dejodierung zu T3, und bewirkt andererseits eine Polymerisation des Actin-Zytoskeletts (z. B. Farwell et al. 1990, 1993).

Im Zusammenhang mit der synaptischen Signaltransduktion sollen schließlich auch Effekte von T3 auf morphologische Parameter, wie z. B. Zahl und Länge der Dendriten erwähnt werden (z. B. Gould et al. 1990).

Schließlich liegen eine große Anzahl von in sich nicht sehr konsistenten Untersuchungen über Effekte von T3 auf die Charakteristika verschiedener Neurotransmittersysteme vor. Wirkungen von T3 auf Dichte und Second-Messenger-Antworten des noradrenergen, serotonergen sowie des GABAergen und glutamatergen Systems wurden berichtet (Übersicht bei Baumgartner und Campos-Barros 1993).

In der Zusammenfassung ergeben sich – ähnlich wie oben bereits in bezug auf die Mitochondrien beschrieben – eine Reihe von deutlichen Hinweisen auf physiologische Effekte von Schilddrüsenhormonen auf die synaptische Signaltransduktion. Die Befunde sind jedoch bisher eher sporadisch, wurden teilweise nur nach Applikation von unphysiologisch hohen Hormonkonzentrationen beobachtet und eine systematische Forschung über die Mechanismen der Hormonwirkungen sowie ihre physiologischen Konsequenzen liegt bisher nicht vor.

1.2 Schilddrüsenhormone und manisch-depressive Erkrankungen

1.2.1 Psychiatrische Syndrome bei Schilddrüsenerkrankungen

Im Jahre 1888 veröffentlichte die „Clinical Society of London“ eine umfassende Studie über die Symptome von Patienten mit schweren hypothyreoten Erkrankungen. Aus dieser Studie geht hervor, dass hypothyreote Patienten psychiatrische Symptome aus nahezu dem gesamten Spektrum psychiatrischer Erkrankungen aufweisen können: „Wahn und Halluzinationen treten in fast der Hälfte aller Fälle auf, insbesondere bei fortgeschrittenem Krankheitsverlauf. Etwa genauso häufig wird die Krankheit durch das Auftreten von Wahnsinn kompliziert. Dieser kann als akute und chronische Manie, Demenz oder Depression in Erscheinung treten. Besonders auffällig sind in diesem Zusammenhang Beziehungs- und Beeinträchtigungswahn sowie Selbstanklage- und Schuldwahn. Agoraphobien kommen etwas seltener vor“ (Clinical Society of London, 1888).

Auch zahlreiche spätere Untersuchungen beschrieben die genannten psychiatrischen Symptome bei Patienten mit schweren hypothyreoten Stoffwechselstörungen (Übersichten bei Hall et al. 1986, Baumgartner 1993). In einer Arbeit aus dem Jahre 1969, also aus einem „Zeitalter“, in dem Hypothyreosen bereits effektiv behandelt werden konnten und auch die Anwendung standardisierter psychometrischer Testverfahren möglich war, fanden Whybrow et al. (1969) ebenfalls ausgeprägte Störungen im kognitiven Bereich, Kurzzeitgedächtnis und Konzentrationsstörungen bei hypothyreoten Patienten. In bezug auf den Affekt wird berichtet, dass bei 90 % der Patienten eine depressive Stimmung festgestellt wurde, die oftmals der Symptomatik einer wahnhaften Depression glich. Auf die in der Londoner Arbeit häufig zitierten anderen organischen Psychosen finden sich jedoch keine Hinweise mehr. In der Übersichtsarbeit von Gibson aus dem Jahre 1962 wird die Inzidenz von „paranoiden und depressiven Syndromen“ bei Myxödem-Patienten auf 15 bis 30 % geschätzt. Da es seit etwa Mitte des letzten Jahrhunderts möglich ist, hypothyreote Erkrankungen effektiv zu behandeln, sind die klinischen Verläufe dieser Erkrankungen nicht mehr so chronisch progredient und auch die psychiatrischen Symptome deutlich milder ausgeprägt.

Auch bei Patienten mit einer *hyperthyreoten* Stoffwechsellaage wurden häufig psychopathologische Symptome ganz verschiedener psychiatrischer Diagnosen beschrieben.

So können paranoid-halluzinatorische Symptome ebenso auftreten wie Delirien, manisch-depressive Erkrankungen und, vor allem bei milderer Formen der Hyperthyreose, Angsterkrankungen. In der endokrinologischen Praxis sind bei Patienten mit Hyperthyreose heute vor allem Symptome wie Nervosität, Konzentrationsstörungen, Schlafstörungen, Unruhe und Gereiztheit auffällig (Übersichten bei Hall et al. 1986, Baumgartner 1993).

Zusammenfassend können sowohl bei hypo- als auch bei hyperthyreoter Stoffwechsellage eine Vielzahl Diagnose-unspezifischer psychopathologischer Symptome auftreten. Im Rahmen der Fragestellung der vorliegenden Dissertation werden im folgenden die Zusammenhänge zwischen manisch-depressiven Erkrankungen und Schilddrüsenhormonen diskutiert.

1.2.2 Serumkonzentrationen von Schilddrüsenhormonen bei manisch-depressiven Patienten

Das Auftreten von depressiven bzw. manischen Symptomen bei Patienten mit schweren Hypo- und auch Hyperthyreosen legt die Frage nahe, ob die Schilddrüsenfunktion dieser Patienten normal ist. Die Schilddrüsenhormonkonzentrationen im Serum depressiver Patienten wurden inzwischen in insgesamt ca. 50 Studien untersucht. Die Ergebnisse wurden bei Baumgartner et al. (1988) und nochmals bei Baumgartner (2000) zusammengefasst. Sie zeigen eindeutig, dass depressive Patienten laborchemisch euthyreot sind. Vereinzelt beschriebene Auffälligkeiten wie zum Beispiel erhöhte freie Thyroxin(fT4)-Konzentrationen oder erniedrigte TSH-Konzentrationen waren einerseits stets diskret ausgeprägt und konnten andererseits von anderen Autoren in der Regel nicht repliziert werden. Es kann daher als sicher gelten, dass bei depressiven Patienten keine periphere Störung der Schilddrüsenfunktion vorliegt, welche für die psychiatrische Symptomatik ursächlich verantwortlich gemacht werden kann.

1.2.3 Effekte antidepressiver Therapien auf die Serumkonzentrationen von Schilddrüsenhormonen

Obwohl die Serumkonzentrationen der Schilddrüsenhormone bei depressiven Patienten im Normbereich liegen (siehe oben), wurden in den letzten zwei Jahrzehnten zahlreiche Studien veröffentlicht, die überraschende Zusammenhänge zwischen den Schilddrüsenhormon-Serumkonzentrationen und dem Ansprechen auf antidepressive Therapien zeigen konnten.

Bereits im Jahre 1981 zeigten Kirkegaard und Faber, dass die Thyroxin(T₄)- und die fT₄-Serumkonzentrationen nach einer erfolgreich verlaufenden Elektrokrampfbehandlung bei depressiven Patienten signifikant absinken. Dieser Befund wurde 1990 von Scott et al. bestätigt. In bezug auf die Effekte von Antidepressiva auf die Schilddrüsenhormonkonzentrationen haben in den letzten Jahren mehrere Arbeitsgruppen – unabhängig voneinander – berichtet, dass insbesondere die T₄- und die fT₄-Serumkonzentrationen im Verlaufe einer Behandlung mit Antidepressiva absinken (Baumgartner et al. 1988, Joffe und Singer 1990, Duval et al. 1996, Rao et al. 1996, Übersicht bei Baumgartner 2000). Auch bei diesen Untersuchungen korrelierte das Absinken der Hormonkonzentration zur klinischen Wirksamkeit der Medikation. Das heißt, nur bei den „Respondern“ auf das jeweilige Antidepressivum konnte ein Absinken der T₄- bzw. fT₄-Serumkonzentrationen beobachtet werden, bei den „Nonrespondern“ jedoch nicht.

Aus zwei Untersuchungen geht hervor, dass ein Absinken der T₄-Serumkonzentrationen auch bei depressiven Patienten beschrieben wurde, die auf *nicht*-pharmakologische Behandlungsformen ansprachen: Joffe et al. (1996) beschrieb ein Abfallen der T₄-Konzentrationen bei Respondern auf „kognitive Therapie“, Baumgartner et al. (1996) fand ein Absinken der T₄-Spiegel bei Respondern auf Lichttherapie.

Auch in bezug auf die als Phasenprophylaktika bei manisch-depressiven Patienten eingesetzten Medikamente Lithium und Carbamazepin wurden Zusammenhänge zwischen deren Wirksamkeit und den Schilddrüsenhormonkonzentrationen im Serum beschrieben. Zwei Arbeitsgruppen fanden, unabhängig voneinander, dass die Rückfallquote manisch-depressiver Patienten unter Lithium um so höher ausfiel, je niedriger deren T₃-

Serumkonzentrationen waren (Hatterer et al. 1988, Baumgartner et al. 1995). Frye et al. (1999) beschrieben, dass manisch-depressive Patienten während einer einjährigen Lithiumprophylaxe um so mehr Rückfälle hatten, je niedriger ihre freien T4-Spiegel waren.

In bezug auf Carbamazepin berichteten Roy-Byrne et al. bereits 1984, dass die T4- und fT4-Serumkonzentrationen bei Patienten mit affektiven Psychosen während einer Carbamazepinbehandlung nur bei Respondern auf diese Behandlung, nicht jedoch bei Nonrespondern absanken. Frye et al. (1999) fanden auch in bezug auf Carbamazepin einen signifikanten Zusammenhang zwischen prophylaktischer „Response“ und den T4-Serumkonzentrationen: Je höher die T4-Konzentrationen während einer einjährigen, prophylaktischen Behandlung mit Carbamazepin, desto besser ging es den Patienten.

Schließlich fanden mehrere Arbeitsgruppen unabhängig voneinander, dass die Responderate auf pharmakologische und nicht-pharmakologische antidepressive Behandlung um so besser war, je höher die T4- und fT4-Serumkonzentrationen der betreffenden Patienten vor der Behandlung gemessen wurden (Baumgartner et al. 1988, Cole et al. 2002, Prange et al. 1969, Rao et al. 1996, Szuba et al. 1992).

Zusammenfassend erscheint es bemerkenswert, dass ganz verschiedene antidepressive und phasenprophylaktische Behandlungsformen die Schilddrüsenhormonkonzentrationen im Serum verändern und vor allem, dass diese Veränderungen in der Mehrzahl der Studien zur antidepressiven bzw. phasenprophylaktischen Wirksamkeit korrelieren. Da die Serumkonzentrationen von T4 und fT4 während der antidepressiven Behandlung *unter* den bei gesunden Kontrollen gemessenen Normbereich absinkt, handelt es sich bei diesem Effekt vermutlich nicht um eine Normalisierung von ursprünglich stressinduzierten Erhöhungen der Hormonkonzentrationen (z. B. Baumgartner et al. 1988, weitere Diskussion bei Baumgartner 2000). Die genannten Befunde sowie die erstrangige Bedeutung von T4 für die Versorgung des ZNS mit dem physiologisch aktiven Hormon T3 (siehe oben) führen daher zu der Frage, ob Antidepressiva und Phasenprophylaktika Effekte auf die Schilddrüsenhormonkonzentrationen und –funktionen in Geweben wie zum Beispiel dem Gehirn haben. Denkbar wäre z. B., dass die genannten Psychopharmaka die Aufnahme von T4 und die Dejodierung zu T3 in für die Pathogenese manisch-depressiver Krankheiten

relevanten Hirnarealen stimulieren. Falls dieser Effekt nicht auch in der Hypophyse stattfindet, könnte er einerseits das Absinken der T4-Serumkonzentrationen erklären. Andererseits könnte die Zunahme der T3-Konzentrationen am Wirkungsmechanismus der Antidepressiva beteiligt sein. Die potentiellen antidepressiven Eigenschaften von Schilddrüsenhormonen werden daher im nächsten Absatz kurz referiert.

1.2.4 Antidepressive Effekte von Schilddrüsenhormonen

Seit den 60er Jahren wurden mehrere Dutzend Studien publiziert, in welchen über einen antidepressiven Effekt von TRH, TSH, T3 oder T4 berichtet wurde (Übersichten bei Aronson et al. 1996, Baumgartner 2000). Ein antidepressiver Effekt von TRH wurde in den 70er Jahren von einigen Autoren berichtet (z. B. Prange et al. 1970). Die Mehrzahl der Studien konnte diese Effekte jedoch nicht replizieren (z. B. Evans et al. 1975, Hall et al. 1975). In einer neueren Untersuchung fanden Marangell et al. (1997) einen deutlichen antidepressiven Effekt bei acht therapieresistenten depressiven Patienten nach intrathekaler TRH-Applikation. Dieser Effekt könnte allerdings auch durch die von TRH-induzierten erhöhten T3- oder T4-Serumkonzentrationen hervorgerufen worden sein.

Seit den 60er Jahren wurde immer wieder über antidepressive Effekte einer Medikation mit niedrig dosiertem Trijodthyronin (T3) berichtet. So beschrieben Prange et al. (1969), dass 25 µg T3 pro Tag die antidepressiven Effekte von Imipramin beschleunigt. Spätere Studien berichteten über eine Wirkung dieser niedrigen T3-Dosierungen bei therapieresistenten depressiven Patienten (z. B. Joffe und Singer 1990). Diese Befunde konnten jedoch von anderen Arbeitsgruppen nicht bestätigt werden (z. B. Gitlin et al. 1987). Es ist daher bis heute umstritten, ob die Zusatzmedikation von niedrigdosiertem T3 tatsächlich antidepressive Effekte hat (Übersicht bei Aronson et al. 1996).

In den letzten Jahren wird zunehmend über positive Effekte einer Behandlung mit hohen, supraphysiologischen Dosierungen von T4 bei depressiven Patienten berichtet. So fanden z. B. Stancer und Persad (1982) ebenso wie Bauer und Whybrow (1990), dass die Zusatzmedikation von supraphysiologischen T4-Dosierungen (zwischen 300 und 500 µg pro Tag) den klinischen Verlauf von therapieresistenten Rapid Cycling-Patienten stabilisiert. In

jüngster Zeit beschrieben mehrere Studien, dass eine hochdosierte T4-Medikation auch für die antidepressive Behandlung therapieresistenter depressiver Patienten sowie für die Phasenprophylaxe bisher Prophylaxe-resistenter Patienten wirksam ist (Baumgartner et al. 1996, Bauer et al. 1998, Rudas et al. 1999, Übersicht bei Baumgartner 2000). Diese Behandlung mit *supraphysiologischen* Dosierungen von T4 induzierte einerseits eine annähernde Verdopplung der fT4- und T4-Serumkonzentrationen der betreffenden Patienten, war jedoch überraschenderweise mit gering ausgeprägten Nebenwirkungen verbunden. Andererseits zeigte eine an gesunden Probanden durchgeführte Untersuchung, dass dieselben Dosierungen von 300 bis 500 µg T4 pro Tag bei diesen Probanden nach etwa zwei bis drei Wochen zu schweren, nicht mehr tolerablen subjektiven Nebenwirkungen (z. B. Konzentrationsstörungen, Schlaflosigkeit, leichte Erschöpfbarkeit etc.) führte (Bauer et al. 2002). Depressive Patienten „vertragen“ daher offenbar höhere Schilddrüsenhormondosierungen als gesunde Probanden. Dies wiederum könnte hypothetisch durch eine gestörte Schilddrüsenhormonhomöostase (Aufnahme und/oder Metabolisierung und/oder Funktion) der Schilddrüsenhormone im Gehirn depressiver Patienten seine Erklärung finden.

Ein anderer interessanter Aspekt der antidepressiven Wirkung der hochdosierten T4-Medikation bei depressiven Patienten besteht darin, dass T4 nicht allein wirksam ist, sondern nur bei gleichzeitiger Gabe eines Antidepressivum und/oder eines Phasenprophylaktikums erfolgreich wirkte (z. B. Bauer und Whybrow 1990, Baumgartner et al. 1996, Bauer et al. 1998, Bauer et al. 2002). Dieser Befund deutet darauf hin, dass in relevanten ZNS-Arealen depressiver Patienten eine im Moment noch ungeklärte Interaktion zwischen Antidepressiva/Phasenprophylaktika einerseits und Thyroxin andererseits stattfinden könnte. Sinnvoll erscheint die Arbeitshypothese, dass Antidepressiva bzw. Phasenprophylaktika durch vermehrte Aufnahme und/oder Dejodierung von T4 die Konzentration von T3 in relevanten Hirnarealen erhöhten und dass die daraus folgende Zunahme der T3-Funktionen am Wirkungsmechanismus von Antidepressiva beteiligt sind. Eine der Folgen einer erhöhten T4-Aufnahme ins Gewebe wäre die beobachtete Abnahme der T4-Konzentrationen im Serum. Aufgrund dieser Hypothese wurden in den letzten zehn Jahren Untersuchungen durchgeführt, welche die Effekte von Antidepressiva und Phasenprophylaktika auf den Schilddrüsenhormonmetabolismus sowie die Konzentrationen dieser Hormone in Rattenhirnarealen charakterisiert haben.

1.2.5 Effekte von Antidepressiva und Phasenprophylaktika auf den Schilddrüsenhormonmetabolismus und die Schilddrüsenhormonkonzentrationen im ZNS der Ratte

Zur Überprüfung der soeben genannten Hypothesen wurden auch in der Arbeitsgruppe des Verfassers eine Reihe tierexperimenteller Untersuchungen durchgeführt. Zunächst wurden die Effekte verschiedener Psychopharmaka auf die Aktivitäten der Dejodaseisoenzyme D2 und D3 in Rattenhirnarealen untersucht. Diese Studien zeigten, dass alle untersuchten Psychopharmaka die Aktivitäten dieser Enzyme tatsächlich beeinflussten: Subchronische Behandlung mit dem noradrenergen Wiederaufnahmehemmer Desipramin stimulierte die Aktivität der D2 in mehreren Hirnarealen (Campos-Barros et al. 1994). Eine 14-tägige Behandlung mit dem serotonergen Wiederaufnahmehemmer Fluoxetin stimulierte die D2 und hemmte die Aktivität der D3 in kortikalen und limbischen Arealen (Baumgartner et al. 1994). Auch ein 24-stündiger Schlafentzug, welcher bei depressiven Patienten einen ausgeprägten antidepressiven Effekt hat, stimulierte die D2 in verschiedenen Rattenhirnarealen (Campos-Barros et al. 1993, Eravci et al. 2000). Diese Befunde deuteten tatsächlich darauf hin, dass Antidepressiva zu einer Erhöhung der Konzentrationen des physiologisch aktiven Hormons T3 im Rattenhirn führen könnten. Die direkte Quantifizierung der T3-Konzentrationen im Rattenhirn zeigte, dass ein 24-stündiger Schlafentzug die T3-Konzentrationen in verschiedenen Rattenhirnarealen erhöhte (Campos-Barros et al. 1993, Eravci et al. 2000). Eine 14-tägige Behandlung mit Desipramin führte hingegen überraschenderweise nur in einem von zehn untersuchten Hirnarealen zu einer Erhöhung der T3-Spiegel, nämlich im Kortex (Campos-Barros et al. 1995). Eine 14-tägige Behandlung mit dem „atypischen“ Antidepressivum Mianserin induzierte eine *Abnahme* der D2-Aktivität in Kortex, Hippocampus und dem limbischen Vorderhirn sowie eine Abnahme der D3-Aktivität im Hippocampus und in der Amygdala. Der „Nettoeffekt“ dieser Veränderungen ist unklar, da die D2 die Bildung von T3 metabolisiert und die D3 den Abbau von T3 katalysiert. Die direkte Messung der T3-Konzentrationen nach Mianserin-Behandlung zeigte dann wiederum völlig unveränderte T3-Gewebekonzentrationen in allen genannten Hirnarealen (alle Befunde bei Eravci et al. 2000).

Die soeben genannten Befunde weisen darauf hin, dass pharmakologische Effekte auf die Aktivitäten der Dejedaseisoenzyme einerseits schwer interpretierbar sein können und andererseits von diesen Effekten nicht direkt und linear auf Veränderungen der T3-Gewebekonzentrationen geschlossen werden kann. In jedem Fall widersprechen die genannten Ergebnisse der Hypothese, dass Antidepressiva die T3-Konzentrationen in Rattenhirnarealen erhöht. Die Untersuchungen mit dem MAO-Hemmer Tranylcypromin widersprachen dieser Hypothese noch eindeutiger: Die 14-tägige Applikation dieses Medikamentes führte zu einer *Hemmung* der D2-Aktivität im frontalen Kortex und zu einer *Stimulierung* der D3-Aktivität in sieben von acht Rattenhirnarealen (Prenzel et al. 2000). Diese Ergebnisse würden eine *Verminderung* der T3-Konzentrationen in den entsprechenden Hirnarealen erwarten lassen. Die direkte Messung zeigte jedoch eine Abnahme der T3-Gewebespiegel nur im frontalen Kortex, in allen anderen Arealen waren die T3-Konzentrationen unverändert (Prenzel et al. 2000).

Schließlich führte eine 14-tägige Behandlung mit den Phasenprophylaktika Lithium bzw. Carbamazepin ebenfalls zu Aktivitätsänderungen der D2 und D3. Carbamazepin stimulierte die Aktivität der D2 und hemmte jene der D3 in verschiedenen Hirnarealen (Baumgartner et al. 1997). Die Effekte waren tageszeitabhängig, und zwar bei Tötung der Tiere um 20.00 Uhr deutlich stärker ausgeprägt als bei Tötung der Tiere um 4.00 Uhr morgens. Pharmakologische Dosierungen von Lithium (mittlere Serumkonzentration 0,72 mmol/l) *hemmte* die D2-Aktivität und auch die D3-Aktivität im Rattenhirn. Der „Nettoeffekt“ dieser letztgenannten Veränderungen auf die T3-Konzentrationen ist wiederum unklar. Eine höherdosierte Lithium-Behandlung, welche zu Lithium-Serumkonzentrationen im toxischen Bereich führte (mittlere Serumkonzentration 1,3 mmol/l) induzierten hingegen eine *Zunahme* der D2-Aktivität sowie eine Abnahme der D3-Aktivität in mehreren Hirnarealen (Baumgartner et al. 1997). Die behandelten Tiere nahmen auch 20 % Gewicht ab und zeigten Verhaltensauffälligkeiten, so dass die Zunahme der D2-Aktivität bei toxischen Lithium-Dosierungen stressinduziert sein könnte. Dieser Befund führte zu weiteren Untersuchungen über die Effekte verschiedener Stressoren auf die Aktivitäten der Dejedaseisoenzyme (siehe unten).

Zusammenfassend wurden also offenbar Effekte von ganz verschiedenen antidepressiv und phasenprophylaktisch wirksamen Medikamenten auf die Aktivitäten der D2 und T3 gefunden.

Gemeinsame Effekte der genannten Medikamente auf die Aktivitäten der Dejodaseisoenzyme im Sinne einer möglichen Erhöhung der T3-Konzentrationen wurden jedoch in keinem einzigen Hirnareal nachgewiesen. Ebenso wenig konnte eine Zunahme der T3-Konzentrationen als „gemeinsamer Nenner“ all dieser Pharmaka nachgewiesen werden.

1.2.6 Effekte verschiedener Stressoren sowie nicht-antidepressiv wirksamer Pharmaka auf den Schilddrüsenhormonmetabolismus und die Schilddrüsenhormonkonzentrationen im ZNS der Ratte

Im Rahmen der o. g. pharmakologischen Untersuchungen wurden auch die Effekte der Neuroleptika Clozapin und Haloperidol auf die Aktivitäten der Dejodaseisoenzyme untersucht. Eine 14-tägige Behandlung mit dem Neuroleptikum Clozapin induzierte in fünf von elf Hirnarealen eine Abnahme der D2-Aktivität und in drei von acht Arealen eine Abnahme der D3-Aktivität (Eravci et al. 2000). Eine 14-tägige Haloperidol-Behandlung induzierte eine Zunahme der D2-Aktivität im frontalen Kortex. Die D3-Aktivität sowie die Gewebekonzentrationen von T3 und T4 in diesem Hirnareal blieben unverändert (Eravci et al. 2000). Diese Befunde zeigen, dass nicht nur Antidepressiva, sondern auch andere Psychopharmaka, wie z. B. Neuroleptika, die Aktivitäten der Dejodaseisoenzyme beeinflussen. Dabei hatte das psychopharmakologisch eher dämpfend bis depressiogen wirkende Haloperidol denselben Effekt auf D2-Aktivität wie das Desipramin und Clozapin dieselben Effekte wie das Antidepressivum Mianserin und das Phasenprophylaktikum Lithium. Die Ergebnisse zeigen daher, dass verschiedene Klassen von Psychopharmaka, wie z. B. Antidepressiva, Phasenprophylaktika oder Neuroleptika, keine jeweils *spezifischen* Effekte auf die Dejodaseaktivitäten haben, sondern verschiedene Pharmakaklassen gelegentlich gleiche Effekte, unterschiedliche Vertreter derselben Pharmakagruppe jedoch dieselben Effekte ausüben können.

Diese nur noch schwer zu interpretierenden pharmakologischen Effekte auf Dejodaseaktivitäten führten zu der Frage, inwieweit verschiedene, mit der pharmakologischen Behandlung der Tiere verbundene Stressfaktoren ihrerseits für die genannten Effekte auf die Dejodaseaktivitäten verantwortlich sein könnten.

Ein 14-tägiges reduziertes Futterangebot, welches zu einer 20%igen Gewichtsabnahme führte, induzierte tatsächlich eine Hemmung der D2- und der D3-Aktivitäten im Kortex sowie eine Reduktion der T4- und T3-Gewebekonzentrationen in diesem Hirnareal (Eravci et al. 2000). Mehrere verschiedene akute Stressoren beeinflussten die Dejodaseaktivitäten und die Schilddrüsenhormonkonzentrationen im Rattengehirn ebenfalls signifikant. So führte z. B. eine einmalige gastrointestinale Applikation von Kochsalz sowie auch eine einmalige i.p.-Injektion von Kochsalz zu einem Anstieg der D2-Aktivitäten und der T3-Konzentrationen in mehreren Hirnarealen (Baumgartner et al. 1998). Eine Zunahme der T3-Konzentrationen im gesamten Rattenhirn nach „Footshock-Stress“ wurde von Friedman et al. (1999) berichtet.

Zusammenfassend kann daher festgehalten werden, dass eine große Anzahl pharmakologischer und nicht-pharmakologischer Interventionen den Schilddrüsenhormonmetabolismus und die Konzentrationen von T3 im Rattenhirn beeinflussen. Dabei sind die jeweiligen Effekte nicht spezifisch für die betreffende Intervention und die Veränderungen der Aktivitäten der Dejodaseisoenzyme lassen keinen automatischen Rückschluss auf die Änderung der Hormonkonzentrationen zu. In Zusammenhang mit der hier vorgelegten Arbeit ist insbesondere relevant, dass es nicht gelungen ist, *gemeinsame* Effekte von chemisch verschiedenen Antidepressiva auf den Schilddrüsenhormonmetabolismus bzw. die T3-Konzentrationen in auch nur einem für die Pathophysiologie der Depression relevanten Hirnareal zu finden.

Eine Ursache für diese zunächst enttäuschenden Befunde könnte darin bestehen, dass in den betreffenden Untersuchungen sowohl die Dejodaseaktivitäten als auch die Schilddrüsenhormonkonzentrationen in *Gewebehomogenaten* gemessen wurden. Hier wurden also verschiedene zelluläre Anteile wie zum Beispiel synaptische Membranen, Zellkerne, Mitochondrien usw. ebenso wie verschiedene Zelltypen (Neurone, Gliazellen etc.) durcheinandergemischt. Dabei könnten möglicherweise Effekte der Pharmaka auf die T3-Konzentrationen an einzelnen, funktionell relevanten subzellulären Strukturen übersehen worden sein. Zur weiteren Verifizierung bzw. Falsifizierung der obengenannten Hypothese erschien es sinnvoll, die Effekte von Antidepressiva auf T3-Konzentrationen in *subzellulären Fraktionen* verschiedener Rattenhirnareale zu messen. Von Interesse sind hier insbesondere die T3-Konzentrationen der nukleären Fraktion. Darüber hinaus wurden jedoch auch Effekte

von T3 an synaptosomalen Membranen bzw. an Mitochondrien beschrieben (siehe oben). Dementsprechend erscheint die Messung der Effekte von Antidepressiva auf die T3-Konzentrationen auch dieser Fraktionen sinnvoll.

In der Arbeitsgruppe des Autors wurde daher ursprünglich eine Methode entwickelt, um die Konzentrationen verschiedener Jodothyroninmetabolite in Nuklei, Synaptosomen und Mitochondrien einzelner Rattenhirnareale zu quantifizieren. Erste Untersuchungen zeigten, dass eine 14-tägige Behandlung mit dem Antidepressivum Tranylcypromin zu einer Erhöhung der T3-Konzentrationen in der mitochondrialen Fraktion der Amygdala führte (Prenzel et al. 2000). Diese ersten Untersuchungen wiesen jedoch einige methodische Unzulänglichkeiten auf. So wurde die Reinheit der Subfraktionen nur elektronenmikroskopisch, jedoch nicht durch subfraktionsspezifische biochemische „Marker“ überprüft. Ebenso wenig wurde getestet, wie hoch die „Ausbeute“ der jeweiligen Subfraktion, d. h. zum Beispiel, wie viel der im Homogenat vorhandenen DNA tatsächlich in der nukleären Fraktion wiedergefunden wird. Weiterhin wurde die Extraktion der Hormone mittels der vom Morreale de Escobar et al. (1985) beschriebenen Methodik der Säulenchromatographie durchgeführt. Bei dieser Methodik können jedoch verschiedene Schilddrüsenhormone nicht voneinander getrennt werden. Außerdem sind die Hormonquantifizierungen mittels der RIA-Methodik insbesondere in den unteren Bereichen nicht valide, da bei der Säulenchromatographie nicht vollständig entfernte Lipidanteile die Antigen-Antikörperreaktion des RIA beeinflussen und falsch-hohe Werte vortäuschen können (Pinna et al. 1999).

Die o. g., vorläufigen Ergebnisse von Prenzel et al. (2000) waren der Anlass, die Methodik der subzellulären Fraktionierung von Rattenhirnarealen im Rahmen der vorliegenden Dissertation methodisch zu verbessern und auch die Extraktions- und Quantifizierungsmethoden der Schilddrüsenhormone zu optimieren. Ziel dieser methodischen Entwicklungen ist die noch detailliertere Überprüfung der Hypothese, ob chemisch unterschiedliche Klassen von Antidepressiva gemeinsame Effekte auf die Schilddrüsenhormonkonzentrationen in subzellulären Fraktionen relevanter Rattenhirnareale haben.

1.3 Antidepressive und phasenprophylaktisch wirksame Medikamente

Die Wirkung antidepressiver Medikamente wurde in den 50er Jahren zufällig entdeckt. 1952 berichteten Delay et al., dass es nach Gabe des als Tuberkulostatikum entwickelten Präparates Isoniazid zu einer Appetitsteigerung komme, welche mit einer erregenden und euphorisierenden Wirkung verbunden sei (Delay et al. 1952). Seit 1954 berichteten amerikanische Psychiater über die antidepressive Wirkung eines anderen, als Tuberkulostatikum hergestellten Medikamentes, des Iproniazid (z. B. Kline 1954). Mitte der 50er Jahre beschrieb Kuhn, dass das trizyklische Imipramin Verstimmungen aufhelle und depressive Gehemmtheit beseitige. Diese Substanz war von der Firma Geigy ursprünglich als Neuroleptikum entwickelt worden. In den folgenden Jahren wurden weitere MAO-Hemmer sowie trizyklische Antidepressiva entwickelt, deren Wirkungsmechanismus weiterhin unbekannt blieb.

Die zur Rezidivprophylaxe manisch-depressiver Erkrankungen eingesetzten Phasenprophylaktika wurden ebenfalls in dieser Zeitspanne entwickelt. Im Jahre 1949 berichtete der australische Psychiater Cade erstmals über die erfolgreiche Behandlung von Manikern mit Lithium (Cade 1949). Basierend auf seinen Beobachtungen über eine beruhigende Wirkung von Lithium bei Meerschweinchen hat Cade zehn manische Patienten mit Lithium behandelt und beobachtete bemerkenswerte klinische Besserungen. Erst im Jahre 1971 tauchen die ersten Berichte über die Effekte des ursprünglich als Antikonvulsivum entwickelten Medikamentes Carbamazepin bei der Langzeitbehandlung manisch-depressiver Patienten in der Literatur auf (Takezaki und Hanaoka 1971).

Der biochemische Wirkungsmechanismus all dieser Antidepressiva und Phasenprophylaktika war zum Zeitpunkt ihrer Entdeckung unbekannt und ist es bis heute geblieben. Einen ersten scheinbaren „Durchbruch“ erzielten 1964 Glowinski und Axelrod, als sie herausfanden, dass das trizyklische Antidepressivum Imipramin die Wiederaufnahme von Noradrenalin aus dem synaptischen Spalt hemmt (Glowinski und Axelrod 1964). Unter anderem für diese Entdeckung wurde Julius Axelrod 1970 mit dem Nobelpreis für Medizin und Physiologie ausgezeichnet. In den 70er Jahren stellte sich heraus, dass eine Reihe antidepressiv wirksamer Medikamente nicht nur die Wiederaufnahme von Noradrenalin, sondern auch jene von

Serotonin hemmen. In den späten 70er und in den 80er Jahren wurden deshalb die Effekte von Antidepressiva auf die Charakteristika noradrenerger und serotonerger Rezeptoren sowie ihrer Second-Messenger-Systeme intensiv untersucht (Übersicht bei Heninger und Charney 1987). Als einer von zahlreichen Forschungsschwerpunkten auf diesem Gebiet seien hier die Untersuchungen der Effekte von Antidepressiva auf Rezeptordichte und Second-Messenger-Antworten des β -adrenergen Rezeptors kurz erwähnt. So berichteten Ventulani und Sulser (1975) über eine reduzierte cAMP-Antwort auf noradrenerge Stimulation im limbischen Vorderhirn von chronisch mit Desipramin behandelten Ratten. Dieser Effekt von Desipramin sowie auch die nach Behandlung mit verschiedenen Antidepressiva festgestellte „Down-Regulation“, d. h. die Verminderung der Dichte der β -adrenergen Rezeptoren, konnte zwar nach Behandlung mit einigen, jedoch nicht allen Antidepressiva festgestellt werden. Insbesondere sogenannte „atypische“ Antidepressiva, welche weder die noradrenerge noch die serotonerge Wiederaufnahme hemmen, induzierten diesen Effekt nicht (z. B. Sellinger-Barnette et al. 1980, Kopanski et al. 1983). Aber auch der erst in jüngster Zeit vermarktete duale Wiederaufnahmehemmer von Noradrenalin und Serotonin, das Antidepressivum Venlafaxin, hat keine signifikanten Effekte auf die Dichte β -adrenerger Rezeptoren oder ihrer Second-Messenger-Antworten im Rattenhirn (z. B. Nalepa et al. 1998).

In den letzten zehn Jahren wurden eine Reihe neuer Hypothesen zum Wirkungsmechanismus antidepressiver Medikamente formuliert, die ganz verschiedene neurochemische Systeme betreffen. So berichteten De Montigny und Aghajanian bereits 1978, dass verschiedene Antidepressiva die Hemmung hippocampaler Neuronenverbände durch mikroiontophoretisch appliziertes Serotonin verstärken. Aus dieser und vielen weiteren Arbeiten zu diesem Thema entwickelte die Arbeitsgruppe von Blier die Hypothese, dass der gemeinsame Wirkungsmechanismus von Antidepressiva in einer Sensitivierung postsynaptischer serotonerger Neurone im Hippocampus besteht (Übersichten bei Blier und De Montigny 1994, Pineyro und Blier 1999). Eine Reihe von Einwänden kann gegen diese Hypothese vorgebracht werden. Einmal hat dieselbe Arbeitsgruppe bereits auch berichtet, dass das atypische Antidepressivum Tianeptin keine Effekte auf die serotonerge Signaltransduktion im Hippocampus hat (Pineyro et al. 1995). Zweitens konnten andere Arbeitsgruppen die Befunde der Gruppe von Blier nicht replizieren (z. B. Hjorth und Auerbach 1994) und drittens weisen die Ergebnisse von Studien mit bildgebenden Verfahren bei depressiven Patienten nicht auf eine Störung des Hippocampus hin (z. B. Drevets 2000, siehe Kapitel 4).

Andere Arbeitsgruppen beschäftigen sich in den letzten Jahren zunehmend mit den Effekten von Antidepressiva auf die Genexpression verschiedener Parameter. So wurde z. B. von der Arbeitsgruppe von Duman et al. die Hypothese formuliert, dass eine verstärkte Genexpression des Neurotrophins BDNF wesentlich am Wirkungsmechanismus antidepressiver Therapie beteiligt sei (Duman et al. 1997 und 2000, Duman 1998). Diese Arbeitsgruppe beschrieb, dass verschiedene Antidepressiva die mRNA-Konzentrationen von BDNF im Hippocampus der Ratte stimulieren (Nibuya et al. 1995). Dieselbe Arbeitsgruppe beschrieb später, dass Antidepressiva auch die mRNA-Konzentrationen des cAMP-Response-Element-Binding-Protein (CREB) im Hippocampus stimuliert (Nibuya et al. 1996). Die aus diesen Befunden entwickelte Hypothese besagt, dass antidepressive Pharmaka über eine Stimulierung der über cAMP und Proteinkinase A vermittelten Signaltransduktion sowohl die über CREB vermittelte Gentranskription als auch über die Phosphorylierung von Zielproteinen wirken (z. B. Thome et al. 2000). Eines der „Zielproteine“, welches durch CREB reguliert wird, ist der neurotrophe Faktor BDNF. Tatsächlich wurden erhöhte BDNF-Konzentrationen in hippocampalen Arealen von depressiven Patienten post-mortem gefunden, welche mit Antidepressiva behandelt worden waren (Chen et al. 2001). Ob die Effekte von Antidepressiva auf die BDNF-Konzentrationen tatsächlich eine „gemeinsame biochemische Endstrecke“ dieser Medikamente darstellen, muss in weiteren Untersuchungen geklärt werden. Kritisch ist hier insbesondere anzumerken, dass die bisher vorliegenden Untersuchungen so gut wie ausschließlich im Hippocampus durchgeführt wurden. Andere für die Pathogenese der depressiven Erkrankung wesentliche Areale wie z. B. die Amygdala oder der cinguläre Kortex (z. B. Drevets 2000, siehe Kapitel 4) wurden bisher nicht mituntersucht.

Eine weitere Hypothese zum Wirkungsmechanismus von Antidepressiva wurde aufgrund der pathologischen Auffälligkeiten der Glukokortikoidhormone bei depressiven Patienten entwickelt. Mehrere Arbeitsgruppen postulieren, dass bei depressiven Patienten eine Störung des Feed-back-Mechanismus der Glukokortikoide im ZNS vorliegt und dass Antidepressiva ihre Wirkung über eine spezifische Beeinflussung von Glukokortikoidrezeptoren im ZNS entfalten (z. B. Barden et al. 1995). Die Hypothese geht davon aus, dass eine Überaktivität von CRH und eine damit verbundene Unterfunktion von Glukokortikoidrezeptoren eine Rolle bei der Pathogenese depressiver Erkrankungen spielen. Weder die Messung der Glukokortikoidrezeptordichte in verschiedenen Blutzelltypen depressiver Patienten noch die

Untersuchung der Effekte von Antidepressiva auf die Glukokortikoidrezeptorcharakteristika im Rattenhirn ergaben jedoch einheitliche Befunde (Übersicht bei Pariante und Miller 2001).

Auch der biochemische Wirkungsmechanismus der Phasenprophylaktika Lithium, Carbamazepin und Valproat ist bis heute unbekannt (Übersicht z. B. bei Jope 1999, Lenox und Hahn 2000). So stehen z. B. gegenwärtig mehrere Hypothesen zum Wirkungsmechanismus von Lithium im Raum, wie z. B. die „Inositoldepletions-Hypothese“ (Berridge et al. 1989) oder die „Proteinkinase-C-Hypothese“ (Übersicht bei Manji et al. 1999).

Zusammenfassend kann festgehalten werden, dass in den letzten Jahrzehnten eine kaum noch zu überschauende Vielfalt von Einzeleffekten antidepressiver bzw. phasenprophylaktischer Pharmaka auf diverseste biochemische und physiologische Parameter in Zellkulturen oder auch tierexperimentell nachgewiesen wurden. Unbekannt ist aber, welche dieser Effekte Nebenwirkungen des jeweiligen Medikamentes bzw. für die therapeutische Wirksamkeit nicht relevante Kompensationsmechanismen darstellen und welche Effekte direkt am Wirkungsmechanismus der Pharmaka beteiligt sind. Unbekannt ist ebenfalls, wie die zahlreichen an unterschiedlichsten biochemischen Systemen demonstrierten Effekte und die inhaltlich unterschiedlichen Hypothesen untereinander in Zusammenhang stehen. Ebenso wenig ist es bisher gelungen, *gemeinsame*, potentiell relevante biochemische Effekte aller chemisch unterschiedlichen Klassen von antidepressiv- bzw. phasenprophylaktisch wirksamen Medikamenten nachzuweisen. Auch die Herausarbeitung eines oder mehrerer in Zusammenhang mit dem Wirkungsmechanismus dieser Pharmaka relevanter Hirnareale ist bisher nicht gelungen.

1.4 Zusammenfassung der Fragestellungen der vorliegenden Arbeit

Im Kapitel 1.2 wurden Befunde referiert, welche eine Interaktion von antidepressiven Pharmaka mit dem Schilddrüsenhormonmetabolismus des ZNS nahe legen. Tierexperimentelle Untersuchungen fanden zwar Effekte aller untersuchten antidepressiven Pharmaka auf die Aktivitäten der Dejodaseisoenzyme und die T3-Konzentrationen in Rattenhirnarealen, *gemeinsame* Effekte im Sinne einer Zunahme der T3-Konzentrationen in

einem relevanten Hirnareal konnten jedoch nicht nachgewiesen werden. Statt dessen wurde auch beschrieben, dass andere Pharmaka, wie z. B. Neuroleptika, aber auch Stressfaktoren sowohl die Dejodaseaktivitäten als auch die Schilddrüsenhormonkonzentrationen im Rattengehirn beeinflussen. Weiterhin konnten keine linearen Zusammenhänge zwischen Änderungen der Aktivitäten der Dejodaseisoenzyme und der entsprechenden T3-Konzentrationen nachgewiesen werden. Wie weiter oben ausgeführt, könnten diese einerseits verwirrenden und andererseits enttäuschenden Befunde darauf zurückzuführen sein, dass sowohl die Dejodaseaktivitäten als auch die Schilddrüsenhormonkonzentrationen in *Homogenaten* gemessen wurden. In der hier vorgelegten Arbeit wird daher der Versuch unternommen, die Effekte von Antidepressiva auf die physiologisch relevanten T3-Konzentrationen nicht nur in Homogenaten, sondern in *subzellulären Fraktionen* von relevanten Rattenhirnarealen zu messen. Ausgangspunkt der Experimente ist nach wie vor die Hypothese, dass chemisch unterschiedliche Antidepressiva die T3-Konzentrationen in einer und mehrerer subzellulären Fraktionen eines relevanten Hirnareals erhöhen.

Zur Überprüfung dieser Hypothese wurden folgende experimentelle Arbeiten durchgeführt: Als erster Schritt wurde eine Methode entwickelt, um die subzellulären Fraktionen Zellkerne, Mitochondrien, Myelin, Synaptosomen und Mikrosomen mit möglichst hoher Reinheit und „Ausbeute“ zu trennen. Zweitens wurde die Methodik der Trennung und Aufreinigung der Schilddrüsenhormone mittels der HPLC-Methodik insoweit modifiziert, dass nicht nur T3, sondern auch die Hormone T4 und 3,5-T2 in subzellulären Fraktionen aus ein und demselben Hirnareal quantifiziert werden können.

Anschließend erfolgten die Quantifizierungen der Schilddrüsenhormone in den subzellulären Fraktionen von zehn Hirnarealen von Ratten, welche mit drei unterschiedlichen Dosierungen des „klassischen“ Antidepressivums Desipramin, einem noradrenergen Wiederaufnahmehemmer, behandelt wurden. Dieses erste „Screening-Verfahren“ diente dazu, Subfraktionen bzw. Gehirnanareale zu identifizieren, in welchen Desipramin zu einer Erhöhung der T3-Konzentrationen geführt hat. Zur Überprüfung der Relevanz dieser Befunde wurde untersucht, ob andere, chemisch unterschiedliche Antidepressiva dieselben Effekte hervorrufen. Für diese Untersuchungen wurde der serotonerge Wiederaufnahmehemmer Paroxetin (Übersichten bei Johnson 1989, Redrobe et al. 1998), der atypische biochemische

Charakteristika aufweisende noradrenerge und serotonerge Wiederaufnahmemer Venlafaxin (Übersichten bei Holliday und Benfield 1996, Roseboom und Kalin 2000) sowie das atypische Antidepressivum Tianeptin ausgewählt. Tianeptin ist ein Serotoninwiederaufnahme-Agonist, wirkt dementsprechend entgegengesetzt den Serotoninwiederaufnahmehemmern und hat sich in den letzten Jahren in bezug auf die Aufklärung der biochemischen Wirkung von Antidepressiva quasi als „Hypothesenkiller“ erwiesen (z. B. Menini et al. 1987, Kato und Weitsch 1988).

Da es gelang, gemeinsame Effekte dieser chemisch unterschiedlichen Antidepressiva auf die T3-Konzentrationen in einem Hirnareal nachzuweisen (siehe Kapitel 3), wurden zusätzlich die Effekte einer chronischen Behandlung mit den beiden ebenfalls chemisch völlig unterschiedlichen Phasenprophylaktika Carbamazepin und Lithium auf die Schilddrüsenhormonkonzentrationen untersucht. In einem weiteren Schritt wurden schließlich die Effekte eines bei depressiven Patienten akut antidepressiv wirksamen Schlafentzugs bei der Ratte simuliert und die Schilddrüsenhormonkonzentrationen im Gehirn der Tiere gemessen.

Wie in Kapitel 1.2.6 ausgeführt, beeinflussen verschiedene Stressfaktoren ebenfalls die Aktivitäten der Dejodaseisoenzyme und der T3-Konzentrationen im Rattenhirn. Aufgrund vielfältiger Zusammenhänge zwischen Stressfaktoren einerseits und manisch-depressiven Erkrankungen andererseits untersucht die vorliegende Arbeit auch erstmals die Effekte von akutem und subchronischem Stress auf die T3-Konzentrationen in subzellulären Fraktionen. Gewählt wurde eine Stressform, welche bereits bei einer akuten Anwendung zu deutlichen Effekten auf die genannten Parameter führte, nämlich eine i.p.-Injektion mit Kochsalz. Diese wurde im Rahmen der vorliegenden Arbeit einerseits einmalig und andererseits über einen Zeitraum von 14 Tagen durchgeführt.

In Kapitel 1.2.1 wurde kurz referiert, dass sowohl hypo- als auch hyperthyreote Erkrankungen manisch-depressive Symptome induzieren können. Aus diesem Grunde untersucht die vorliegende Arbeit auch, in welchen der o. g. subzellulären Fraktionen die T3-Konzentrationen bei Hypo- bzw. Hyperthyreose absinken bzw. ansteigen.

1.5 Methodische Ziele und Fragestellungen

Die hier vorgelegte Arbeit hat folgende methodologische Ziele:

- a) Entwicklung einer Methode zur subzellulären Fraktionierung von Rattenhirnarealen, bei welcher die einzelnen Subfraktionen in möglichst hoher Reinheit vorliegen und ihre „Ausbeute“ möglichst groß ist.
- b) Entwicklung einer HPLC-Methodik zur Trennung und Aufreinigung von Jodothyroninen aus subzellulären Fraktionen des Rattenhirns.

Mit Hilfe dieser Methoden sollen die folgenden Fragestellungen untersucht werden:

- a) Haben chemisch unterschiedliche antidepressive Medikamente, Phasenprophylaktika und nicht-pharmakologische antidepressive Therapien gemeinsame Effekte auf die Konzentrationen der Jodothyronine T4, T3 oder 3,5-T2 in subzellulären Fraktionen von Rattenhirnarealen?
- b) Welche Effekte hat ein akuter und subchronischer Stressor (i.p.-Injektionen) auf die Konzentrationen der genannten Jodothyronine in subzellulären Fraktionen?
- c) Welche Jodothyroninkonzentrationen können in subzellulären Fraktionen des ZNS von Ratten gemessen werden, bei welchen eine Hypothyreose bzw. eine Hyperthyreose induziert wurde?

