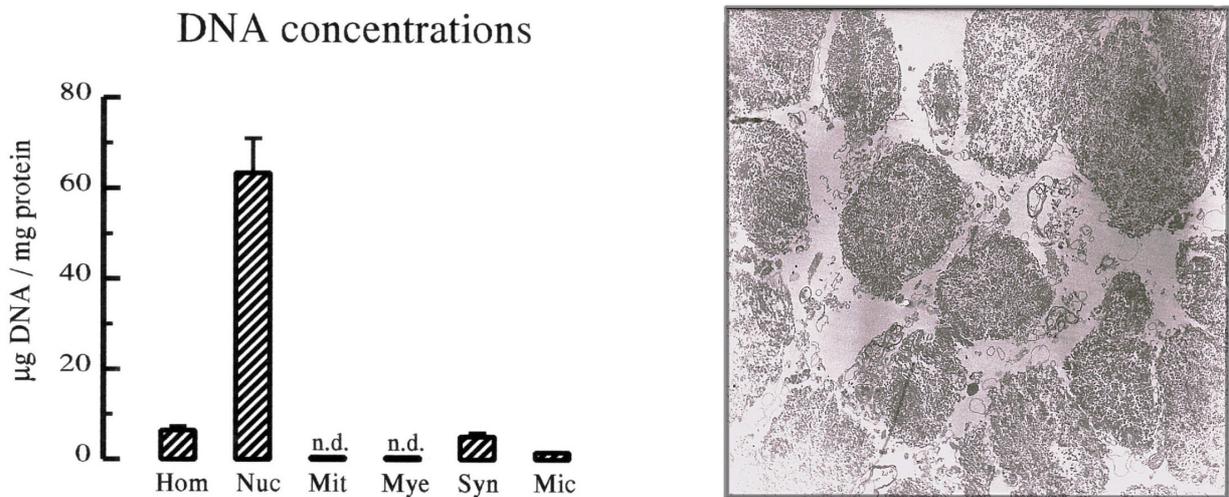


### 3 Ergebnisse

#### 3.1 Methodik der subzellulären Fraktionierung

##### 3.1.1 Isolierung der Zellkerne

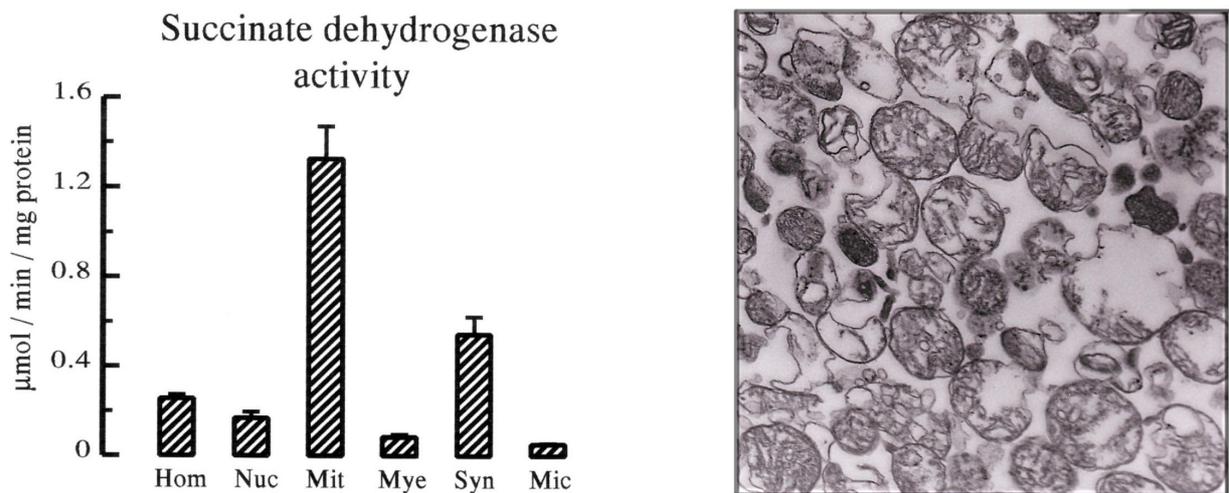
Die DNA-Konzentrationen im Homogenat und in den isolierten subzellulären Fraktionen, bezogen auf den Proteingehalt, sind in der Abbildung 3.1.1 dargestellt. In der Fraktion der Zellkerne war die DNA um das zehnfache angereichert, in keiner der übrigen Fraktionen konnte eine Anreicherung beobachtet werden. Die DNA-Ausbeute der isolierten Zellkerne lag bei  $52,3 \pm 5,1\%$  verglichen mit dem Homogenat. Die elektronenmikroskopische Aufnahme zeigt die isolierten Zellkerne in 3000facher Vergrößerung.



**Abb.3.1.1:** DNA-Konzentrationen im Homogenat und in den subzellulären Fraktionen (links) und elektronenmikroskopische Aufnahme der isolierten Zellkerne, Vergrößerung 3000x (rechts). Die Werte entsprechen dem Mittelwert  $\pm$  dem Standardfehler des Mittelwertes. Abkürzungen: Hom = Homogenat, Nuc = Zellkerne, Mit = Mitochondrien, Mye = Myelin, Syn = Synaptosomen, Mic = Mikrosomen, n.d. = not detectable

### 3.1.2 Isolierung der Mitochondrien

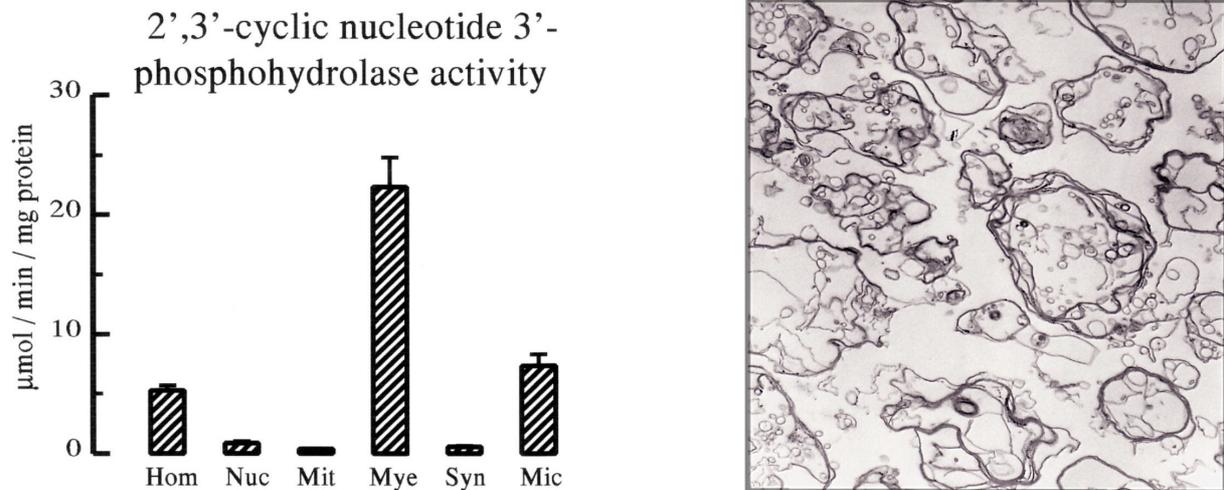
Die Abbildung 3.1.2 zeigt die spezifische Aktivität der mitochondrialen Succinat-Dehydrogenase im Homogenat und in den subzellulären Fraktionen. Die Aktivität in der mitochondrialen Fraktion war im Vergleich zum Homogenat auf das 5fache angereichert. In der Fraktion der Synaptosomen war ebenfalls eine Anreicherung der Succinat-Dehydrogenase-Aktivität gegenüber dem Homogenat auf etwa das Zweifache gemessen worden. Auf der elektronenmikroskopischen Aufnahme ist die mitochondriale Fraktion in 12000facher Vergrößerung abgebildet.



**Abb.3.1.2:** spezifische Succinat-Dehydrogenase-Aktivität im Homogenat und in den subzellulären Fraktionen (links) und elektronenmikroskopische Aufnahme der isolierten Mitochondrien, Vergrößerung 12000x (rechts). Die Werte entsprechen dem Mittelwert  $\pm$  dem Standardfehler des Mittelwertes. Abkürzungen: siehe Abbildung 3.1.1

### 3.1.3 Isolierung des Myelins

Die spezifische Aktivität der 2',3'-zyklischen-Nukleotid 3'-Phosphohydrolase (CNPase) im Homogenat und in den subzellulären Fraktionen ist in Abbildung 3.1.3 dargestellt. Die Aktivität des myelinspezifischen Enzyms war in der Myelin-Fraktion etwa viermal so hoch wie im Homogenat. In der mikrosomalen Fraktion war ebenfalls eine geringfügige Anreicherung zu beobachten.



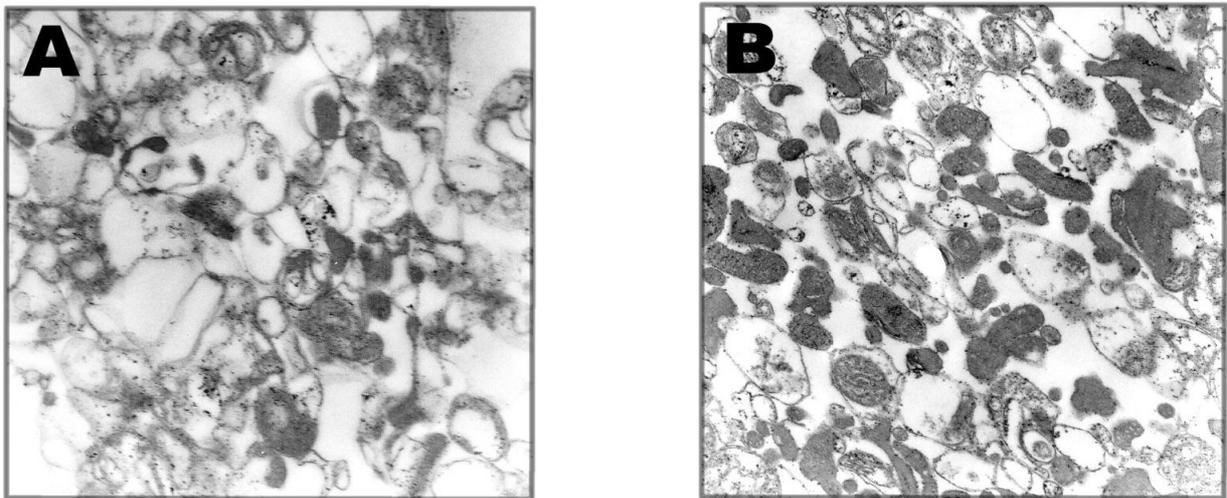
**Abb.3.1.3:** spezifische Aktivität der 2',3'-zyklischen-Nukleotid 3'-Phosphohydrolase (CNPase) im Homogenat und in den subzellulären Fraktionen (links) und elektronenmikroskopische Aufnahme der Myelin-Fraktion, Vergrößerung 7000x (rechts). Die Werte entsprechen dem Mittelwert  $\pm$  dem Standardfehler des Mittelwertes. Abkürzungen: siehe Abbildung 3.1.1

### 3.1.4 Isolierung der Synaptosomen

Abb. 3.1.4A zeigt, dass viele Synaptosomen „leer“ erscheinen, nämlich ohne die charakteristischen Ansammlungen synaptischer Vesikel und Mitochondrien. Es wurde daher getestet, ob das Einfrieren und das Lagern des Gewebes bei  $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$  zu einer Ruptur der Synaptosomen führt. Tatsächlich zeigen die elektronenmikroskopischen Befunde von Synaptosomen, welche ohne vorheriges Einfrieren präpariert wurden, eine deutlich höhere Dichte von Vesikeln und Mitochondrien (Abb. 3.1.4B).

Auch die Ergebnisse der Quantifizierungen der synaptosomalen Marker Synapsin und Syntaxin waren insofern problematisch, als 68% des Synapsins und 42% des Syntaxins in den Überständen wiedergefunden wurden. Sie eigneten sich daher nicht zur Quantifizierung von Reinheit und „Ausbeute“ der Synaptosomen. Die Tatsache, dass diese beiden synaptischen Proteine in den Überständen charakterisiert wurden, ist durch die oben bereits erwähnte Tatsache zu erklären, dass die Präparation von Synaptosomen aus eingefrorenem Gewebe offenbar zu Rupturen der Membranen führt und demzufolge nicht kovalent gebundene Proteine während der Zentrifugationsschritte in die Überstände austreten können. Es ist andererseits jedoch nicht möglich, die Präparation der Synaptosomen immer nur an frischem, nicht eingefrorenem Gewebe durchzuführen. Denn im Rahmen der hier vorgelegten

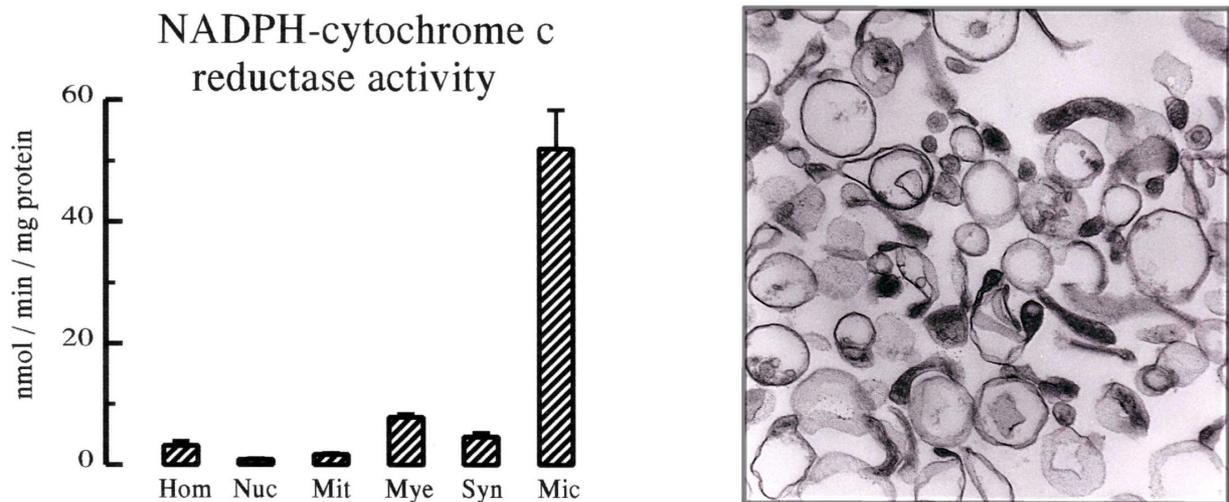
Untersuchung wurden aus einem Rattenhirn jeweils elf verschiedene Areale präpariert. Eines davon könnte unmittelbar nach Tötung der Tiere und Präparation der Areale subzellulär fraktioniert werden, jedoch nicht die zehn anderen. Aus diesen Gründen wurde die Präparation der Synaptosomen in allen hier dargestellten Untersuchungen aus eingefrorenem Gewebe vorgenommen. In diesen synaptosomalen Membranen konnten die Schilddrüsenhormone gut gemessen werden, Untersuchungen anderer Arbeitsgruppen zeigten bereits früher, dass die Jodothyronine offenbar an den synaptischen Membranen und nicht in Vesikeln oder der intrazellulären Flüssigkeit lokalisiert sind (siehe Diskussion).



**Abb.3.1.4:** Elektronenmikroskopische Aufnahmen der isolierten Synaptosomen, Vergrößerung 7000x. **A:** die Gewebeprobe waren vor der subzellulären Fraktionierung bei  $-80^{\circ}\text{C}$  gelagert worden. **B:** die subzelluläre Fraktionierung wurde unmittelbar nach der Präparation der Hirnareale durchgeführt, das Gewebe war nicht eingefroren worden.

### 3.1.5 Isolierung der mikrosomalen Fraktion

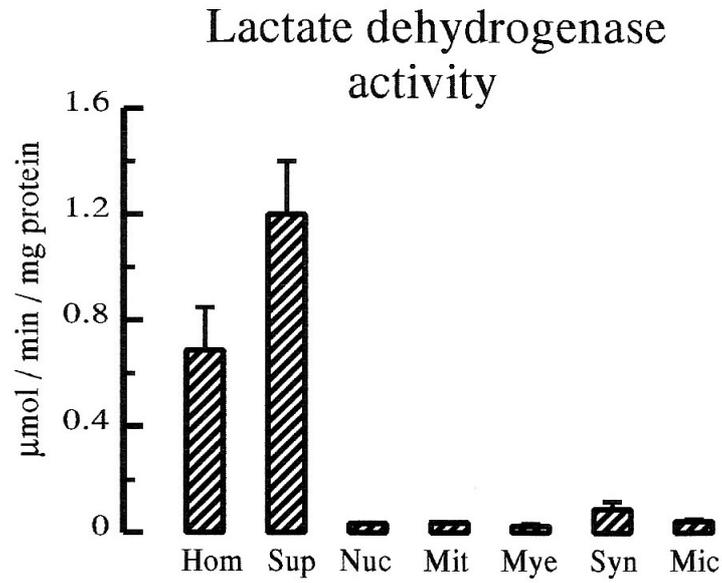
In der Abbildung 3.1.5 ist die spezifische Aktivität der im endoplasmatischen Retikulum lokalisierten NADPH-Cytochrom c-Reduktase dargestellt. In der mikrosomalen Fraktion war die Aktivität 16 mal so hoch wie im Homogenat. Eine geringfügige Anreicherung dieses Enzyms war ebenfalls in der Myelinfraktion sowie in der synaptosomalen Fraktion zu beobachten. Die elektronenmikroskopische Aufnahme zeigt die Mikrosomenfraktion in 20000facher Vergrößerung.



**Abb.3.1.5:** spezifische Aktivität der NADPH-Cytochrom c-Reduktase im Homogenat und in den subzellulären Fraktionen (links) und elektronenmikroskopische Aufnahme der isolierten Mikrosomen, Vergrößerung 20000x (rechts). Die Werte entsprechen dem Mittelwert  $\pm$  dem Standardfehler des Mittelwertes. Abkürzungen: siehe Abbildung 3.1.1

### 3.1.6 Aktivität der Lactat-Dehydrogenase

Die Abbildung 3.1.6 zeigt die spezifische Aktivität des zytoplasmatischen Enzyms Laktat-Dehydrogenase im Homogenat, in den subzellulären Fraktionen und in den vereinten Überständen (alle bei der Prozedur der subzellulären Fraktionierung angefallenen Überstände waren vereinigt worden). Die Aktivitäten waren in den Überständen etwa doppelt so hoch wie im Homogenat. In den Fraktionen der Zellkerne, der Mitochondrien, des Myelins und der Mikrosomen waren nur geringe Aktivitäten zwischen 4% und 6% der Aktivität des Homogenats zu messen, in der synaptosomalen Fraktion etwa 13%.

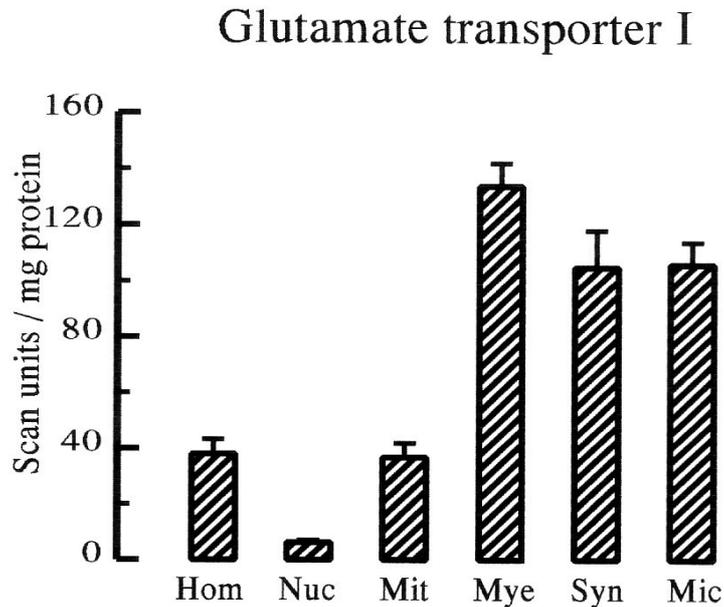


**Abb.3.1.6:** spezifische Aktivität der Laktat-Dehydrogenase im Gewebehomogenat, in den vereinten Überständen und in den subzellulären Fraktionen. Die Werte entsprechen dem Mittelwert  $\pm$  dem Standardfehler des Mittelwertes. Abkürzungen: siehe Abbildung 3.1.1, Sup = Überstände

### 3.1.7 Weitere Untersuchungen

#### 3.1.7.1 Konzentrationen des Glutamattransporters I in subzellulären Fraktionen

Der Glutamattransporter I, ein Marker für Astrozytenmembranen war in den Fraktionen des Myelins, der Synaptosomen und der Mikrosomen um etwa das dreifache angereichert (Abbildung 3.1.7).

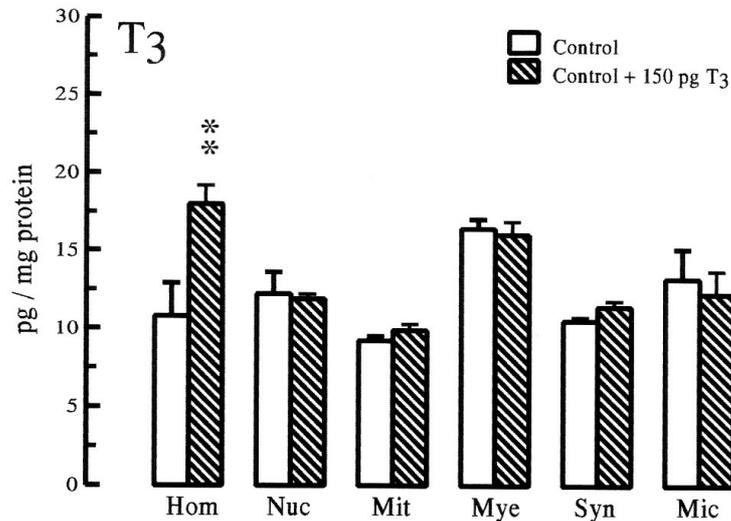


**Abb.3.1.7:** Konzentrationen des Glutamattransporters I im Gewebehomogenat und in den subzellulären Fraktionen. Die Werte entsprechen dem Mittelwert  $\pm$  dem Standardfehler des Mittelwertes. Abkürzungen: siehe Abbildung 3.1.1

### 3.1.7.2 Subzelluläre Fraktionierung unter Zugabe von Trijodthyronin

Die Zugabe von 150pg T3 zur Homogenisationslösung bei der subzellulären Fraktionierung führte zu einem signifikanten Anstieg der T3-Konzentration auf etwa das Doppelte im Homogenat. Die T3-Konzentrationen in den subzellulären Fraktionen blieben unverändert (Abbildung 3.1.8).

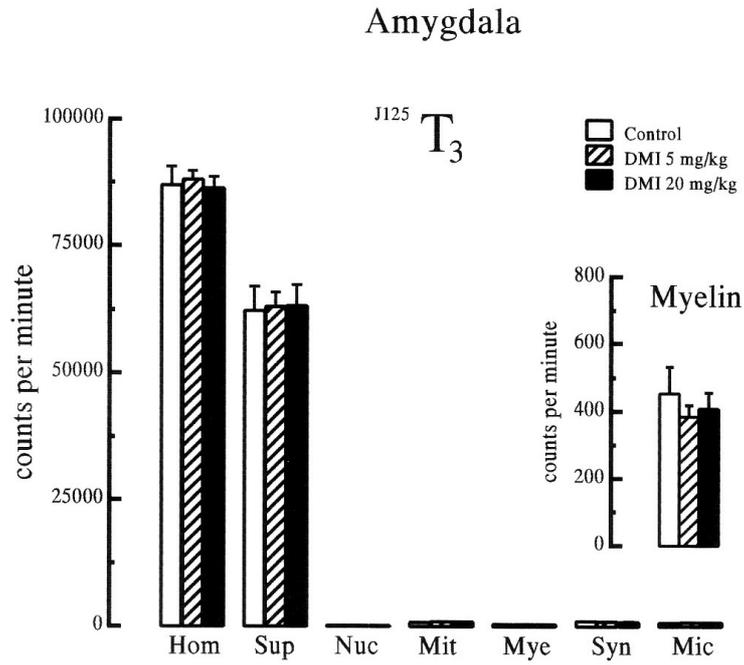
## Midbrain



**Abb.3.1.8:** Wirkung einer Zugabe von 150pg T3 zur Homogenisationslösung auf die T3-Konzentrationen im Homogenat und in den subzellulären Fraktionen des Mittelhirns. Die Werte entsprechen dem Mittelwert  $\pm$  dem Standardfehler des Mittelwertes. Abkürzungen: siehe Abbildung 3.1.1; \*\* =  $p < 0,01$  (Mann-Whitney-U-Test, Kontrolle vs. Fraktionierung + 150pg T3)

### 3.1.7.3 Subzelluläre Fraktionierung von Hirnarealen Desipramin-behandelter Tiere unter Zugabe von radioaktiv-markiertem Trijodthyronin

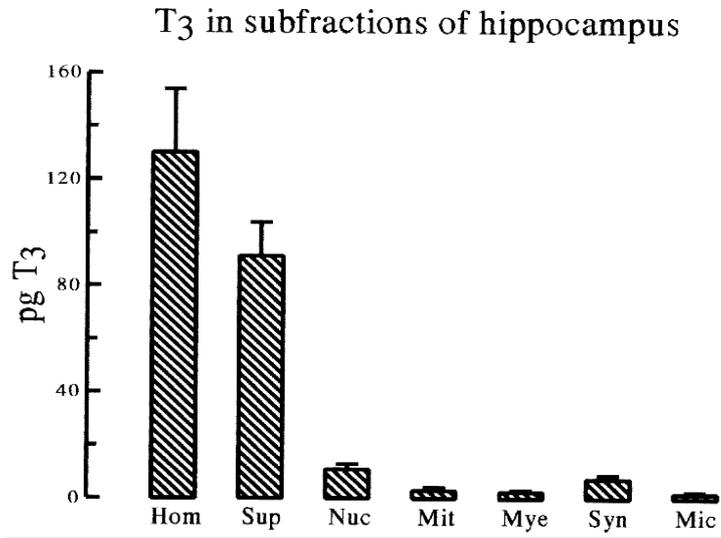
Die Abbildung 3.1.8 zeigt die Verteilung von radioaktivem T3, das mit der Homogenisationslösung bei der subzellulären Fraktionierung der Amygdalae Desipramin-behandelter Tiere zugegeben worden war (vergl. Abschnitt 2.2.1.4.2). Etwa 70% des markierten T3 war nach der Fraktionierung in den vereinten Überständen wiederzufinden. In den subzellulären Fraktionen waren jeweils weniger als 1% der eingesetzten Radioaktivität zu messen. Ein Effekt der Desipramin-Behandlung auf die Verteilung des zugegebenen radioaktiven T3 war in keiner Fraktion zu beobachten. Auch in der Myelinfraktion, in der bei einem anderen Experiment ein Anstieg der T3-Konzentration nach Desipramin-Behandlung festgestellt worden war (Abschnitt 3.3), konnte keine erhöhte Bindung des zugegebenen radioaktiven T3 bei den behandelten Tieren festgestellt werden.



**Abb.3.1.8:** Zugabe von radioaktiv markiertem T<sub>3</sub> in der Homogenisationslösung bei der subzellulären Fraktionierung: Verteilung von  $^{125}\text{T}_3$  im Homogenat und in den Fraktionen der Amygdalae Desipramin-behandelter Tiere. Die Werte entsprechen dem Mittelwert  $\pm$  dem Standardfehler des Mittelwertes. Abkürzungen: siehe Abbildung 3.1.1, Sup = Überstände, DMI = Desipramin

#### 3.1.7.4 Absolute Gehalte an Trijodthyronin in Homogenaten, vereinten Überständen und subzellulären Fraktionen des Hippocampus

In Abbildung 3.1.9 sind exemplarisch für andere Hirnareale die absoluten Gehalte von T<sub>3</sub> im Homogenat, den vereinten Überständen und den subzellulären Fraktionen des Hippocampus dargestellt. Etwa 70% des gesamten Gewebe-T<sub>3</sub> von 130pg befand sich nach der Fraktionierung in den vereinten Überständen, ca. 12% in den Zellkernen. In den übrigen subzellulären Fraktionen waren 3-8% des T<sub>3</sub> zu messen.

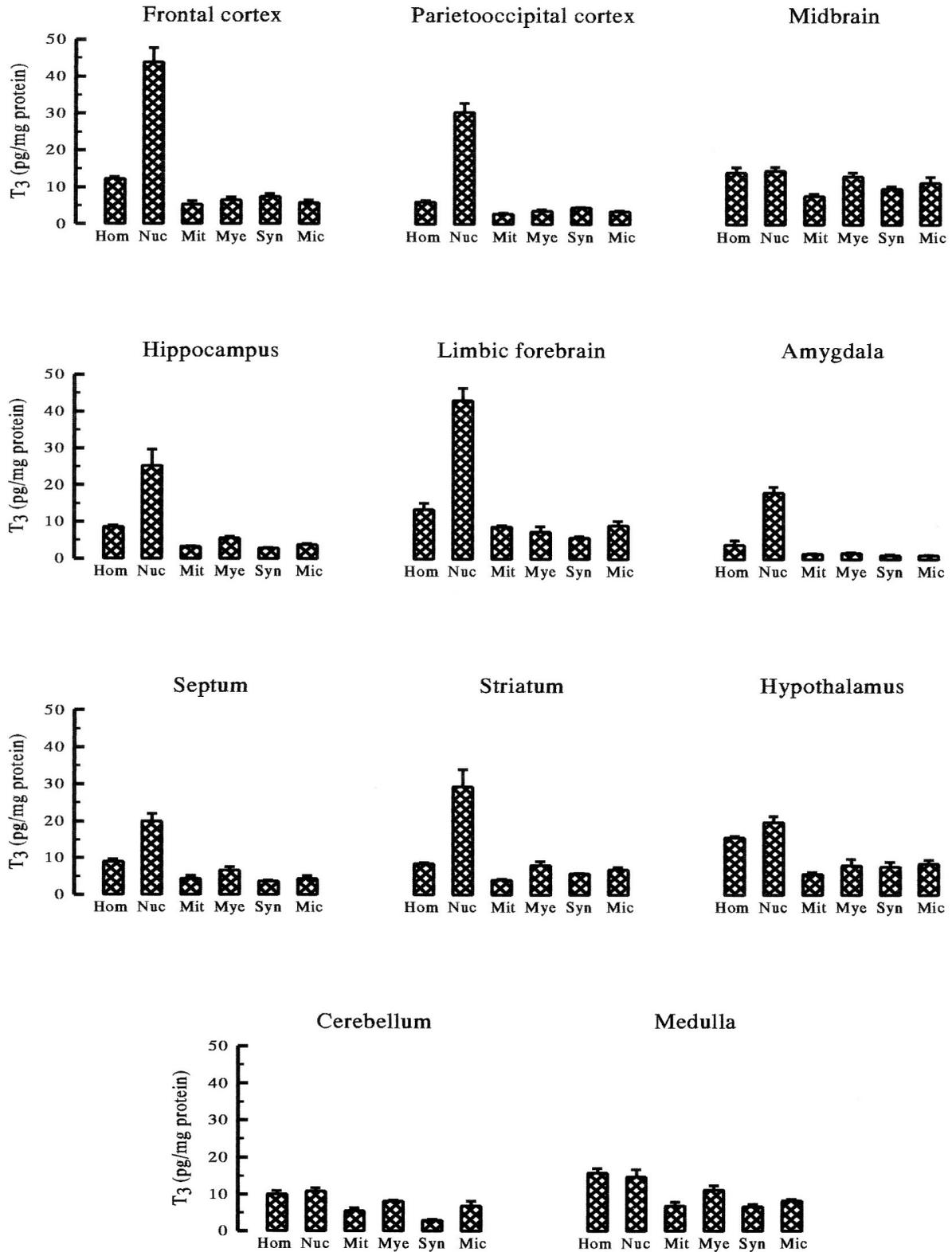


**Abb.3.1.9:** absoluter T<sub>3</sub>-Gehalt im Homogenat, in den vereinten Überständen und in den subzellulären Fraktionen des Hippocampus. Die Werte entsprechen dem Mittelwert  $\pm$  dem Standardfehler des Mittelwertes. Abkürzungen: siehe Abbildung 3.1.1, Sup = Überstände

### 3.2 Basale Schilddrüsenhormonkonzentrationen in subzellulären Fraktionen von Rattenhirnarealen

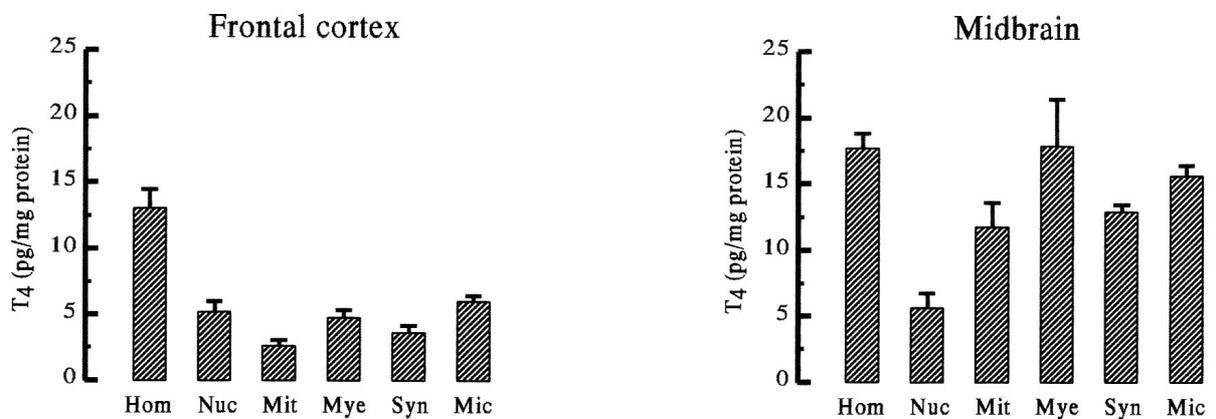
Die T<sub>3</sub>-Konzentrationen im Homogenat einerseits und in den fünf isolierten Subfraktionen von insgesamt 11 Hirnarealen sind in Abbildung 3.2.1 dargestellt. In den Arealen frontaler Kortex, parietooccipitaler Kortex, Mittelhirn und Striatum war T<sub>3</sub> in allen Subfraktionen aus jeweils einem Rattenhirn messbar. In der mitochondrialen Fraktion, der Myelinfraktion und der mikrosomalen Fraktion des Hippocampus, des limbischen Vorderhirns und des Hypothalamus mussten die Fraktionen von jeweils zwei Tieren gepoolt werden, um T<sub>3</sub>-Werte im eindeutig messbaren Bereich zu erhalten. In der Amygdala schließlich mussten drei Hirnareale gepoolt werden, um in den drei letztgenannten Subfraktionen valide T<sub>3</sub>-Werte zu messen.

Die Ergebnisse zeigen bei den meisten Arealen eine gegenüber dem Homogenat deutlich angereicherte T<sub>3</sub>-Konzentration in den Zellkernen. Ausnahmen sind das Mittelhirn, das Cerebellum und die Medulla, in welchen die nukleären T<sub>3</sub>-Konzentrationen etwa jenen der Homogenate entsprechen. Die T<sub>3</sub>-Spiegel in den anderen vier Subfraktionen sind entweder niedriger oder gleich jenen der jeweiligen Homogenate.



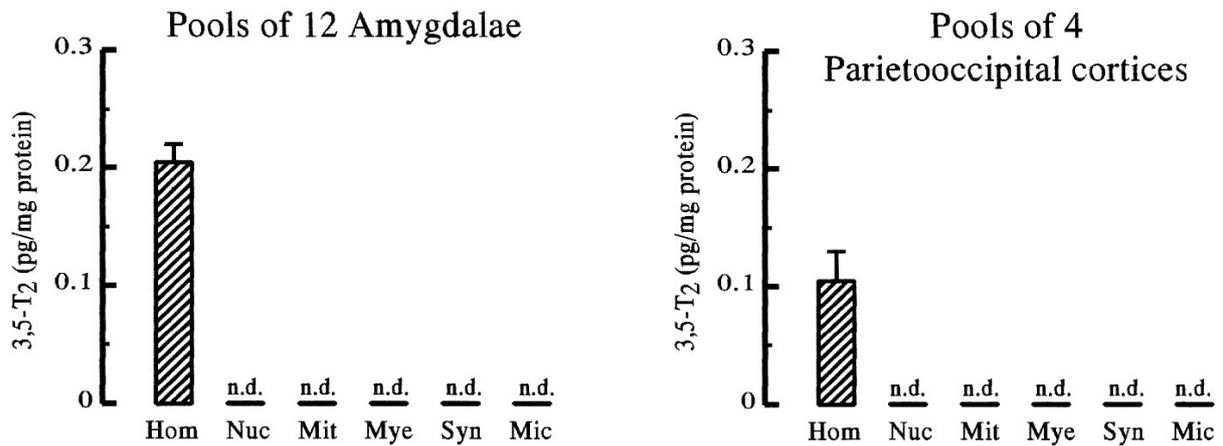
**Abb.3.2.1:** basale T<sub>3</sub>-Konzentrationen in Homogenaten und in subzellulären Fraktionen von 11 Hirnarealen. Abkürzungen: Hom = Homogenat, Nuc = Zellkerne, Mit = Mitochondrien, Mye = Myelin, Syn = Synaptosomen, Mic = Mikrosomen. Die Werte entsprechen dem Mittelwert  $\pm$  dem Standardfehler des Mittelwertes.

Abbildung 3.2.2 zeigt die T4-Konzentrationen im Homogenat und den fünf subzellulären Fraktionen des frontalen Kortex und des Mittelhirns. T4 war in allen Subfraktionen messbar, jedoch in keiner der isolierten Fraktionen gegenüber dem Homogenat eindeutig angereichert. Ähnliche Verhältnisse wurden auch in allen anderen Hirnarealen gemessen (Daten nicht gezeigt).



**Abb.3.2.2:** basale T4-Konzentrationen in Homogenaten und in subzellulären Fraktionen des frontalen Kortex und des Mittelhirns. Die Werte entsprechen dem Mittelwert  $\pm$  dem Standardfehler des Mittelwertes. Abkürzungen: siehe Abbildung 3.2.1.

3,5-T<sub>2</sub>-Konzentrationen konnten in keiner Subfraktion irgendeines Hirnareals nachgewiesen werden. Auch das „Poolen“ von 12 Amygdalae bzw. 4 parietooccipitalen Kortizes führte nicht zu messbaren 3,5-T<sub>2</sub>-Spiegeln in den 5 Subfraktionen (Abbildung 3.2.3).



**Abb.3.2.3:** basale 3,5-T<sub>2</sub>-Konzentrationen in Homogenaten und in subzellulären Fraktionen aus „Pools“ von 12 Amygdalae (links) und 4 parietooccipitalen Kortizes. Die Werte entsprechen dem Mittelwert  $\pm$  dem Standardfehler des Mittelwertes. Abkürzungen: siehe Abbildung 3.2.1; n.d. = nicht messbar

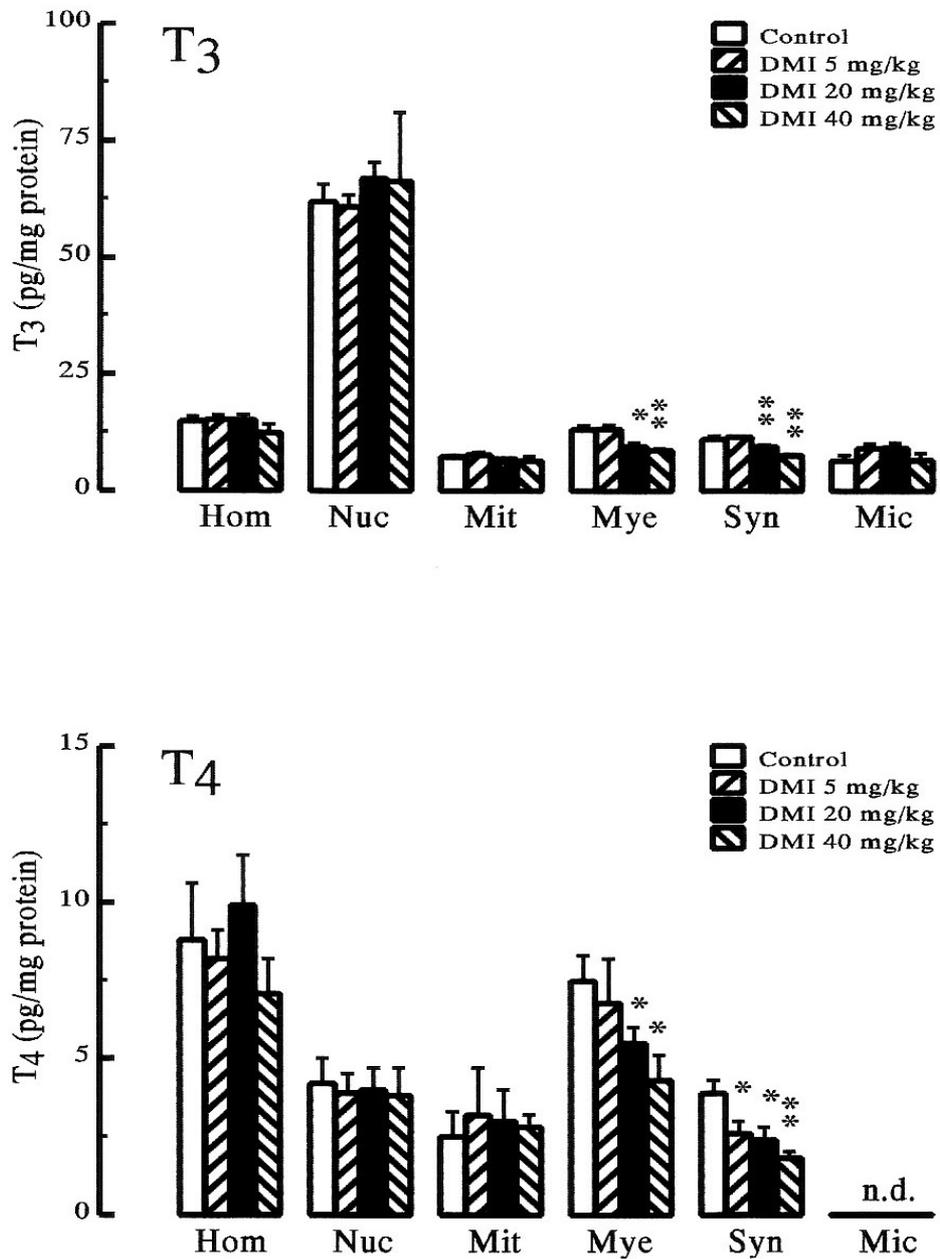
### 3.3 Effekte von antidepressiven Pharmaka auf die Schilddrüsenhormonkonzentrationen in subzellulären Fraktionen

Die Abbildungen 3.3.1 bis 3.3.8 zeigen die Effekte einer 14-tägigen Behandlung mit drei verschiedenen Dosierungen von Desipramin auf die T<sub>3</sub>- und T<sub>4</sub>-Konzentrationen in 8 Hirnarealen.

Desipramin führte zu erniedrigten T<sub>3</sub>-Konzentrationen in den Myelinfraktionen des frontalen Kortex bei den beiden höchsten Dosierungen und im parietooccipitalen Kortex bei der höchsten Dosierung. In den Synaptosomen-Fraktionen des frontalen und des parietooccipitalen Kortex und des Mittelhirns sanken die T<sub>3</sub>-Konzentrationen bei den höheren Dosierungen, im parietooccipitalen Kortex bei allen Dosierungen. In der Myelinfraktion der Amygdala war die T<sub>3</sub>-Konzentration bei allen Desipramin-Dosierungen etwa auf das Doppelte angestiegen. In den Arealen Hippocampus, Limbisches Vorderhirn, Striatum und Hypothalamus hatte die Behandlung keinen Einfluss auf die T<sub>3</sub>-Konzentrationen in den subzellulären Fraktionen.

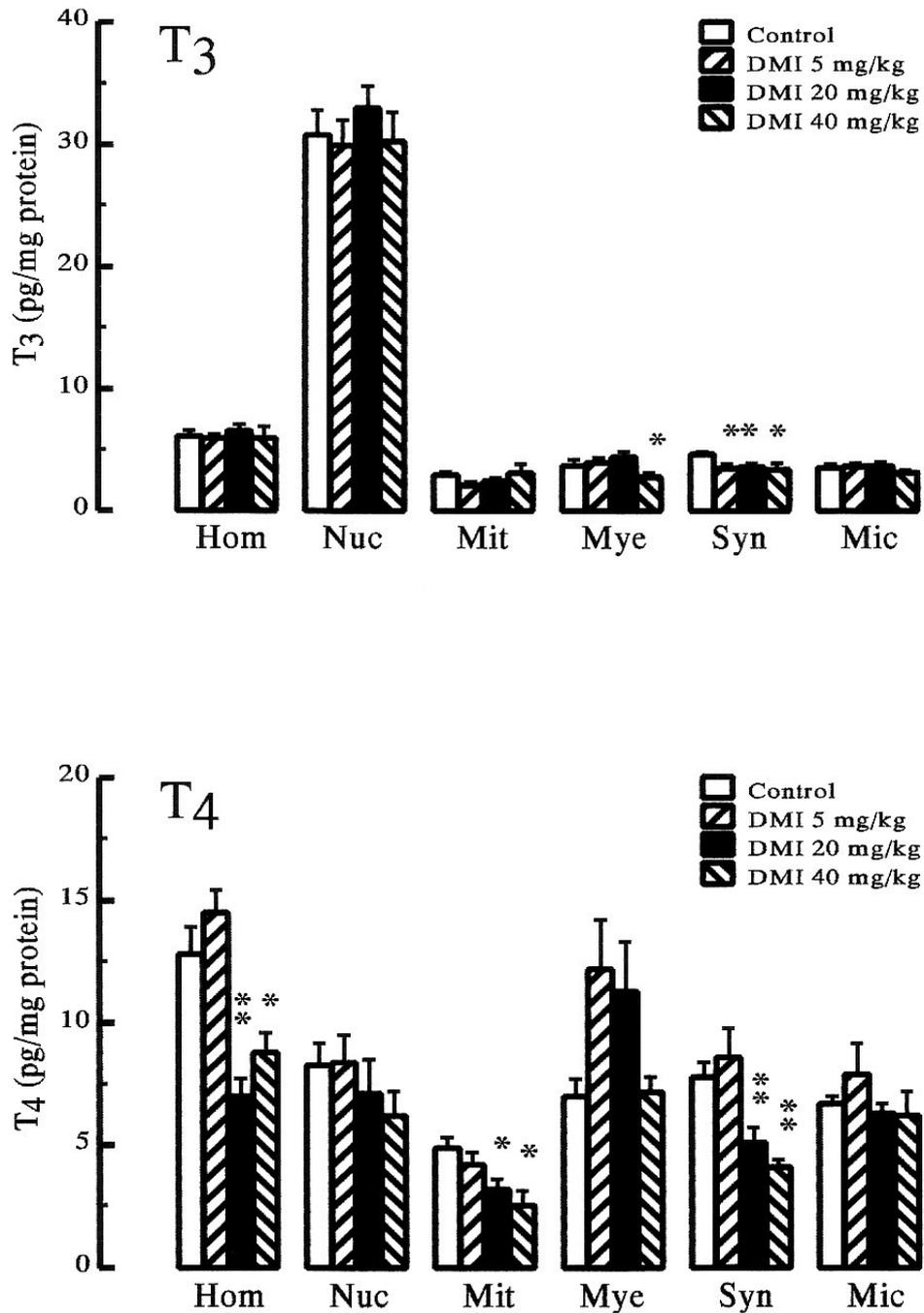
Die T4-Konzentrationen sanken im frontalen Kortex im Myelin bei den höheren Dosierungen und in den Synaptosomen bei allen Dosierungen. Im parietooccipitalen Kortex verringerten sich die T4-Werte im Homogenat, den Mitochondrien und den Synaptosomen bei den beiden höchsten Dosierungen. Auch im Mittelhirn wurden geringere T4-Konzentrationen in den Synaptosomen bei den höheren Dosierungen und im Myelin bei der höchsten Dosierung gemessen. Im limbischen Vorderhirn zeigten sich niedrigere T4-Konzentrationen in allen Fraktionen, in den Zellkernen, Mitochondrien, im Myelin und den Mikrosomen bei den zwei höchsten Dosierungen, im Homogenat und in den Synaptosomen nur bei der höchsten Dosierung. In der Amygdala und im Striatum war T4 nur im Homogenat und in den Synaptosomen messbar, die gemessenen Werte waren im Homogenat der Amygdala bei den höheren Dosierungen erniedrigt. In den Synaptosomen der Amygdala und des Striatums sanken die T4-Konzentrationen nur bei der höchsten Dosierung.

## Frontal cortex



**Abb.3.3.1:** Wirkung einer 14tägigen Behandlung mit drei verschiedenen Dosierungen von Desipramin (DMI) auf die T3- und T4-Konzentrationen im Homogenat und in den subzellulären Fraktionen des frontalen Cortex. Die Werte entsprechen dem Mittelwert  $\pm$  dem Standardfehler des Mittelwertes. Abkürzungen: siehe Abbildung 3.2.1; n.d. = nicht messbar  
\* =  $p < 0,05$ ; \*\* =  $p < 0,01$  (Mann-Whitney-U-Test, Kontrolle vs. Desipramin)

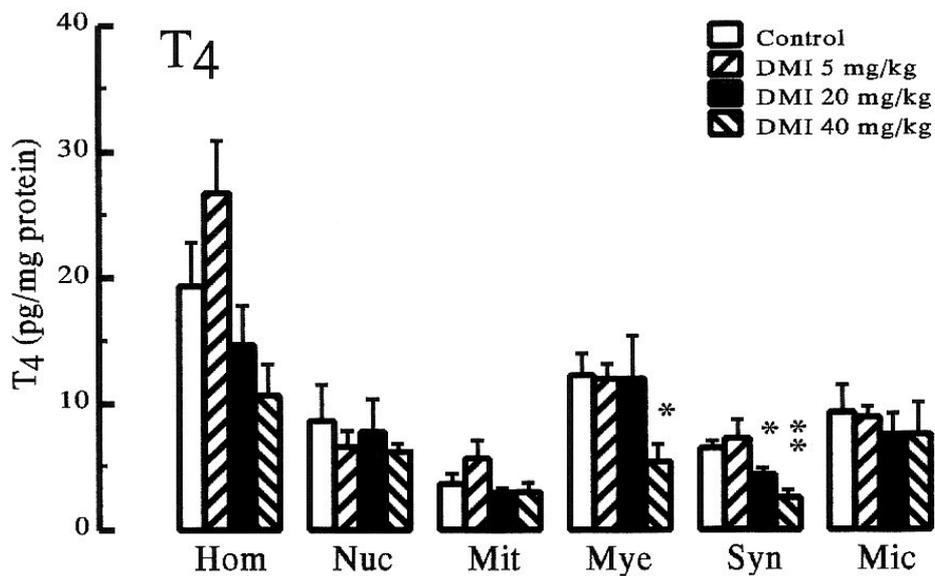
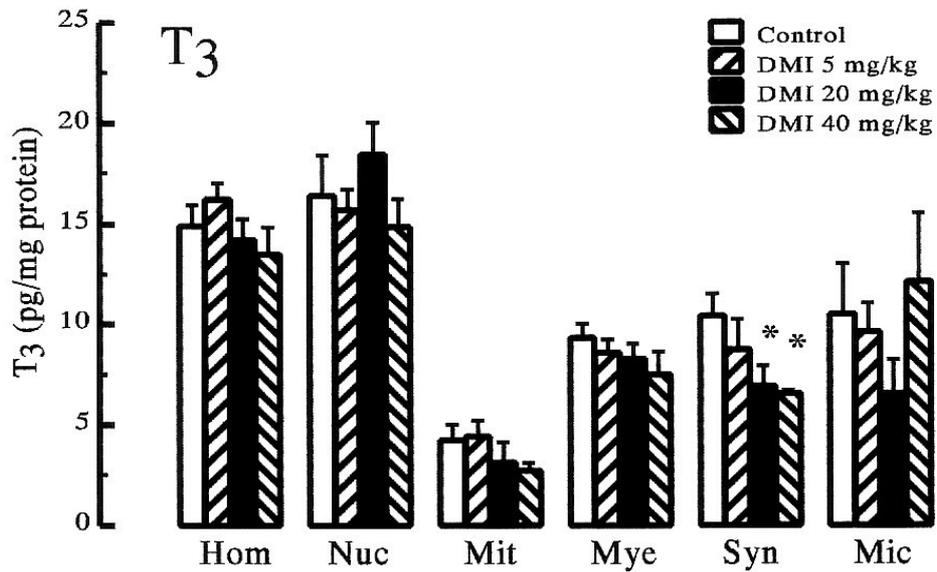
## Parietooccipital cortex



**Abb.3.3.2:** Wirkung einer 14tägigen Behandlung mit drei verschiedenen Dosierungen von Desipramin (DMI) auf die T3- und T4-Konzentrationen im Homogenat und in den subzellulären Fraktionen des parietooccipitalen Kortex. Die Werte entsprechen dem Mittelwert  $\pm$  dem Standardfehler des Mittelwertes. Abkürzungen: siehe Abbildung 3.2.1

\* =  $p < 0,05$ ; \*\* =  $p < 0,01$  (Mann-Whitney-U-Test, Kontrolle vs. Desipramin)

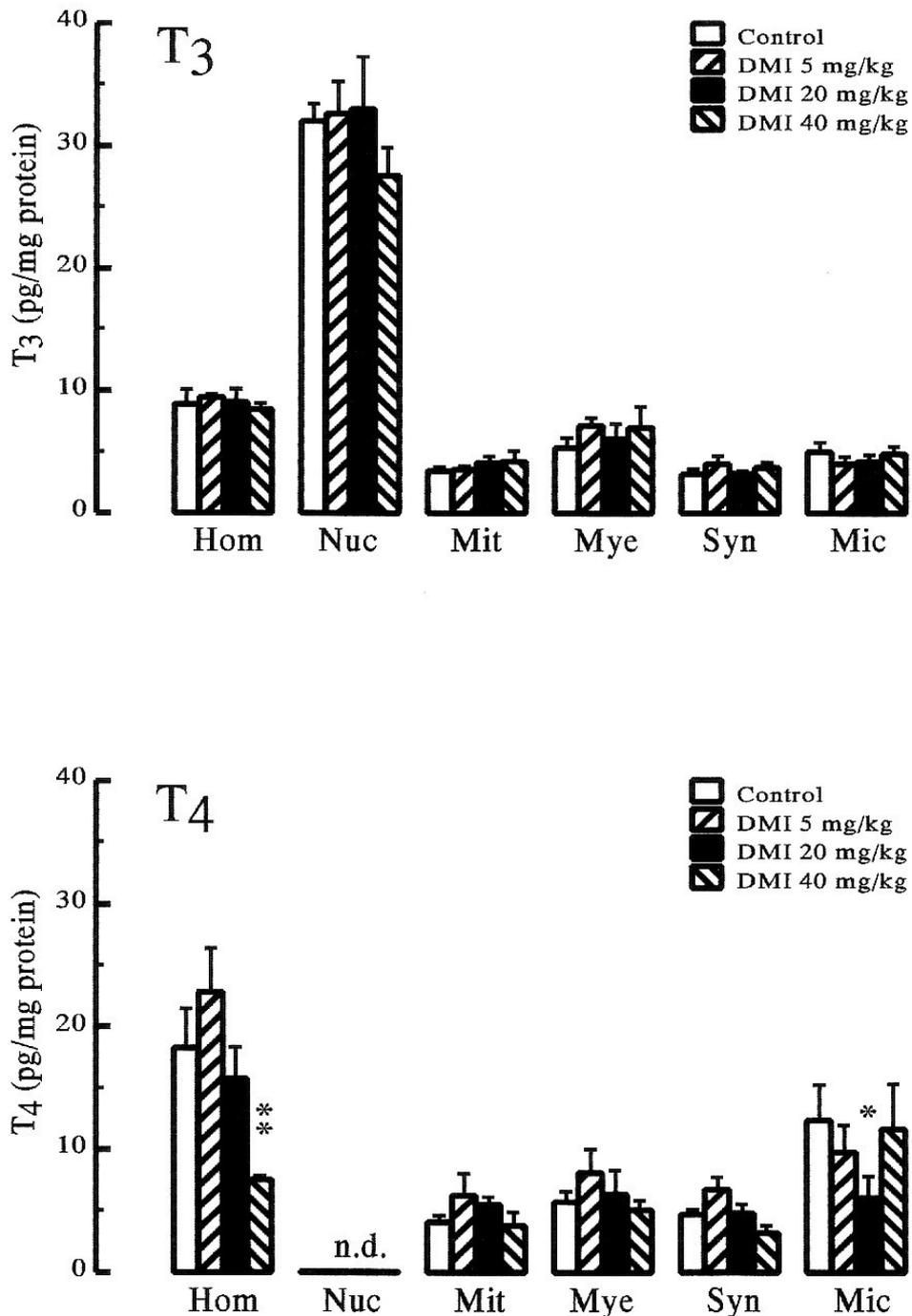
## Midbrain



**Abb.3.3.3:** Wirkung einer 14tägigen Behandlung mit drei verschiedenen Dosierungen von Desipramin (DMI) auf die T<sub>3</sub>- und T<sub>4</sub>-Konzentrationen im Homogenat und in den subzellulären Fraktionen des Mittelhirns. Die Werte entsprechen dem Mittelwert  $\pm$  dem Standardfehler des Mittelwertes. Abkürzungen: siehe Abbildung 3.2.1

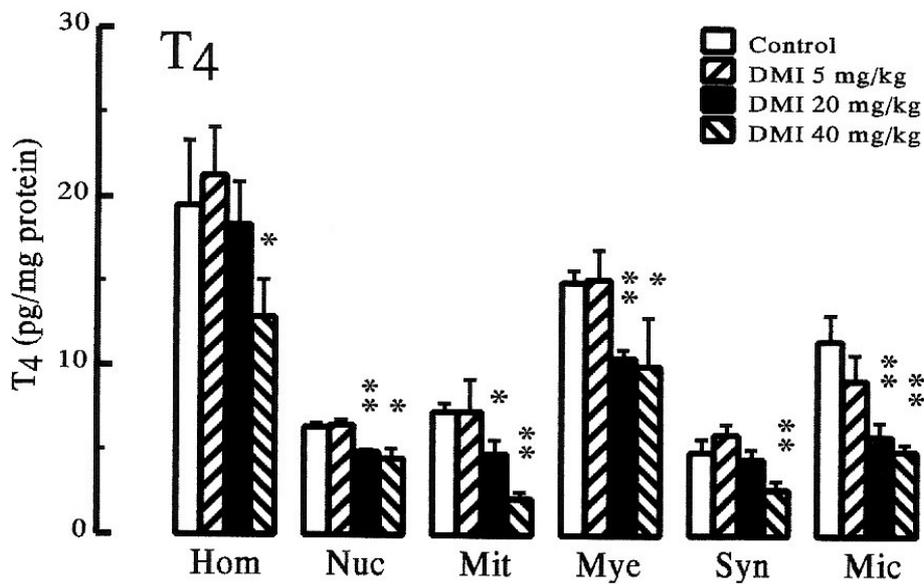
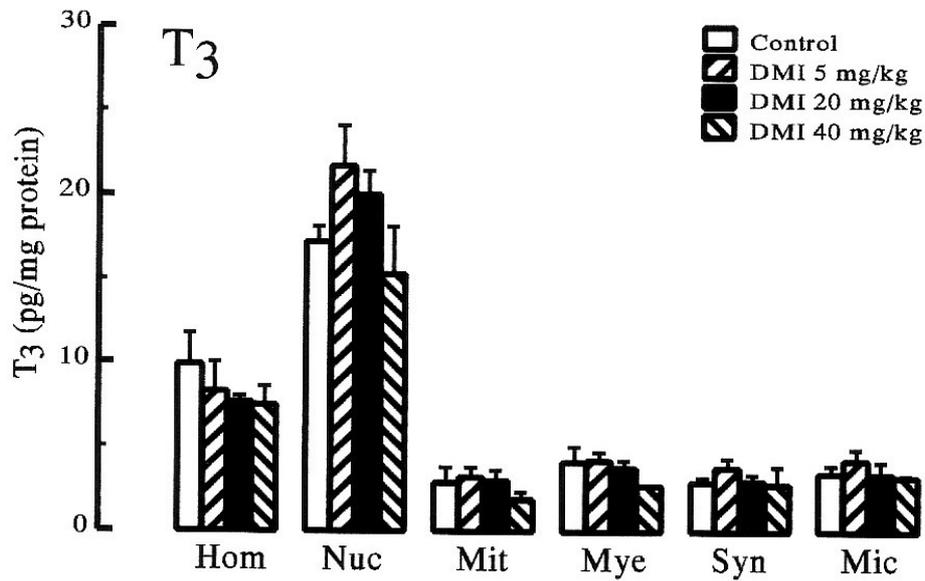
\* =  $p < 0,05$ ; \*\* =  $p < 0,01$  (Mann-Whitney-U-Test, Kontrolle vs. Desipramin)

## Hippocampus



**Abb.3.3.4:** Wirkung einer 14tägigen Behandlung mit drei verschiedenen Dosierungen von Desipramin (DMI) auf die T3- und T4-Konzentrationen im Homogenat und in den subzellulären Fraktionen des Hippocampus. Die Werte entsprechen dem Mittelwert  $\pm$  dem Standardfehler des Mittelwertes. Abkürzungen: siehe Abbildung 3.2.1; n.d. = nicht messbar  
 \* =  $p < 0,05$ ; \*\* =  $p < 0,01$  (Mann-Whitney-U-Test, Kontrolle vs. Desipramin)

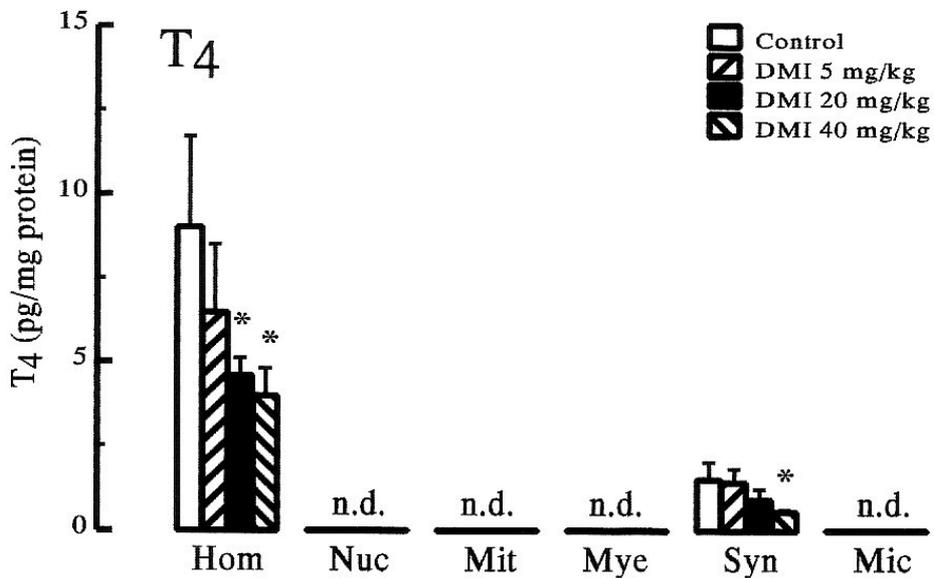
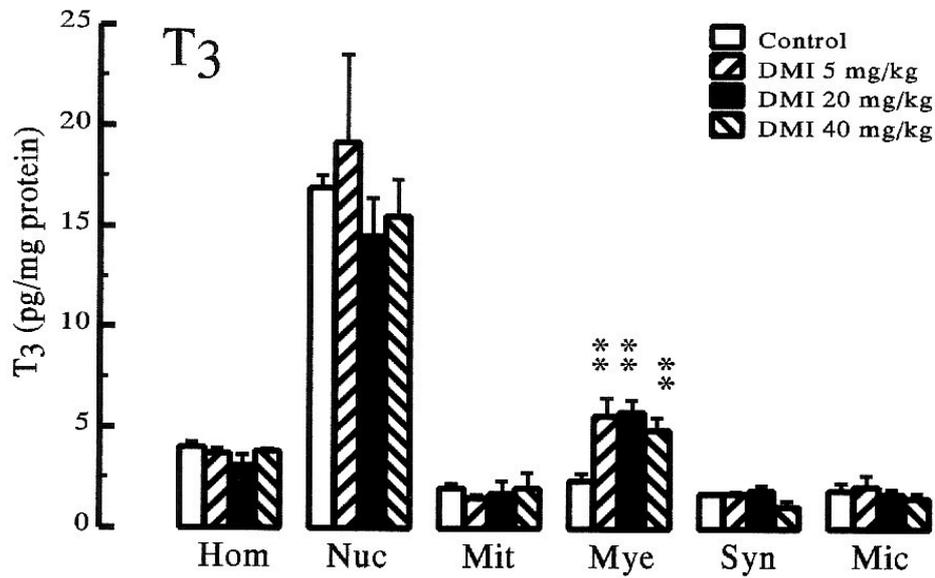
## Limbic forebrain



**Abb.3.3.5:** Wirkung einer 14tägigen Behandlung mit drei verschiedenen Dosierungen von Desipramin (DMI) auf die T<sub>3</sub>- und T<sub>4</sub>-Konzentrationen im Homogenat und in den subzellulären Fraktionen des limbischen Vorderhirns. Die Werte entsprechen dem Mittelwert  $\pm$  dem Standardfehler des Mittelwertes. Abkürzungen: siehe Abbildung 3.2.1

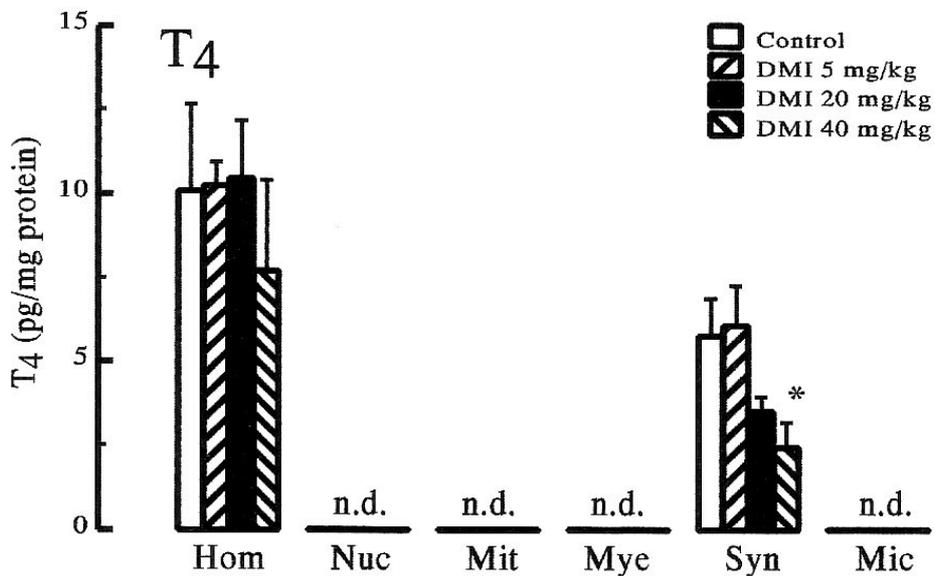
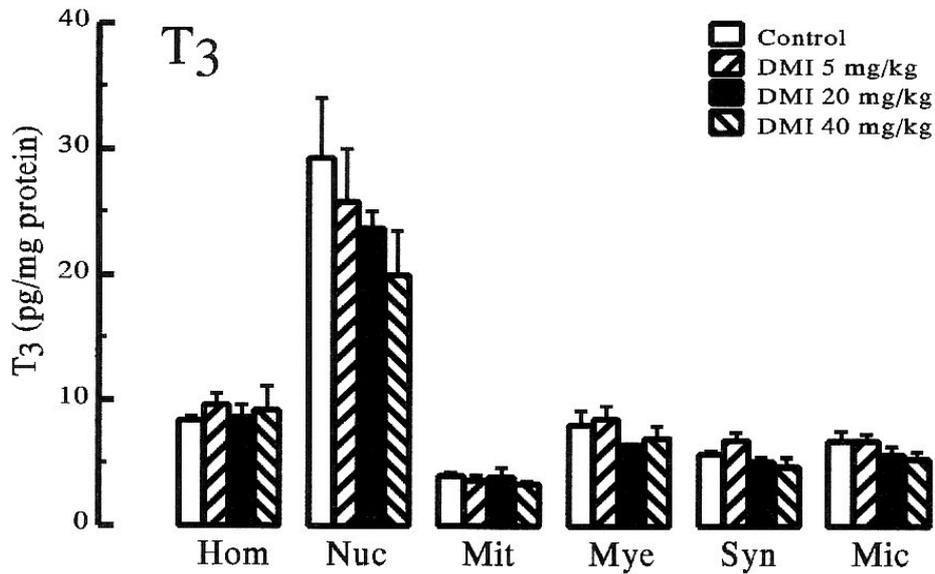
\* =  $p < 0,05$ ; \*\* =  $p < 0,01$  (Mann-Whitney-U-Test, Kontrolle vs. Desipramin)

## Amygdala



**Abb.3.3.6:** Wirkung einer 14tägigen Behandlung mit drei verschiedenen Dosierungen von Desipramin (DMI) auf die T<sub>3</sub>- und T<sub>4</sub>-Konzentrationen im Homogenat und in den subzellulären Fraktionen der Amygdala. Die Werte entsprechen dem Mittelwert  $\pm$  dem Standardfehler des Mittelwertes. Abkürzungen: siehe Abbildung 3.2.1; n.d. = nicht messbar  
 \* =  $p < 0,05$ ; \*\* =  $p < 0,01$  (Mann-Whitney-U-Test, Kontrolle vs. Desipramin)

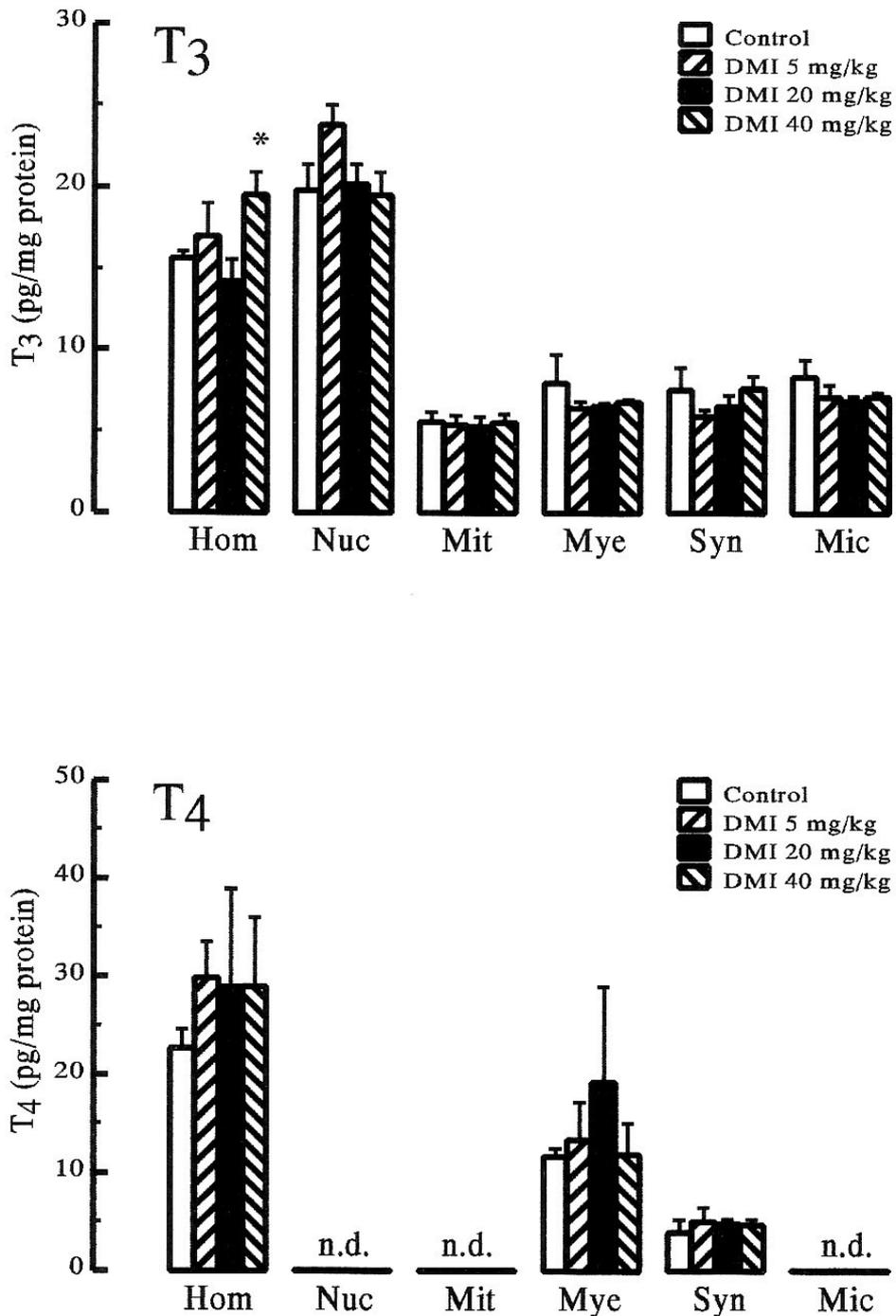
## Striatum



**Abb.3.3.7:** Wirkung einer 14tägigen Behandlung mit drei verschiedenen Dosierungen von Desipramin (DMI) auf die T<sub>3</sub>- und T<sub>4</sub>-Konzentrationen im Homogenat und in den subzellulären Fraktionen des Striatums. Die Werte entsprechen dem Mittelwert  $\pm$  dem Standardfehler des Mittelwertes. Abkürzungen: siehe Abbildung 3.2.1; n.d. = nicht messbar

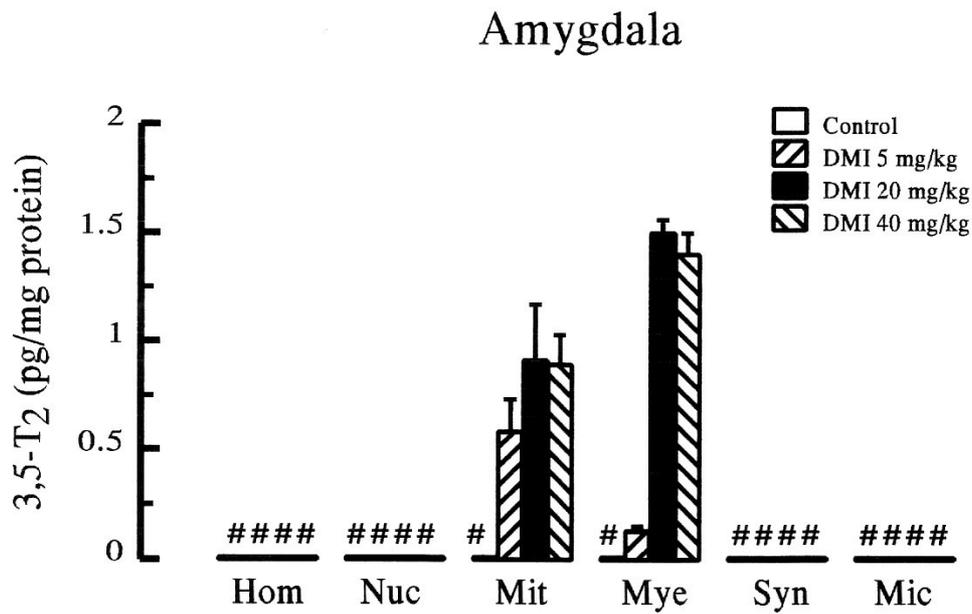
\* =  $p < 0,05$ ; \*\* =  $p < 0,01$  (Mann-Whitney-U-Test, Kontrolle vs. Desipramin)

## Hypothalamus



**Abb.3.3.8:** Wirkung einer 14tägigen Behandlung mit drei verschiedenen Dosierungen von Desipramin (DMI) auf die T<sub>3</sub>- und T<sub>4</sub>-Konzentrationen im Homogenat und in den subzellulären Fraktionen des Hypothalamus. Die Werte entsprechen dem Mittelwert  $\pm$  dem Standardfehler des Mittelwertes. Abkürzungen: siehe Abbildung 3.2.1; n.d. = nicht messbar  
\* =  $p < 0,05$  (Mann-Whitney-U-Test, Kontrolle vs. Desipramin)

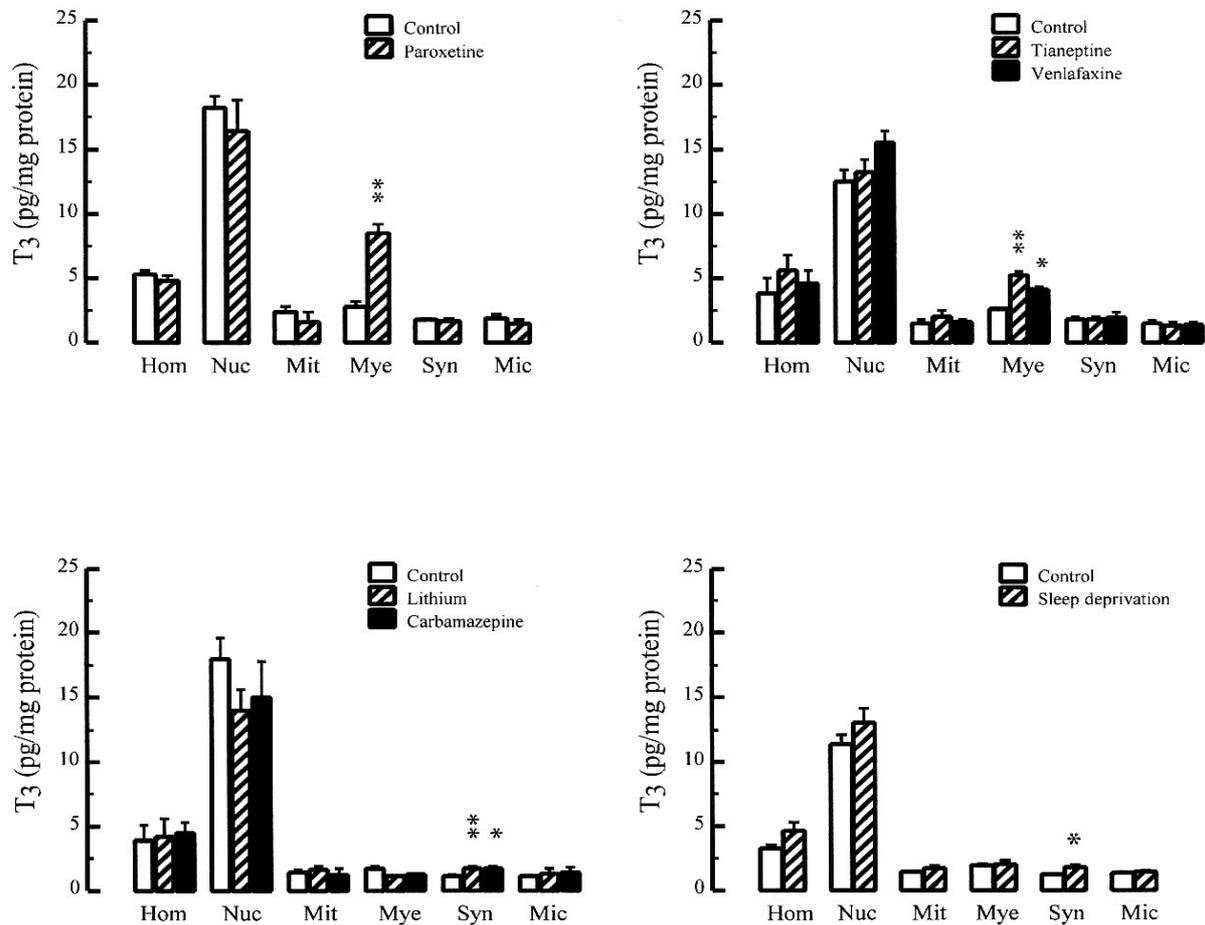
Da Desipramin nicht zu dem in einer Voruntersuchung gefundenen Anstieg der mitochondrialen T3-Konzentrationen in der Amygdala führte (Prenzel et al. 2000), wurde der Versuch gemacht, auch die 3,5-T2-Konzentrationen nach Desipramin-Behandlung zu messen. Die Ergebnisse zeigen, dass alle drei Dosierungen von Desipramin zu messbaren Konzentrationen im Myelin und den Mitochondrien der Amygdala führte (Abbildung 3.3.9).



**Abb.3.3.9:** Wirkung einer 14tägigen Behandlung mit drei verschiedenen Dosierungen von Desipramin (DMI) auf die 3,5-T2-Konzentrationen im Homogenat und in den subzellulären Fraktionen der Amygdala. Die Werte entsprechen dem Mittelwert  $\pm$  dem Standardfehler des Mittelwertes. Abkürzungen: siehe Abbildung 3.2.1; # = nicht messbar

Weiterhin wurden die Effekte chemisch unterschiedlicher Antidepressiva auf die Schilddrüsenhormonkonzentrationen in den subzellulären Fraktionen der Amygdala untersucht. Paroxetin, Venlafaxin und Tianeptin induzierten einen Anstieg der T3-Konzentrationen im Myelin der Amygdala (Abbildung 3.3.10 oben). Die Effekte von Paroxetin, Venlafaxin und Tianeptin wurden auch in jeweils sechs anderen Hirnarealen untersucht, nämlich im frontalen und parietooccipitalen Kortex, im Hippocampus, im Mittelhirn, im limbischen Vorderhirn und im Hypothalamus. In keinem Fall ergab sich eine Zunahme der T3-Konzentrationen in einer Subfraktion eines Hirnareals (Daten nicht gezeigt).

## Amygdala



**Abb.3.3.10:** Effekte von 14-tägigen Behandlungen mit den Antidepressiva Paroxetin, Tianeptin und Venlafaxin (oben) und den phasenprophylaktischen Pharmaka Lithium und Carbamazepin (unten links) sowie eines 8-stündigen Schlafentzugs (unten rechts) auf die T3-Konzentrationen in Homogenaten und subzellulären Fraktionen der Amygdala. Die Werte entsprechen dem Mittelwert  $\pm$  dem Standardfehler des Mittelwertes. Abkürzungen: siehe Abbildung 3.2.1.

\* =  $p < 0,05$ ; \*\* =  $p < 0,01$  (Mann-Whitney-U-Test, Kontrolle vs. Behandlung)

### 3.4 Effekte von Lithium und Carbamazepin auf die Schilddrüsenhormonkonzentrationen in subzellulären Fraktionen

Die Effekte einer 14-tägigen Lithium- bzw. Carbamazepinbehandlung auf die Hormonkonzentrationen in den subzellulären Fraktionen der Amygdala sind in Abbildung 3.3.10 (unten links) dargestellt. Die Ergebnisse zeigen eine signifikante Zunahme der synaptosomalen T3-Konzentrationen nach Behandlung mit beiden Medikamenten.

Die Effekte dieser beiden Pharmaka wurden auch in den oben genannten, sechs weiteren Hirnarealen getestet, Zunahmen der T3-Konzentrationen jedoch in keiner einzigen Subfraktion auch nur eines Areals gemessen. Insbesondere konnten keine Abnahmen der T3- oder T4-Konzentrationen im frontalen Kortex gemessen werden (detaillierte Daten nicht gezeigt).

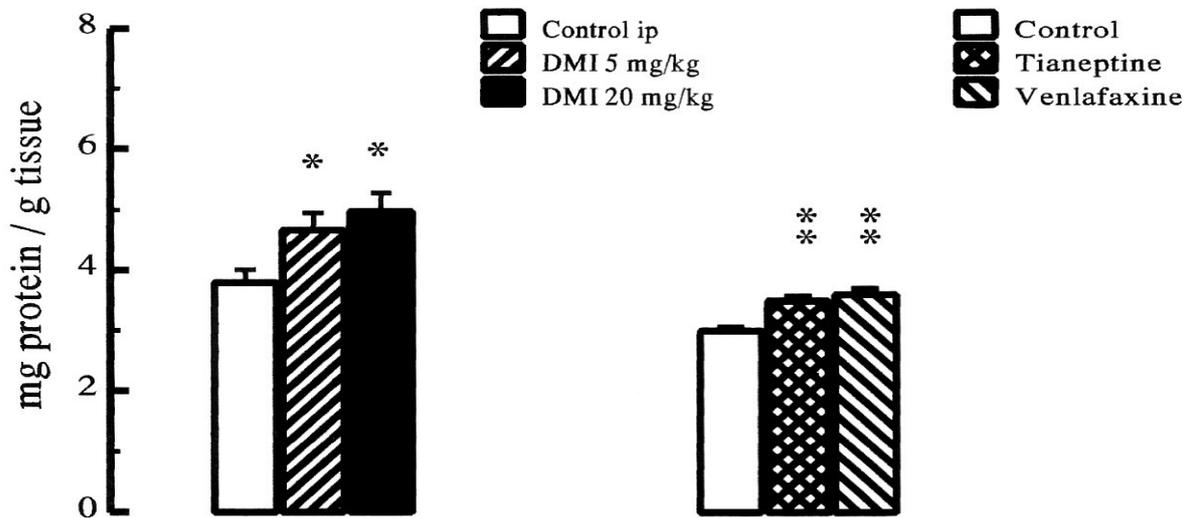
### **3.5 Effekte eines Schlafentzuges auf die Schilddrüsenhormonkonzentrationen in subzellulären Fraktionen**

Ein achtstündiger Schlafentzug induzierte eine signifikante Zunahme der T3-Konzentrationen in den Synaptosomen der Amygdala (Abbildung 3.3.10 unten rechts).

### **3.6 Effekte der verschiedenen antidepressiven und phasenprophylaktischen Behandlungsformen auf die Proteinkonzentrationen der subzellulären Fraktionen**

Bei der Berechnung der Proteinkonzentrationen (mg Protein/g Gewebe) fiel auf, dass die Antidepressiva Desipramin, Tianeptin und Venlafaxin die Konzentration der mitochondrialen Proteine in der Amygdala signifikant erhöhten (Abbildung 3.6.1). Weder die Behandlung mit Lithium bzw. Carbamazepin noch ein achtstündiger Schlafentzug zeigten jedoch signifikante Effekte auf die Proteinkonzentrationen der mitochondrialen Fraktion der Amygdala (Daten nicht gezeigt). Andere gemeinsame Effekte von Antidepressiva auf die Proteinkonzentrationen irgendeiner Subfraktion in den untersuchten Arealen konnte nicht festgestellt werden.

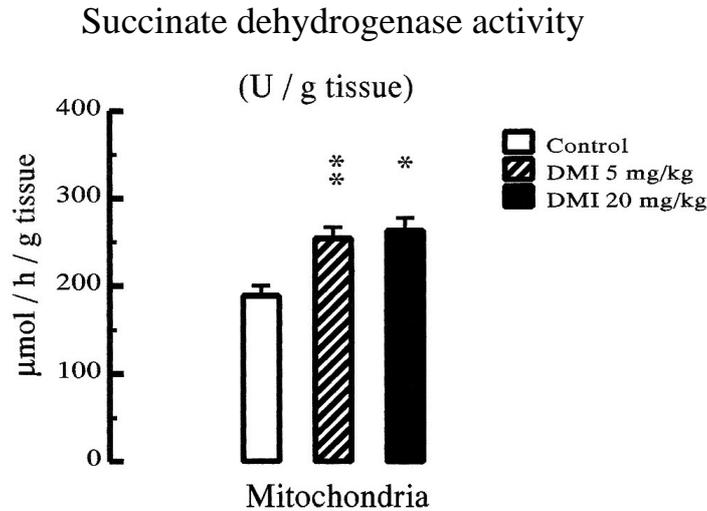
## Mitochondria of amygdala



**Abbildung 3.6.1:** Effekte verschiedener antidepressiver Pharmaka auf die mitochondrialen Proteinkonzentrationen der Amygdala. Die Werte entsprechen dem Mittelwert  $\pm$  dem Standardfehler des Mittelwertes. Abkürzungen: siehe Abbildung 3.2.1; \* =  $p < 0,05$ ; \*\* =  $p < 0,01$  (Mann-Whitney-U-Test, Kontrolle vs. Behandlung)

### 3.7 Funktionelle Untersuchungen

Zur weiteren Abklärung der Frage, ob die erhöhten 3,5-T<sub>2</sub>-Konzentrationen bzw. die Zunahme der Proteinkonzentrationen in den Mitochondrien der Amygdala nach antidepressiver Behandlung von funktioneller Relevanz sind, wurde die Aktivität der Succinatdehydrogenase in den mitochondrialen Fraktionen der Amygdala nach Desipraminbehandlung gemessen. Die Ergebnisse zeigen, dass eine 14-tägige Behandlung mit sowohl 5 mg/kg als auch mit 20 mg/kg Desipramin zu einer signifikanten Zunahme der Succinatdehydrogenase-Aktivität in den Mitochondrien der Amygdala führte (Abbildung 3.7.1).

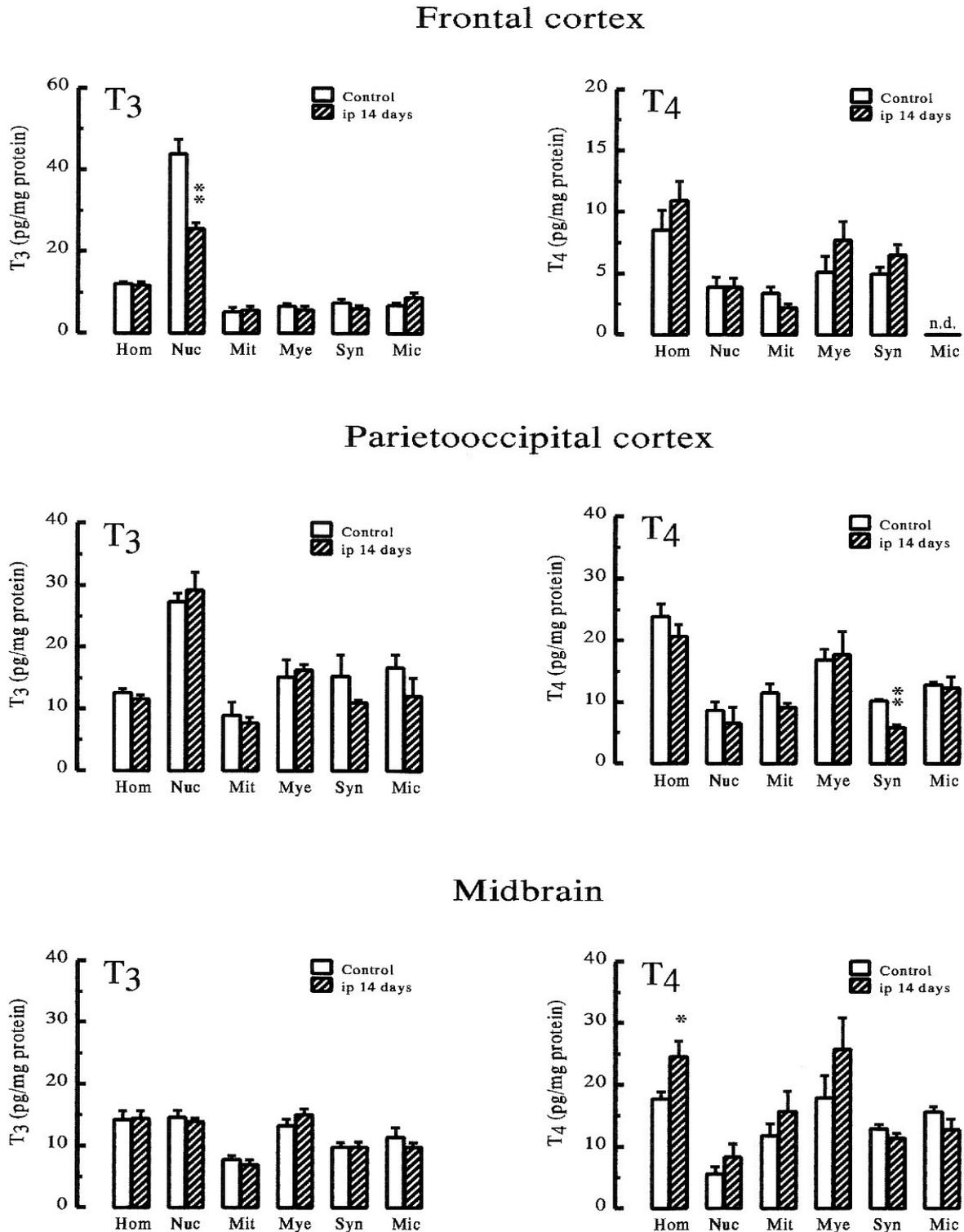


**Abb.3.7.1:** Effekte einer 14-tägigen Behandlung mit Desipramin auf die Succinat-Dehydrogenase-Aktivität in den Mitochondrien der Amygdala. Die Werte entsprechen dem Mittelwert  $\pm$  dem Standardfehler des Mittelwertes. Abkürzungen: siehe Abbildung 3.1.1; \* =  $p < 0,05$ ; \*\* =  $p < 0,01$  (Mann-Whitney-U-Test, Kontrolle vs. Behandlung)

### 3.8 Effekte von akutem und chronischem Stress auf die Schilddrüsenhormonkonzentrationen in subzellulären Fraktionen

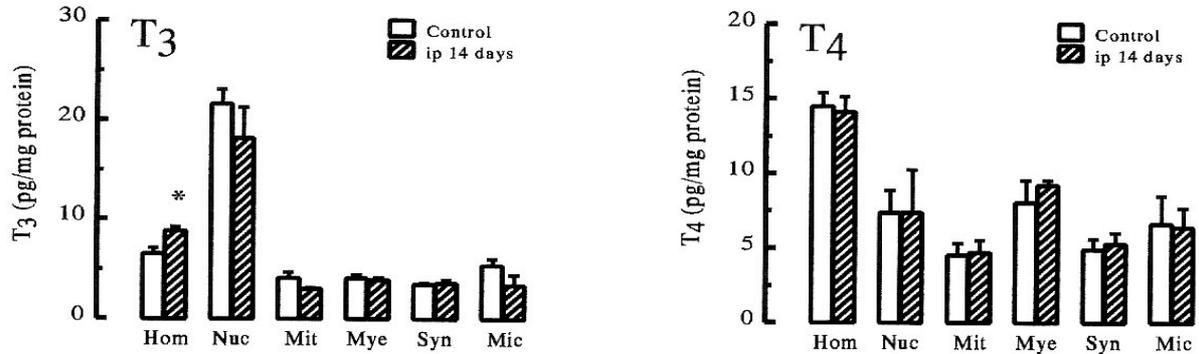
Eine während eines 14-tägigen Zeitraums täglich wiederholte i.p.-Injektion mit Kochsalz induzierte eine Abnahme der nukleären T3-Konzentrationen in den Hirnarealen Frontaler Kortex, Amygdala, Septum und Hypothalamus (Abbildungen 3.8.1 bis 3.8.3). Im Homogenat des Hippocampus sowie im Myelin und in den Mikrosomen wurden erhöhte T3-Konzentrationen gemessen. Die T4-Konzentrationen waren im Homogenat den Mittelhirns und im Myelin des Hypothalamus erhöht, in der synaptosomalen Fraktion des parietooccipitalen Kortex erniedrigt.

In Abbildung 3.8.4 sind die Effekte einer dreimaligen, in halbstündigen Abständen vorgenommenen i.p.-Injektion mit isotonischer Kochsalzlösung dargestellt: die T3-Konzentrationen waren im Homogenat des frontalen Kortex und im Myelin des parietooccipitalen Kortex gestiegen, die T4-Konzentration in der Myelinfraktion des frontalen Kortex war gesunken.

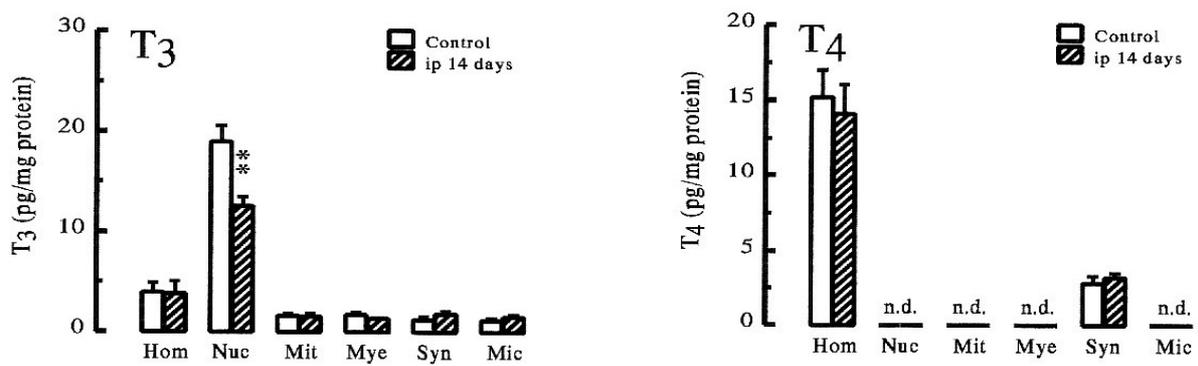


**Abb.3.8.1:** Effekte einer täglichen i.p.-Injektion von Kochsalzlösung über einen Zeitraum von 14 Tagen auf die T3- und T4-Konzentrationen in Homogenaten und subzellulären Fraktionen des frontalen Kortex, des parietooccipitalen Kortex und des Mittelhirns. Die Werte entsprechen dem Mittelwert  $\pm$  dem Standardfehler des Mittelwertes. Abkürzungen: siehe Abbildung 3.2.1; \* =  $p < 0,05$ ; \*\* =  $p < 0,01$  (Mann-Whitney-U-Test, Kontrolle vs. Behandlung)

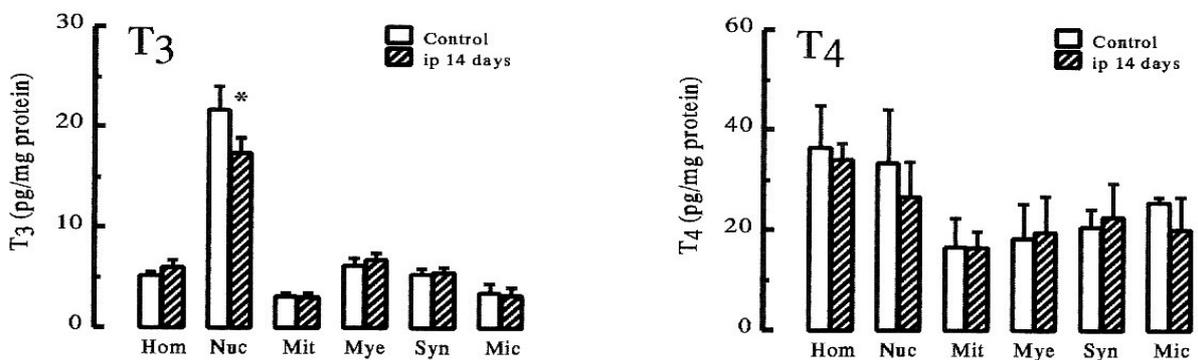
## Hippocampus



## Amygdala



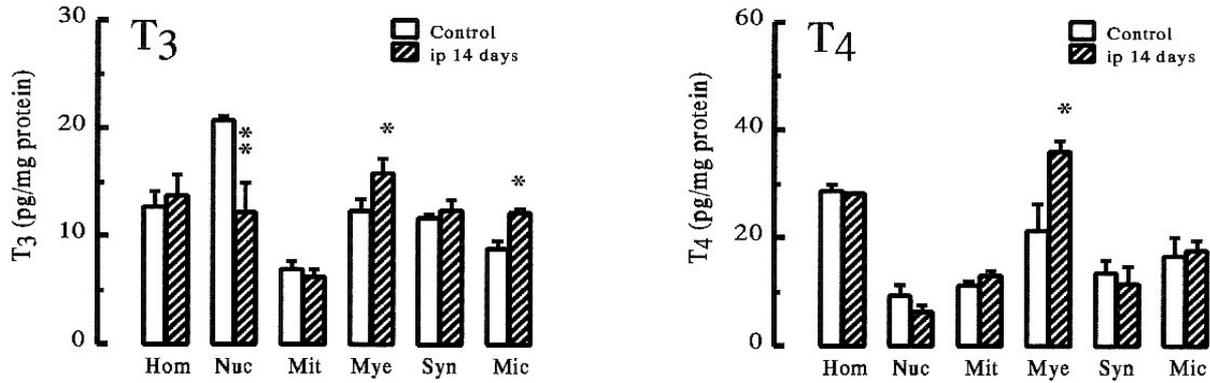
## Septum



**Abb.3.8.2:** Effekte einer täglichen i.p.-Injektion von Kochsalzlösung über einen Zeitraum von 14 Tagen auf die T3- und T4-Konzentrationen in Homogenaten und subzellulären Fraktionen des Hippocampus, der Amygdala und des Septums. Die Werte entsprechen dem Mittelwert  $\pm$  dem Standardfehler des Mittelwertes. Abkürzungen: siehe Abbildung 3.2.1

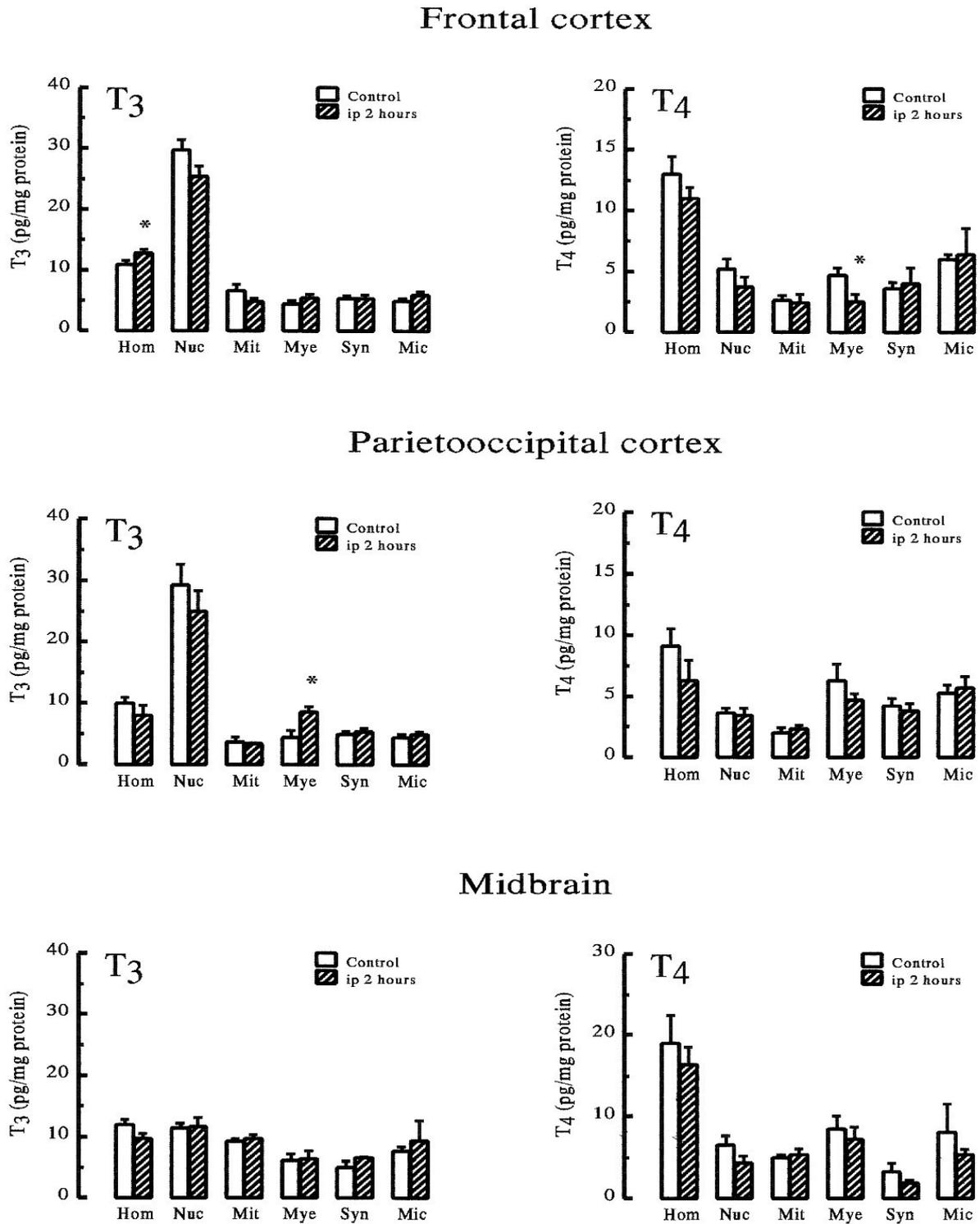
\* =  $p < 0,05$ ; \*\* =  $p < 0,01$  (Mann-Whitney-U-Test, Kontrolle vs. Behandlung)

## Hypothalamus



**Abb.3.8.3:** Effekte einer täglichen i.p.-Injektion von Kochsalzlösung über einen Zeitraum von 14 Tagen auf die T3- und T4-Konzentrationen in Homogenaten und subzellulären Fraktionen des Hypothalamus. Die Werte entsprechen dem Mittelwert  $\pm$  dem Standardfehler des Mittelwertes. Abkürzungen: siehe Abbildung 3.2.1

\* =  $p < 0,05$ ; \*\* =  $p < 0,01$  (Mann-Whitney-U-Test, Kontrolle vs. Behandlung)



**Abb.3.8.4:** Effekte einer dreimaligen, in halbstündigen Abständen vorgenommenen i.p.-Injektion von Kochsalzlösung auf die T3- und T4-Konzentrationen in Homogenaten und subzellulären Fraktionen des frontalen Kortex, des parietooccipitalen Kortex und des Mittelhirns. Die Werte entsprechen dem Mittelwert  $\pm$  dem Standardfehler des Mittelwertes. Abkürzungen: siehe Abbildung 3.2.1

\* =  $p < 0,05$ ; \*\* =  $p < 0,01$  (Mann-Whitney-U-Test, Kontrolle vs. Behandlung)

### **3.9 Effekte verschiedener antidepressiver Pharmaka, der Behandlung mit phasenprophylaktischen Medikamenten, von Schlafentzug und von chronischem und akutem Stress auf die T3- und T4-Serumspiegel**

Die Tabelle 3.9.1 zeigt die Wirkung der durchgeführten Behandlungen auf die T3- und T4-Serumspiegel. Die Behandlung mit verschiedenen Antidepressiva hat zu keinen signifikanten Veränderungen der T3- und T4-Serumspiegel geführt.

Die Verabreichung einer Lithiumdiät hatte ebenfalls keinen Einfluss auf die Serumkonzentrationen der Schilddrüsenhormone. Carbamazepin verursachte eine signifikante Verringerung der T3-Konzentration.

Eine tägliche i.p.-Injektion über einen Zeitraum von 14 Tagen sowie die dreimalige i.p.-Injektion im Abstand von 30 Minuten hatten keine Wirkung auf die T3- und T4-Serumspiegel.

**Tabelle 3.9.1:** Effekte verschiedener antidepressiver Pharmaka, der Behandlung mit phasenprophylaktischen Medikamenten, von Schlafentzug und von chronischem und akutem Stress auf die T3- und T4-Serumspiegel Die Werte entsprechen dem Mittelwert  $\pm$  dem Standardfehler des Mittelwertes. Abkürzungen: siehe Abbildung 3.2.1; \*\* =  $p < 0,01$  (Mann-Whitney-U-Test, Kontrolle vs. Behandlung)

<b>Behandlung</b>	<b>T3 [ng / ml]</b>	<b>T4 [ng / ml]</b>
<b>Desipramin</b>		
Kontrolle	0,76 $\pm$ 0,04	22,2 $\pm$ 0,6
5 mg/Kg	0,71 $\pm$ 0,02	26,6 $\pm$ 1,0
20 mg/Kg	0,71 $\pm$ 0,04	21,8 $\pm$ 1,8
40 mg/Kg	0,74 $\pm$ 0,04	25,4 $\pm$ 2,1
<b>Paroxetin</b>		
Kontrolle	0,74 $\pm$ 0,06	25,2 $\pm$ 2,8
20 mg/Kg	0,72 $\pm$ 0,07	22,3 $\pm$ 2,1
<b>Tianeptin</b>		
Kontrolle	0,58 $\pm$ 0,06	38,0 $\pm$ 1,2
20 mg/Kg	0,53 $\pm$ 0,09	35,7 $\pm$ 2,4
<b>Venlafaxin</b>		
Kontrolle	0,58 $\pm$ 0,06	38,0 $\pm$ 1,2
40 mg/Kg	0,59 $\pm$ 0,04	38,0 $\pm$ 1,7
<b>Lithium</b>		
Kontrolle	0,66 $\pm$ 0,04	39,8 $\pm$ 1,6
Lithiumdiät	0,88 $\pm$ 0,09	41,5 $\pm$ 1,8
<b>Carbamazepin</b>		
Kontrolle	0,66 $\pm$ 0,04	39,8 $\pm$ 1,6
Carba. Diät	0,46 $\pm$ 0,03**	36,1 $\pm$ 1,2
<b>Schlafentzug</b>		
Kontrolle	0,66 $\pm$ 0,09	38,2 $\pm$ 2,2
Schlafentzug	0,48 $\pm$ 0,05	38,5 $\pm$ 0,8
<b>Stress chronisch</b>		
Kontrolle	0,56 $\pm$ 0,08	38,1 $\pm$ 1,5
i.p. 14 Tage	0,50 $\pm$ 0,09	37,0 $\pm$ 2,6
<b>Stress akut</b>		
Kontrolle	0,51 $\pm$ 0,04	37,0 $\pm$ 1,8
i.p. 2 Stunden	0,64 $\pm$ 0,06	37,0 $\pm$ 0,9

### 3.10 Schilddrüsenhormonkonzentrationen in subzellulären Fraktionen bei Hypothyreose und bei Hyperthyreose

Die Tabelle 3.10.1 zeigt die T3- und T4-Serumkonzentrationen der zur Induktion einer hyperthyreoten Stoffwechsellaage mit T3 und T4 behandelten sowie der zur Induktion einer Hypothyreose mit Methimazol behandelten Versuchstiere. Die T3-Serumspiegel bei den Methimazol-behandelten Tieren waren stark gesunken. Die Verabreichungen von T3 und T4 (96µg) verursachten erhöhte T3-Serumkonzentrationen um etwa das 3- bis 6-fache. Die T4-Konzentrationen waren im Serum der T3- und der Methimazol-behandelten Tiere nicht mehr nachweisbar, bei den T4-behandelten Tieren massiv angestiegen.

**Tabelle 3.10.1:** T3- und T4-Serumkonzentrationen nach Behandlung mit T3, T4 bzw. Methimazol. Die Werte entsprechen dem Mittelwert  $\pm$  dem Standardfehler des Mittelwertes. \*\* =  $p < 0,01$  (Mann-Whitney-U-Test, Kontrolle vs. Behandlung)

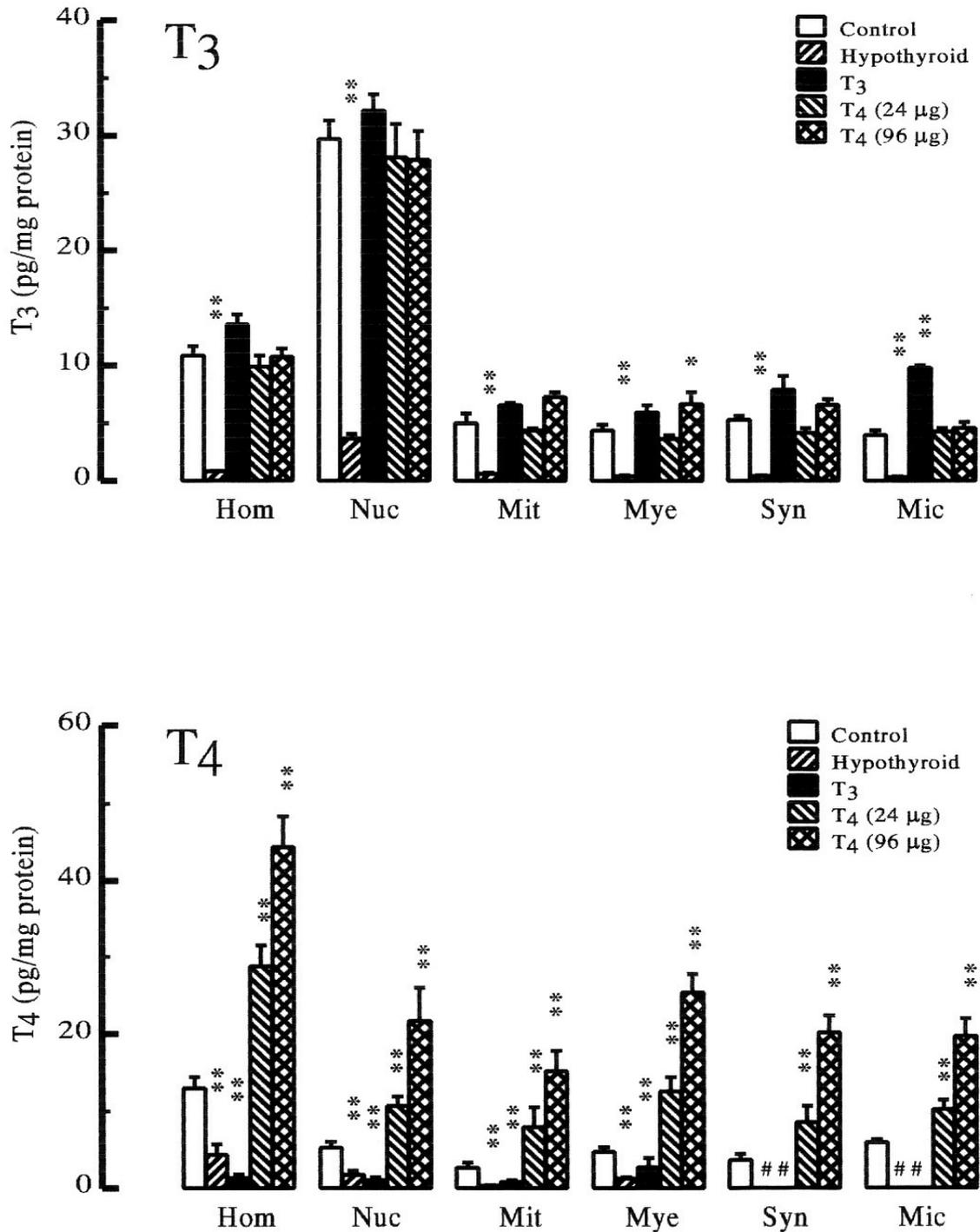
Behandlung	T3 [ng / ml]	T4 [ng / ml]
Kontrolle	0,51 $\pm$ 0,04	38 $\pm$ 1,8
Methimazol	0,04 $\pm$ 0,005**	nicht messbar
T3	3,30 $\pm$ 0,05 **	nicht messbar
T4 (24µg)	0,40 $\pm$ 0,09	64 $\pm$ 2,9 **
T4 (96µg)	1,50 $\pm$ 0,2 **	90 $\pm$ 1,7 **

Die Effekte der induzierten hypo- bzw. hyperthyreoten Stoffwechsellaage auf die T3- und T4-Konzentrationen im Homogenat und in den subzellulären Fraktionen von vier Hirnarealen sind in den Abbildungen 3.10.1 bis 3.10.4 dargestellt. Die T3- und T4-Konzentrationen der hypothyreoten Tiere waren im Homogenat und in allen Subfraktionen der untersuchten Areale (frontaler und parietooccipitaler Kortex, Mittelhirn und Amygdala) entweder massiv gesunken oder nicht mehr nachweisbar.

Die T4-Konzentrationen der mit T3 behandelten hyperthyreoten Tiere hatten in den Homogenaten und subzellulären Fraktionen aller vier Areale stark abgenommen oder waren nicht messbar. Die Applikation von T4 führte in allen Arealen in den Homogenaten und fast allen Subfraktionen zu signifikanten Zunahmen der T4-Konzentrationen.

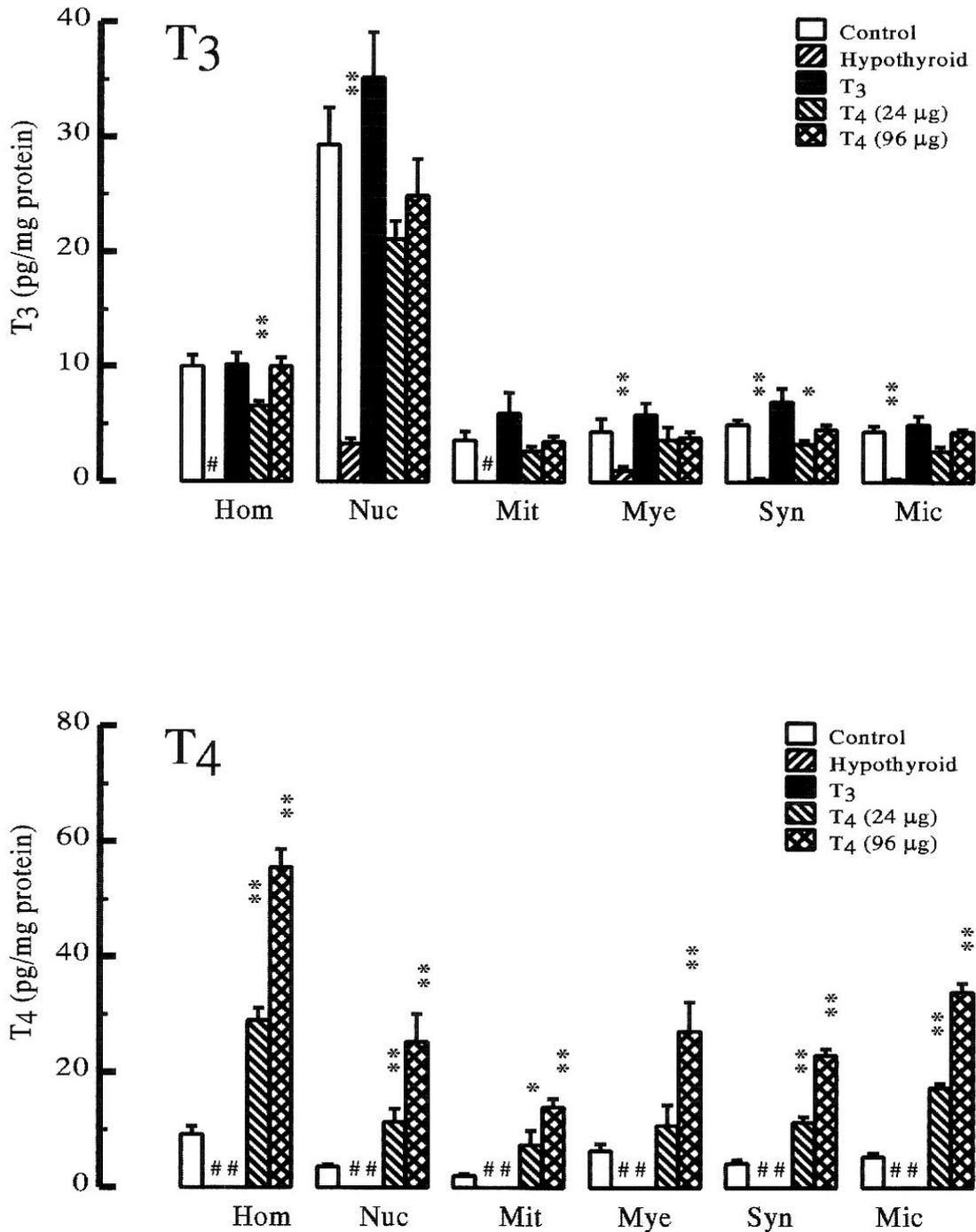
Trotz der hyperthyreoten Stoffwechsellage waren die T3-Konzentrationen in den Homogenaten und den subzellulären Fraktionen des frontalen und des parietooccipitalen Kortex und der Amygdala nicht erhöht; Ausnahmen bildeten die Myelinfraktion des frontalen Kortex bei den mit 96µg T4 behandelten Tieren, bei der ein leichter Anstieg zu beobachten war und die mikrosomale Fraktion des frontalen Kortex der mit T3 behandelten Tiergruppe, bei der T3 ebenfalls angestiegen war. In der mit 24µg T4 behandelten Gruppe waren in den genannten Arealen teilweise sogar niedrigere T3-Werte gemessen worden als in der Kontrollgruppe: im Homogenat und den Synaptosomen des parietooccipitalen Kortex und im Homogenat, den Zellkernen, den Mitochondrien, dem Myelin und den Mikrosomen der Amygdala. Im Mittelhirn zeigte die Hyperthyreose eine andere Wirkung. Die T3-Konzentrationen in den Homogenaten und allen Subfraktionen der mit T3 und der mit 96µg T4 behandelten Tiere waren signifikant erhöht. Die Tiere, die 24µg T4 erhalten hatten wiesen im Myelin und in den Synaptosomen des Mittelhirns höhere T3-Werte auf.

## Frontal cortex



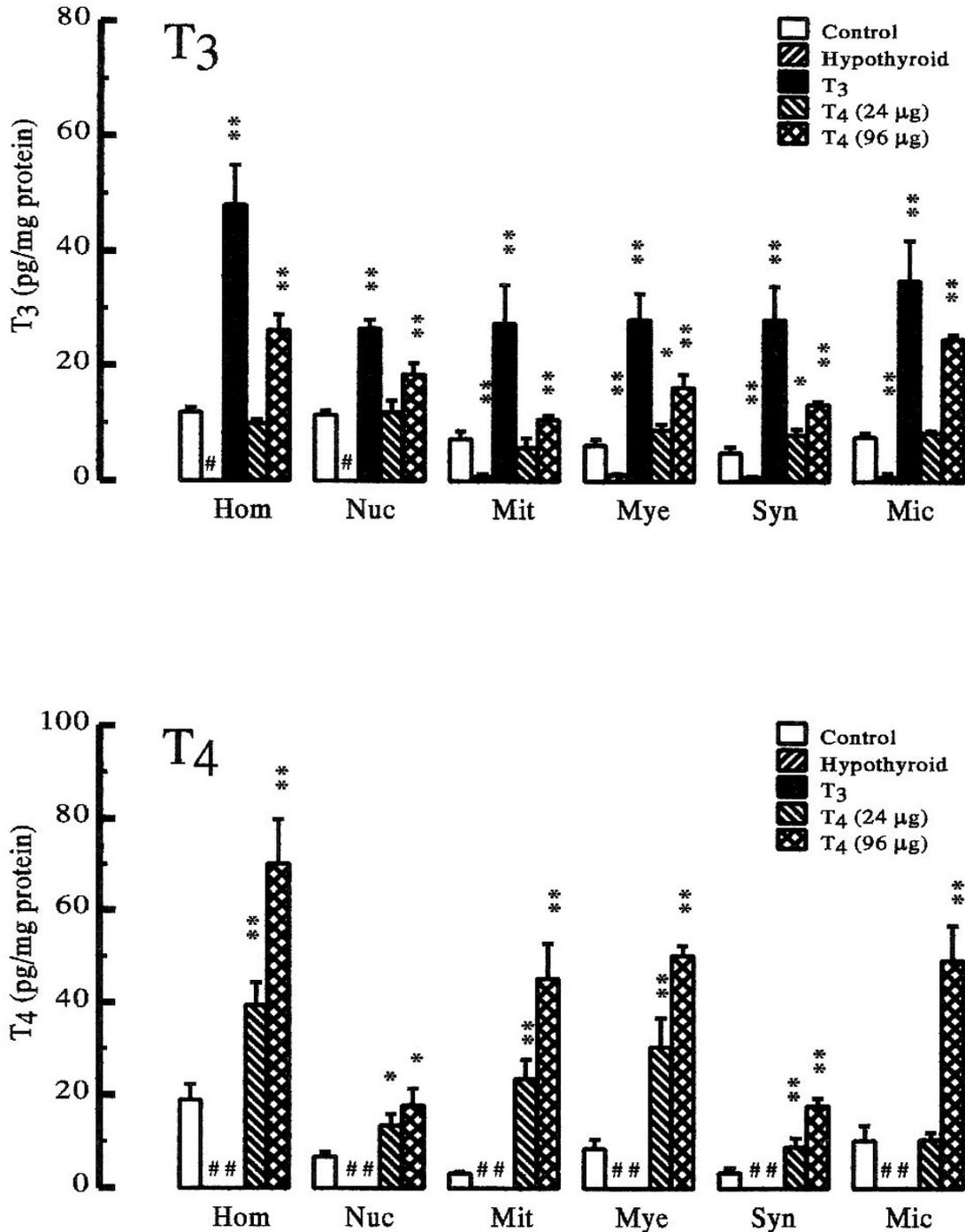
**Abb.3.10.1:** Effekte von induzierten Hypo- und Hyperthyreosen auf die T3- und T4-Konzentrationen in Homogenaten und subzellulären Fraktionen des frontalen Kortex. Die Werte entsprechen dem Mittelwert  $\pm$  dem Standardfehler des Mittelwertes. Abkürzungen: siehe Abbildung 3.2.1; \*\* =  $p < 0,01$  (Mann-Whitney-U-Test, Kontrolle vs. Behandlung)

## Parietooccipital cortex



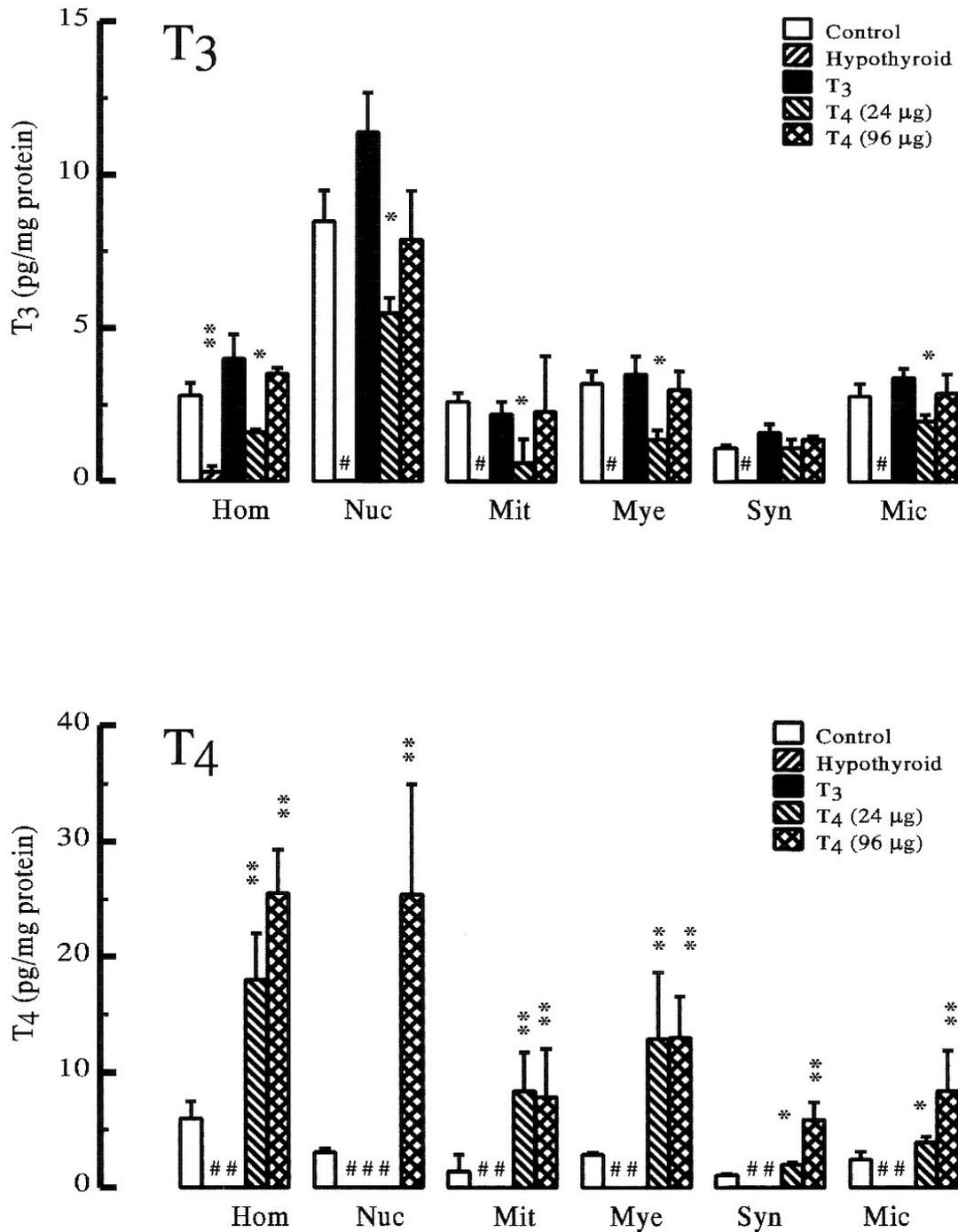
**Abb.3.10.2:** Effekte von induzierten Hypo- und Hyperthyreosen auf die T<sub>3</sub>- und T<sub>4</sub>-Konzentrationen in Homogenaten und subzellulären Fraktionen des parietooccipitalen Kortex. Die Werte entsprechen dem Mittelwert  $\pm$  dem Standardfehler des Mittelwertes. Abkürzungen: siehe Abbildung 3.2.1; \* =  $p < 0,05$ ; \*\* =  $p < 0,01$  (Mann-Whitney-U-Test, Kontrolle vs. Behandlung)

## Midbrain



**Abb.3.10.3:** Effekte von induzierten Hypo- und Hyperthyreosen auf die T<sub>3</sub>- und T<sub>4</sub>-Konzentrationen in Homogenaten und subzellulären Fraktionen des Mittelhirns. Die Werte entsprechen dem Mittelwert  $\pm$  dem Standardfehler des Mittelwertes. Abkürzungen: siehe Abbildung 3.2.1; \* =  $p < 0,05$ ; \*\* =  $p < 0,01$  (Mann-Whitney-U-Test, Kontrolle vs. Behandlung)

## Amygdala



**Abb.3.10.4:** Effekte von induzierten Hypo- und Hyperthyreosen auf die T3- und T4-Konzentrationen in Homogenaten und subzellulären Fraktionen der Amygdala. Die Werte entsprechen dem Mittelwert  $\pm$  dem Standardfehler des Mittelwertes. Abkürzungen: siehe Abbildung 3.2.1; \* =  $p < 0,05$ ; \*\* =  $p < 0,01$  (Mann-Whitney-U-Test, Kontrolle vs. Behandlung)

### 3.11 Weitere Ergebnisse

Das Zentrallabor für Klinische Chemie war so freundlich, die Serumkonzentrationen von Lithium und Carbamazepin in den Rattenseren zu messen. Der mittlere Lithium-Spiegel betrug  $0,69 \pm 0,08$  mmol/l (Streubreite 0,65 bis 0,92). Der mittlere Carbamazepin-Spiegel betrug  $3,87 \pm 1,19$  mg/l (Streubreite 2,00 bis 5,45). 6 der 12 Tiere hatten Carbamazepin-Serumkonzentrationen unterhalb von 4 mg/l.

Die DNA-Konzentrationen der einzelnen Hirnareale unterschieden sich nur leicht, sie betragen z. B.  $0,8 \mu\text{g DNA/mg Gewebe}$  im frontalen Kortex,  $0,42 \mu\text{g DNA/mg Gewebe}$  in der Amygdala,  $0,49 \mu\text{g DNA/mg Gewebe}$  im Hippocampus und  $0,43 \mu\text{g DNA/mg Gewebe}$  im Mittelhirn. Eine größere Streubreite ergab die Berechnung der T3-Konzentrationen bezogen auf mg DNA: Diese reichte von  $0,1 \text{ ng T3/mg DNA}$  im Mittelhirn,  $0,2 \text{ ng T3/mg DNA}$  im parietooccipitalen Kortex,  $0,36 \text{ ng T3/mg DNA}$  im Hippocampus und  $0,41 \text{ ng T3/mg DNA}$  im frontalen Kortex.

