Aus der Klinik für Psychiatrie, Psychotherapie und Psychosomatische Medizin
der Otto-von-Guericke-Universität Magdeburg

Glutamatdecarboxylase-Immunreaktivität im Neuropil ausgewählter Areale des limbischen Systems bei Patienten mit affektiven Störungen mit und ohne suizidalem Verhalten und Kontrollen – eine morphometrische Untersuchung

D i s s e r t a t i o n

zur Erlangung des Doktorgrades

Dr. med.

(doctor medicinae)

an der Medizinischen Fakultät
der Otto-von-Guericke-Universität Magdeburg

vorgelegt von Karoline Günther

aus Luckenwalde

Magdeburg 24.04.2009

Dokumentationsblatt

Günther, Karoline

Glutamatdecarboxylase-Immunreaktivität im Neuropil ausgewählter Areale des limbischen Systems bei Patienten mit affektiven Störungen mit und ohne suizidalem Verhalten und Kontrollen – eine morphometrische Untersuchung

Medizinische Fakultät der Otto-von-Guericke-Universität Magdeburg, Klinik für Psychiatrie, Psychotherapie und Psychosomatische Medizin, Leipziger Strasse 44, D-39120 Magdeburg

2009, 70 Seiten, 8 Abbildungen, 4 Tabellen, 191 Literaturangaben

Dissertation zur Erlangung des Doktorgrades Dr. med. (doctor medicinae)

Kurzreferat:
In der Pathophysiologie affektiver Störungen wird eine GABAerge Neurotransmission angenommen. Um die Glutamatdecarboxylase (GAD), das Schlüsselenzym der GABA-Synthese zu detektieren wurde eine immunhistochemische Färbung in den Arealen des dorsolateralen präfrontalen Kortex, des orbitofrontalen Kortex, des anterioren Gyrus cinguli, des entorhinalen Kortex, der hippocampalen Formation und des mediodorsalen und laterodorsalen Thalamus durchgeführt. Von besonderem Interesse war die Dichte des GAD-immunreaktiven Neuropils, einschließlich der synaptischen Terminalen.
Die Studie wurde an Gehirnen vorgenommen, die im Vorfeld in Paraffin eingebettet worden waren: 10 unipolare und 11 bipolare Patienten (wovon 14 depressiven Patienten durch Selbsttötung und 7 Patienten eines natürlichen Todes starben) sowie 18 angepassten Vergleichsfällen durchgeführt.
Im Vergleich der beiden großen Unterformen der affektiven Störungen und der Kontrollpersonen zeigten vier der acht untersuchten Regionen (CA1-Region, dorsolateraler präfrontaler Kortex, entorhinaler Kortex, Ncl. laterodorsalis thalami) signifikante Ergebnisse. Unipolar erkrankte Personen wiesen im Mittel höhere Faserdichten auf als angepasste Vergleichsfälle. Zudem zeigte sich der Trend eines Faserdefizits von Seiten der bipolaren Patienten verglichen mit den unipolar Depressiven.
Im Gruppenvergleich der Suizidenten, der Nichtsuizidenten und der Kontrollen ergab sich in fünf der acht ausgewerteten Regionen eine Signifikanz: CA1-Region, dorsolateraler präfrontaler Kortex, entorhinaler Kortex, Gyrus dentatus und mediodorsaler Thalamuskern. Patienten, die sich suizidierten wiesen höhere Faserdichten an GAD-ir Neuropil auf als depressive Patienten, die durch eine natürliche Ursache starben. Die Vergleichsfälle lagen im Durchschnitt zwischen den

beiden Patientengruppen. Daraus entsteht die Annahme, dass Patienten ohne suizidales Potential ein GAD-Defizit aufweisen.
Einschränkungen, die bei dieser Arbeit gemacht müssen, sind zum einen die geringe Fallzahl innerhalb der einzelnen Gruppen und zum anderen sind die fehlenden Daten über längerfristigen Substanzkonsum.

Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit können als Ausgangspunkt bei der Aufklärung der Entstehung psychiatrischer Erkrankungen im Rahmen weiterer neurobiologischer Forschungsansätze dienen.

Schlüsselwörter:
GABA - GAD – GAD-ir Neuropil – Unipolare Depression – Bipolare Störung – Suizid – CA1-Region – Gyrus dentatus – Entorhinaler Cortex – Nucleus lateralis dorsalis des Thalamus

Inhaltsverzeichnis

Dokumentationsblatt

Inhaltsverzeichnis

Abkürzungsverzeichnis

1. Einleitung **Seite 1-16**

1.1. Hirnstruktuelle Veränderungen bei Formen von affektiven Störungen Seite 2-4

1.2 Rolle von GABA bei affektiven Störungen Seite 4-7

1.3. Veränderungen der Glutamate-Decarboxylase bei affektiven Störungen Seite 7-11

1.4. Pathophysiologische Veränderungen bei Suizidopfern Seite 11-15

1.5. Gegenstand dieser Arbeit Seite 15-16

2. Material & Methoden **Seite 17-24**

2.1. Material Seite 17-19

2.2. Immunhistochemie Seite 19-21

2.3. Morphometrie Seite 21-23

2.4. Statistische Analyse Seite 23-24

3. Ergebnisse **Seite 25-42**

3.1. Unterschiede in der Dichte von GAD-IR Fasern zwischen Kontrollen/ Bipolaren / Unipolare Seite 25-32

3.1.1. CA1-Region Seite 28

3.1.2. Dorsolateraler präfrontaler Kortex (DLPFC) Seite 28

3.1.3. Entorinaler Kortex (ENT) Seite 28

3.1.4. Laterodorsalen Thalamuskern (LD) Seite 28

3.1.5. Co-Faktoren Seite 29

3.2. Unterschiede in der Dichte von GAD-IR Fasern zwischen Kontrollen/ Suizidenten/ Nicht-Suizidenten Seite 33-41

3.2.1. CA1-Region Seite 36

3.2.2. Dorsolateraler präfrontaler Kortex (DLPFC) Seite 36

3.2.3. Entorinaler Kortex (ENT) Seite 36

3.2.4. Gyrus dentatus (GD) Seite 37

3.2.5. Mediodorsaler Thalamuskern Seite 37
3.2.6. Co-Faktoren Seite 37
3.3. Intrarater und Interrater Seite 41

4. Diskussion Seite 43-67
4.1. Dichte der GAD-ir Fasern Seite 43-58
bei einer unipolaren Depression und einer bipolaren Depression
4.2. Dichte der GAD-ir Fasern Seite 58-64
bei depressiven Suizidenten und Nicht-Suizidenten
4.3. Methodenkritische Analyse des experimentellen Ansatzes Seite 64-67

5. Zusammenfassung Seite 68-70
6. Literaturverzeichnis Seite 71-85
7. Tabellen- & Abbildungsverzeichnis Seite 86-87
7.1. Tabellen Seite 86
7.2. Abbildungen Seite 86-87

Anhang
Erklärung Seite 88
Danksagung Seite 89
Darstellung des Bildungsweges Seite 90
Wissenschaftliche Leistungen Seite 91

Abkürzungen

III	Cortex Schicht 3
V	Cortex Schicht 5
5-HAT	5-Hydroxytryptamin (Serotonin)
Abb.	Abbildung
ACC	Anteriorer Cinguläre Cortex
ADP	Adenosindiphosphat
Amm.$NiS0_4$	Ammoniumnickelsulfat
ATP	Adenosintriphosphat
BPD	Bipolar Disorder
BDNF	brain-derived neurotrophic factor
C	Kontrollen
C-	Carboxyl-
CA1	Hippocampus CA1-Region
CT	Computertomographie
D_2-Rezeptor	Dopamin-2-Rezeptor
Da	Dalton
DAB	Diaminobenzidin-Hydrochlorid
DLPFC/ DLC/ PFC	Dorsolateraler Präfrontaler Cortex
ECT	Elektrokrampftherapie
ENT	Entorinaler Cortex
g	Gramm
GABA	Gama-Aminobuttersäure
GAD	Glutamat-Decarboxylase
GAT	GABA-Membrantransporter
GD	Gyrus dentatus
h	Stunden
HPA	Hypothalamus-Hypophysen-Nebennieren-Achse
IPSP	inhibitorisches postsynaptisches Potential
ir	immunreaktiv
kDa	Kilo Dalton
LD	Nucleus lateralis dorsalis thalami
li od. LI	Hemisphäre links
MD	Nucleus mediodorsalis thalami

Abkürzungsverzeichnis

MDD	Major Depressive Disorder
MRI	Magnetresonanztomographie (=MRT)
mRNA	Messenger-Ribonukleinsäure
N-	Amino-
Ncl.	Nuleus
NMDA	N-Methyl-D-Aspartate
NSz	Nicht-Suizid
OFC	Orbitofrontaler Cortex
PBS	phosphatgepuffertes Salz
PDE4B	Phosphodiesterase 4B
Pyridoxal-P	Pyridoxal-Phosphat
re od. RE	Hemisphäre rechts
Sz	Suizid
SLC	Vertreter der Glutamin-Transporter-Familie
SSRI	selektiven Serotonin-Reuptake-Hemmer
ZNS	Zentrales Nervensystem

1. Einleitung

Hippokrates (460-377 v. Chr.) prägte im Altertum den Begriff „Melancholia“. Übersetzt bedeutet er „schwarze Galle“. Es war der Versuch, affektive Störungen als eine Multisystemerkrankung zu beschreiben, die sowohl das Gehirn als auch den Körper der Betroffenen angreifen.

Affektive Störungen sind mit einer Lebenszeitprävalenz von ca. 20% weltweit eine der häufigsten Erkrankungen. Die beiden Hauptformen der affektiven Störungen sind die unipolare Depression (MDD) und die bipolare Störung (BPD).

Für die Ätiologie dieser Erkrankungen spielen wahrscheinlich genetische, biologische und psychosoziale Faktoren eine Rolle. Es wird vermutet, dass das Immunsystem in enger Interaktion mit dem Zentralennervensystem (ZNS) und dem Endokrinium in der Pathophysiologie von affektiven Störungen von Bedeutung ist (Padmos et al., 2004).

Depressive Syndrome im Rahmen affektiver Störungen können durch funktionelle Beeinträchtigungen, Unvermögen den Alltag zu bewältigen, Verlust der Arbeitsproduktivität, sozialen Rückzug und erhöhten Gebrauch von medizinischen Leistungen zu einer herabgesetzten Lebensqualität führen (Insel at al., 2003; Simon, 2003).

Zusätzlich treten insbesondere bei Patienten mit einer bipolaren Störung (BPD) oft psychiatrische Komorbiditäten (Angststörungen, Alkohol- oder Substanzabusus, Essstörungen) oder internistische Probleme, wie Übergewicht auf (Post, 2005). Verglichen mit gesunden Kontrollpersonen haben depressive Patienten ein 2,6-fach höheres Risiko einen Schlaganfall zu erleiden (Kanner, 2004). Andererseits wird bei 30-50% des Patientengutes nach einem Schlaganfall eine Depression diagnostiziert, eine sogenannte sekundäre Depression (Robinson, 2003), wobei Robinson et al. (1984) postulierte, dass ein Schlaganfall in den Basalganglien der linken Hemisphäre signifikant häufiger zu einer Post-Stroke-Depression führt, als einer in den rechten Basalganglien.

Affektive Störungen gehen oft einher mit Suizidgedanken und dem Nachdenken über den Tod. Das Risiko eines versuchten bzw. beendeten Suizides ist bei affektiven Störungen erhöht (Post R.M., 2005; Bernal et al., 2007). Murray et al. veröffentlichten 1997 die Prognose, dass die Prävalenz dieser Störungen in den kommenden Jahren weiter ansteigen wird.

1.1. Hirnstrukturelle Veränderungen bei Formen von affektiven Störungen

Die Entwicklung leistungsfähiger bildgebender Verfahren wie der Computertomographie (CT) und der Magnetresonanztomographie (MRI) führte dazu, dass an Patienten in-vivo Zusammenhänge zwischen neuroanatomischer Struktur und Psychopathologie untersucht werden konnten. Man ist lange Zeit davon ausgegangen, dass sich bei affektiven Störungen keine hirnstruktuellen neuromorphologischen Korrelate finden lassen. Mit Hilfe von Neuroimaging-Analysen und morphometrischen Studien an postmortalen Gehirnen konnte herausgearbeitet werden, dass bei affektiven Störungen im Vergleich zu gesunden Kontrollpersonen eine Reihe von regional betonten Veränderungen in Makrostruktur und Funktion vorhanden sind (Baumann & Bogerts, 2001; Kanner, 2004; Haldane & Frangou, 2004; Brambilla et al., 2005).

Es gibt keine klaren Hinweise auf eine globale Hirnatrophie bei Patienten mit affektiven Störungen. Hoges et al. (1999) führten eine Metaanalyse durch, wobei in keiner der eingeschlossenen Studien, die das intrakranielle Volumen oder das Gesamthirnvolumen mittels CT oder MRI untersuchten, eine signifikante Veränderung des Hirnvolumens bei bipolaren Patienten im Vergleich zu gesunden Kontrollpersonen festgestellt werden konnte. Mittlerweile gibt es zahlreiche Hinweise darauf, dass in Hirnarealen, die für die Pathophysiologie affektiver Störungen von Bedeutung sind, makro- und mikrostrukturelle Alterationen vorliegen. Diese Regionen sind über zwei neuroanatomische Schaltkreise verbunden. Es handelt sich dabei zum einen um eine limbico-thalamo-kortikale Schleife, bestehend aus Amygdala, Nucleus mediodorsalis thalamis und medialem sowie ventrolateralem präfrontalen Kortex, und zum anderen um einen limibisch-striatal-pallidal-thalamischen Kreis (Scherk et al., 2004). Es wird vermutet, dass diese Verbindungen bei affektiven Störungen dysreguliert sind (Baumann et al., 2004).

Bei unipolaren Depressionen gibt es Anhaltspunkte für eine Verkleinerung der Basalganglien (Krishnan et al., 1992; Husain et al., 1991a; Dupont et al., 1995), des Cerebellum (Yates et al., 1987; Shah et al., 1992), bestimmter hypothalamischer Kerne (Bielau et al., 2005; Manaye et al., 2005) sowie eine Tendenz zu einem verkleinerten Frontallappen (Coffman et al., 1990). Zu bipolaren Störungen

existieren zum Teil recht uneinheitliche Befunde, wobei hier sicherlich die häufig bestehende Heterogenität der untersuchten Patientengruppen zu berücksichtigen ist.

So scheint eine Assoziation mit einem vergrößerten dritten Ventrikel (Dewan et al., 1988a), volumenvergrößerten Basalganglien (Getz et al., 2002), einer abnormen Vergrößerung des Cavum septi pellucidum (Kim et al., 2007), strukturellen Defiziten im Hypothalamus und der Amygdala (Bielau et al., 2005), einem verkleinerten Cerebellum (Nasrallah et al., 1982b), Tendenzen zu einem verkleinerten Temporallappen (Harvey et al., 1994), einem veränderten Hippokampusvolumen (Sawyze et al., 1992; Kemmerer et al., 1994), sowie einer Volumenreduktion besonders des linken anterioren Gyrus cinguli (Fountoulakis et al, 2008) und des orbitofrontalen Kortex (Cotter et al., 2005) vorzuliegen.

In einer Arbeit von Chana und Mitarbeitern von 2008 wurden sowohl für Patienten einer bipolaren Störung als auch für Patienten mit einer Major Depression ein signifikant höheres Volumen des medidorsalen Nucleus thalami beschrieben. In dieser Studie wurde auch nach Veränderungen der Gliazellanzahl gesucht; diese konnten weder für die affektiven Störungen noch für schizophrene Patienten nachgewiesen werden. Einschränkend muss erwähnt werden, dass nicht zwischen einzelnen glialen Subpopulationen unterschieden worden ist, sondern die Gliazellen in ihrer Gesamtheit betrachtet worden sind.

Zusätzlich lassen sich sowohl in der weißen Substanz als auch periventrikulär Hyperintensitäten finden (Brown et al., 1992). Anderseits fanden Lim et al. (1999) und López-Larson et al. (2002) eine signifikante allgemeine Verminderung der grauen Substanz bei Patienten mit einer bipolaren Erkrankung, verglichen mit gesunden Probanden, während der Anteil der weißen Substanz keine Veränderung zeigte.

Bei beiden Hauptformen der affektiven Störungen wurden in verschiedenen Arbeiten signifikant vergrößerte Seitenventrikel gefunden (Kolbeinsson et al., 1986; Ames et al., 1990; Wurthmann et al., 1995).

Morphometrische Untersuchungen in Post-mortem-Studien zeigten einen Verlust von Neuronen an Größe und Anzahl (Cotter et al., 2002) begleitet von mikrostrukturellen Veränderungen an Dendriten und Synapsen, welche in ihrem Ausmaß mit der Anzahl der depressiven Episoden korrelierten. Zudem konnten eine Verringerung der Größe und Dichte der Gliazellen in verschiedenen Regionen z.B. des anterioren Gyrus cinguli (Cotter et al., 2001) und der Amygdala (Cotter et al., 2001; Bowley et al.,

2002) nachgewiesen werden. Dem anterioren Gyrus cinguli wird ein Einfluss auf die Stimmung, das Gefühl und der autonomen Regulation nachgesagt (Neafsey et al., 1993; Phan et al., 2002; Vogt et al., 2005).
Teile des ACC, besonders der subgenuale Part, sollen eine Vulnerabilität bei der Major Depression aufweisen (Palomero-Gallagher et al., 2008).

1.2. Rolle von GABA bei affektiven Störungen

Mit der Beobachtung, dass das Alkaloid Reserpin über die Leerung synaptischer Speicher der Monoamine (Monoaminmangelhypothese) eine depressionsfördernde Wirkung entfaltet, wurde vermutet, dass Patienten mit affektiven Störungen auch auf Transmitterebene Defizite aufweisen würden (Stoppel et al., 2006).
Es gibt viele Hinweise aus Studien, dass der Transmitter Gamma-Aminobuttersäure (GABA) in der Pathophysiologie der affektiven Störungen eine wichtige Rolle spielt (Benes et al., 2001). GABA hat im Zentralen Nervensystem zwei hauptsächliche Funktionen. Er ist zum einen der hauptsächlich inhibitorische Neurotransmitter, der im Gehirn wirksam wird (Petroff., 2002). In Regionen wie Kortex, Thalamus, Hippocampus, Basalganglien, Hypothalamus, Hirnstamm und Kleinhirn kommt GABA in einem Drittel aller Synapsen vor (Otsuka et al., 1966; Meldrum, 1982; Guidotti et al, 1983) und moduliert damit die Neurotransmission von noradrenergen, dopaminergen und serotonergen Neuronen (Pradhan & Bose, 1978).
Für die Pathophysiologie von Schizophrenie und affektiven Erkrankungen spielen Störungen der GABA-Interneuronen eine gewichtige Rolle, so die heutige Lehrmeinung. Diese Neurone erhalten ihre glutamatergen Inputs durch Pyramidenzellen. Es stellt sich die Frage, ob diese Inputs via N-Methyl-D-Aspartat (NMDA)-Rezeptoren im ACC dieser Patienten verändert sind.
Die Subeinheiten des Rezeptors zeigen in der Immunhistochemie ein verändertes Muster bei bipolaren Störungen, welches sich sowohl von dem bei Kontrollen gefundenen als auch von dem bei Schizophrenen unterscheidet. Die β 2/3-Untereinheiten sind bei Patienten mit einer bipolaren Störung (BPD) und schizophrenen Patienten gleich stark angefärbt, jedoch weitaus stärker als bei den angepassten Vergleichsfällen. Die α1-Untereinheit ist bei BPD weniger stark markiert als bei Schizophrenen, aber gleich stark wie die Kontrollen (Ishikawa et al.,

2004). Benes et al., 1992 fanden für diesen Rezeptor eine Erhöhung der Bindungs-Aktivität bei Patienten mit affektiven Störungen.

GABA wirkt über die Bindung an den $GABA_A$ – und den $GABA_B$ – Rezeptoren. Beide Rezeptoren unterscheiden sich sowohl in ihren pharmakologischen als auch in ihren elektrophysiologischen Eigenschaften (Bowery, 2001).

Die $GABA_A$ – Rezeptoren sind ionotrope Rezeptoren, welche hauptsächlich postsynaptisch an den apikalen Dendriten von Neuronen lokalisiert sind und verursachen dort das schnelle inhibitorische postsynaptische Potential (IPSP; Brambilla et al., 2003). Die Rezeptoren setzen sich aus fünf Subeinheiten zusammen, die mehreren Klassen mit verschiedenen Varianten zugeordnet werden können. Im Gehirn von Säugetieren ist $\alpha_1\beta_2\gamma_2$ die am häufigsten vertretende Hauptuntereinheit des $GABA_A$ – Rezeptors.

Der $GABA_A$ – Rezeptor hat mehrere Bindungsstellen für verschiedene Liganden, wie z.B. Benzodiazepine, Barbiturate, Ethanol, Neurosteroide und Antikonvulsiva, die alle zu einer stärkeren Affinität von GABA an den Rezeptor führen und damit die Wahrscheinlichkeit einer Chloridkannalöffnung erhöhen (Brambilla et al., 2003).

Die $GABA_B$–Rezeptoren sind metabotrope Rezeptoren, deren Signaltransduktionskaskade über Kalium-oder Calcium-Ionen-Kanäle laufen oder über die Adenylatzyklase vermittelt werden. Sie sind hauptsächlich präsynaptisch lokalisiert und lösen das langsame IPSP aus (Eder et al., 2001). Der Agonist Baclofen ist hochselektiv für den $GABA_B$ –Rezeptor.

Auch bei diesem Rezeptor konnten Veränderungen in der topochemischen Verteilung aufgezeigt werden. Die Untereinheiten von $GABA_B$ sind signifikant erniedrigt bei bipolarer Störung (Ishikawa et al., 2005).

Es lässt sich vermuten, dass sich auf der Ebene der GABA-Rezeptoren Veränderungen ergeben, die spezifisch für affektive Störungen sind im Vergleich zu Kontrollen und Patienten mit Schizophrenie.

Darüber hinaus spielt GABA eine wichtige Rolle im Energiemetabolismus von GABAergen Neuronen. Daher wird die GABA-Synthese in zwei Kompartimenten durchgeführt, im Transmitter- und im metabolischen Kompartiment.

Die Synthese scheint unter normalen Umständen auf einem sehr konstanten und charakteristischen Niveau abzulaufen (Martin et al., 1993). Normalerweise wird GABA aus Glutamat in einem einzelnen Schritt mit dem Enzym Glutamat-Decarboxylase (GAD) gebildet. Das Schlüsselenzym GAD benötigt dazu den Co-

Faktor Pyridoxal5´-Phosphat (Pyridoxal-P). Es existieren weitere Synthesewege, welche im Gehirn von Erwachsenden aber nur eine untergeordnete Rolle zu spielen scheinen (Caron et al., 1987; Daune und Seiler, 1988).

Die Synthese von GABA läuft an der minimalen Auslastungsgrenze der GAD-Aktivität (Martin & Rimvall, 1993) und kann bei erhöhter Nachfrage extrem gesteigert werden, ohne dass eine GAD-Neusynthese erforderlich ist. Die Synthese von GABA kann stimuliert oder gehemmt werden durch physiologische oder pharmakologische Manipulationen (Moroni et al., 1978; Battaglioli and Martin, 1990; Löscher et al., 1991).

Nach der Ausschüttung in den synaptischen Spalt wird GABA durch die Wiederaufnahme in die präsynaptischen Terminalen oder Gliazellen inaktiviert. Die Aufnahme erfolgt durch GABA-Transporter (GATs). Hauptsächlich kommt im ZNS GAT-1 vor, der als ein neuronaler Transporter an präsynaptischen Axonterminalen exprimiert wird. GAT-2 und -3 sind wahrscheinlich gliale Transporter. Die GATs werden sowohl durch verschiedene Faktoren reguliert, zum einen durch GABA selbst, zum anderen durch brain-derived neurotropic factor (BDNF) und bestimmte Hormone.

Wird der Transmitter von Astrocyten aufgenommen, steht er der synaptischen Transmission nicht mehr zur Verfügung. GABA wird in zwei enzymatischen Schritten unter Verbrauch von Pyridoxal-Phosphat zu Succinylsäure abgebaut, welche in den Krebschen Zyklus eingeschleust wird und zu Glutamat umgebaut wird. Glutamat kann von Astrocyten nicht wieder in GABA umgewandelt werden, da ihnen das Enzym GAD fehlt. Daher wird Succinylsäure durch das Enzym Glutaminase in Glutamin umgebaut, welches über spezifische Transporter wieder in GABAergen Neurone befördert wird und dort über Glutamat in GABA umgewandelt werden kann (Brambilla et al., 2003).

Unter Verwendung von Microarray-Analsyen wurde bei Patienten mit einer unipolaren Depression eine signifikante Herunterregulation von SLC1A2 und SLC1A3 gezeigt, welche die wichtigsten Vertreter der Glutamintransportprotein-Familie darstellen (Brambilla et al., 2003).

Ebenso konnte eine signifikante Verringerung der Glutaminase nachgewiesen werden (Choudary et al., 2005). Zusammengenommen führen diese Veränderungen zu einem vermehrten Vorliegen von extrazellulärem Glutamat, welches potenziell

neurotoxisch sein und die Effektivität des Zusammenspiels zwischen Glutamat und GABA stören kann.

Choudary et al. (2005) fand in derselben Studie eine begleitende Hochregulation von mehreren Glutamat- und $GABA_A$- Rezeptoruntereinheiten, wobei sich für $GABA_{A\alpha1}$ und $GABA_{A\beta3}$ eine Selektivität für Suizidopfer zeigte. Dies konnte sowohl für Patienten mit einer Major Depression als auch einer bipolaren Depression nachgewiesen werden. Hier kann ein potenzieller Nutzen gesehen werden, um möglicherweise als Biomarker suizidales Verhalten einschätzen zu können.

Garlow et al. konnten 1995 eine reduzierte GABA-Konzentration im Liquor und Plasma von depressiven Patienten nachweisen. Neuroimaging-Studien zeigten mit Hilfe von Magnet-Resonanz-Spectroskopie ebenfalls eine Verminderung des Neurotransmitters bei depressiven Patienten im Vergleich zu gesunden Vergleichsfällen (Sanacora et al., 1999 + 2004). Wiederholte Behandlung depressiver Patienten mit Elektrokrampftherapie (ECT) (Sanacora et al., 2003) oder mit selektiven Serotonin-Reuptake-Hemmern (SSRI) (Sanacora et al., 2002) erhöhten im Gegensatz dazu die okzipitale GABA-Konzentration.

Das würde bedeuten, dass sich das GABA-Niveau unter Medikamenteneinnahme normalisiert (Bhagwagar et al., 2004) oder vielleicht sogar erhöhen kann.

Tiermodelle zeigten eine verminderte GABA-Konzentration und -Rezeptorfunktion sowohl nach akutem als auch nach chronischem Stress (Acosta et al., 1993; Acosta & Rubio, 1994).

Die molekularen Mechanismen, die diese Dysregulationen im GABAergen System bedingen, sind noch weitestgehend unverstanden.

1.3. Veränderungen der Glutamat-Decarboxylase bei affektiven Störungen

Es konnten bisher zwei Isoformen des Enzyms Glutamat-Decarboxylase (GAD) im menschlichen Gehirn identifiziert werden. Der eine Klon besteht aus 593 Aminosäuren und besitzt eine Molmasse von 66,6 kDa und wird danach GAD_{67} genannt (Kaufmann et al., 1986), der andere, $GAD_{65,}$ hat eine Molmasse von 65,4 kDa und besteht aus einer Proteinstruktur mit 585 Aminosäuren (Karlsen et al., 1991).

Die GAD-Isoformen sind Produkte zweier unabhängig voneinander regulierter Gene, welche auf Chromosom 2 und 10 lokalisiert sind (Laprade & Soghomonian, 1999). GAD_{65} und GAD_{67} unterscheiden sich nicht nur in ihrer Sequenz und der Molmasse, sondern auch in Interaktion mit dem Co-Faktor Pyridoxal 5´-Phosphat und ihren Expressionsniveaus im Hirn (Martin & Rimvall, 1993).

Beide Enzyme können in den meisten GABAergen Neuronen des ZNS nachgewiesen werden, wobei GAD_{65} vorwiegend auf Membranen und Nervenendigungen beschränkt vorkommt und GABA für die Transmitterausschüttung aus Vesikeln synthetisiert. Im Gegensatz dazu hat GAD_{67} in den Zellen eine breitere Verteilung im Zellkörper, den Axonen, Dendriten und Synapsen und synthetisiert cytoplasmatisches GABA (Soghomonian & Martin, 1998).

Mindestens 50% der Glutamat-Decarboxylase liegen im Hirn als Apoenzym vor (GAD ohne gebundenen Co-Faktor), welches ein Reservoir für inaktives GAD darstellt und schnell aktiviert werden kann, wenn zusätzlich GABA benötigt wird. Die Masse dieses Apoenzyms hat GAD_{65} als Grundlage (Martin & Tobin, 2000), welches unter normalen Umständen nur mit einem Bruchteil seiner maximalen Kapazität arbeitet und bei Mangel an GABA hochreguliert werden kann. ATP fördert und stabilisiert die Bildung des Apoenzyms. Ohne ATP beträgt die Halbwertszeit von Apo-GAD bei 37°C nur ein paar Minuten. Aspartat inbibiert die Enzymaktivierung, ebenso wie GABA selbst, welches zusätzlich aber noch in der Lage ist, GAD in seine inaktive Form (Apo-GAD) zu konvertieren (Martin & Rimvall, 1993). Ein Mangel an GABA kann die Enzymaktivität von GAD und damit die Synthese von GABA innerhalb von 24h um rund 70% anheben (Rimvall & Martin, 1994; Sheikh & Martin, 1998). Eine Feedback-Hemmung der GAD durch GABA ist jedoch nicht wahrscheinlich, da dafür sehr hohe Konzentrationen von GABA von Nöten wären (Ki ~ 17mM). Die intrazelluläre Konzentration von GABA beträgt aber nur 1-2 mM (Petroff, 2002).

Die Aktivierung von Apo-GAD durch Pyridoxal-Phosphat kann in kürzester Zeit erfolgen (Petroff, 2002). Diese Umstände und das große Reservoir an GAD_{65} legen die Vermutung nahe, dass GAD_{65} spezialisiert ist auf die kurzfristige Antwort auf erhöhte GABA-Anforderungen in inhibitorischen Neuronen (Rimvall & Martin, 1994). Die Balance zwischen Apo-GAD und aktivierten GAD (Holo-GAD) kann durch mehrere Faktoren reguliert und durch einen Regelkreis kontrolliert werden (Petroff, 2002). Aktiviert wird GAD durch Änderungen im Energiestatus, wie z.B.

Depolarisation, Azidose, erhöhtes CO_2, verringertes Bicarbonate, niedriges Kreatin-Phosphat, erhöhtes Magnesium, erhöhtes ADP und niedriges ATP.

Im Tierversuch ist das Holo-GAD-Level bei Mäusen, die ein Defizit an GAD_{65} aufweisen, unverändert. Jedoch ist die inaktive Apoenzymform stark reduziert (Asada et al., 1996 +1997; Kash et al., 1997).

Das Verhältnis von GAD_{65} und GAD_{67} variiert von Zelltyp zu Zelltyp. In tonisch feuernden Neuronen findet man ein höheres Niveau von GAD_{67}, wogegen in phasisch feuernden Neuronen GAD $_{65}$ überwiegt. Die mRNA von GAD_{67} ist in den meisten Hirnregionen im höheren Maße vorhanden als die der anderen Isoform (Hendrickson et al., 1994). GAD_{67} liegt überwiegend als Holo-GAD vor, welches aktiv GABA synthetisiert. Diese Beobachtungen lassen den Schluss zu, dass Veränderungen der GAD_{67}–Aktivität einen größeren Einfluss haben auf die Konstanthaltung von GABA als Veränderungen der GAD $_{65}$-Level (Petroff, 2002). Andererseits scheinen auch Veränderungen der GAD_{67} –Aktivität und des GAD_{67} – Proteinlevels nicht endgültig mit einer Änderung des mRNA-Levels assoziiert zu sein. Das lässt auf Ebene der Translation und der Proteinstabilität Regulationsmechanismen vermuten (Martin & Rimvall, 1993).

Die Synthese dieser beiden Isoformen wird separat reguliert und ist sehr komplex. Es kommen mehrere Mechanismen zum Tragen: Die Kontrolle der mRNA-Level, Regulation der Translation und Proteinstabilität. Trotz allem ist der Transmitter GABA unter physiologischen Umständen auf einem sehr konstanten und charakteristischen Niveau nachweisbar (Martin & Rimvall, 1993).

Die Glutamat-Decarboxylase-Aktivität im Plasma wurde bei Individuen mit verschiedenen neurologischen Erkrankungen und psychiatrischen Krankheitsbildern gemessen. Kaiya et al. (1982) fanden bei neurotischen Patienten ebenso wie bei Chorea Huntington-Patienten verringerte GAD-Aktivität im Vergleich zu Kontrollprobanden. Auch vergleichsweise niedrige Enzymaktivitäten wurden bei Depressiven, sowohl MDD als auch BPD gemessen. Interessanterweise ergaben sich für unmedizierte Schizophrene keine veränderten GAD-Level verglichen mit gesunden Personen. Unter Verabreichung von Neuroleptika kombiniert mit anticholinergen Substanzen konnte ein Ansteigen der Plasma-GAD-Aktivität beobachtet werden.

Die Dichte von Neuronen, die GAD_{67} enthalten, ist sowohl bei Schizophrenen in Schicht II und V des Kortex als auch bei Patienten mit bipolaren Störungen in

Schicht II (um 35%) reduziert (Woo et al., 2004). Bei depressiven bipolaren Patienten konnte eine signifikante Reduktion GAD_{65}-immunreaktiven Terminalen im ACC in den Schichten II, III, V und VI nachgewiesen werden (Benes et al., 2000), jedoch nicht bei schizophrenen Patienten (Totdenkopf & Benes, 1998). Die Verringerung der Dichte ist am ausgeprägtesten in den Schichten II (27,8%) und III (37,2%) nachweisbar, unabhängig davon ob die Patienten mit Neuroleptika behandelt wurden oder nicht (Benes et al., 2000). Im präfrontalen Kortex (PFC) konnten ähnliche Ergebnisse für die Dichte der Terminalen von pyramidalen und nicht-pyramidalen Neuronen gemessen werden. Bezüglich der Größe der Zellkörper konnten keine Unterschiede nachgewiesen werden.

Im limbischen System zeigte sich eine verringerte Dichte von $GAD_{65/67}$-mRNA positiven Neuronen bei bipolaren Patienten, weniger ausgeprägt und daher nicht signifikant auch bei schizophrenen Patienten (Hecker et al., 2002). Für GAD_{65} zeigten sich signifikante Unterschiede in den CA2/3-Regionen und dem Gyrus dentatus, wohingegen sich für GAD_{67} eine Signifikanz in CA4 ergab (Hecker et al., 2002). Ebenfalls untersucht wurde in dieser Arbeit die zelluläre GAD, welches für die 65kDa-Form bei BPD besonders in der CA4-Region erniedrigt war. Für die zelluläre GAD_{67} wurden unveränderte Werte verglichen mit Kontrollen gemessen. Interessanterweise konnten Bielau et al. (2007) in einer Arbeit eine höhere Dichte an GAD-immunreaktiven Neuronen bei unipolaren Patienten verglichen mit den Kontrollfällen demonstrieren. Dies wurde in den Arealen des präfrontalen Kortex, im Gyrus temporalis superior und im Hippocampus untersucht. Im Gegensatz dazu konnte dieselbe Gruppe keinen Unterschied zwischen Kontrollen und bipolaren Patienten finden. Diese Ergebnisse führten auf Grundlage der Annahme eines Transmitter-Defizits zu der Idee, die GAD-immunreaktiven Fasern in den Mittelpunkt dieser Arbeit zu rücken. Es wird eine Transportstörung vermutet. In wieweit Medikamente die Dichte der GAD-immunreaktiven Fasern beeinflussen, muss noch eingehender untersucht werden.

Im Gegensatz dazu steht eine Arbeit von Cotter et al. (2002). Sie geht von einem Defizit an GABAergen Neuronen in der Pathophysiologie der Schizophrenie aus. Es wird aber auch angenommen, dass dieses Defizit nicht spezifisch für Erkrankungen des schizophrenen Formenkreises ist und durchaus auch eine Rolle bei den affektiven Störungen spielen könnte.

Fatemi et al. wiesen 2005 eine signifikante Verringerung der $GAD_{65/67}$kDa-Level im Cerebellum sowohl bei MDD und BPD als auch bei schizophrenen Patienten nach.
Die bisher vorliegenden Studien lassen also komplexe Veränderungen im GABAergen System sowohl bei Schizophrenie, als auch bei affektiven Störungen vermuten. Diese Veränderungen sind scheinbar unter anderem abhängig von der Diagnose und der Einnahme psychotroper Medikation, wie z.B. Neuroleptika (Benes et al., 2000) oder Antidepressiva (Bielau et al., 2007).

1.4. Pathophysiologische Veränderungen bei Suizidopfern

Suizidales Verhalten ist ein Akt der Aggression direkt gegen die eigene Person gerichtet und assoziiert mit aggressiven und impulsiven Zügen (Zalsman et al., 2006). Es beschreibt ein heterogenes Konzept aus Suizidgedanken, Suizidversuchen und vollendetem Suizid (Rihmer et al., 2008).
Tod durch Suizid macht 1-2% der Todesfälle weltweit aus (World Health Report 2001). Zum Todeszeitpunkt erfüllen mindestens 50% der Individuen die klinischen Kriterien einer depressiven Erkrankung (Modestin & Kopp, 1988). Einige Arbeiten sprechen sogar von Zahlen zwischen 80% und 90% (Angst, 2008). Angst J. schreibt in ihrer Arbeit von 2008, dass Suizidversuche häufiger unter Jugendlichen und jungen Erwachsenen auftreten, vollendete Suizide jedoch mit dem Alter an Häufigkeit zunehmen. In den meisten Kulturen wird die Mehrheit der Suizidversuche von Frauen ausgeführt, unter den vollendeten Selbsttötungen überwiegt allerdings das männliche Geschlecht.
Sowohl bei unipolar Depressiven als auch bei bipolaren Patienten wird ein Suizid zu 78-89 % in einer reinen depressiven Episode durchgeführt, mit 9-20 % weniger häufig in einer gemischten (dysphorischen) Manie und fast nie in einem euthymen Status (Rihmer et al., 2008).
Ob bei depressiven Patienten mit Suizidgedanken oder depressiven Suizidenten im Vergleich zu nicht suizidgefährdeten Patienten mit affektiven Störungen andere Pathomechanismen eine Rolle spielen, ist im Einzelnen heute noch ungeklärt.
Möglich ist auch, dass der Suizid an sich charakterisiert ist durch deutliche neurobiologische Abnormalitäten (Foutoulakis et al., 2008).

Balestrieri et al. (2006) untersuchten in einer Studie Schizophrene, Patienten mit affektiven Störungen, Borderline-Patienten und Personen mit einer Angsterkrankung. Man konnte feststellen, dass besonders die Mischung aus depressiven Phasen und manischen / hypomanischen Episoden gekoppelt mit vegetativen Symptomen mit einem erhöhten Risiko für einen Suizidversuch beziehungsweise vollendeten Suizid einhergeht. Anderseits zeigt diese Studie auch, dass zwar Suizidgedanken und –pläne bei 50% der unipolar Depressiven und 42,4% der depressiven bipolaren Patienten eine Rolle spielen und diese Prozentzahlen höher liegen als bei Patienten mit einer Borderline-Störung (30%). Schaut man sich jedoch die Zahl der Suizidversuche an, ergibt sich hier, dass diese von Patienten mit Borderline-Störungen weit aus häufiger durchgeführt werden.

Dilsaver et al. fanden 2006 heraus, dass Patienten mit affektiven Störungen zudem häufiger weitere psychiatrische Erkrankungen aufweisen. Hier spielen Angsterkrankungen, besonders Panikstörungen und soziale Phobien, eine ausgeprägte Rolle. Jedoch konnte in dieser Studie nur für BPD ein erhöhtes Risiko für Suizidversuche in Verbindung mit einer zusätzlichen Angsterkrankung gesehen werden. Bei unipolaren Depressiven zeigte sich lediglich ein erhöhtes Auftreten von Gedanken über den Tod.

Das Risiko für einen Substanzabusus, hier besonders Alkohol, sei für Patienten mit affektiven Störungen erwähnt. Das Ausmaß des Alkoholabusus (nicht nur bei schwerem Missbrauch) zeigt eine Assoziation mit der Schwere der Krankheit, aber auch einem erhöhtem Maß an Suizidalität (Goldstein & Levitt, 2006).

Cheng AT führte 1995 eine Fall-Kontroll-Studie durch, bei der sich zeigte, dass 51% der Patienten, die einen Suizidversuch unternahmen, sich in der Zeit vor dem Versuch in medizinischer Betreuung befanden. Faktoren, die als Risikofaktoren zu sehen sind, wurden 1988 durch Modestin & Kopp beschrieben. Das männliche Geschlecht, die Anzahl früherer stationärer Aufenthalte, das suizidale Verhalten gehen mit einer erhöhten Rate an Suizidversuche einher, ebenso wie eine „Broken-Home“-Situation und ein schwaches soziales Umfeld.

Im vergangenen Jahrzehnt sind erste Untersuchungen zur möglichen Neurochemie des Suizids veröffentlicht worden. Die Veränderung des Brain-derived neurotrophic factor (BDNF) in der Pathophysiologie der Angsterkrankung und Depression veranlasste Kim et al. (2007) diesen Faktor bei Patienten mit einer diagnostizierten MDD zu untersuchen, die einen Suizidversuch überlebten. Das BDNF im Blutplasma

erwies sich bei diesen Patienten als signifikant niedriger als bei unipolar depressiven Patienten ohne einen Suizidversuch in der Anamnese und auch niedriger als bei gesunden Vergleichsfällen. Es ergaben sich keine signifikanten Unterschiede zwischen Kontrollen und den nicht-suizid gefährdeten Patienten mit einer unipolaren Depression. Auch konnte kein Unterschied in den Plasmakonzentrationen von BDNF bei hartem oder weichem Suizidversuch festgestellt werden. Kim et al. arbeiteten aus diesen Resultaten von 2007 heraus, dass ein erniedrigter Plasma-BDNF verbunden ist mit suizidalem Verhalten bei Major Depression und dass dieser Faktor als möglicher Marker für die Suizidalität eines Patienten in Frage kommt.

Interessant sind die Schlussfolgerungen einer Forschungsgruppe um Willour VL, die 2006 behaupteten, einen Genort gefunden zu haben, der signifikant assoziiert vorkommt bei Patienten mit einer bipolaren Depression und positiver Familienanamnese. Der Genort liegt auf dem langen Arm des Chromosom 2 (2p12) und scheint suizidales Verhalten und –Versuche mit zu beeinflussen.

Besonders bei Patienten mit affektiven Störungen scheint das suizidale Verhalten mit einem Defizit der serotonergen (5-HT) Neurotransmission des Gehirns einher zu gehen. Mehrere Studien an postmortem Gewebe oder durch bildgebende Verfahren konnten prä- und postsynaptische Veränderungen des Serotoninrezeptors sowohl im präfrontalen Kortex als auch im Hirnstamm (Arango et al., 1995; Arango et al., 2001; Audenaert et al., 2001) aufzeigen.

Bielau et al., 2005 konnten bei depressiven Patienten ohne suizidales Verhalten ein Transmitterdefizit im noradrenergen und serotonergen System feststellen. Interessanterweise ergaben sich für Suizidenten aber keine Defizite in den Transmitterkonzentrationen im Vergleich zu untersuchten Kontrollpersonen. Wenn überhaupt, zeigt sich allenfalls eine Tendenz zur Überfunktion.

Antidepressiva, die in den Monoaminstoffwechsel eingreifen um die Transmitterkonzentration zu erhöhen, tun dies über eine Erhöhung der Synthese oder über die Wiederaufnahmehemmung aus dem synaptischen Spalt. Daher stellt sich die Frage, ob Antidepressiva möglicherweise das Suizidrisiko bei Patienten mit affektiven Störungen erhöhen.

Cheetham et al. untersuchten 1988 in einer postmortem Studie die Benzodiazepine-Bindungstselle des $GABA_A$- Rezeptor im frontalen und temporalen Kortex von depressiven Suizidentenopfern. In den Resultaten ergab sich eine signifikant erhöhte Zahl an Benzodiazepine-Bindungstellen für den frontalen Kortex

in der Gruppe der depressiven Suizidopfer im Vergleich zu den angepassten Vergleichsfällen. Die Ergebnisse unterschieden sich für die zwei Gruppen jedoch nicht im Temporalkortex. Die Arbeitsgruppe trennte die Patientengruppe nach medikamentenfreier Therapie und Medikamenteneinnahme. Es ergaben sich ähnliche Resultate verglichen mit Kontrollpersonen. Auch konnten in dieser Studie keine Veränderungen in der GAD-Aktivität in den einzelnen Gruppen gezeigt werden. Keine Unterschiede in der Affinität und Anzahl dieses Rezeptors fand Stocks et al. 1990.

In einer Studie an postmortem Gewebe von Pandey et al. (1997) wurde vermutet, dass der Benzodiazepin-Rezeptor im Kortex von Suizidopfern hochreguliert ist - insbesondere derer, die durch einen harten Suizid gestorben sind. Kontrovers dazu veröffentlichte Merali et al. (2004) eine Arbeit in der die Ergebnisse eine Reduktion der mRNA der Subeinheiten α_1, α_3, α_4 und δ im Frontalkortex von Suizidopfern.

Parallel dazu wurden die $GABA_B$-Bindungsstellen in einer postmortem Arbeit von Arranz et al. (1992) untersucht. Hier konnten keine signifikanten Differenzen festgestellt werden, weder zwischen Suizidenten und Kontrollen, noch nach Unterteilung der Patientengruppe in weichen oder harten Suizid und depressive und nicht depressive Suizidenten.

Korpi et al. haben 1988 die Konzentrationen von mehreren Neurotransmittern und Neuromudulatoren in verschieden Arealen im Hirn (Nucl. caudatus, Nucl. accumbens, frontalen Kortex, Amygdala und Hypothalamus) gemessen. Die einzige signifikante Veränderung ergab sich in einer erniedrigten Konzentration an Glutamin im Hypothalamus bei Suizidopfern. Ähnliche Ergebnisse für GABA wurden in einer Arbeit erzielt, in der Neuromodulatoren unter anderem GABA in Relation zum Suizid-Verhalten untersucht wurden um einen Zusammenhang zu finden (Roy A., 1993).

Es wird wie oben erwähnt eine GAD-Dysregulation im Gehirn von schizophrenen und bipolaren Patienten angenommen. Liu et al. untersuchten 2006 den ACC durch immunhistochemische Färbung mit Antikörpern gegen $GAD_{65/67}$ um herauszufinden, ob sich ähnliche Resultate erzielen lassen, wenn man Suizidenten mit gesunden Vergleichsfällen vergleicht. Die Mehrheit der GAD-immunreaktiven Neuronen stellte sich als klein heraus, verglichen mit anderen Neuronen und besitzt die typische bipolare oder multipolare Interneuronmorphologie. Es ergaben sich für den ACC weder signifikante Unterschiede in der Dichte der GAD-immunreaktiven

Neurone im Verhältnis zur neuronalen Dichte (Kontrollen: 43%, Suizidenten: 39%) noch im Quotienten der glialen Zelldichte zur neuralen Dichte. Auch in der mikroskopischen Untersuchung der Terminalendichte der GAD positiven Neurone konnten keine Veränderungen nachgewiesen werden. Die Forschungsgruppe gibt jedoch zu bedenken, dass die Abwesenheit von strukturellen Veränderungen auf der Neuronenebene nicht darüber hinweg täuschen lassen sollte, dass es bei Suizidenten im Vergleich zu Kontrollpersonen zu Veränderungen der gesamten Neuronenzahl kommen könnte.

1.5. Gegenstand dieser Arbeit

Trotz jahrelanger Forschungsarbeit auf dem Gebiet der affektiven Störungen sind viele Fragen weiterhin offen oder nur zum Teil geklärt und häufig strittig.
Insgesamt ist über die pathophysiologischen Zusammenhänge, welche beim Suizid oder bei suizidalen Gedanken im Zusammenhang mit einer diagnostizierten affektiven Störung eine Rolle spielen, noch weniger bekannt. Es besteht also auch auf diesem Gebiet weiterer Forschungsbedarf.
In der vorliegenden Arbeit wurde das GABAerge System in den Mittelpunkt gestellt und folgende Teilfragen aufgeworfen:
1. Kann das GAD- und GABA-Defizit, welches in anderen Arbeiten in Nervenzellen von Patienten mit affektiven Störungen gefunden worden ist, auch im GAD-ir Neuropil nachgewiesen werden?
2. Gibt es bei den Unterformen der affektiven Störungen ein ähnliches Dichtemuster GAD-positiver Strukturen? Unterscheidet es sich qualitativ oder quantitativ von dem der Kontrollen?
3. Gibt es Unterschiede in der Dichte von GAD-ir Neuropils zwischen Suizidenten, Nichtsuizidenten und Kontrollen? Wie sehen diese Unterschiede im Einzelnen aus? Wodurch sind mögliche Unterschiede bedingt?
4. Welche Pathomechanismen können eine Rolle spielen? Haben bipolare und unipolare Störungen den gleichen Pathomechanismus?
Sind bipolare Störungen und das Erkrankungsbild der Schizophrenie doch näher verwandt als bisher angenommen?
5. Welchen Einfluss hat eine Medikamenteneinnahme?

Diese Fragen sollen im Laufe dieser Arbeit eingehender beleuchtet werden.
Daher wurde mittels einer immunhistochemischen Färbung mit einem monoklonalen Anti-GAD-Antikörper GAD-positives Neuropil, welches um die Neurone, ihre Axone und Terminalen gelagert ist, detektiert und einem experimentellen Ansatz zur statistischen Auswertung zugeführt.

2. Material & Methoden

2.1. Material

Die experimentellen Untersuchungen dieser Postmortem-Studie wurden an insgesamt 39 menschlichen Gehirnen der Magdeburger Hirnsammlung der Klinik für Psychiatrie, Psychotherapie und Psychosomatische Medizin der Otto-von-Guericke-Universität Magdeburg durchgeführt. Die Entnahme der Hirne erfolgte gemäß der gesetzlichen Grundlagen und den Richtlinien der Ethikkommission der Universität Magdeburg.

Es standen Gehirne von insgesamt 10 Patienten mit unipolar Depression, 11 Patienten mit bipolarer Störung sowie 18 neuropsychiatrisch unauffälligen Kontrollpersonen zur Verfügung. Alle Patienten befanden sich zum Zeitpunkt des Todes in einer depressiven Episode. Bei keinem der Patienten oder auch der Kontrollfälle war ein Substanzabusus mit psychotropen Medikamenten bekannt. Zu jeder Autopsie gehörte ein toxikologisches Screening im Blut und im Urin, unter anderem erfolgte eine Testung auf Alkohol, zahlreiche antidepressiv und antipsychotisch wirksame Medikamente und ihrer Metabolite.

Die Gehirne wurden nach Entnahme durch einen Neuropathologen auf qualitative neuropathologische Veränderungen, ausgelöst durch neurologische Erkrankungen, untersucht. Für alle Gehirne liegt eine detaillierte demographische und klinische Dokumentation vor (s. auch Tabellen 2.1 und 2.2).

Innerhalb der Patientengruppe befanden sich 14 Suizidopfer und 7 Patienten, die an einer natürlichen Todesursache verstorben sind. Die Methoden des Suizids waren zum Teil weicher Natur wie eine Medikamentenüberdosierung (3 Fälle, 2 durch Benzodiazepine, 1 durch Chlorpromazine), zum anderen so genannte harte Suizide z. B. Tod durch Erhängen (7 Fälle), Inzision der Arteria radialis (1 Fall), Stichverletzungen (1 Fall), Sprung aus einer Höhe (1 Fall) und Tod durch elektrischen Schock (1 Fall). Die postmortale Autolysezeit betrug bei Depressiven 5-96 h, bei den angepassten Vergleichsfällen 19-72 h. Die demographischen Daten sind zur Übersicht in der Tabelle 2.1 für Kontrollen vs. unipolar Depressive vs. bipolar Depressive und in der Tabelle 2.2 Kontrollen vs. Nicht-Suizidenten vs. Suizidenten aufgeführt.

Tabelle 2.1: Deskriptive Statistik der demografischen Daten für MDD vs. BPD vs. C

Demogr. Parameter	Kontrolle	Unipolar	Bipolar
Anzahl	18	10	11
Alter[J.]	50,50 ± 10,98	46,10 ± 13,15	49,18 ± 14,86
Geschlecht (m / w)	9 / 9	3 / 7	5 / 6
Autolyse[h]	35,11 ± 18,77	38,60 ± 25,90	46,64 ± 27,50
Fixation[Tage]	220,67 ± 187,67	356,44 ± 198,21	434,56 ± 615,98
Gehirngewicht[g]	1285,39 ± 162,68	1325,33 ± 127,01	1406,20 ± 152,87
Krankheitsdauer [J.]		4,17 ± 3,97	17,25 ± 6,76
Beginn der Krankheit[J.]		41,33 ± 12,31	36,38 ± 8,65

Tabelle 2.2 : Deskriptive Statistik der demographischen Daten für S vs. NSz vs. C

Demogr. Parameter	Kontrolle	Kein Suizid	Suizid
Anzahl	18	7	14
Alter[J.]	50,50 ± 10,98	56,26 ± 11,43	43,43 ± 13,19
Geschlecht (m/w)	9/9	3/4	5/9
Autolyse[h]	35,11 ± 18,77	52,14 ± 27,01	38,14 ± 25,79
Fixation [Tage]	220,67 ± 187,67	660,40 ±827,55	293,62 ± 112,58
Gehirngewicht [g]	1285,39 ± 162,68	1374,00 ± 172,82	1364,33 ±131,68
Krankheitsdauer[J.]		15,60 ± 10,06	9,44 ± 7,57
Beginn der Krankheit[J		44,20 ± 13,70	35,33 ± 6,73

Die Gehirne wurden nach Separation von Hirnstamm und Kleinhirn in drei bihemisphärische coronar geschnittene Blöcke unterteilt. Der Frontalblock endet anterior vor dem Genu des Corpus callosum („anteriorer Block“). Der „mittlere Block“ enthält den fronto-temporo-parietalen Lappen über die gesamte Ausdehnung

des Corpus callosum. Er beinhaltet neben den kortikalen Arealen auch den Thalamus und die Hippocampusformation. Das Okkzipitalhirn bildet den „posterioren Block“.
Die so gewonnenen Hirnanteile wurden zunächst für drei Monate in 10%iger Formalinlösung fixiert (ph=7,0; T: 15-20°C). Danach erfolgte für drei Stunden eine Wässerung unter fließendem Wasser. Anschließend begann die Entwässerung der Hirne über eine aufsteigende Alkoholreihe.
In der ersten Woche wurden die Hirne in 50% Alkohol, in der zweiten nacheinander in 60%, dann 70 %, 80%, 90% und 96% getaucht. Abschließend lagerten sie noch zwei Wochen in 100% Alkohol, wobei der Alkohol wöchentlich gewechselt wurde. Nach Abschluss dieses Vorganges wurden die Gehirne nun für sieben Tage in das Intermedium eingebracht, welches aus Chloroform besteht und täglich gewechselt wurde. Schlussendlich erfolgte das vierwöchige Einbetten mit Paraplast (Shandon). Dieses Einbettmittel wurde wöchentlich erneuert.
Die Schnittführung der Präparate erfolgte in 20µm-Abständen coronar mithilfe eines Großschnittmikrotoms (Polycut S®, Jung). Die Untersuchungen wurden im Bereich des präfrontalen Kortex (dorsolateral [DLPFC], orbitofrontal [OFC], prägenual anterior cingulär [ACC]), des Gyrus dentatus (GD) und der CA1-Region (CA1) der Hippocampus-Formation, des entorhinalen Kortex [ENT]) sowie von Kerngebieten des Thalamus (Ncl. mediodorsalis [MD] und Ncl. lateralis dorsalis [LD]) durchgeführt. Jeder 50. Schnitt wurde immunhistochemisch behandelt.
Zu jedem dieser Schnitte existiert ein weiterer, der mit einer kombinierten Markscheiden-Nissl-Färbung (Heidenhain-Wölcke) angefärbt wurde.

2.2. Immunhistochemie

Zur immunhistochemischen Darstellung von der Glutamat-Decarboxylase (GAD), dem Schlüsselenzym in der Synthese des Neurotransmitters GABA, wurde ein monoclonaler Antikörper benutzt, der beide Isoenzyme von GAD erkennt (s.u.). Damit wurden sowohl GAD_{65} und GAD_{67} in unseren Hirnschnitten markiert. Es lässt sich dem zufolge keine Differenzierung zwischen GAD_{65} und GAD_{67} tätigen.
Zunächst musste eine absteigende Alkoholreihe durchgeführt werden, um die Fixierung zu lösen. Dafür kamen die Schnitte 2 x für 10 min. in Xylol, anschließend 5 min. in 100% Alkohol, jeweils weitere 5 min. in 96%, 80% und 60% Alkohol.
Danach musste 2 x 5 min. mit Aqua dest gespült werden.

Weiterhin wurden alle Präparate für 10 min. in 1,5 % Wasserstoffperoxid (H_2O_2) gebracht. Wasserstoffperoxid bewirkte die Reduzierung der unspezifischen Hintergrundanfärbung. Diese entsteht, wenn endogene Peroxidasen molekularen Sauerstoff freisetzen. Dieser reagiert mit dem Gewebe.

Durch die Verwendung von Wasserstoffperoxid werden die endogenen Peroxidasen inaktiviert.

Im nächsten Schritt erfolgte die Spülung mit Sigma PBS (phosphate buffered saline (mit Phosphat gepuffertes Kochsalz), ph=7,4; SIGMA, Saint Louis, Missouri, USA), das erste Mal 10 min., beim zweiten 5 min..

Des Weiteren wurde Ziegennormalserum (Produktnummer:G 9023, SIGMA-ALDRICH, INC., Saint Louis, Missouri, USA) eingesetzt. Dies soll wiederum erneut eine Hintergrundanfärbung verhindern, diesmal ausgelöst durch eine unspezifische Bindung der Antikörper an Proteinmoleküle in den Kollagen- bzw. Retikulinfasern. Die Ansetzung des Ziegennormalserums erfolgte in einer 1:10 Verdünnung mit Sigma PBS angesetzt und die Schnitte wurden in dieser Lösung für 1h bei Zimmertemperatur in die feuchte Kammer eingebracht.

Danach war zu beachten, dass die Präparate nicht gespült werden durften.

Erneut wurde mit Sigma PBS eine 1:100 Verdünnung des primären Antikörpers angesetzt. Dies ist ein monoclonaler, in Mäusen hergestellter Antiköper der Klasse IgG gegen GAD_{65} (Produktnummer: M018-3, medical & biological laboratories co., Wobrun, USA). Eine in unserem Labor durchgeführte Westernblot-Analyse des in dieser Arbeit verwendeten Antikörpers gegen GAD_{65} mit gefrorenem menschlichem Hirngewebe zeigte eine präferentielle, aber nicht selektive Interaktion mit der GAD_{65}-Isoform. GAD_{67} und Proteine mit Molekularmassen von unter 65 000 Da werden ebenfalls detektiert (Schwarzlose, 2006).

In den nächsten 72 h fand die Inkubation in einer feuchten Kammer im Kühlschrank bei 4°C statt. Anschließend wurden die Schnitte erneut mit PBS gespült (erst 10 min., dann 5 min.). Der Spülvorgang sollte alle ungebundenen Antikörper auswaschen.

Als sekundären bzw. Brückenantikörper, welcher das Bindeglied zwischen Primärantikörper und Markierungsantikörper darstellt, wurde ein biotinyliertes Anti-Maus-IgG (Produktnummer: RPN1177VI, Amersham biosciences UK, Ltd., Little Chalford, England) verwendet (Verdünnung 1:100 in PBS). Die Inkubation erfolgte

erneut für 2h in der feuchten Kammer. Daran schloss sich ein weiterer Spülvorgang mit PBS (s.o.) an.

Der Streptavidin-biotinylierte Meerrettich-Peroxidase-Complex (Produktnummer: RPN1051V, Amersham biosciences UK, Ltd., Little Chalford, England)

wurde als Markierungsantikörper benutzt. Der Markierungsantikörper wurde dazu mit PBS 1:100 verdünnt. Die Inkubation erfolgte für 1h in der feuchten Kammer . Zum Schluss erfolgte der Spülvorgang mit Sigma PBS nach dem bekanntem Schema.

Zur Visualisierung des Reaktionsproduktes der immunhistochemischen Reaktion kann mit 3,3`Diaminobenzidin (DAB, Diaminobenzidine Tetrahydrochlorid, Aufbewahrung bei -20°C, SIGMA-ALDRICH, FLUKA, Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Taufkirchen, Deutschland) und zur Verstärkung Ammoniumnickelsulfat (Amm. $NiSO_4$, SIGMA-ALDRICH, Saint Louis, Missouri, USA) eine Rezeptur angesetzt werden. Dazu wurde je 0,5g Amm. $NiSO_4$ und 0,0125g DAB in etwas Sigma PBS getrennt von einander gelöst (Bernstein et al., 1999). Beide Lösungen wurden zusammengegeben und mit PBS auf 25ml aufgefüllt und anschließend filtriert. Kurz vor dem Gebrauch muss 250ml 1% H_2O_2 –Lösung hinzu gegeben werden.

Diese Rezeptur auf die Schnitte träufeln und 20 min. wirken lassen. Danach erneutes 2x 10min. spülen in Aqua dest. Die Objektträger müssen um den Schnitt herum abgetupft werden.

Als Abschluss wurde eine aufsteigende Alkoholreihe nach oben genanntem Schema durchgeführt und die Schnitte mit Eukitt (O.KINDLER GmbH & Co) bei Zimmertemperatur eingedeckt.

2.3. Morphometrie

Über ein Bildaufnahmesystem (Olympus BX60-Mikroskop, welches mit

einer ColorView Soft Imaging-Digitalkamera gekoppelt ist) wurden Aufnahmen mit einem 20x Objektiv auf dem Computerbildschirm dargestellt und direkt in einer Datenbank abgespeichert. Das Mikroskop kann über eine Multiplan-2000-Einheit per Joystick gesteuert werden.

Statistische Analysen im Rahmen der Arbeit haben ergeben, dass 3 Aufnahmen von jeder zu bearbeitenden Region ausreichend sind, um repräsentativ für das gesamte

Areal zu sein. Eine höhere Anzahl von Aufnahmen verändert die Ergebnisse nicht mehr signifikant.

Im Rahmen qualitativer Vorruntersuchungen ergaben sich für den anterioren Gyrus cinguli und den präfrontalen Kortex keine Signifikanzen im Gruppenvergleich, jedoch konnten Unterschiede in den anderen untersuchten Regionen angenommen werden.

Die Dichte von GAD-immunreaktives (GAD-ir) Neuropils (Fasern und/oder synaptischen Endungen) von den Patienten und den angepassten Vergleichsfällen wurden in neokortikalen Arealen gemessen: präfrontal (dorsolateral, orbitofrontal, prägenual des anterioren Gyrus cinguli) und temporal (parahippocampaler entorhinaler Kortex), in der Hippocampusformation (Gyrus dentatus und die CA1-Region) und in thalamischen Kerngebieten (N. mediodorsalis, N. lateralis dorsalis). In den Regionen ACC, DLPFC, OFC, ENT wurden jeweils bilateral aus Schicht III und Schicht V je 3 Aufnahmen in die Datenbank aufgenommen, ebenso aus dem Striatum pyramidale der CA1-Region, aus dem Stratum granulare des Gyrus dentatus und aus dem mediodorsalen und lateraldorsalen Thalamuskern. Bei der Auswertung war dem Untersucher die Diagnose nicht bekannt.

Die relative Fläche des immunreaktiven Neuropils am Gesamtareal, welches untersucht wurde, kann mittels AnalySIS® (Firma: Soft Imaging GmbH, Version: AnalySIS® Auto Version 3.2), einem dichtemessenden Bildverarbeitungsprogramm analysiert werden. Gos et al. (2006) haben diese Methode an Hirnen von Nagetieren erprobt.

Mit AnalySIS® ist man in der Lage, dichtemessende Bildanalysen durchzuführen, wobei hierzu aus den Aufnahmen ein Schwarz-Weißbild herausgefiltert wurde. Danach erfolgt die Eingrenzung der Aufnahme auf ein repräsentatives Gebiet, in dem die Berechnung anschließend statt gefunden hat. Dieses Gebiet sollte eine Größe von 10cm x 10cm einnehmen und möglichst frei von Artefakten sein. Es sollten sich keine Strukturunterbrechungen ergeben, die die Berechnungen verfälschen könnten.

Je nach Stärke der immunhistochemischen Reaktion der einzelnen Hirnareale wurde eine Grauwerteinstellung für das ausgewählte Gebiet vorgenommen. Das heißt, dass für dieses Gebiet einen Grenzwert gesucht wurde, ab dem alle Strukturen, die größer oder gleich diesem Grenzwert sind, markiert werden. Auf diese Weise können alle GAD-positiven Strukturen unter visueller Kontrolle markiert werden. Zusätzlich

wurden eventuell vorhandene Artefakte und Neuronen herausgelöscht und damit aus der späteren Berechnung genommen. Da in dieser Arbeit GAD ausschließlich an immunreaktiven Fasern untersucht werden sollte, würden gewertete immunreaktive Neuronenperikarya die Ergebnisse verfälschen. Danach erfolgt die Berechnung des prozentualen Anteils der markierten Strukturen dieses abgegrenzten Gebiets. Somit ergibt sich kein absoluter Wert, sondern nur ein relativer, in Prozent angegebener Wert, für den Nachweis von GAD im Bereich der Fasern und deren näherer Umgebung.

Wie oben bereits erläutert, lässt die durchgeführte Immunhistochemie keine Rückschlüsse auf den jeweiligen Anteil der beiden Isoenzyme der GAD an diesem Prozentwert zu. Da GAD_{67} aber eher in Neuronenperikarya und GAD_{65} eher in den Fasern und Terminalen nachgewiesen wurden (Martin & Rimvall, 1993; Soghomonian & Martin, 1998), lässt sich vermuten, dass GAD_{65} in den markierten Fasern der verschiedenen Areale den größeren Anteil ausmacht.

Diese Vorgehensweise soll über den prozentualen GAD-Anteil Rückschlüsse auf die GABA-Synthese ermöglichen um damit die GABAerge Innervation zwischen den einzelnen Gruppen (Unipolar vs. Bipolar vs. Kontrollen oder Suizidenten vs. Nicht-Suizidenten vs. Kontrollen) miteinander vergleichen zu können. Des Weiteren sollten so mögliche Hinweise auf eine funktionelle Unterbrechung in den Fasern der GABAergen Neurone gefunden werden, die eine erhöhtes Auftreten von GAD in den Neuronen und ein GABA- und GAD-Defizit an den Terminalen erklären könnte.

Die Messungen wurden geblindet durchgeführt. Für die Interrater-Testung und die Test-Retest-Reliabilität wurden die Messungen an 5 zufällig ausgewählten Hirnen wiederholt.

2.4. Statistische Analyse

Es konnten nicht für alle Areale eine Normalverteilung angenommen werden. Daher wurde die Statistik für alle auszuwertenden Areale mit nicht-parametrischen Tests durchgeführt. Die statistische Analyse des 3-Gruppenvergleichs wurde mit Hilfe des Kruskal-Wallis-Test geführt. Der Mann-Whitney *U* mit Bonferroni-Holm-Shaffer-Korrektur wurde für den Intergruppenvergleich verwendet. Der Spearman Korrelations-Koeffizient gibt Auskunft über den Einfluss demographischer, histologischer und klinischer Variablen wie Alter zum Zeitpunkt des Todes,

Hirngewicht, Autolysezeit, Krankheitsdauer oder psychotrope Medikation auf die erhobenen Daten.
Eine statistische signifikante Korrelation ist bei $p \leq 0.05$ gegeben.

Die verwendeten Hirne wurden hinsichtlich des Alters, des Geschlechts, der Autolysezeit und der Fixationstage so zusammengestellt, dass sich zwischen den Gruppen keine signifikanten Unterschiede ergaben.
Die Geschlechterverteilung zeigt bei den unipolar Depressiven im Gegensatz zu den anderen beiden Gruppen ein Überwiegen des weiblichen Geschlechts. Dass das Geschlecht mit den gemessenen Werten in irgendeiner Weise korreliert, konnte bei der statistischen Auswertung ausgeschlossen werden. Ebenso verhielt es sich mit der Autolysezeit, den Fixationstagen und der Krankheitsdauer.

3. Ergebnisse

3.1. Unterschiede in der Dichte von GAD-IR Fasern zwischen Kontrollen, Bipolaren und Unipolaren

Mit Hilfe des Kolmogorov-Smirnow-Anpassungstests wurde die Verteilung der Daten untersucht. Für den ENT ergab sich keine Normalverteilung. Daher wurden für die statistische Analyse aller Regionen parameterfreie Tests angewendet. Alle anderen in dieser Arbeit untersuchten Regionen konnten mit ihren Werten als normalverteilt angesehen werden.

Die Untersuchung auf Zwischensubjekteffekte wies einen Trend in Richtung Unterschiede zwischen den Gruppen der bipolar Depressiven, unipolar Depressiven und der angepassten Vergleichsfälle auf (Polarität $F=3,315$; $p=0,071$). Der anschließend durchgeführte Post-Hoc-Test zeigte, dass bei unipolar Erkrankten im Mittel höhere Faserdichten als bei den Kontrollpersonen gemessen werden können. Der Vergleich zwischen unipolar und bipolar affektiven Störungen weist im Gegensatz dazu nur einen Trend in Richtung im Mittel geringerer Faserdichten bei bipolar Depressiven auf ($p=0,06$).

Der Kruskal-Wallis-Test mit Bonferroni-Korrektur ergab für vier der acht untersuchten Areale signifikante Unterschiede. Diese sind in Tabelle 3.1 zusammengefasst.

In diesen Regionen gibt es somit mindestens zwei Gruppen, die sich signifikant unterscheiden. Zur weiteren Analyse wurden Post-Hoc-Tests durchgeführt, um die Differenzen zwischen den einzelnen Gruppen herauszuarbeiten.

Tabelle 3.1: Statistische Auswertung und Ergebnisse beim Vergleich MDD vs. BPD vs. C

Region	Controls (C) n=18		Major depressive disorder (MDD) n=10		Bipolar disorder (BD) n=11		3-Group- Comparison (p value)		C vs. MDD (p value)		C vs. BD (p value)		MDD vs. BD (p value)	
	right	left	right	left	right	left	right	left	right	left	right	left	right	left
Anterior gyrus cinguli layer III	0.143 (0.007, 1.167)	0.108 (0.006, 1.303)	0.493 (0.201, 0.765)	0.562 (0.217, 0.731)	0.095 (0.013, 0.195)	0.043 (0.011, 0.217)	0.177	0.246	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
layer V	0.123 (0.006, 0.861)	0.122 (0.007, 1.167)	0.434 (0.195, 0.593)	0.596 (0.216, 0.664)	0.083 (0.018, 0.194)	0.086 (0.016, 0.241)	0.378	0.144	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
Dorsolateral prefrontal cortex layer III	0.010 (0.004, 6.017)	1.173 (0.016, 3.491)	1.533 (0.081, 4.759)	0.702 (0.048, 2.899)	0.061 (0.006, 0.970)	0.007 (0.003, 0.029)	0.407	**0.041**	n.a.	0.815	n.a.	**0.033**	n.a.	0,021
layer V	0.035 (0.002, 3.235)	0.552 (0.014, 5.346)	1.796 (0.241, 6.393)	0.806 (0.215, 3.598)	0.008 (0.004, 0.749	0.007 (0.002, 0.018)	0.122	**0.015**	n.a.	0.714	n.a.	**0.028**	n.a.	**0.002**
Orbito-frontaler cortex layer III	0.891 (0.041, 3.261)	2.117 (0.081, 3.771)	2.966 (0.024, 6.437)	3.384 (0.072, 6.952)	0.631 (0.069, 2.652)	0.556 (0.044, 1.791)	0.826	0.216	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
layer V	0.593 (0.033, 2.024)	1.444 (0.163, 3.346)	1.707 (0.037, 2.443)	1.274 (0.382, 2.569)	0.257 (0.111, 0.856)	0.227 (0.089, 1.022)	0.873	0.208	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
CA1 filed (Stratum pyramidale)	0,022 (0.002, 0.307	0.004 (0.001, 0.253	0.984 (0.057, 2.900)	1.234 (0.723, 3.337	0.004 (0.003, 0.748	0.014 (0.002, 0.916	0.144	**0.017**	n.a.	**0.005**	n.a.	0.976	n.a.	**0.016**
Dentate gyrus (Stratum granulare)	0.207 (0.006, 1.187)	0.310 (0.035, 1.529)	1.702 (0.241, 6.393)	2.366 (0.878, 5.275)	0.007 (0.002, 1.357	0.359 (0.003, 1.407	0.099	0.054	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.

Region	Controls (C) n=18		Major depressive disorder (MDD) n=10		Bipolar disorder (BD) n=11		3-Group- Comparison (p value)		C vs. MDD (p value)		C vs. BD (p value)		MDD vs. BD (p value)	
	right	left	right	left	right	left	right	left	right	left	right	left	right	left
Entorinaler cortex														
layer III	0.012 (0.003, 0.069)	0.008 (0.003, 0.029)	0.548 (0.330, 1.482)	0.510 (0.167, 1.735)	0.152 (0.015, 1.275)	0.321 (0.050, 1.777)	**0.009**	**0.001**	**0.005**	**0.001**	**0.024**	**0.002**	0.313	0.529
layer V	0.023 (0.005, 0.073)	0.011 (0.006, 0.035)	0.662 (0.329, 2.895)	0.649 (0.416, 1.143)	0.103 (0.003, 1.303)	0.184 (0.012, 1,814)	**0.029**	**0.016**	**0.002**	**0.003**	0.654	0.095	0.118	0.328
Lateral dorsal thalamic nucleus	0.237 (0.086, 0.513)	0.222 (0.063, 0.848)	1.048 0.489, 1.434)	0.918 (0.495, 1.558)	0.190 (0.072, 0.399)	0.255 (0.148, 0.703)	**0.028**	0.094	**0.013**	n.a.	0.753	n.a.	**0.015**	n.a.
medial dorsal thalamic nucleus	0.280 (0.077, 0.602	0.317 (0.107, 0.638)	0.559 (0.080, 1.086)	0.0574 (0.171, 1.136)	0.160 (0.077, 0.564)	0.177 (0.058, 0.653)	0.598	0.354	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.

Relative Dichten von GAD 65/67-ir Fasern. Die Werte sind als Median angegeben mit dem Konfidenzintervall q 25 % , q 75%. N.a.: non applicable weil keine Signifikanz im 3-Gruppenv vergleich bekannt. Signifikante p-Werte ($p<0.05$) sind fett gedruckt hinterlegt.

3.1.1. CA1-Region

Im Hippocampus wurde für die linke CA1-Region in der Schicht des Stratum pyramidale eine signifikant höhere Dichte an GAD-immunreaktiven Fasern bei unipolar Depressiven im Gegensatz zu Kontrollen (p=0,005) und bipolar Depressiven (p=0,016) nachgewiesen (Abb.1). Die Analyse des Stratum pyramidale der rechten Seite zeigten keine Differenzen im Drei-Gruppen-Vergleich.

3.1.2. Dorsolateraler präfrontaler Kortex (DLPFC)

Die Untersuchung des DLPFC der linken Seite ergab für die Schicht III, dass Kontrollpersonen signifikant höhere Faserdichten (p=0,033) aufweisen als bipolar Erkrankte. Ähnliches zeigte sich für die Schicht V derselben Seite. Hier hatten sowohl Kontrollen (p=0,028) als auch unipolar Erkrankte (p=0,002) signifikant höhere Werte an GAD-immunreaktiven Fasern als bipolar Depressive (Abb.2). Diese Differenzen sind in der rechten Hemisphäre in dieser Region nicht nachweisbar.

3.1.3. Entorhinaler Kortex (ENT)

In dieser Region konnten sowohl auf der rechten als auch auf der linken Seite für die Schichten III und V signifikante Unterschiede zwischen unipolaren und den angepassten Vergleichsfällen festgestellt werden. GAD-positive Fasern wiesen bei unipolare Depressive in jeder dieser Schichten höhere Dichten ($p \leq 0,005$) gegenüber Kontrollpersonen auf (Abb.3). In Schicht III des rechten und linken ENT sind die Ergebnisse der Vergleiche mit bipolaren zusätzlich auch größer als die der Kontrollen (re:p=0,024; li:p=0,002).

In der Schicht V des ENT konnten für bipolare keine Unterschiede, verglichen mit gesunden Kontrollfällen, festgestellt werden.

3.1.4. Dorsolateralen Thalamuskern (DL)

In diesem Areal ergaben sich für den rechten Ncl. lateralis dorsalis ein signifikantes Ergebnis. Auch hier wiesen unipolar depressive Patienten bei einem p von 0,013 höhere Dichten der GAD-immunreaktiven Fasern im Vergleich zu den Kontrollpersonen auf. Die anderen Gruppenvergleiche konnten keine weiteren Unterschiede hervorheben.

3.1.5. Co-Faktoren

Es sollte geprüft werden, ob bestimmte Cofaktoren einen Einfluss auf die Messvariablen haben. Es wurden das Alter und Geschlecht der Patienten bzw. Kontrollen, die Autolysezeit, die Fixationszeit, das Hirngewicht, die Krankheitsdauer sowie der Beginn der Erkrankung in die Analyse einbezogen.

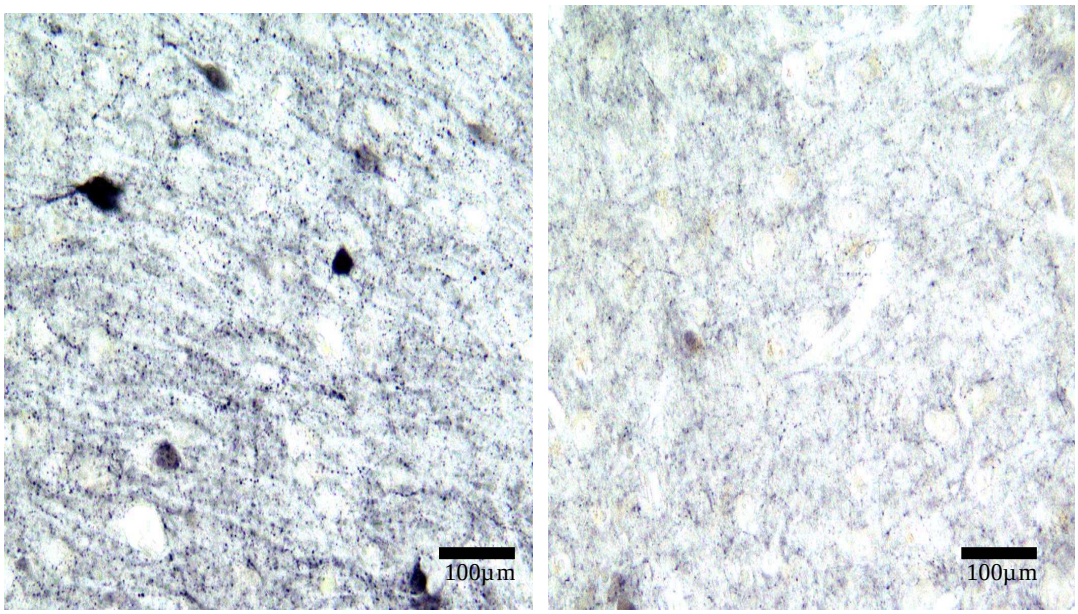
Es konnte bei keinem der Faktoren ein Einfluss auf die Resultate der Messungen nachgewiesen werden.

Zusätzlich wurde der Einfluss von einer Medikamentengabe zum Todeszeitpunkt auf die Messvariabeln in Betracht gezogen. Es konnte mittels multivariate Kovarianzanalyse gezeigt werden, dass Neuroleptika die Werte nicht zu verändern vermögen. Allerdings zeigten sich Assoziationen von Benzodiazepinen und Sedativa, wenn sie in den letzten 28 Tagen vor Todeseintritt gegeben worden waren. Auch für Lithium kann ein Einfluss auf die GAD-IR Fasern nicht ausgeschlossen werden. Bei beiden Medikamentenklassen konnte eine negative Korrelation gezeigt werden.

Antidepressive Medikation zeigte für beide Patientengruppen zusammengefasst in den ersten 7 Tagen eine positive Korrelation mit den GAD-positiven Fasern in der CA1-Region und im mediodorsalen Thalamus.

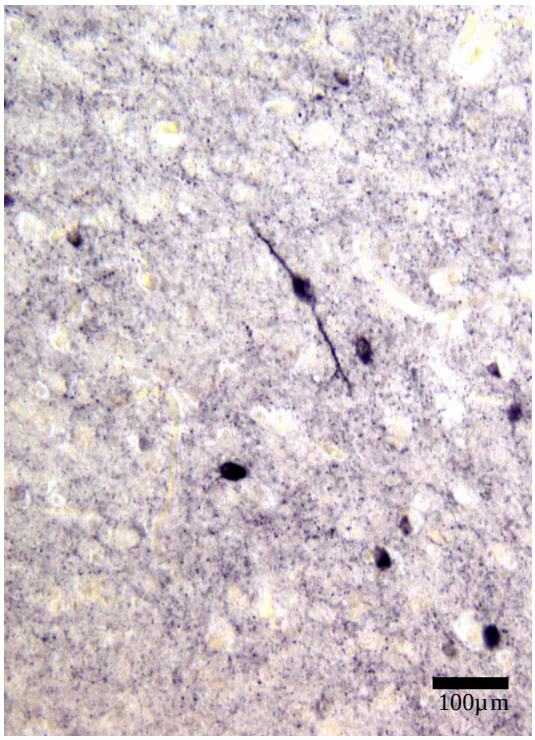
Einschränkend muss ins Kalkül gezogen werden, dass nicht sicher feststellbar ist, ob Patienten mit den hohen Dichtewerten an einer höheren Erkrankungsschwere litten und daher mehr Medikamente einnehmen mussten oder ob diese Patienten durch die Medikamenteneinnahme solch hohe Werte für GAD-immunpositive Fasern erlangten.

Abb.1: GAD-Immunhistochemie der hippocampalen CA1-Region a.) eines Patienten mit einer unipolaren Depression und b.) einer Kontrollperson

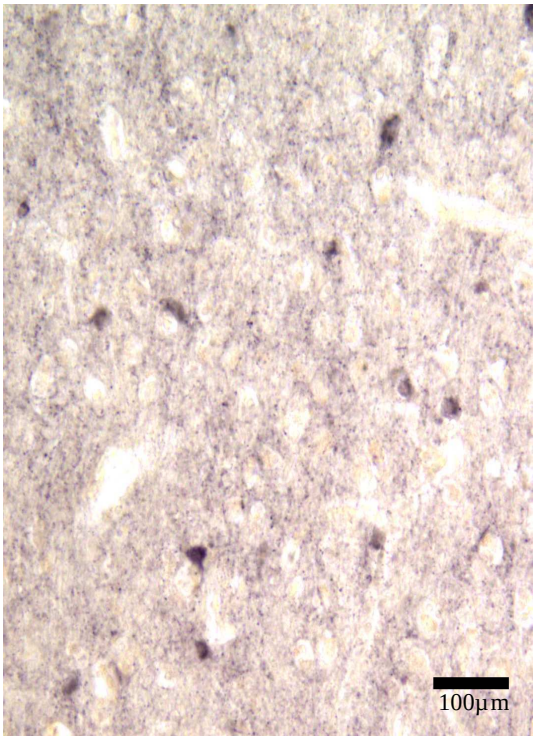


a.) BGC-Nr.24 li.: 53 J., ♀, MDD b.) BGC-Nr.10 li.: 52 J., ♀, Kontrolle

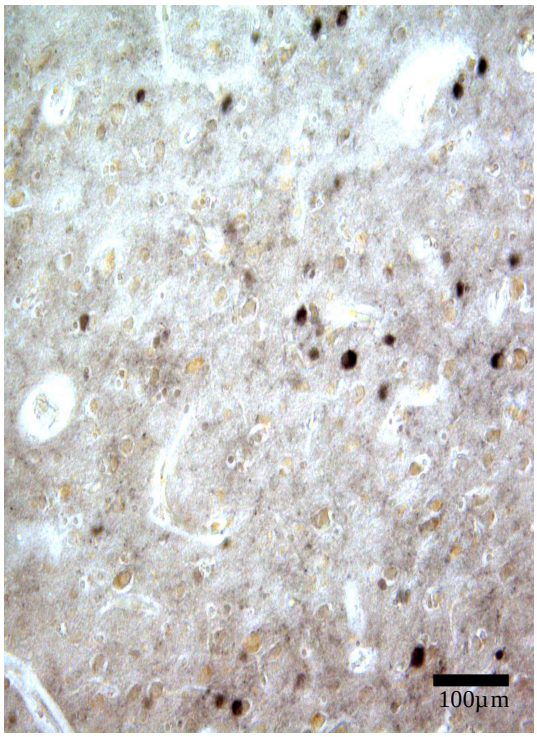
Abb.2: GAD-Immunhistochemie der Region des dorsolateralen präfrontalen Kortex a.) eines Patienten mit einer unipolaren Depression, b.) einer Kontrollperson und c.) eines Patienten mit einer bipolaren Depression



a.) BGC-Nr.69 li.V: 53 J., ♀, MDD

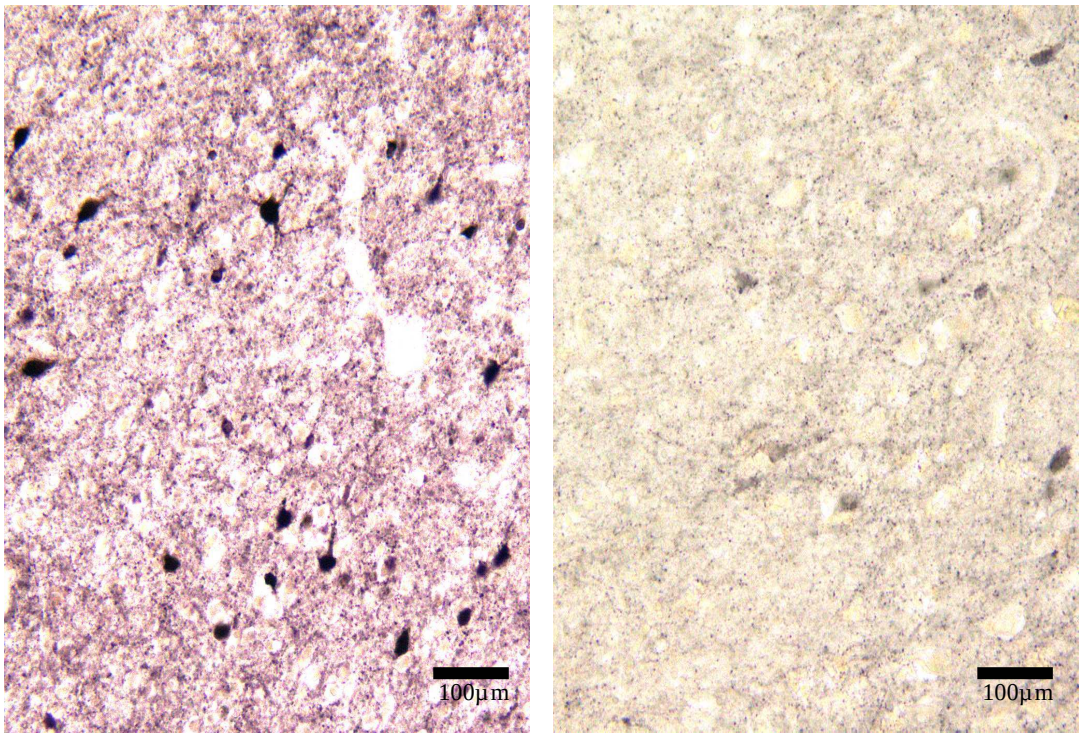


b.) BGC-Nr.28 li. V: 50 J., ♀, Kontrolle



c.) BGC-Nr.123 li. V: 59 J., ♀, BPD

Abb.3: GAD-Immunhistochmie im entorhinalen Kortex a.) eines Patienten mit einer unipolaren Depression und b.) einer Kontrollperson



a.) BGC-Nr.126 re. III: 36 J., ♂, MDD b.) BGC-Nr.67 re. III: 63 J., ♂, Kontrolle

Neben den Zellleibern einiger GABAerger Interneurone ist die Tingierung des Neuropils deutlich zu erkennen.

3.2. Unterschiede in der Dichte von GAD-IR Fasern zwischen Kontrollen, Suizidenten und Nicht-Suizidenten

Da die untersuchten Kontrollpersonen dieselben wie bei der Polaritätsgruppenzuordnung sind, sind die Aussagen zu der Normalverteilung hier auch als relevant zu erachten.

Durch die Untersuchung der Zwischensubjekteffekte (Polarität F=7,592; p=0,007) und anschließende Post-Hoc-Analyse (p=0,006) zeigten sich sehr einheitliche Ergebnisse. In fünf von acht untersuchten Arealen ergaben sich deutlich höhere Faseranteile [%] auf Seiten der Depressiven, die durch einen Suizid starben verglichen mit den Depressiven ohne Suizid. Die Kontrollgruppe lag im Durchschnitt zwischen den Werten der beiden anderen Gruppen. Für die übrigen Areale ergaben sich keine Signifikanzen im Drei-Gruppen-Vergleich. Daraus ergibt sich ein GAD-Defizit im immunpositiven Neuropil von depressiven Patienten, die keine Neigung zu Suizidgedanken, Planung oder Ausübung der Selbsttötung zeigten.
Analog bei der Untersuchung der Polaritätsgruppen wurde der Kruskal-Wallis-Test an allen Arealen mit dazugehörigen Werten durchgeführt.
Für die Regionen, die nach Bonferroni-Korrektur im Kruskal-Wallis-Test signifikante Werte ergaben, wurde eine Post-Hoc-Analyse durchgeführt.
Der Kruskal-Wallis-Test ergab signifikante Unterschiede bei der Dichtemessung der GAD-immunreaktiven Fasern zwischen den Gruppen der Suizidenten, Nicht-Suizidenten und den angepassten Vergleichsfällen bilateral im entorhinalen Kortex, Gyrus dentatus und in der CA1-Region des Hippokampus. Für den dosolateralen präfrontalen Kortex ergab sich zwischen den Analysegruppen nur eine Signifikanz in der Schicht V in der linken Hemisphäre. Keine Unterschiede zwischen den analysierten Gruppen zeigten sich hingegen für die Areale im präfrontalen Kortex und in dem Kerngebiete des Ncl. lateralis dorsalis. Für den thalamischen Ncl. mediodorsalis konnte im Kerngebiet der rechten Seite ein Unterschied im Gruppenvergleich ausgemacht werden. Die Ergebnisse sind in Tabelle 3.2 zusammengestellt.

Tabelle 3.2: Statistische Auswertung und Ergebnisse beim Vergleich S vs. NSz vs. C

Region	**Controls (C)** n=18		**Non-Suizid (NS)** n=7		**Suizid (S)** n=14		**3-Group-Comparison** (p value)		**C vs. NS** (p value)		**C vs. S** (p value)		**NS vs. S** (p value)	
	right	left	right	left	right	left	right	left	right	left	right	left	right	left
Anterior gyrus cinguli layer III	0.143 (0.010, 0.719)	0.108 (0.006, 1.303)	0.047 (0.009, 0.183)	0.035 (0.011, 0.157)	0.386 (0.119, 0.510)	0.330 (0.101, 0.621)	0.296	0.323	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
layer V	0.123 (0.006, 0.861)	0.122 (0.007, 1.167)	0.025 (0.009, 0.194)	0.019 (0.010, 0.239)	0.336 (0.083, 0.593)	0.550 (0.086, 0.618)	0.303	0.257	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
Dorsolateral prefrontal cortex layer III	0.010 (0.004, 6.017)	1.173 (0.016, 3.491)	0.009 (0.003, 0.970)	0.007 (0.003, 0.017)	0.707 (0.316, 3,768)	0.358 (0.012, 2.899)	0.357	0.070	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
layer V	0.035 (0.002, 3.235)	0.552 (0.014, 5.346)	0.008 (0.003, 0.886)	0.005 (0.002, 0.013)	1.017 (0.022, 3.284)	0.505 (0.018, 2.960)	0.296	**0.041**	n.a.	**0.026**	n.a.	0.820	n.a.	**0.014**
Orbito-frontaler cortex layer III	0.891 (0.041, 3.261)	2.117 (0.081, 3.771)	0.984 (0.183, 3.591)	0.611 (0.060, 3.897)	0.742 (0.015, 5.261)	1.313 (0.034, 3.834)	0.914	0.906	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
layer V	0.593 (0.033, 2.024)	1.444 (0.163, 3.346)	0.323 (0.138, 2,244)	0.292 (0.115, 4.511)	0.297 (0.054, 2.149)	0.468 (0.195, 1.614)	0.920	0.711	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
CA1 filed (Stratum pyramidale)	0.022 (0.002, 0.307)	0.004 (0.001, 0.253)	0.0003 (0.002, 0.075)	0.002 (0.001, 0.013)	0.984 (0.259, 1.256)	1,09 (0.704, 1,908)	**0.015**	**0.003**	0.443	0.282	**0.022**	**0.004**	**0.007**	**0.002**
Dentate gyrus (Stratum granulare)	0.207 (0.006, 1.1187)	0.301 (0.035, 1.529)	0.005 (0.002, 0.274)	0.009 (0.003, 0.187)	1.702 (1.026, 4.524)	1.900 (1.159, 2.978)	**0.013**	**0.009**	0.224	0.180	**0.022**	**0.021**	**0.010**	**0.007**

Region	Controls (C) n=18		Non-Suizid (NS) n=7		Suizid (S) n=14		3-Group-Comparison (p value)		C vs. NS (p value)		C vs. S (p value)		NS vs. S (p value)	
	right	left	right	left	right	left	right	left	right	left	right	left	right	left
Entorinaler cortex														
layer III	0.012 (0.003, 0.069)	0.008 (0.003, 0.029)	0.105 (0.015, 0.291)	0.142 (0.014, 0.329)	0.702 (0.6330, 2.833)	0.707 (0.316, 3.768)	**0.004**	**0.000**	0.122	**0.027**	**0.002**	**0.000**	0.056	**0.012**
layer V	0.023 (0.005, 0.073)	0.011 (0.006, 0.035)	0.014 (0.003, 0,160)	0.013 (0.009, 0.228)	0.779 (0.355, 2,975)	0.720 (0.568, 2.318)	**0.006**	**0.001**	0.808	0.591	**0.005**	**0.000**	**0.007**	**0.001**
Lateral dorsal thalamic nucleus	0.237 (0.086, 0.513)	0.222 (0.063, 0.848)	0.190 (0.057, 0.508)	0.498 (0.128, 0.703)	0.482 (0.207, 1.201)	0.421 (0.254, 1.194)	0.255	0.395	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
Medial dorsal thalamic nucleus	0.280 (0.077, 0.602)	0.317 (0.107, 0.638)	0.119 (0.042, 0.160)	0.078 (0.058, 0.177)	0.614 (0.284, 1.085)	0.659 (0.252, 1.049)	**0.041**	0.063	0.135	n.a.	0.135	n.a.	**0.019**	n.a.

Relative Dichten von GAD 65/67-ir Fasern. Die Werte sind als Median angegeben mit dem Konfidenzintervall q 25 % , q 75%. N.a.: non applicable weil keine Signifikanz im 3-Gruppenvergleich bestä kannt.
Signifikante p-Werte (p<0.05) sind fett gedruckt hinterlegt.

3.2.1. CA1-Region

Für beide Hemisphären zeigten sich in der limbischen CA1-Region signifikant erhöhte Faseranteildichten an GAD-immunreaktiven Fasern bei Suizidenten verglichen mit Nicht-Suizidenten (li:p=0,002; re:p=0,007). Des Weiteren waren auch gegenüber Kontrollpersonen die Werte von Suizidenten signifikant höher (li:p=0,004; re:p=0,022) (Abb.4).

Die Ergebnisse lassen die Annahme zu, dass Kontrollpersonen im Mittel keine höheren Werte als Nicht-Suizidenten aufweisen.

3.2.2. Dorsolateraler präfrontaler Kortex (DLPFC)

Für die Schicht V im linken DLPFC unterschieden sich Kontrollen von den Nicht-Suizidenten (p=0,026) durch höhere GAD-IR Faseranteile. Dies konnte nicht für die Schicht III dieser Seite nachgewiesen werden. Zusätzlich dazu ergaben sich für die Schicht V signifikante Differenzen zwischen Suizidenten und Nicht-Suizidopfern mit höheren Werten für Suizidopfer (p=0,014). Die Faseranteile sind also bei den Suizidenten und Kontrollpersonen höher als bei Nichtsuizidenten (Abb.5).

Für den rechten dorsolateralen Kortex konnten keine Veränderungen der Dichten an GAD-positiven Fasern gemessen werden.

3.2.3. Entorhinalen Kortex (ENT)

Untersuchungen des linken entorhinalen Kortex zeigten hochsignifikante Differenzen sowohl in der Schicht III als auch der Schicht V des Kortex. Für Suizidenten wurden weitaus höhere Dichten gemessen (in beiden Schichten p=0,000) als für die Personen aus der Kontrollgruppe (Abb.6). Aber auch der Unterschied zu den depressiven Patienten, die nicht durch einen Suizid starben, ist signifikant (III: p=0,012; V:p=0,001).

Zusätzlich ist in der Schicht III des linken ENT die Veränderung zwischen Nicht-Suizidenten und Kontrollpersonen ebenfalls signifikant (p=0,027), mit niedrigeren Werten für die gesunden Vergleichsfälle.

Für den rechten entorhinalen Kortex zeigten Messungen höhere Werte für Suizidenten im Vergleich zu den gesunden Vergleichsfällen (III:p=0,002; V:p=0,005). Veränderungen im Vergleich zu Nicht-Suizidenten konnten hier jedoch nur für die Schicht V mit p=0,007 nachgewiesen werden.

3.2.4. Gyrus dentatus (GD)

Die Analysen im Bereich des Gyrus dentatus ergaben beidseits in der Schicht des Stratum granulare signifikant niedrigere Werte für Patienten mit natürlichen Todesursache im Gegensatz zu Suizidopfern (li:p=0,007; re:p=0,010) (Abb.7). Im Vergleich zu Personen der Kontrollgruppe zeigten Suizidopfer wiederum signifikant höheren Faserdichten (li:p=0,021; re:p=0,022)

3.2.5. Mediodorsaler Thalamuskern

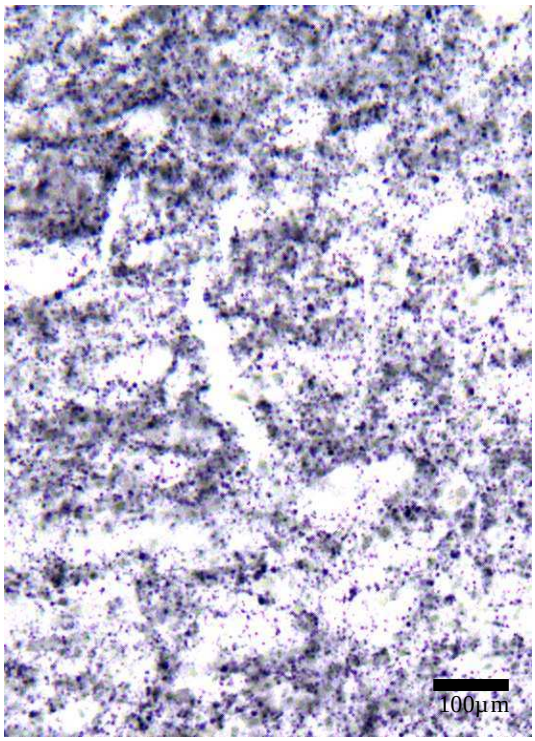
Im Ncl. mediodorsalis des rechten Thalamus wiesen Patienten, die eines natürlichen Todes starben, mit einem p von 0,019 niedrigere Faseranteile im Vergleich zu Suizidenten auf. Weitere Vergleiche dieser Region konnten keine Veränderungen herausarbeiten.

3.2.6. Co-Faktoren

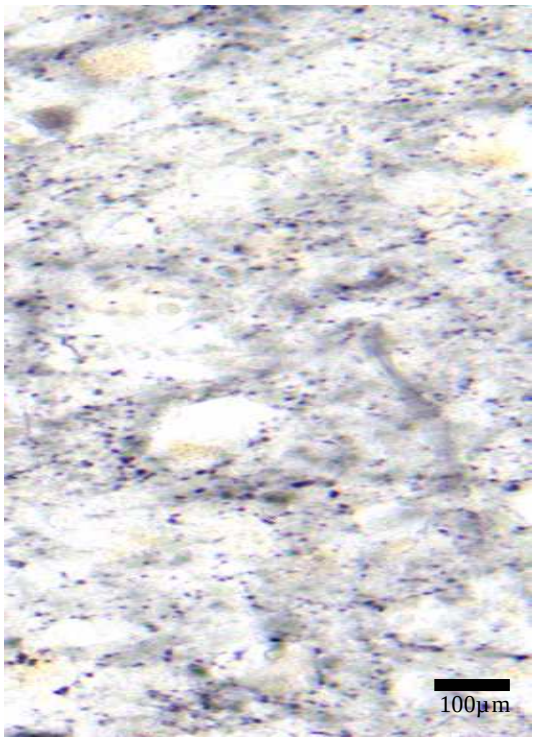
Es wurde der Einfluss des Alters und Geschlecht der Personen, die Autolysezeit, die Fixationszeit, das Gehirngewicht die Krankheitsdauer sowie der Beginn der Erkrankung auf die Messvariablen analysiert.
Lediglich für die mittlere Fixationszeit konnten Unterschiede zwischen Kontrollen und Nicht-Suizidenten aufgewiesen werden (p=0,030). Die multivariate Kovarianzanalyse mit den Daten zeigte keinen signifikanten Wert für die Kovariate Fixierungszeit in sämtlichen Regionen, daher kann ein Einfluss durch diesen Co-Faktor auf die Ergebnisse ausgeschlossen werden.

Die Wirkung von Medikamenten auf die Messergebnisse wurde ebenfalls untersucht. Für Sedativa konnten keine Assoziationen mit der Dichte des GAD-ir Neuropils festgestellt werden. In Bezug auf eine Neuroleptikaeinnahme muss nur ein geringer Einfluss auf den DLC bei der Suizidenten-Patientengruppe angenommen werden. Für das phasenstabilisierende Lithium konnte eine negative Korrelation mit der Faserdichte im ACC und DLC nachgewiesen werden. Ebenso verhält es sich mit der Einnahme von Benzodiazepinen. Zudem zeigte sich eine zum Teil hochsignifikante negative Korrelation der GAD-ir Fasern in der Untersuchung mit Antidepressivern in den Arealen der CA1-Region, des DLC und des laterodorsalen Thalamuskern.

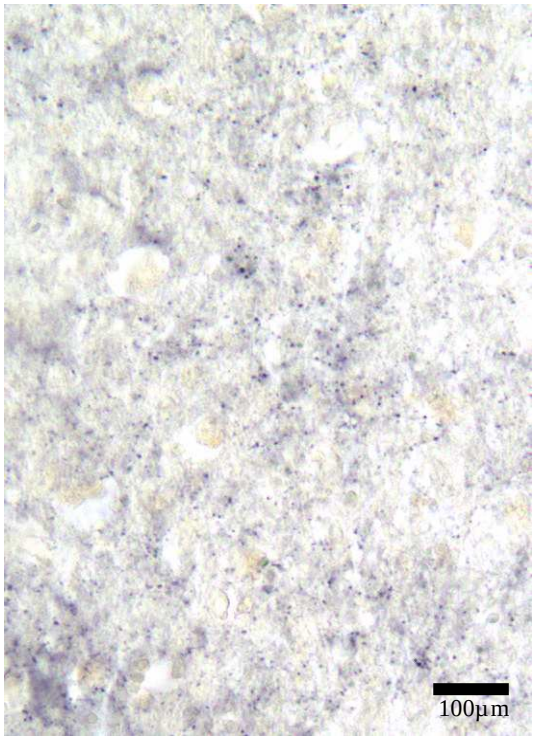
Abb.4: GAD-Immunhistochemie der hippocampalen CA1-Region a.) eines Patienten mit einer bekannten affektiven Störung, der durch Suizid verstorben ist, b.) einer Kontrollperson und c.) eines Patienten, die beide eines natürlichen Todes gestorben sind.



a.) BGC-Nr. 61 re.: 42 J., ♂, Sz

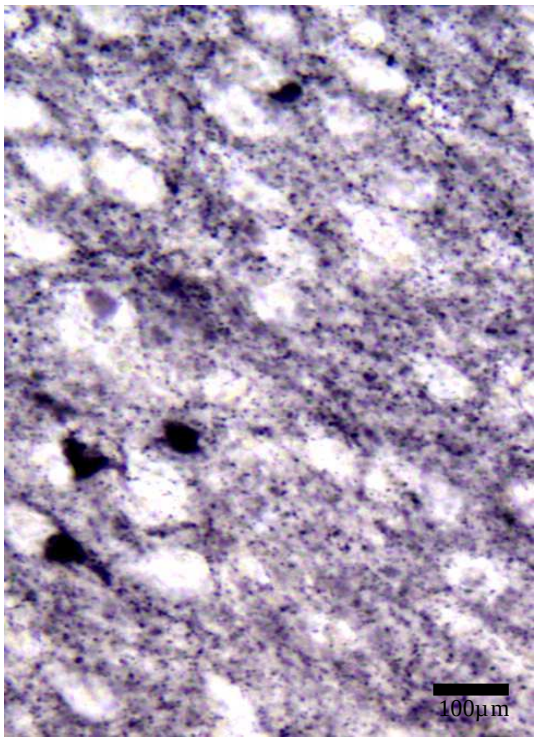


b.) BGC-Nr. 67 re.: 63 J., ♂, Kontrolle

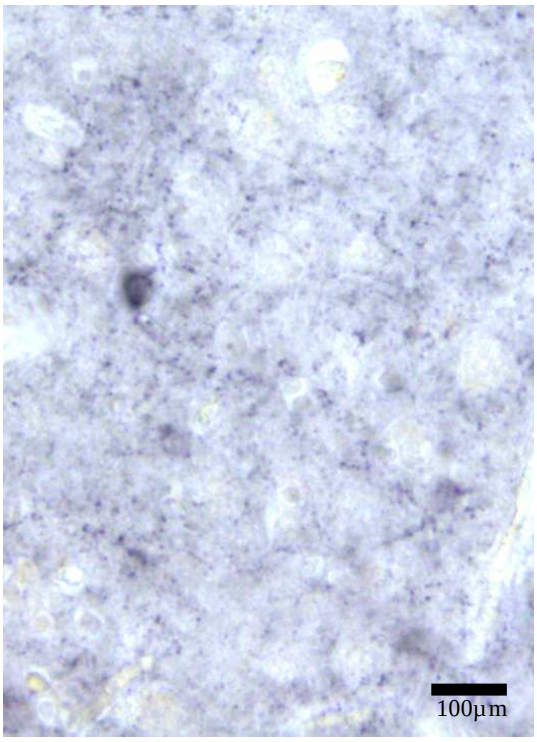


c.) BGC-Nr. 105 re.: 62 J., ♀, NSz

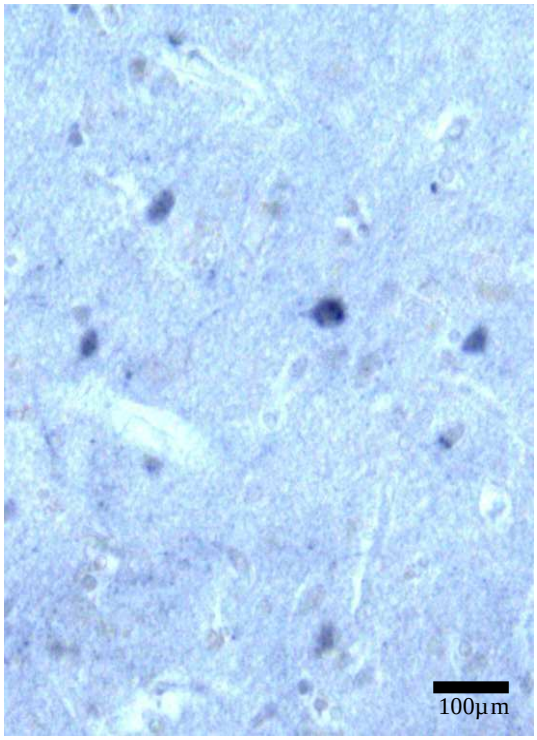
Abb.5: GAD-Immunhistochemie der Region des dorsolateralen präfrontalen Kortex a.) eines Patienten mit bekannter depressiver Erkrankung, der durch einen Suizid gestorben ist, b.) einer Kontrollperson und c.) eines Patienten, die jeweils eines natürlichen Todes gestorben sind.



a.) BGC-Nr.65 li. III: 46 J.,♀ , Sz

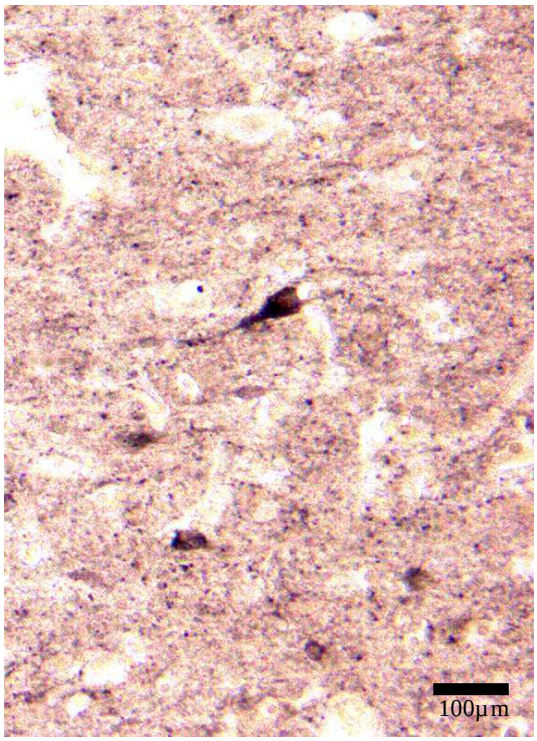


b.) BGC-Nr.26 li. III: 33 J., ♀ , Kontrolle

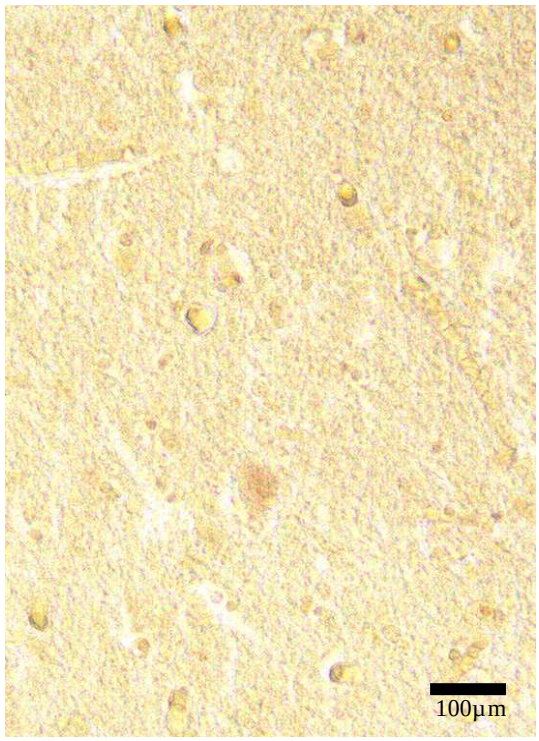


c.) BGC-Nr.142 li. III: 65 J., ♀, NSz

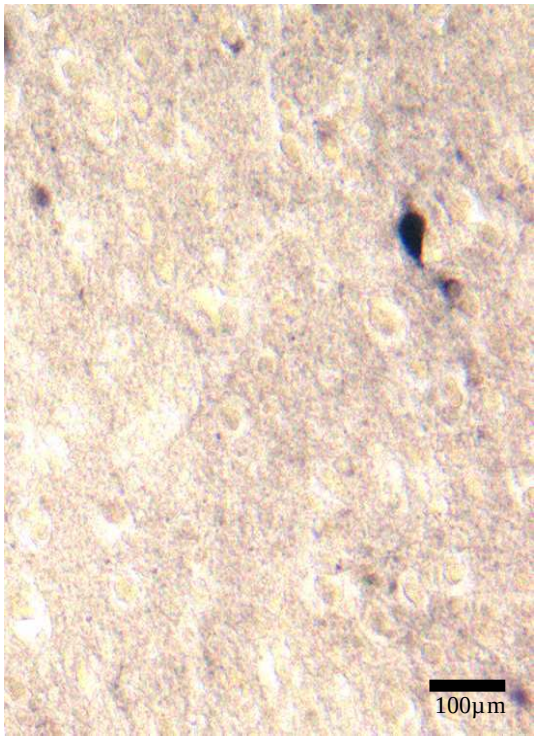
Abb.6: GAD-Immunhistochmie im entorhinalen Kortex a.) eines Patienten mit diagnostizierter Form einer Depression, der sich suizidiert hat, b.) einer Kontrollperson und c.) eines Patienten mit einer bekannten affektiven Störung, der eines natürlichen Todes gestorben ist.



a.) BGC-Nr.79 li. V: 26 J., ♀ , Sz

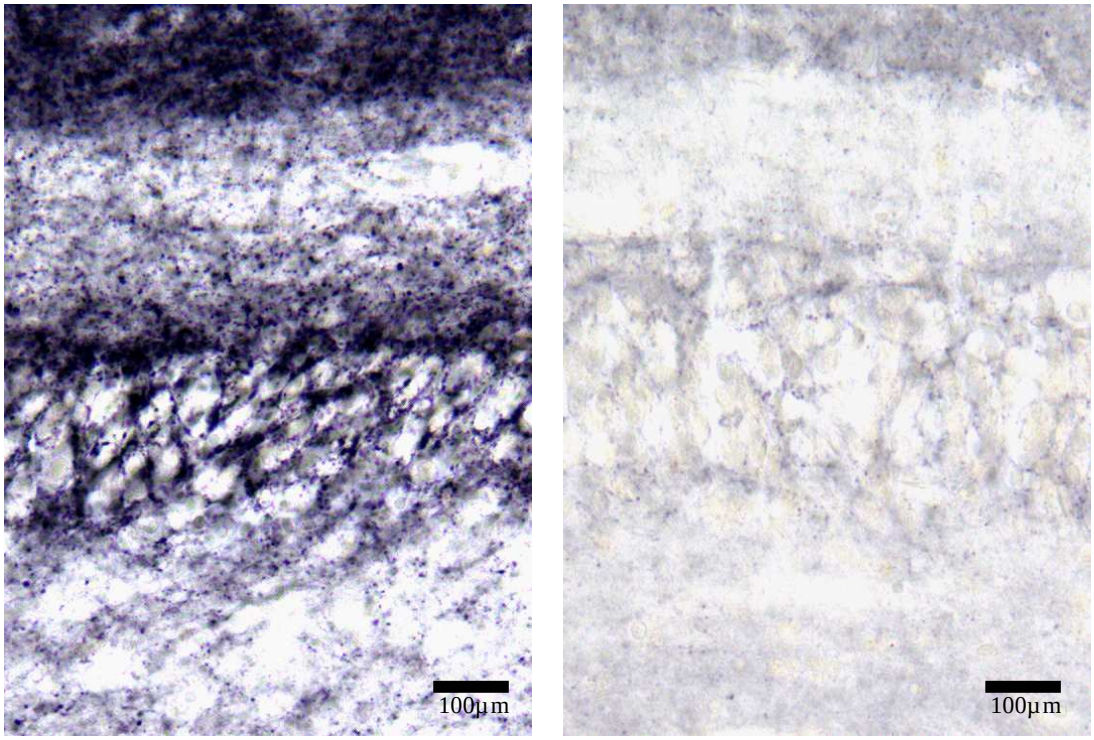


b.) BGC-Nr.52 li. V: 65 J., ♀ , Kontrolle



c.) BGC-Nr.98 li. V: 63 J., ♀ , NSz

Abb.7: GAD-Immunhistochemie in der Region des Gyrus dentatus bei Patienten mit einer diagnostizierten affektiven Störung, wobei a.) einer durch einen Suizid verstarb und b.) einer eines natürlichen Todes gestorben ist.



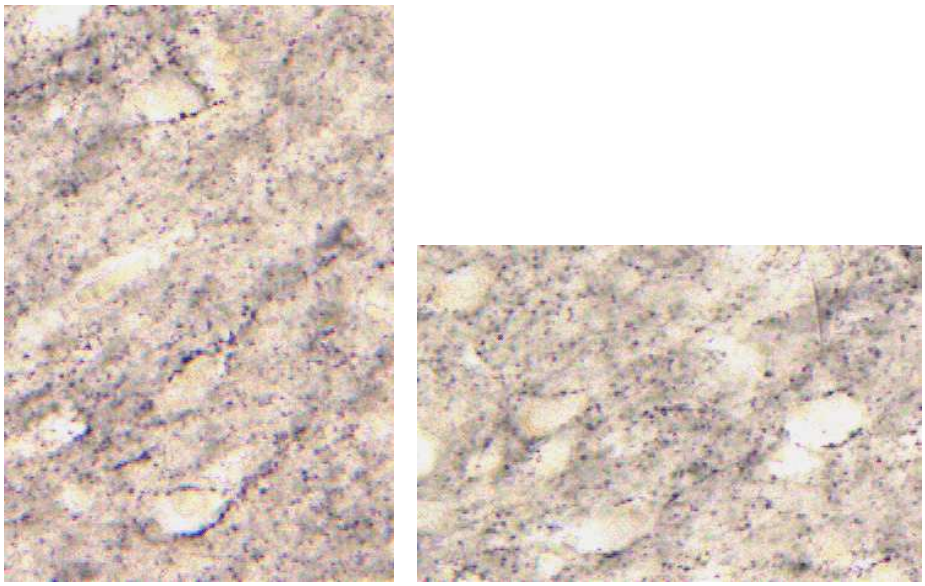
a.) BGC-Nr.61 re.: 42 J., ♂, Sz b.) BGC-Nr.105 re.: 62 J., ♀, NSz

3.3. Intrarater und Interrater

Die Intrarater-Korrelation wurde in dieser Statistik anhand einer Spearman-Rho-Korrelation durchgeführt. Bis auf die Schicht III und V des Anterioren Gyrus cinguli (III: $p = 0.104$; V: $p = 0.188$) gab es in allen Arealen signifikante bis hochsignifikante Werte ($0.000 \geq p \leq 0.037$).

Für die Untersuchung der Interrater –Korrelation wurde das gleiche Verfahren angewendet. Die Interrater-Korrelation wurde im Areal Gyrus temporalis superior durchgeführt. Für die linke Hemisphäre ergab sich eine $p = 0.285$, für die rechte eine Signifikanz von $p = 0.037$.

Abb.8: vergrößerter Ausschnitt aus der Schicht V des rechten ENT: GABA-rezeptive Neurone (BGL-Nr.: 67), die selber GAD-ir negativ sind.



4. Diskussion

In der vorliegenden Arbeit erfolgte die Bestimmung der Faserdichten von GAD-ir Fasern in solchen ausgewählten Arealen des menschlichen Gehirns, für die die Vermutung besteht, in der Pathogenese der affektiven Störungen und deren Untergruppen eine entscheidende Rolle zu spielen. Die Untersuchungen sollen dazu dienen herauszufinden, ob sich Unterschiede im Vorkommen der Glutamat-Decarboxylase im Gehirn zwischen den beiden großen Gruppen der affektiven Störungen und im Vergleich zu Vergleichsfällen ergeben.

Ziel war es, einen Beitrag zur Aufklärung der Pathologie der verschiedenen Krankheitsbilder aus dem Formenkreis der affektiven Störungen zu leisten, um daraus eventuell Therapieoptimierungen und mögliche neue Therapieansätze abzuleiten, die die soziale Integration und die Lebensqualität betroffener Patienten verbessern können.

4.1. Dichte der GAD-ir Fasern bei einer unipolaren und einer bipolaren Depression

Ein Hauptergebnis der vorliegenden Arbeit ist der Nachweis, dass in einigen cerebralen Regionen bei Patienten mit einer unipolaren Depression im Vergleich zu Patienten mit einer bipolaren Störung höhere Dichten an GAD-ir Fasern vorliegen. Auch Kontrollpersonen weisen im Mittel niedrigere Werte auf als unipolar depressive Patienten, jedoch in einigen Arealen signifikant höhere als Patienten mit bipolaren Störungen.

Bielau et al. veröffentlichten 2007 Daten zur Dichte von GAD-ir Neuronen im dorsolateralen präfrontalen Kortex, im Gyrus temporalis superior und im Hippocampus von Depressiven. Die Resultate dieser Arbeit zeigten eine höhere Neuronendichte GAD-ir Neurone bei Patienten mit einer Major Depression als bei Kontrollen und Patienten mit einer bipolaren Depression. Die Auswertung im orbitofrontalen Kortex ergab sogar höhere Dichten bei beiden Patientengruppen, verglichen mit den Kontrollpersonen. Die Ergebnisse dieser Arbeit lassen sich in Verbindung mit der verbreiteten Annahme eines GABA-Defizits bei affektiven Störungen nur schwer interpretieren – es sei denn, man unterstellt eine krankheitsbedingte Imbalanz zwischen der GABA und seinem synthetisierenden

Enzym GAD im Hinblick auf die Verteilung in den Zellkompartimenten GABAerger Neurone, die sich z. B. durch einen schleppenden Transport der GAD in die Fasern und zu den Terminalen (und damit einen Anstau in den Zellleibern) manifestieren könnte. Für diese Annahme sprechen Befunde der Gruppe um Benes (Benes et al., 2000). Diese Autoren demonstrierten im präfrontalen und anterioren cingulären Kortex bei bipolaren depressiven Patienten eine signifikant reduzierte Anzahl an GAD_{65}-ir Terminalen. Die Arbeiten von Benes (Benes et al., 2000) und Bielau (Bielau et al., 2007) lassen also Raum für die Vermutung einer Akkumulation von GABA in den Neuronen, verursacht durch eine verringerte Transportrate des Transmitters. Denkbar wäre außer einem gestörten Transport auch eine funktionelle Unterbrechung. Die Untersuchungen dieser Arbeit zeigen auffällige regionale Unterschiede im Hinblick auf die Dichte GAD-ir Fasern bei Patienten mit affektiven Störungen im Vergleich zu den Kontrollfällen. Im Bereich des OFC und des ACC konnten keine Unterschiede zwischen den einzelnen Patientengruppen oder im Vergleich zu den Kontrollen beobachtet werden, wohl aber im linken dorsolateralen präfrontalen Kortex. Dort konnte in den Schichten III und V eine signifikant geringere Dichte an GAD-immunpositivem Neuropil bei bipolar depressiven Patienten im Vergleich zu den mit Kontrollen nachgewiesen werden, in Schicht V auch signifikant niedriger als bei Patienten mit einer MDD.

Aus den Ergebnissen der vorliegenden Arbeit ergibt sich auf den ersten Blick kein Hinweis, der die Hypothese einer axonalen Transportstörung der GAD in GABAergen Neurone unterstützen würde. Es resultieren keine Verminderungen der immunpositiven Fasern, die einen Stau des Transmitter GABA in den Neuronen hinreichend erklären würden. Zu bedenken ist aber, dass die Fasern in ihrer Gesamtheit angeschaut wurden. Ergibt sich innerhalb der Fasern eine funktionelle Unterbrechung, so würde sich ein Überschuss an GAD vor der Stelle der Unterbrechung und ein Defizit dahinter zeigen. Möglicherweise gleicht sich dies in der Gesamtbilanz aus oder zeigt sogar ein erhöhtes Vorliegen von GAD immunreaktivem Material. Eine weitere Überlegung wäre, dass es bei der Transmitterausschüttung in den synaptischen Spalt zu Störungen kommt. Somit wäre ein Defizit an GABA denkbar, bei normalen oder erhöhten Werten für GAD in den Neuronen und Terminalen.

Kim et al. (2008) griffen an einem Patientengut, bestehend aus Kontrollpersonen,

schizophrenen und affektiv gestörten Patienten, strukturelle und zelluläre Veränderungen des präfrontalen Kortex auf und schauten mittels Microarrays nach Korrelationen zwischen diesen Abnormalitäten und damit zusammenhängenden Genen. Sie fanden zahlreiche Gene, die besonders an der Regulation biologischer Prozesse wie der Entwicklung des zentralen Nervensystems, des programmierten Zelltodes, aber auch an Transportvorgängen, wie des Vesikeltransportes in den Terminalen teilhaben.

Volumenmessungen im Bereich des orbitofrontalen Kortex erbrachten laut Cotter et al. (2005) kein einheitliches Ergebnis. Viele große Studien konnten keine Veränderungen in den Anteilen des OFC zeigen (z.B. Strakowski et al., 2002), einige sprechen von nachweisbarer Volumenreduktion des OFC (Lopez-Larson et al., 2002) und der Amygdala besonders bei BPD. Die Arbeit von Cotter et al. (2005) resultierte in dem Ergebnis einer verringerten Neuronengröße in verschiedenen Kortexschichten bei affektiv gestörten Patienten (BPD: I und tendenziell auch V, MDD: III). Eine zusätzliche Größenreduzierung der Pyramidalzellen der Schicht III des dorsolateralen präfrontalen Kortex konnte der Arbeitskreis um Kim (Kim et al., 2008) bei bipolar depressiven Patienten verglichen mit angepassten Vergleichsfällen und unipolar depressiven Patienten, aufzeigen.

Besteht eine Reduktion des Kortex zum einen und der Neuronengröße zum anderen, wäre eine kompensatorische Adaptation von GAD und daraus folgend ihres Produktes GABA denkbar. Es würde sich folglich ein Überschuss an GAD und GABA ergeben.

Die meisten der durchgeführten Studien zu diesem Themengebiet gehen von verminderten (Perry et al., 1977; Fatemi et al., 2005) oder unveränderten (Guidotti et al., 2000; Zhang & Reynolds, 2002; Cotter et al., 2002) GABAergen Parametern bei affektiven Störungen aus.

Die Ergebnisse der hier vorliegenden Arbeit, ebenso der von Bielau et al. (2007) müssen daher kritisch hinterfragt werden. Jedoch wurden bisher nur wenige Arbeiten durchgeführt, in denen die Konzentrationen von GAD_{65} im Gehirn gemessen wurden. Die meisten Studien wurden entweder auf die 67-Isoform ausgerichtet oder es wurden die Somata der Nervenzellen untersucht. Die Betrachtung der immunreaktiven Fasern in dieser Arbeit legt die Vermutung nahe, dass eher die kleinere der beiden Isoformen des Enzyms untersucht wurden, zumal der verwendete

Antikörper die GAD_{65} sehr viel besser als die GAD_{67} erkennt (s. Material und Methoden).

Die vorliegenden Studienergebnisse zu diesem Thema sind sehr uneinheitlich (referiert bei Kalkman & Loetscher, 2003). Einige Autoren gehen von geringen Schwankungen der GAD_{65}-Expression bei psychotischen Erkrankungen aus, andere hingegen von sehr großen Konzentrations-und Aktivitätsänderungen. Asada et al. veröffentlichten 1996 und 1997 Untersuchungen, die zeigten, dass Mäuse mit einem GAD_{67}-Defizit verminderte Spiegel an GABA im Hirn aufweisen. Im Gegensatz dazu löste derselbe Versuch mit der 65-Isoform an Mäusen keine Änderung des GABA-Niveaus aus. Daraus schlussfolgerten die Autoren, dass die 67-Isoform von GAD das wichtigere Enzym im Gehirn sei.

Costa et al. (2001) vermuteten auf Grund ihrer Ergebnisse, dass ein GAD_{67}-Defizit nicht durch die 65-Isoform ausgeglichen wird, sondern vielmehr jede ihre spezielle Lokalisation und vielleicht auch ihre eigene Funktion hat und sie nicht durch einen Regelmechanismus miteinander verbunden sind.

Diese Auffassung steht allerdings im Widerspruch zur Hypothese von Martin & Tobin (2000), die besagt, dass das inaktive Apo-GAD, welches hauptsächlich durch GAD_{65} gebildet wird, bei einem Mangel an GABA schnell hochreguliert werden kann, um das Transmitterdefizit auszugleichen.

Eine weitere Hypothese, die in den letzten Jahren immer mehr Befürworter gefunden hat, ist die „bipolar continuum theory“. Diese Theorie stellt die affektiven Störungen und die Schizophrenie nicht als getrennte Krankheiten dar, sondern als eine Art fließender Übergang von unipolarer Depression, bipolarer Depression zu den schizoaffektiven Störungen und schließlich der Schizophrenie (Möller H-J., 2003). Besonders die bipolaren Erkrankungen wurden in der jüngsten Vergangenheit immer wieder mit den Erkrankungen aus dem schizophrenen Formenkreis verglichen. Beide manifestieren sich im frühen Erwachsenenalter und gehen mit zum Teil schweren Beeinträchtigungen der Lebensqualität wie einer erhöhten Suizidalität einher. Co-Faktoren wie Substanzabusus treten in dieser Patientenpopulation häufiger auf als in der Allgemeinbevölkerung (Buckley P.F., 2008). Beide Krankheitsentitäten zeigen eine saisonale Häufung bei Winter- und Frühjahrgeborenen. Auf neuroanatomischer Ebene zeigten sich ebenfalls Gemeinsamkeiten wie zum Beispiel die Vergrößerung der Seiten- und des dritten Ventrikels. Konträr dazu zeigte die Amygdala bei den schizophrenen Patienten bilateral eine Volumenminderung, bei den bipolar

depressiven Erkrankten eine Volumenzunahme auf beiden Hemisphärenseiten (Möller H-J., 2003). Eine Hyperaktivität der Hypothalamus-Hypophysen-Nebennieren-Achse (HPA) wurde sowohl bei den affektiven Störungen (Pitchot et al., 2001) als auch bei Patienten mit einer Schizophrenie (Lammers et al., 1995) beschrieben. Bei schizophrenen Patienten erscheint jedoch der Grad der HPA-Dysfunktion weit geringer ausgeprägt zu sein als dies bei bipolaren Störungen der Fall ist (Lammers et al., 1995). Pitchot und seine Kollegen (2001) weisen darauf hin, dass eine Überfunktion der HPA-Achse zu kompensatorischen Abnormalitäten des serotonergen Systems führen könnte. Ebenso ist es wahrscheinlich, dass auch andere Neurotransmittersysteme dadurch verändert werden. Dies ist bei beiden Krankheitsentitäten wiederholt nachgewiesen worden.

Dass man sowohl bei der Schizophrenie als auch bei den affektiven Störungen von einer Vererblichkeit ausgehen muss, zeigten Zwillingsstudien. Die Konkordanzrate zwischen eineiigen Zwillingen war höher als die von zweieiigen Zwillingspaaren (Muir et al., 2008; Numata et al., 2008). Die Vererbung beider Krankheiten ist jedoch viel komplexer als ein einfacher mendelnder Erbgang. Vielmehr scheinen mehrere Gene, genomisches Imprinting und mitochondriale Vererbung mit beteiligt zu sein (Möller H-J., 2003).

Eine Arbeitsgruppe um Abdolmaleky (2008) geht von einem großen Einfluss der Umwelt auf das Auftreten beider Krankheiten aus. Epigenetische Faktoren wirken auf die DNA-Methylierung, welche dann die Genexpression ändert. Diese Änderungen können sich dann speziell bei den Menschen als problematisch gestalten, die durch ihre Genetik eine erhöhte Empfänglichkeit für eine Erkrankung aus dem schizophrenen oder affektiven Formenkreis besitzen.

Molekulargenetische Studien, die in den letzten Jahren durchgeführt wurden, suchten immer wieder nach Chromosomen, die eine genetische Verwandtschaftlichkeit von Schizophrenie und bipolaren Störungen unterstützen würden. Berrettini (2001) fand zwei Genorte, 18p11 und 22p11, die bei beiden Entitäten Veränderungen aufweisen. Auf dem langen Arm von Chromosom 13 liegt das Gen 72, welches ebenfalls als ein solches Kanditatengen gilt in der Pathophysiologie sowohl der Schizophrenie als auch der bei großen Formen der affektiven Störungen (Kvajo et al., 2008). In einer Arbeit von Muir et al. (2008) wird das Disrupted-in-Schizophrenia-1-Gen (DISC1) vorgestellt. Es entsteht durch eine Translokation zwischen Chromosom 1 und 11, t(1;11)(q42.2;q14.1). Durch die Translokation wird auf Chromosom 1 das Gen für

die Phosphodiesterase 4B (PDE4B) geschädigt. PDE4B ist unter anderem involviert in die Serotonin- und Noradrenalin-Neurotransmission. Die funktionstüchtige DISC1-PDE4B-Interaktion ist wichtig für die Regulation von cAMP, einem second Messenger, der Lern-, Gedächnisvorgänge und das Stimmungsbild mit beeinflusst (Numata et al., 2008). Eine Adaptation der cAMP-Transduktionskaskade als Antwort auf antidepressive Therapie muss angenommen werden (Numata et al., 2008).
Numata et al. (2008) wiesen eine signifikant höhere Expression von PDE4B in Leukozyten des peripheren Blutes von unipolar depressiven Patienten nach. PDE4B zeigt eine hohe Anreicherung im Blut und im Nervengewebe. Numata et al., 2008 sehen Wege PDE4B als Marker in der Pathophysiologie von MDD zu nutzen. Eine erhöhte Expression von mRNA in den Leukozyten des Blutes geht möglicherweise mit einem gesteigerten Metabolismus von Hirnzellen einher und kann als neuronale und genetische Probe in Studien von psychiatrischen Erkrankungen genutzt werden.

Klinisch scheint DISC1 ein Risikofaktor für die Entwicklung sowohl einer schweren affektiven Störung als auch einer Schizophrenie zu sein. Clapcote et al. führten 2007 Versuche an Mäusen durch, in dem sie durch chemische Mutagenese verschiedene Mutationen im DISC1-Gen hervorriefen. Unter einigen Mutationen zeigten die Mäuse depressionstypische Symptome, andere Mutationen waren mit Schizophrenie-ähnlichen Symptomen assoziiert.
DISC1-positive Neurone sind in hoher Anzahl in vielen Arealen im Gehirn zu finden, die involviert sind in die Pathologie beider Krankheitsentitäten (z.B. der hippocampale Gyrus dentatus). Man nimmt an, dass durch das Vorhandensein von DISC1 intrauterin eine gestörte Neuronenmigration im sich entwickelndem Gehirn stattfindet (Muir et al., 2008). Laut einer Arbeit von Kostovic´ et al. von 2007 werden GABAerge Intereurone im menschlichen Gehirn in der ventrikulären und subventrikulären Zone angelegt und wandern über zum Teil lange Distanzen in den Kortex ein. Je nach Zeitpunkt eines störenden Einflusses auf diese neuronale Migration kommt es zu schweren bis makroskopisch nicht wahrnehmbaren Fehlbildungen. Kostovic´et al. (2007) sieht diese fehlerhafte neuronale Migration als möglichen Bestandteil der Pathologie von psychiatrischen Erkrankungen. Eine gestörte Migration in die oberen Schichten des Kortex würde ein vermehrtes Auftreten von Neuronen und Neuropil in der Schicht III bis VI hervorrufen.

Angst et al. (1980) beschreibt ein leicht erhöhtes Morbiditäsrisiko für Schizophrenie (1,9%) und schizoaffektive Störungen (1,5%) unter Verwandten

ersten Grades von Patienten mit bipolaren Störungen. Zu ähnlichen Ergebnissen führte eine Studie an 1254 erwachsenen Verwandten von Patienten mit einer bekannten affektiven Störung und denen von gesunden Kontrollprobanden. Zusätzlich zu einer erhöhten Lebenszeitprävalenz von über 20% für alle Formen der affektiven Störungen, konnte auch eine Prävalenz von 37% für eine schizoaffektive Störung unter den Verwandten ersten Grades errechnet werden. Im Vergleich dazu betrug die Lebenszeitprävalenz für die Verwandten der Kontrollpersonen nur 7% (Gershon et al., 1982)

Durch die Annahme, dass die bipolaren Störungen und die schizophrenen Erkrankungen möglicherweise zu einem Formenkreis gehören, ergeben sich neue Therapiestrategien. So versucht man seit einigen Jahren die atypischen Neuroleptika in die medikamentöse Therapie der bipolaren Störungen einzubauen (Möller, 2003).

Unsere Resultate, die in dieser Arbeit gefunden wurden, stützen die Möglichkeit eines Formenkreises. Die Ergebnisse bezüglich einer unipolaren Depression zeigten einen höheren GAD-Anteil an den immunreaktiven Fasern im Vergleich zu den angepassten Vergleichsfällen. Schaut man aber die Areale an, die signifikant bei der unipolaren Depression verändert waren, wird man feststellen, dass die CA1-Region, der Nucleus dorsolaterale des Thalamus und die Schicht V des entorhinalen Kortex keine signifikanten Ergebnisse hervorbringt im Vergleich bipolare Störung und Kontrollprobanden. Die Untersuchung der Region des dorsolateralen präfrontalen Kortex wies ein signifikantes Defizit auf der Seite der Patientengruppe auf. Zu diesen Ergebnissen kamen wie oben schon erwähnt viele Studien und Arbeiten an schizophrenen Patienten.

Benes et al. (1996) untersuchten die Dichte der postsynaptischen $GABA_A$-Rezeptoren im präfrontalen Kortex von Schizophrenen. Es konnte eine erhöhte Dichte demonstriert werden. Nichts desto trotz ist die mRNA dieser Rezeptor-Subeinheit nicht signifikant verändert. Zusammenfassend lässt sich vermuten, dass auf Grund der verringerten Transmitterausschüttung an den Terminalen, postsynaptisch die jeweiligen Rezeptoren kompensatorisch hochreguliert werden. Ein Ausbleiben der Transmitterausschüttung würde ohne Regelmechanismen zu einem Rückstau von GABA führen. Durch postsynaptisches Fehlen des Transmitters wäre eine Aktivierung des Schlüsselenzyms der GABA-Synthese denkbar. Dies könnte ein erhöhtes Auftreten der beiden Isoformen von GAD in den Neuronen und den Fasern erklären. In wieweit Regelmechanismen in diesen Ablauf der

Transmittersynthese, des Transportes und der Ausschüttung von GABA greifen, ist jedoch bis heute unbekannt. Abi-Saab et al. veröffentlichten 1999 Daten, aus denen sich schließen lassen, dass Serotonin über den 5-HT_2-Rezeptor wirkend GABAerge Interneurone im präfrontalen Kortex aktiviert. Dies konnte auch für Dopamin mittels der D_2-Rezeptoren nachgewiesen werden (Grobin & Deutch, 1998). Über diesen Mechanismus ist eine koordinierte Regulation durch Serotonin und Dopamin denkbar, welche sich in einer veränderten Ausschüttung von GABA äußert.

Besteht ein Monaminmangel, wie in der Pathogenesse der affektiven Störungen angenommen, kommt es zu Änderungen in der Freisetzung des Transmitters.

Damit wäre eine erhöhte Nachweisbarkeit des Transmitters in den Fasern GABA-erger Neurone anzunehmen.

In Tierversuchen konnte die Theorie unterstützt werden, dass dopaminerge nigrostriatale Neurone die Aktivität von GABAergen Neuronen im Striatum regulieren. Segovia et al. (1990) setzten Läisonen an nigrostriatalen Neuronen und stellten im Verlauf der Studie fest, dass durch eine erhöhte Aktivität von GAD GABA vermehrt synthetisiert und ausgeschüttet wird. Sie geben an, dass man gleiches auch mit Hilfe einer Blockade der Dopamin-Rezeptoren durch chronische Behandlung mit Neuroleptika erreichen kann. Die striatale Aktivität von GAD nimmt zu. Ähnliche Ergebnisse zeigte eine Arbeitsgruppe um Lloyd (1977). Chronische Haloperidoleinnahme führte zu einer erhöhten GAD-Aktivität. Unter akuter Therapie mit Haloperidol oder Clozapin fand man jedoch eher verringerte Enzymaktivitäten.

In einer Arbeit von Benes et al. (1999) wird ebenfalls von einer inhibitorischen Wirkung durch Dopamin auf GABA und weitere Transmittersysteme im Gehirn ausgegangen. An Tieren wurde gezeigt, dass unter Bedingungen von Stress ein deutlicher Anstieg der Dopaminausschüttung verzeichnet werden kann und daraus folgend GABA vermindert aus den Terminalen ausgeschüttet wird. In dieser Konstellation kann man sich ein vermehrtes Auftreten von GABA in den Fasern vorstellen im Sinne eines Anstaus.

2002 erschien eine Arbeit von Molnar und Mitarbeitern, welche die Expression von GAD_{67} mRNA in unipolar und bipolar depressiven Patienten untersuchte. Patienten, bei denen eine unipolare Depression diagnostiziert worden ist, wiesen im Vergleich zu gesunden Vergleichsfällen keine signifikanten Unterschiede in der Expression dieses Enzyms auf. In der Untersuchung der bipolar depressiven Patienten zeigte sich

ein Trend in Richtung erhöhte GAD_{67} mRNA Expressionsniveaus in der Patientengruppe im Vergleich zu Kontrollpersonen.

Eine Studie an älteren Patienten, bei denen eine Schizophrenie diagnostisiert worden war, untersuchte die Expression von GAD mRNA (Dracheva et al., 2004). Dracheva und Kollegen berichteten über eine Erhöhung der Expression der mRNA beider Isoformen von GAD. GAD_{65}- und GAD_{67}-mRNA und Proteinkonzentration wurden mittels real-time PCR und Immunoblot gemessen. Das Hirngewebe stammte aus Arealen des dorsolateralen präfrontalen Kortex (DLPFC) und des okzipitalen Kortex von älteren Personen mit einer Schizophrenie und angepassten Vergleichsfällen. Diese Gruppe konnte in nachfolgenden Arbeiten diese Befunde wiederholt replizieren und durch Arbeiten mit Microarrays von Hakak et al. (2001) und Arbeiten mit der GAD-Aktivität durch Gluck et al. (2002) untermauern.

Als mögliche Erklärung für diese Ergebnisse könnte eine erhöhte Expression in späteren Lebensphasen und/oder nach langjähriger Krankheitsdauer dienen, die eine unveränderte Expression der GAD mRNA in früheren Krankheitsepisoden zu kompensieren versucht. Interessanterweise haben Bielau et al. (2007) eine positive Korrelation zwischen der Dichte der GAD-ir Neuronen und der Krankheitsdauer zeigen können. Nimmt man an, dass die langjährige Krankheitsdauer GAD und damit GABA beeinflussen, muss auch die Rolle eines medikamentösen Einflusses durch Neuroleptika, Antidepressiva und phasenstabilisierender Medikamente untersucht werden, denn ausgehend von der Krankheitsdauer, lässt sich vermuten, dass besonders Patienten mit mehreren Erkrankungsepisoden während ihrer Erkrankung je nach Schwere einer stimmungsstabilisierenden Medikation ausgesetzt wurden. Dies kann möglicherweise zu Veränderungen in der Transmittersynthese führen und muss daher kritisch hinterfragt werden.

Dracheva et al. (2004) konnten tatsächlich einen Einfluss psychotroper Medikation auf die GADmRNA-Expression zeigen. Ähnliches ergab sich auch in den Untersuchungen durch Bielau et al. (2007) für die immunhistochemisch detektierbare Expression des GAD-Proteins. Es wurde eine positive Korrelation nachgewiesen zwischen Dichte der GAD-ir Neuronen und einer über die letzten 90 Tage vor dem Todeseintritt eingenommenen Dosis an antidepressiver Medikation im rechten Gyrus temporalis superior von affektiv gestörten Patienten. Sanacora et al. (2002) und Bhagwagar et al. (2004) wiesen ebenfalls eine okzipital erhöhtes GABA-Niveau bei Patienten mit affektiven Störungen unter selektiven Serotonin-Reuptake-Hemmer

(SSRI) nach. Sanacora und Mitarbeiter untersuchten 1999 unmedizierte Patienten einer Major Depression auf die okzipitalen GABA Level und fanden im Vergleich zu psychisch Gesunden verringerte Konzentrationen des Transmitters.

Ähnliche Daten wurden durch Todtenkopf & Benes (1998) erhoben. Patienten, bei denen keine Medikation zum Untersuchungszeitpunkt vorlag, wiesen die niedrigsten GAD_{65}-Werte auf im Vergleich mit angepassten Vergleichsfällen und Patienten, die Medikamente zeitnah eingenommen hatten.

Aus den Daten von Sanacora et al. (2002) sind sowohl die Konzentrationen vor Therapiebeginn als auch die nach Behandlungsabschluss zu entnehmen. Überraschenderweise sind bei den Patienten mit den niedrigsten initialen Konzentrationen an GABA abschließend die höchsten Transmitterkonzentrationen messbar. Bei nachgewiesenen hohen anfänglichen Niveaus konnten im Gegensatz derartige Veränderungen der okzipitalen GABA-Konzentrationen nicht nachgewiesen werden. Dies könnte einen ceiling-Effekt andeuten oder ein Hinweis auf die Existenz unterschiedlicher Untergruppen bei Patienten mit Depressionen sein. Sanacora und Mitarbeiter wiesen in einer späteren Arbeit mit demselben Forschungsansatz eine Erhöhung der total okzipitalen GABA-Konzentration durch Elektrokrampftherapie (ECT) nach (Sancora et al., 2002).

Bei der vorliegenden Arbeit konnte eine Auswirkung in Form einer negativen Korrelation durch die Einnahme von Lithium auf die Patientengruppe aufgezeigt werden. Neuroleptika, die in den letzten 28 Tagen vor Todeseintritt gegeben wurden, korrelieren negativ mit den Faserdichten der CA1-Region, des ENT, GD und MD.

Unter einer Therapie mit Antidepressiva konnte nur ein kurzfristiger Einfluss positiver Art innerhalb der 7 Tage Dosisgabe vor Todeseintritt in der CA1-Region dokumentiert werden. Es muss davon ausgegangen werden, dass die Dichten der GAD-ir Fasern unter der Therapie in diesem Areal ansteigt. Vergleicht man die Ergebnisse der CA1-Region mit diesen Daten, so ist festzustellen, dass möglicherweise bei Patienten mit einer unipolaren Depression im Gegensatz zu Patienten mit einer bipolaren Störung die Auswirkung der Antidepressivaeinnahme größer ist.

Damit konform gehende Ergebnisse erzielten auch Kaiya et al. (1982). Sie untersuchten die Plasma-GAD bei unmedizierte Patienten mit einer Schizophrenie und Patienten, die mit einem Neuroleptikum eingestellt waren. Die unbehandelten Patienten wiesen - verglichen mit Kontrollen - keine nennenswerten Unterschiede in

ihrem GAD-Niveau auf. Bei den therapierten Patienten zeichnete sich eine Erhöhung von GAD im Plasma ab. Andererseits wurden in dieser Arbeit auch Patienten mit einer affektiven Störungen untersucht. Im Vergleich mit psychisch gesunden Probanden konnte bei den Patienten mit einer Major Depression signifikant niedrigere GAD-Aktivität im Plasma gemessen werden. Hierzu ist aber festzuhalten, dass vor allem Patienten ohne medikamentöse Therapie untersucht worden sind. Die Patienten mit einer diagnostizierten bipolaren Störung wurden fast alle mit Lithium behandelt. Trotzdem wurden auch hier erniedrigte Plasma-GAD-Aktivitäten gemessen, die noch deutlich signifikanter waren als die der unmedizierten Patienten einer unipolaren Depression.

Diese negative Korrelation dieser Veröffentlichung von Kaiya und Kollegen (1982) deckt sich mit den Ergebnissen der hier vorliegenden Arbeit.

Lithium gilt auch heute noch als der „Goldstandard“ unter den phasenstabilisierenden Medikamenten (Bauer & Mitchner, 2004) in der Therapie bipolarer affektiver Störungen. Über den genauen Wirkmechanismus von Lithium ist man sich weitgehend im Unklaren. Grahame-Smith and Green (1974) konnten nachweisen, dass die Hyperaktivität von Ratten, welche mit Lithium behandelt worden waren, einer gesteigerten Wirksamkeit von serotonergen (5-HT) Neuronen geschuldet werden muss. Eine Kurzzeittherapie mit Lithium erhöht die 5-HT-Neurotransmission, wahrscheinlich durch sein Wirken an präsynaptischen 5-HT-Terminalen (Blier & de Montigny, 1985), aber auch durch einen Effekt an einer Untereinheit des postsynaptischen 5-$HT_{1\alpha}$-Rezeptors (de Montigny & Blier, 1992).

Greift man nun den theoretischen Ansatz wieder auf, dass Serotonin in das GABAerge System modulieren eingreift (Dewey et al., 1993a; Gillet et al., 1985), wäre der daraus resultierende Schluss, dass sich Lithium indirekt auf die Gammaaminobuttersäure auswirkt. Möglicherweise sind serotonerge Neuronen in der Lage, die Ausschüttung des Transmitter GABA zu hemmen, welcher Effekt durch Lithium positiv verstärkt werden könnte.

Foutoulakis et al. (2008) beschreibt im Gegenzug dazu eine Induktion von Aktionspotentialen GABAerger Interneurone durch Lithium und damit eine erhöhte synaptische Übertragung auf GABA-rezeptive Neurone (Abb.8). Sie nehmen an, dass Lithium die Neurogenese von GABA-positiven Neuronen fördert und damit modulierend in die Neurotransmission von GABA eingreift. Um diese

Fragestellungen weiter verfolgen zu können, sind weitere Studien notwendig, da es zu diesen Aspekten bisher wenige, teils inkongruente Arbeiten existieren.
Byne et al. konnten 2008 in einer Arbeit zeigen, dass durch eine Lithiumexposition über einen längeren Zeitraum die Dichte und Anzahl von Oligodendrozyten in beiden anterioren Thalamuskernen ansteigt.

Für einige andere Antikonvulsiva (z.B. Divalproex) konnten Erhöhungen des Transmitter-GABA nachgewiesen werden. Es wird ein antimanischer und antiagitierter Effekt vermutet ohne jedoch eine Depression zu induzieren (Goldberg, 2007). Pasquini et al., 2007 untersuchten die Effektivität der Kombination eines SSRI mit einem antikonvulsiv wirkenden Medikament in der Therapie von Patienten mit einer unipolaren Depression und einer prominenten dysphorischen Stimmung. Es wurde eine signifikante Verbesserung in der Symptomatik dieser Patienten beobachtet. Dieser Effekt könnte durch Aktionen des Antikonvulsivum erklärbar sein, welche an den Symptomen Aggression und Stimmungsaktivierung ansetzten. Nachweislich erhöhen beide Medikamentenklassen das Niveau von im Gehirn messbaren, hauptsächlich inhibitorisch wirkenden Transmitter GABA (Sanacora et al., 2002; Goldberg, 2007). Inwiefern dieser Umstand eine Rolle für die Effektivität dieser Medikamente spielt, ist bisher nicht abschließend geklärt und bedarf weiterer Untersuchungen.
Um die Daten genauer überprüfen zu können, wäre eine differenziertere Untersuchung des Medikamenteneinflusses nötig. Die Patienten sollten nach den Diagnosen unipolarer und bipolarer Störungen aufgespalten werden. Wünschenswert wäre eine noch detailliertere Gliederung in die einzelnen Untergruppen der affektiven Störungen. Dieser Ansatz war auf Grund der zu geringen Fallzahlen im Rahmen der vorliegenden Arbeit allerdings nicht realisierbar.
Eine weitere Frage, die sich stellt, ist: Können Medikamente, welche für die Therapie der affektiven Störungen eingesetzt werden, bei ihrer Einnahme Hypomanie, Manie, eine gemischte Manie oder andere gemischte Zustände induzieren? Es gibt mehrere Hinweise dafür, dass Antidepressiva als Klasse in der Lage sind, hypomanische, manische und gemischte Zustände bei Patienten mit bipolarer Störung hervorzurufen (Henry & Demotes-Mainard, 2003; Goldberg & Truman, 2003). Dies konnte für alle Antidepressiva, für alle Übergänge (Induktion von hypomanischen Symptomen; hypomanischen, manischen und gemischten Episoden, erhöhte Rate an Rapid Cycling) nachgewiesen werden, ebenso für Personen jeden Alters und das komplette

Spektrum der bipolaren Störungen (Mc Elroy, 2007). Ins Besondere Patienten mit einer Erkrankung aus dem bipolaren Spektrum, die mit antidepressiver Monotherapie ohne phasenstabilisierende Medikation therapiert werden, weisen einen gesteigerten Wechsel an depressiven und hypomanischen/ manischen Episoden auf (Rihmer et al., 2008). Dies könnte eine Therapieresistenz bedingen, eine erhöhte Schwere der Depression hervorrufen und schlussendlich in ein erhöhtes suizidales Verhalten führen.

Im Gegensatz dazu konnten Gijsman et al. (2004) in einer Untersuchung an 1088 Patienten, die auf Grund einer bipolaren Störungen eine kurzzeitige Behandlung mit Antidepressiva erhielten, keine Unterschiede in der Induktitionsrate zwischen Antidepressiva und Placebo feststellen. Allerdings wurde eine 10% höhere Rate demonstriert, vergleicht man tricyclische Antidepressiva (TCA) mit anderen antidepressivwirkenden Substanzklassen. Passend dazu veröffentlichte Martin et al. (2004) eine Arbeit, in der das Risiko eines Überganges unter Behandlung mit TCA als erhöht (9,3%/a) und eine Behandlung mit SSRI als erniedrigt (7,5%/a) galt, verglichen mit anderen Antidepressivern (8,7%/a).

Angst et al. führte 2002 die bisher einzige prospektive Langzeitstudie durch, um den Zusammenhang zwischen antidepressiver Behandlung und Mortalität bei bipolaren Störungen zu evaluieren. Es wurde ein reduziertes Suizidrisko bei bipolar und unipolar depressiven Patienten nachgewiesen unter der Kombination von Antidepressiva und / oder Antipsychotikern mit Lithium.

Abschließend kann man annehmen, dass besonders die bipolaren Störungen mit einer erhöhten Suizidalität assoziiert sind, und dass Antidepressiva, besonders als Monotherapie verabreicht, mit einem erhöhten Suizidrisiko und mit einer erhöhten Rate an Übergängen in einen manischen Zustand verbunden sind.

Des Weiteren ist die GABA-Synthese nachweislich nicht nur pharmakologisch, sondern auch physiologisch durch verschiedene Einflüsse manipulierbar (Martin & Rimvall, 1993). Bowers et al., 1998 konnte eine unterschiedliche Expression der beiden Isoformen von GAD beobachten, die sich abhängig von akuten und chronischem Stress darstellten. Injiziert man Ratten Corticosteroide (Stone et al., 2001), lässt sich innerhalb von 24 Stunden nach der letzten Injektion ein Abfall der mRNA von GAD_{67} verzeichnen. Dies ist nicht der Fall für GAD_{65} mRNA. Fünf Tage nach Abschluss der Injektionen normalisieren sich die Werte für die 67-Isoform, die für 65-Form sind jedoch merklich erhöht.

Ebenso konnte gezeigt werden, dass die Expression von GAD_{67} mRNA auf Umweltreize mit einem Abfall im präfrontalen Kortex reagiert (Guidotti et al., 2000). Soghomonian & Martin (1998) und Benson et al. (1994) sehen darin einen möglichen Ansatzpunkt für Studien zur Genregulation.

Zusätzlich geht der Arbeitskreis um Kaiya in der Studie von 1982 davon aus, dass das GABAergen Transmittersystem nicht nur mit dem von Dopamin und Serotonin, sondern auch mit dem System von Noradrenalin und Acetylcholin interagiert. Veränderungen in diesem System wirken sich also auch auf die anderen Transmitter aus. Dies wäre ein weiterer Punkt, der näher untersucht werden müsste, um die mögliche Pathogenese der affektiven Störungen weiter aufklären zu können.

Eine sehr interessante Studie wurde von Martin et al. (2003), aufbauend auf einer Arbeit von Martin et al. (2000), durchgeführt. Es wurde die Stabilität der beiden GAD-Enzyme postmortem untersucht. Beide Formen werden sehr schnell durch Proteolyse in eine kleinere Form, 55-57kDa Form abgebaut. Fragmente mit kleineren Molmassen konnten nicht beobachtet werden. In den ersten 24h nach Eintritt des Todes werden 90% der initialen GAD-Menge in die kleinere Form umgewandelt, wobei GAD_{67} schneller abgebaut wird als die 65-Isoform. Dabei verläuft die Proteolyse der GAD in verschiedenen Regionen unterschiedlich schnell.
Martin et al. (2003) nutzen ein Antiserum für die Markierung von GAD, welches an das Carboxyl-Ende beider Isoformen bindet. Dieses Ende ist zu 73% identisch bei den 65- und 67-Formen. Am C-Ende der Enzyme befinden sich zum einen das aktive Zentrum, aber auch zwei Bindungsstellen für zwei Pyridoxal-Phosphate. Es wurde herausgefunden, dass dieses Antiserum auch an $GAD_{55\text{-}57}$ bindet. Es lässt sich daraus die Schlussfolgerung ziehen, dass GAD am Amino-Ende abgebaut wird. Das N-Ende beider Isoformen ist zu 23% identisch und vor allem verantwortlich für die Bindung an Membranen. Dies macht verständlich, warum sich die Isoformen in ihrer Fähigkeit der Membranbindung stark unterscheiden. Warum GAD_{65}, welches eher in Terminalen der GAD-ir Neuronen zu finden ist, eine viel höhere Assoziation zu Membranen aufweist als GAD_{67}, welches für die Bindung an Membranen auf die 65-Form angewiesen ist.
80-100% der GAD-Aktivität können auch nach Abbau zur kleinen GAD-Form noch nachgewiesen werden. Dies lässt die Vermutung zu, dass GAD seine aktive Konformation auch noch Tage nach Hydrolyse der N-Domäne behält. Die $GAD_{55\text{-}57}$ wird sehr viel langsamer abgebaut als das intakte Enzym.

In beiden Arbeiten (Martin et al., 2000; Martin et al., 2003) wird die unterschiedliche Affinität der beiden Isoformen zu ihrem Co-Faktor Pyridoxal-P angesprochen. Die Bindungsstelle für den Co-Faktor ist bei beiden Formen gleich aufgebaut und der Grund für die unterschiedliche Affinität muss in einer kleineren, strukturell nicht verändernden Modifikation begründet sein.

GAD_{67} ist zu fast 100% mit Pyridoxal-P gesättigt und kann durch diesen nicht reguliert werden. Die 65-Form liegt wie schon erwähnt zu 50% in der inaktiven apoGAD-Form vor und wird erst durch die Bindung an Pyridoxal-P in die aktive holoGAD-Form überführt, wenn eine zusätzliche Synthese von GABA von Nöten ist. Die Konversion von der apo-Form in die aktive Enzymform ist ein komplex regulierter Prozess mit einer großen Conformationsänderung von GAD. Die Notwendigkeit der Komplexität des Vorgangs und warum beide Isoformen von GAD sich in der Hinsicht so unterscheiden ist bis dato noch nicht hinreichend geklärt. GAD_{67} bildet, wie schon erwähnt, den cytoplasmatischen Pool von GABA. Das lässt die Vermutung zu, dass dieser in engem Maße konstant gehalten werden muss.

Der Transmitterpool wird von GAD_{65} gestellt. Durch Stimulation wie erhöhte neuronale Aktivität wird die Synthese von GABA erhöht (Kaufmann et al., 1991). Dazu passt auch, dass das Enzym unter normalen Umständen nur mit einem geringen Teil seiner Kapazität arbeitet, bei einem Mangelzustand aber schnell hochreguliert werden kann und der Reservepool schnell in eine aktive Enzymform überführt werden kann.

Die Bindung von des inaktiven GAD an Pyridoxal-P und die Umwandlung in holoGAD ist ein wichtiger Regulator der Enzymaktivität, dies konnte sowohl in vitro als auch in vivo gezeigt werden (Kaufmann et al., 1991). Was würde passieren, wenn ein Mangel an Pyridoxal-P auftritt und eine Umwandlung in ein aktives Enzym nicht mehr möglich ist? Würde die Menge an apoGAD kompensatorisch hochreguliert werden? Würde ein Mangel an GABA auftreten? Gibt es Ausweichmechanismen?

Mit dem Wissen um den postmorten Abbau von GAD ist es entscheidend, welches Antiserum verwendet wird und an welchen Terminus die Antikörper binden. Studien mit eventueller Bindung an den N-terminalen-Proteinabschnitt ergeben dem zu Folge eine viel niedrigere Dichte an GAD. Da angenommen werden muss, dass der Abbau bei Patienten und Kontrollen zeitlich ungefähr gleich verläuft, wird das an den Resultaten im Gruppenvergleich möglicherweise nichts ändern. Für den Vergleich der eigenen Resultate mit denen anderer Studien ist die Kenntnis dieser

Zusammenhänge aber relevant. Des Weiteren wäre es wünschenswert zu wissen, ob inaktiviertes GAD ebenso markiert wird wie aktives? Schon vor dem Hintergrund, dass GAD_{65} zu 50% inaktiviert vorliegt.

Der in dieser Arbeit verwendete monoclonale IgG-Antikörper gegen $GAD_{65/67}$ bindet allerdings an den Carboxyl-Terminus der beiden Isoformen und ist daher nicht durch den Abbau von GAD, beginnend am aminoterminalen Ende, gestört. Daraus resultiert, dass auch die Enzyme, deren N-terminaler Proteinabschnitt postmortal nicht mehr detektierbar ist, immunhistochemisch markiert werden.

4.2. Dichte der GAD-ir Fasern bei depressiven Suizidenten und Nicht-Suizidenten

Die Resultate dieser Studie brachten signifikante Unterschiede in der $GAD_{65/67}$-ir Neuropil-Dichte zwischen depressiven Suizidenten, depressiven Nichtsuizidenten und Kontrollpersonen bilateral im ENT, GD und CA1. Für das Areal des DLPFC konnte ein signifikantes Ergebnis im Gruppenvergleich nur in der Schicht V festgestellt werden. Keine Unterschiede fanden sich im ACC, im OFC und in den untersuchten limbischen Kerngebieten des Thalamus, bis auf den rechten mediodorsalen Kern.

Eine gängige Hypothese zum Suizid nimmt an, dass ein verringerter Metabolismus von Serotonin assoziiert ist mit einem erhöhten Risiko für einen Selbstmord (Maris, 2002). Die Vermutung eines verringerten Serotoninumsatzes wirft die Frage auf, ob bei serotinergen Neuronen von suizidgefährdeten Individuen eine Hypofunktion vorliegt, verglichen mit Personen ohne suizidalem Verhalten.

Aus Arbeiten von Dewey et al. (1993a) und Gillet et al. (1985) lässt sich vermuten, dass Serotonin sowohl einen steuernden Einfluss auf das GABAerge System über eine Modulation des Transmitters GABA als auch einen regulierenden Einfluss auf das cholinerge System ausübt.

Suizidales Verhalten kann sich klinisch in verschiedenen Facetten zeigen wie Lebensmüdigkeit, Wunsch nach dem Tod, Suizidpläne, Suizidversuche oder vollendetem Suizid (Bielau et al., 2005). Denkbar ist auch, dass Opfer eines vollendeten Suizides einen biologischen Hintergrund zeigen, welcher sich von

Individuen mit Suizidgedanken, aber ohne akute Gefahr der Ausführung eines Versuches, unterscheiden (Muller-Oerlinghausen & Roggenbach, 2002).

Beides, vollendeter und versuchter Suizid sind nicht ungewöhnlich im Auftreten bei Patienten mit affektiven Störungen, ebenso bei anderen psychiatrischen Krankheitsbildern, jedoch ausgesprochen selten bei Personen ohne psychiatrischen Hintergrund (Zalsman et al., 2006).

Sowohl für Patienten mit MDD als auch bei BPD lässt sich ein bis zu 20-fach erhöhtes Suizidrisko eruieren (Tondo et al., 2008). Die meisten Studien auf diesem Gebiet ergaben für Patienten mit einer bipolarer Störung ein höheres Lebenszeitrisiko für einen Selbsttötungsversuch als für Patienten mit einer unipolaren Depression (Chen & Dilsaver, 1996; Kessler et al., 1999, Tondo et al., 2008). In der Tat führen 25-50% der bipolaren Patienten mindestens einmal in ihrem Leben einen Suizidversuch durch (Jamison, 1986).

Eine neuere Studie auf Grundlage des Vietnam - Ära - Zwillings-Registers konnte verschiedene quantitative Einflüsse durch Genetik und Umweltfaktoren auf das Suizidverhalten, Suizidgedanken und Suizidversuche ausmachen (Fu et al., 2002). Dies unterstützt die Annahme, dass verschiedene biologische Substrate verantwortlich sind für einerseits Suizidgedanken und andererseits Ausführung eines Suizides.

Monkul et al. veröffentlichte 2007 eine MRI-Scan-Studie an Suizidpatienten mit einem oder mehreren dokumentierten Suizidversuchen. Im Vergleich zu gesunden weiblichen Kontrollpersonen wiesen diese im orbitofrontalen Kortex bilateral eine verringerte graue Substanz auf. Das Volumen der rechten Amygdala der Suizidpatienten war im Gegenzug jedoch erhöht. Bei Patienten mit einer Major Depression ohne Suizidrisiko konnte keine Differenz verglichen mit den Kontrollen festgestellt werden. Ebenfalls konnte man nachweisen, dass ein niedrigeres Level ventromedialer Aktivität mit einem suizidalem Verhalten und einem vollendetem Suizidversuch assoziiert ist.

Der orbitofrontale Kortex und die Amygdala sind beides wichtige Regionen für ein zielgerichtetes Verhalten, für die Beurteilung von Situationen und für Entscheidungsfindung. All diese Eigenschaften sind bei Depressiven und vor allem denen mit erhöhtem Suizidrisiko meist gestört. Patienten mit Läisonen in einer der beiden Regionen weisen eine höhere Impulsivität auf und sind oft nicht in der Lage ihr Verhalten der Situation anzupassen. Das Fazit, was die Arbeitsgruppe um Monkul

daraus ziehen, ist, dass Patienten mit einer Suizidversuch-Anamnese deutlich mehr strukturelle Veränderungen im Gehirn aufweisen als Patienten ohne Suizidrisiko, einen ausgepägteren Phenotyp der Erkrankung.

Die Konstanz der Ergebnisse der Dichtemessungen von GAD in den Neuronen und der GAD-Neuropil-Dichte lässt hier ebenso die Vermutung zu, dass es intraneuronal oder an den Terminalen zu Störungen des Transports oder der Ausschüttung von GABA kommt (Gos et al., 2009)

In der vorliegenden Arbeit wurde untersucht, inwieweit sich Unterschiede im Vorkommen von GAD ergeben, wenn man Patienten, die durch einen Suizid starben mit angepassten Vergleichsfällen und Patienten ohne suizidales Verhalten vergleicht.

Es wurden in den meisten der untersuchten Areale sehr einheitliche Ergebnisse demonstriert. Es zeigte sich, dass Patienten, die durch einen Suizid starben, signifikant höhere GAD-ir Faserdichten aufweisen als Depressive, die sich nicht suizidierten. Die Vergleichsfälle lagen mit ihren Faserdichten zwischen diesen beiden Patientengruppen. Dies bedeutet, dass Patienten mit einer affektiven Störung ohne Hinweise auf suizidales Verhalten in Bezug auf angepasste Vergleichsfälle ein Defizit an GAD-ir Neuropils aufwiesen.

Bielau et al. (2005) konnten bei depressiven Patienten ohne suizidales Verhalten ebenfalls ein Transmitterdefizit im noradrenergen und serotonergen System feststellen. Interessanterweise ergaben sich für Suizidenten aber keine Defizite in den Transmitterkonzentrationen im Vergleich zu untersuchten Kontrollpersonen. Es zeigte sich eher eine Tendenz zur Überfunktion. So wie das auch in der vorliegenden Arbeit mit den GAD-ir Fasern der Fall war.

Die Ergebnisse von Liu et al., die 2006 vorgestellt wurden, decken sich mit den Resultaten der Arbeit in der Region des ACC. Sie dokumentierten im anterioren Gyrus cinguli keine Unterschiede in der Dichte GAD-ir Neuronen und –Terminalen zwischen Kontrolpersonen und Suizidenten. In der vorliegenden Arbeit konnte in der selbigen Region ebenfalls keine Unterschiede nachgewiesen werden. Palomero-Gallagher et al. (2008) beschreiben für den subgenualen Part des ACC die Möglichkeit einer selektiven Vulnerabilität bezüglich einer Depression. Für den prägenualen Teil des anterioren Gyrus cinguli, wie er in der hier vorliegenden Arbeit untersucht worden ist, konnten bisher keine Veränderungen mit affektiven Störungen assoziiert werden.

Jedoch sollte bei der Einschätzung der Untersuchungen von Liu und Kollegen (2006) beachtet werden, dass nur eine geringe Fallzahl zur Verfügung gestanden hat. Das Geschlechterverhältnis bei den Kontrollen betrug 10 Männer und 1 Frau und im Gegensatz dazu bei den verwendeten Suizidpersonen 2 Männer zu 4 Frauen. Dies könnte die Statistik beeinflussen und die Ergebnisse verfälschen. Auch muss kritisiert werden, dass auf Einnahme von Medikamenten und deren Einflüsse in dieser Arbeit nicht eingegangen wird. Dass antidepressive oder antimanisch-depressive Therapeutika zu Beginn einer Behandlung die agitierte Komponente lindert und erst verzögert stimmungsstabilisierend wirken, muss als Erklärung in Betracht gezogen werden. Möglicherweise funktioniert dieser Mechanismus über einen Ausgleich des Monoaminmangels oder über eine überschießende Produktion und Ausschüttung von GABA, zu dessen Synthese GAD vermehrt benötigt und daher vermehrt in der Proteinbiosynthese produziert wird.

In der hier vorliegenden Statistik wurde - soweit dies mit den vorhandenen Fallzahlen und hinterlegten Informationen möglich war - auf die Verabreichung von Antidepressiva, Neuroleptika, Benzodiazepine und phasenstabilisierende Medikation (Lithium) eingegangen. Die Analyse des medikamentösen Einflusses auf Suizidenten und Nicht-Suizidenten zeigte eine negativ Korrelation von Lithium mit den Daten der suizidierten Patientengruppe im DLC und des rechten ACC. Für Neuroleptika ergab sich im DLC eine geringe negative Korrelation mit der Faserdichte. Ebenfalls konnte eine negativ Korrelation einer Dosis Antidepressiva über 90 Tage gegeben mit der Dichte des immunreaktiven Neuropils im DLC, CA1 und des laterodorsalen Thalamuskerns festgestellt werden. Den größten Einfluss neben Lithium wiesen Benzodiazepine auf. Die negative Korrelation im ACC und DLC war hochsignifkant. Diese Studie ist hinweisend auf den GABA-regulierenden Einfluss durch psychotropische Substanzen, insbesondere durch Benzodiazepine und phasenstabilisierende Medikamente wie Lithium (Gos et al., 2009). Die Korrelationen zeigten sich vor allen in Arealen, in denen sich keine Unterschiede der Neuropildichte gezeigt hatten. Dies legt die Vermutung nahe, dass die Resultate der Korrelationsüberprüfung eine Konsequenz der verabreichten Medikamente sind.

Darauf aufbauend muss man annehmen, dass die erhöhten Neuropildichten, die sich in dieser Studie ergaben assoziiert sind mit dem Suizid einer Person und nicht mit seinen Medikamenten, die er vor seinem Suizidversuch eingenommen hat.

Die Faserdichte vermag durch Antidepressive oder phasenstabilisierende Medikation wie Lithium erniedrigt zu werden. Kessing et al. konnte 2005 bei Patienten mit einer Lithium-Verschreibung eine höhere Suizidrate feststellen, als bei Patienten, die nie Lithium eingenommen haben. Zusätzlich dazu konnte aber auch gezeigt werden, dass das Risiko eines Suizides nach der zweiten oder weiteren Verschreibung diese Medikamentes um 0.43fach reduziert war verglichen mit Patienten, die Lithium nur einmal als Medikation erhalten haben. Dies spricht dafür, dass Lithium zuerst die agitierte Komponente einer Depression verbessert und erst verzögert stimmungs-stabilisierend wirkt.

Bezug nehmend auf die Daten der vorliegenden Arbeit lässt sich vermuten, dass Lithium möglicherweise die Dichte der GAD-ir Fasern zu reduzieren vermag und damit ein GABA-Defizit hervorruft. Inwiefern dies im Verlauf der Therapie durch die weitere Einnahme ausgeglichen werden kann, wäre ein weiterer Gesichtspunkt, welcher auf Grund fehlender Daten hier nicht hinreichend analysiert werden kann. Vergleichbare Daten für andere stimmungsstabilisierende Substanzen konnten bis jetzt noch nicht erhoben werden (Mc Elroy et al., 2007).

Vincze et al. untersuchten 2008 die Wirkung von Lithium auf den BDNF im Gehirn. Antidepressiva, Lithium, Valproat und auch ECT erhöhen den BDNF-Spiegel.

Andererseits konnten Karage et al. (2005) signifikant niedrigere Spiegel an BDNF nachweisen im Hippocampus und präfrontalen Kortex von Suizidopfern verglichen mit Kontrollprobanden. Zum Zeitpunkt des durchgeführten Suizides, wurden die Patienten nicht medikamentös behandelt. Vincze et al. (2008) ziehen die Möglichkeit in Betracht, dass die Höhe des brain-derived neurotrophic factors eine diagnostische Aussage über das Potential an suizidalem Verhalten liefert.

Goldberg et al. (2005) untersuchte an 1000 Patienten einer bipolaren Störung ob es eine Verbindung zwischen psychotropischer Medikamenteneinnahme und Suizidgedanken gibt. Gedanken an einen Suizid waren mehr verbreitet unter Patienten welche Antidepressiva einnehmen, als bei denen ohne (25% zu 14%). Ebenso verhielt es sich mit denen, die ein Antipsychotikum der 2. Generation verschrieben bekommen haben und den Patienten ohne antipsychotische Medikation (26% zu 17%). Wiederum konnte in dieser Arbeit kein Unterschied ausgemacht werden zwischen Patienten, die mit Lithium behandelt worden sind und denen ohne Lithiumeinnahme. Diese Ergebnisse können mit den erhobenen Daten dieser Arbeit in Einklang gebracht werden.

Es ergab sich über eine Antidepressiva-Therapie über 90 Tage eine negative Korrelation mit den GAD-ir Fasern. Schlussfolgernd müssten sich durch eine Therapie mit Antidepressiva die GAD-ir Fasern reduzieren und damit möglicherweise ein Defizit an GABA hervorgerufen werden. Fraglich ist, ob suizidales Verhalten dadurch beeinflussbar ist. Bisher konnte zumindest noch nicht eindeutig gezeigt werden, dass Antidepressiva das Risiko eines Suizidversuches verringern (Muller-Oerlinghausen & Berghofer, 1999). Die Ergebnisse, die 2003 durch P. Ankarberg veröffentlicht wurden, lassen ein erniedrigtes Suizidrisko durch Antidepressiva-Therapie unwahrscheinlich erscheinen. Es zeigte sich eher eine leichte Zunahme des Risikos bei behandelten Patienten. Möglicherweise fehlt der angenommene positive Effekt durch die Pharmakotherpie auf die dysregulierte GABAerge Neurotransmission. Es konnte kein Einfluss der psychotropen Medikamente auf Strukturen, die für die Verarbeitung einer neuen Information wichtig sind, wie der ENT, GD oder der Hippocampus gezeigt werden. Dies erklärt vielleicht, warum verabreichte Medikamente bisher wenig Einfluss auf die Suizidalität hatten und sich uneffektiv in der Prävention eines Suizides darstellten.

Rihmer & Gonda (2006) zeigten, dass Serotonin-Reuptake-Hemmer (SSRI) suizidales Verhalten induzieren können. Besondere Gefahr besteht zu Beginn einer Therapie, wenn Patienten Ruhelosigkeit oder Agitiertheit zeigen.

Frühere klinische Studien zeigten in der Behandlung von depressiven Patienten mit SSRIs ein erhöhtes okzipitales GABA-Level (Sanacora et al., 2002; Bhagawar et al., 2004; Bielau et al., 2007). Das lässt vermuten, dass SSRIs in der Lage sind, die GABA-Synthese zu erhöhen. In der vorliegenden und vielen anderen Studien wird nicht differenziert, um welche Substanzklasse der Antidepressiva es sich handelt. Auf Grund verschiedener Wirkungsmechanismen muss man annehmen, dass die verschieden Substanzklassen auch nicht die identischen Wirkungen im Gehirn entfalten. Auf Grund zu geringer Fallzahlen war eine weitergehende Differenzierung innerhalb der Patientengruppe nicht möglich, aber wünschenswert.

In einer Fall-Kontroll-Studie (Olfson et al., 2006) wurden Erwachsene und Kinder bzw. Jugendliche differenziert betrachtet. Für die Patientengruppe der Erwachsenen konnte keine Assoziation zwischen Antidepressiva-Gabe und einer erhöhten Anzahl an Suizidversuchen nachgewiesen werden. Bei jüngeren Patienten allerdings gingen vermehrte Suizidversuche und vollendetet Suizide mit einer medikamentösen Therapie einher. Ähnliche Ergebnisse zeigt eine aktuelle Studie von Tondo et al. aus

2008. Es wurden 789 Patienten mit einer affektiven Störung untersucht bezüglich ihres suizidalen Verhaltens unter medikamentöser Therapie. Das Ergebnis war, dass suizidale Gedanken eine hohe Prävalenz unter akut depressiven Patienten zeigt, besonders derer einer bipolaren Störung Typ I oder Typ II. Das suizidale Verhalten ist assoziiert mit einer besonderen Schwere der Depression. In der Studie von Tondo 2008 konnte durch die medikamentöse Intervention die Rate an suizidalen Aktionen um mehr als 80 % verringert werden, ebenso wie unter Therapie die Symptome der Depression Besserung zeigten. Nur einer der teilnehmenden Patienten zeigte neu aufgetretene Suizidgedanken, ohne jedoch einen Suizidversuch zu unternehmen.

Die oben genannten Studien beweisen, dass die Datenlage zu diesem Thema noch uneinheitlich und die Arbeiten zum großen Teil schlecht miteinander und auch mit dieser Arbeit vergleichbar sind – vor allen auf Grund der fehlenden/ungenügenden Einteilung der Diagnosegruppen, der Methoden und der Todesursachen.

Es sind jedoch weitere Studien mit größeren Fallzahlen notwendig um konkrete Schlussfolgerungen ziehen zu können. Wahrscheinlich ist aber, dass es keine allgemein gültigen Pathomechanismen bei den affektiven Störungen gibt, sondern in Subgruppen mit unterschiedlichen Mechanismen unterschieden werden muss.

4.3. Methodenkritische Analyse des experimentellen Ansatzes

Es wurde versucht, die Gruppen hinsichtlich ihrer demographischen, klinischen und krankheitsgeschichtlichen Daten abzugleichen.

Eine große Limitation der Studie ist ihre kleine Fallzahl. Wünschenswert wäre im zweiten Teil dieser Arbeit eine Unterteilung zwischen Suizidenten und Nichtsuizidenten zum einen der unipolaren und zum anderen der bipolaren Depression gewesen um detaillierter das GAD-ir Neuropil der einzelnen Unterformen zu untersuchen.

Ein weiterer Einfluss besteht in der möglichen fehlerhaften unipolar-bipolar-Zuordnung. Die gängigen Definitionen der Bipolarität nach dem DSM-IV- und dem ICD-10-Code sind zwar rechtsgültig anerkannt, aber nicht sensitiv. Mit der Folge, das es zu fehldiagnostizierten unipolaren Depressionen kommt (Angst, 2008).

Kamat et al. (2008) beschreibt eine fehlerhafte Erstdiagnose von 69% bei den affektiven Störungen und damit eine suboptimale Therapieeinleitung. Im Durchschnitt werden vier Ärzte konsultiert bevor die Diagnose bipolare Störung

gestellt wird. Dabei geht man heute davon aus, dass eine falsche oder ungenügende Therapie der bipolaren Störung eine Verstärkung der Symptome (einschließlich dem suizidalem Verhalten) in Frequenz und Schwere der Erkrankung hervorruft und nachträglich weniger gut therapeutisch zu managen ist. Dies bedeutet, die richtige Erstdiagnose und daraus folgend eine optimale Therapie ist anzustreben. Kamat et al. führten 2008 mit Patienten einer diagnostizierten chronischen Major Depression an Hand eines Fragebogens eine Studie durch. Für 6,9 % der Patienten zeigte sich ein positives Ergebnis für eine bipolare affektive Störung. Andere Studien sprechen von weit höheren Zahlen: Benazzi F. beschrieb 1997, dass von 203 Fällen einer Major Depression in einem ambulanten Patientengut 60 % der Patienten falsch diagnostiziert worden waren und eigentlich der bipolaren Störung Typ II angehörten. Vergleichbare Werte erbrachte eine landesweite Studie in Frankreich, wo 62 % der unipolar depressiven Patienten nach erneuten diagnostischen Maßnahmen Charakteristika der bipolaren Störung Typ II aufwiesen (Hantouche & Angst, 2007). Ins Besondere der Typ II der bipolaren affektiven Störungen ist mit seinem wechselndem Auftreten von Depressionen und Hypomanien schwer von einer reinen unipolaren Depression zu unterscheiden. Die reine Hypomanie wird definiert als Periode mit erhöhter Aktivität und vermindertem Schlafbedarf und den daraus folgenden Konsequenzen (Gamma et al., 2008). Wo wird die Grenze zum „Normalen“ gezogen, was wird als nicht pathologisch gewertet? Es gibt keinen klaren Cut-off zwischen normalen und pathologischen Stimmungsvariationen (Angst, 2008). Gamma et al. (2008) werteten hypomanische Patienten und ihre Charakteristika als weiteren Hinweis für das Zutreffen des Konzeptes der Kontinuität: Depression – angepasste Vergleichsfälle – Hypomanie – Manie.

Des Weiteren besteht ein Mangel an Daten zur Medikamenteneinnahme. Es lagen lediglich Informationen über die Medikation der letzten drei Monate vor Eintreten des Todes vor.

Besonders kritisch ist bei der vorliegenden Arbeit der experimentelle Ansatz zu hinterfragen. In dieser Methode wurde nicht, wie in vielen anderen vorausgegangenen Studien detektierte Nervenzellen bearbeitet und ausgewertet, sondern GAD-positives Neuropil. Dieser Begriff ist auch heute noch nicht genau fassbar. Man weiß noch nicht eindeutig, welche Strukturen wirklich im Einzelnen an diesem „Nervenfilz“ beteiligt sind.

Zum Detektieren von GAD wurde die Immunhistochemie verwendet.

Wie spezifisch ist sie? In der Dissertation von Schwarzlose (2006) wurde dieser Frage nachgegangen. Es zeigte sich, dass der auch für diese Arbeit verwendete monoklonale Antikörper GAD_{65} bindet, wobei das Enzym in seiner Gesamtlänge erkannt wird (s. auch Produktinformation MBL). Demzufolge wiesen in der Arbeit von Schwarzlose (2006) die im Western Blot detektierbaren GAD_{65} –Proteinbanden eine hohe Intensität auf. Hinzu kommen schwache Basen-Banden in Höhe von 67 000 Dalton und solche mit Molekulargewichten von unter 65 000 Dalton. Daraus resultiert, dass der monoklonale Anti-GAD-Antikörper zwar bevorzugt mit GAD_{65} interagiert, jedoch ebenso GAD_{67} und niedermolekulare Proteine oder Proteinfragmente erkennt. Es handelt sich bei den Letztgenannten möglicherweise um Abbauprodukte der Glutamatdecarboxylase, die postmortal durch Abspaltung des Amino-terminalen Enzymanteils entstehen (Schwarzlose, 2006; Martin et al., 2003).
Bei diesem Ergebnis muss jedoch die Spezifität des Anti-GAD-Antikörper, der für diese Arbeit verwendet wurde kritisch hinterfragt werden.
Es ist von größter Wichtigkeit, äußere Einflussmöglichkeiten so gering wie möglich zu halten. Die für diese Studie verwendete Immunhistochemie ist abhängig von der Fixierungsdauer, der Einbettungs- und der Vorbehandlungsmethode. Jedes Antigen benötigt seine eigene spezielle Fixation für eine optimale Bindung. Daher wurde im Vorfeld ein standardisiertes Schema festgelegt, nach welchem die immunhistochemische Färbung anzufertigen und anzuwenden ist. Die verwendeten Schnitte wurden alle mit derselben einmal angesetzten Lösung behandelt, um färberische Unterschiede weitestgehend gering zu halten. Eine suboptimale Fixierung kann dennoch nicht ausgeschlossen werden.

Basierend auf vielen subjektiven Einstellungen sind die errechneten Werte untersucherabhängig. Die Festlegung des Schwellengrauwertes erfolgt für jeden einzelnen Schnitt nach der Einschätzung des Untersuchers und hängt unter anderem ab von Licht, Artefakten, Umgebungsfärbung und der Abgrenzbarkeit der Fasern von dieser. Alle Schnitte sind von ein und demselben Untersucher bearbeitet worden. Da es nicht möglich ist immer die gleichen Bedingungen wie Tageslicht, Färbeartefakte in den Schnitten und Tagesform des Untersuchers herzustellen, wurden vorab Untersuchungen durchgeführt. In diesen Vorstudien sind die subjektiven Eindrücke des Untersuchers für jeden Schnitt je zweimal numerisch skaliert worden, um über die Intrarater-Korrelation Auskunft geben zu können. Zusätzlich wurde eine

Interrater-Korrelation durchgeführt um die Reproduzierbarkeit dieser Methode durch andere Personen zu testen. Beides ergab gute bis sehr gute Korrelationen.

Dieser experimentelle Ansatz wurde in der Literatur angewendet bei experimentellen Arbeiten durch Gos et al. (2006) am serotoninergen und Tyrosin-Hydroxylase-immunreaktiven afferenten Fasersystem im Nucleus accumbens, Hippocampus und der Amygdala bei Nagetieren.

Man erhält mit diesem experimentellen Ansatz keine absoluten Werte der immunreaktiven Fasern, sondern jeweils den relativen prozentualen Anteil der GAD-ir Fasern am Gesamtareal. Damit lassen sich verschieden Areale schlechter miteinander vergleichen, da der Faseranteil unter anderem auch von der Neuronendichte abhängig ist und sich diese in den einzelnen Diagnosegruppen von einander unterscheiden können. Für diese Problematik kann die Arbeit von Bielau et al. von 2007 mit herangezogen werden. Im Bereich des dorsolateralen präfrontalen Kortex und des Hippocampus ergaben sich höhere neuronale Dichten bei unipolar depressiven Patienten verglichen mit Patienten einer bipolaren Störung und Kontrollen. Für den orbitofrontalen Kortex wurde für beide Patientengruppen eine höhere neuronale Dichte als bei angepassten Vergleichsfällen gemessen. Dies wirkt sich natürlich auch bis zu einem gewissen Grad auf die Anzahl der Fasern aus und damit selbsterklärend auch auf die Anzahl der Fasern, die sich GAD-ir darstellen.

In einer Arbeit von Sherman et al. von 1990 konnte gezeigt werden, dass die Ausschüttung von GABA an ungefrorenen Hirnen deutlich höher liegt als an gefrorenen Hirnen. Auch wenn man dies heute berücksichtigen kann, muss man davon ausgehen, dass die Experimente und Methoden durch viele Faktoren beeinflusst und damit die Resultate verändert werden können. In der Zukunft liegt es, diese Fehlerquellen zu beseitigen.

5. Zusammenfassung

In der Pathophysiologie affektiver Störungen wird eine Beteiligung der GABAergen Neurotransmission angenommen. Die Glutamatdecarboxylase (GAD) ist das Schlüsselenzym der GABA-Synthese. Um $GAD_{65/67}$ zu detektieren, wurde eine immunhistochemische Färbung mittels eines monoklonalen Antikörpers in den Arealen des dorsolateralen präfrontalen Kortex, des orbitofrontalen Kortex, des anterioren Gyrus cinguli, des entorhinalen Kortex, der hippocampalen Formation und des mediodorsalen und laterodorsalen Thalamus durchgeführt.

Ziel dieser Arbeit war es, Unterschiede im Vorkommen von GAD im Gehirn zwischen den einzelnen Gruppen und im Vergleich mit angepassten Vergleichsfällen herauszuarbeiten und einen möglichen Einfluss regelmäßiger Medikation nachzuweisen. Besonderes Augenmerk wurde auf die Dichte des GAD-immunreaktiven Neuropils, einschließlich der synaptischen Terminalen, gelegt.

Die Studie wurde an Gehirnen von 10 unipolaren und 11 bipolaren Patienten (wovon 14 depressiven Patienten durch Selbsttötung und 7 Patienten eines natürlichen Todes starben) sowie 18 angepassten Vergleichsfällen durchgeführt.

Im Vergleich der beiden großen Unterformen der affektiven Störungen und der Kontrollpersonen zeigten vier der acht untersuchten Regionen signifikante Ergebnisse. Die linke CA1-Region wies bei den unipolar Depressiven eine höhere Faserdichte auf als die angepassten Vergleichspersonen und die bipolaren Patienten. Für den linken dorsolateralen präfrontalen Kortex ergab für die Schicht V höhere Werte bei den unipolaren Patienten und den Kontrollen, verglichen mit den Bipolaren. In der Schicht III konnte das nur für die unipolar Depressiven festgestellt werden. Die Untersuchung der beiden Regionen in der rechten Hemisphäre zeigte keine Unterschiede in den Faserdichten. Der entorhinale Kortex wies in beiden Hemisphären in den Schichten III und V niedrigere Faserdichten auf Seiten der Kontrollen im Vergleich mit den unipolar depressiven Patienten auf. In der Schicht III beider Hirnhälften sind die niedrigeren Werte auch signifikant gegenüber den bipolaren Patienten. Im rechten Ncl. laterodorsales thalami wurden ebenfalls

signifikant höhere Dichten bei den Unipolaren als bei den angepassten Vergleichsfällen gemessen.

Diese Ergebnisse weisen im Zusammenhang mit dem mehrfach publizierten Mangel an GABA bei den affektiven Störungen möglicherweise auf eine Störung der Transmitterausschüttung an den Synapsen hin.

Zudem lässt sich diese Arbeit in das Konzept der „bipolar continuum theory“ einordnen, welche von einem fließenden Übergang zwischen Schizophrenie, bipolarer Störung und Major Depression ausgeht. Im Gruppenvergleich der Suizidenten, der Nichtsuizidenten und der Kontrollen ergab sich in fünf der acht ausgewerteten Regionen eine Signifikanz.

Patienten, die sich suizidierten, wiesen höhere Faserdichten an GAD-ir Neuropil auf als depressive Patienten, die durch eine natürliche Ursache starben. Diese Aussage trifft für die linke CA1-Region zu. Hier waren die Werte auch gegenüber den Kontrollen signifikant erhöht. Ähnliches gilt auch für die Region des linken dorsolateralen präfrontalen Kortex zu. Zusätzlich sind in der Schicht V die Faserdichten von Kontrollen noch höher ausgefallen als bei den Patienten ohne suizidales Potenzial. Die Auswertung des entorhinalen Kortex erbrachte eine hochsignifikant höhere Dichte an GAD-ir Neuropil bei den Suizidenten, verglichen mit den Kontrollen. Zusätzlich waren die Werte auf der linken Seite und der rechten Schicht V auch gegenüber den Patienten ohne suizidale Tendenzen erhöht. In der Schicht III der rechten Hemisphäre zeigten sich die Ergebnisse der Vergleichsfälle signifikant niedriger als bei der letzt genannten Patientengruppe. Die untersuchten Areale des Gyrus dentatus und des Ncl. mediodorsales thalami wiesen ebenfalls höhere Faserdichten bei den Patienten mit Suizidpotential als bei denen ohne. Die Vergleichsfälle liegen im Durchschnitt zwischen den beiden Patietengruppen. Daraus entsteht die Annahme, dass Patienten ohne suizidales Potential ein GAD-Defizit aufweisen. Im Gegenzug dazu spricht nach den Ergebnissen dieser Arbeit alles für eine gewisse Überfunktion der Glutamatdecarboxylase bei Patienten mit suizidalem Verhalten.

Einschränkungen, die bei dieser Arbeit gemacht müssen, sind zum einen die geringe Fallzahl innerhalb der einzelnen Gruppen und zum anderen sind die fehlenden Daten über längerfristigen Substanzkonsum. Des Weiteren ist die Methode, die in dieser Arbeit verwendet worden ist, noch nicht sehr etabliert und nur mit einem gewissen Maß an Subjektivität behaftet.

Eine Besonderheit dieser Studie war es, GAD-ir Neuropil, einschließlich der Terminalen, in den Mittelpunkt der Aufmerksamkeit zu rücken. In den meisten Arbeiten über GAD wurde die 67-Isoform hervorgehoben. Im Unterschied dazu ging es in dieser Auswertung an den Dendriten, synaptischen Terminalen und im Neuropil vordergründig um die Isoform $GAD_{65.}$

Insgesamt unterstützen die erhobenen Befunde die Hypothese über eine relevante Beteiligung GABAerger Mechanismen an den pathophysiologischen Veränderungen bei affektiven Störungen.

6. Literaturverzeichnis

(1) Abdolmaleky HM, Smith CL, Zhou JR, et al.: Epigenetic alterations of the dopaminergic system in major psychiatric disorders. Methods Mol Biol. 448. 187-212 (2008)

(2) Abi-Saab WM, Bubser M, Roth RH, et al.: 5-HT_2 receptor regulation of extracellular GABA level in the prefrontal cortex. Neuropsychopharmacology. 20. 92-96 (1999)

(3) Acosta GB, Otero Losada ME, Rubio MC: Area-dependent changes in GABAergic function after acute and chronic cold stress. Neurosci Lett. 154. 175-178 (1993)

(4) Acosta GB, Rubio MC: GABAA receptors mediate the changes produced by stress on GABA function and locomotor activity. Neurosci Lett. 176. 29-31 (1994)

(5) Ames D, Dolan R, Mann A: The distinction between depression and dementia in the very old. Int J Geriat Psychiatry. 5. 193-198 (1990)

(6) Angst F, Stassen HH, Clayton PJ, et al.: Mortality of patients with mood disorders: follow-up over 34-38 years. J Affect Disord. 68. 167-181 (2002)

(7) Angst J, Frey R, Lohmeyer B, et al.: Bipolar manic-depressive psychoses: results of a genetic investigation. Hum Genet. 55. 237-254 (1980)

(8) Angst J: Bipolar disorder – methodological problems and future perspectives. Dialogues in Clinical Neuroscience. 10(2). 129-139 (2008)

(9) Ankarberg P: Antidepressant prscribing and suicide: antidepressants do not reduce suicide rates. BMJ. 327. 288-289 (2003)

(10) Arango V, Underwood MD, Gubbi AV, et al.: Localized alterations in pre- and postsynaptic serotonin binding sites in the ventrolateral prefrontal cortex of suicide victims. Brain Research. 688. 121-133 (1995)

(11) Arango V, Underwood MD, Boldrini M, et al.: Serotonin 1A receptors, serotonin transporter binding and serotonin transporter mRNA expression in the brainstream of depressed suicide victims. Neuropsychopharmacology. 25. 892-903 (2001)

(12) Arranz B, Cowburn R, Eriksson A, et al.: Gamma-aminobutyric acid-B (GABAB) binding sites in postmortem suicide brains. Neuropsychobiology. 26. 33-36 (1992)

(13) Asada H, Kawamura Y, Maruyama K, et al.: Mice lacking the 65kDa isoform of glutamic acid decarboxylase (GAD65) maintain normal levels of GAD67 and GABA in their brains but are susceptible to seizures. Biochem. Biophys. Res. Commun. 229. 891-895 (1996)

(14) Asada H, Kawamura Y, Maruyama K, et al.: Cleft palate and decreased brain gamma-aminobutyric acid in mice lacking the 67-kDa isoform of glutamic acid decarboxylase. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 94. 6496-6499 (1997)

(15) Audenaert K, Van Laere K, Dumont F, et al.: Decreased frontal serotonin 5-HT 2a receptor binding index in deliberate self-harm patients. Eur. J. Nucl. Med. 28. 175-182 (2001)

(16) Balestrieri M, Rucci P, Sbrana A: Lifetime rhythmicity and mania as correlates of suicidal ideation and attempts in mood disorders. Compr. Psychiatry. 47. 334-341 (2006)

(17) Battaglioli G, Martin DL: Stimulation of synaptosomal γ-aminobutyric acid synthesisby glutamate and glutamine. J Neurochem. 54. 1179-1187 (1990)

(18) Bauer MS, Mitchner L: What is a “mood stabilizer”? An evidence-based response. Am J of Psychiatry. 161. 3-18 (2004)

(19) Baumann B, Bogerts B: Neuroanatomical studies on bipolar disorder. British Journal of Psychiatry. 41 Suppl. 142-147 (2001)

(20) Baumann B, Krell D, Dobrowolny H, et al.: Mechanisms of action in the prevention of recurrent mood disorders . Phramacopsychiatry. 37. 157-164 (2004)

(21) Benazzi F: Prevalence of bipolar II disorder in outpatient depression: a 203-case study in private practice. J Affect. Disord. 43. 163-166 (1997)

(22) Benes FM, Vincent SL, Alsterberg G, et al. : Increased GABAA receptor binding in superficial Layers of cingulate cortex in schizophrenics. J Neurosci. 12. 924-929 (1992)

(23) Benes FM, Khan Y, Vincent SL, et al.: Differences in the subregional and cellular distribution of $GABA_A$ – receptor binding in the hippocampal formation of schizophrenic brain. Synapse. 22. 338-349 (1996)

(24) Benes FM: Emerging principles of altered neural circuitry in schizophrenia. Brain Research Reviews. 31. 251-269 (2000)

(25) Benes FM, Todtenkopf MS, Logiotatos, et al.: Glutamate decarboxylase(65)-immunoreactive terminals in cingulate and prefrontal cortices of schizophrenic and bipolar brain. J. Chem. Neuroanat. 20. 259-269 (2000)

(26) Benes FM, Berretta S: GABAergic interneurons: Implications for understanding schizophrenia and bipolar disorder. Neuropsychopharmacology. 25. 1-27 (2001)

(27) Benson DL, Isackson PJ, Hendry SHC, et al.: Aktivity-dependent changes in GAD and preprotachykinin mRNAs in visual cortex of adult monkeys. Cereb Cortex. 4. 40-51 (1994)

(28) Bernal M, Haro JM, Bernet S, et al.: Risk factors for suicidality in Europe: Results from the ESEMED study. J Affect Disord. 101(1-3). 27-34 (2007)

(29) Bernstein H-G, Baumann B, Danos P, et al.: regional and cellular distribution of neural visinin-like protein immunoreactivities (VILIP-1 and VILIP-3) in human brain. J. Neurocytol. 28. 655-662 (1999)

(30) Berrettini WH: Molecular linkage studies of bipolar disorders. Bipolar Disord. 3. 276-283 (2001)

(31) Bhagwagar Z, Wylezinska M, Taylor M, et al.: Increased brain GABA concentrations following acute administration of a selectiveserotonin reuptake inhibitor. Am. J. Psychiatry. 161. 368-370 (2004)

(32) Bielau H, Mawrin C, Krell D, et al.: Differences in activation of the dorsal raphe nucleus depending on performance of suicide. Brain Research. 1039 . 43-52 (2005)

(33) Bielau H, Steiner J, Mawrin C, et al: Dysregulation of GABAergic neurotransmission in mood disorders – a postmortem study. Ann N Y Sci. 1096. 157-169 (2007)

(34) Blier P, de Montigny C: Short-term lithium administration enhances serotonergic neurotransmission : electrophysiological evidence in the rat CNS. European Journal of Pharmakology. 113. 69-77 (1985)

(35) Bowers G, Cullinan WE, Herman JP: Region-specific regulation of glutamic acid decarboxylase (GAD) mRNA expression in central stress circuits. J Neurosci. 18. 5938-5947 (1998)

(36) Bowery NG: Pharmacology of $GABA_B$ – Receptors. In: H. Möhler (eds): Pharmacology of GABA and Glycine Neurotransmission. pp. 311-321. Springer Berlin 2001

(37) Bowley MP, Drevets WC, Ongur D, et al.: Low glial numbers in the amygdala in major depressive disorder. Biol. Psychiatry. 52. 404-412 (2002)

(38) Brambilla P, Perez J, Barale F, et al.: GABAergic dysfunction in mood disorders. Mol. Psychiatry. 8.721-737 (2003)

(39) Brambilla P, Glahn DC, Balestrieri M, et al.: Magnetic resonance findings in bipolar disorder. Psychiatr. Clin. North. Am. 28. 443-467 (2005)

(40) Brown FW, Lewine RJ, Hudgins PA, Risch SC: White matter hyperintensity signals in psychiatric and nonpsychiatric subjects. Am. J. Psychiatry. 149. 620-625 (1992)

(41) Buckley PF: Update on the treatment and management of schizophrenia and bipolar disorder. CNS Spectr. 13(2 Suppl 1). 1-10; quiz 11-12 (2008)

(42) Byne W, Tatusov A, Yiannoulos G, et al.: Effects of mental illness and aging in two thalamic nuclei. Schizophrenia Research. in press, doi: 10.1016/ j.schres.2008.08.023 (2008)

(43) Caron PC, Kremzner LT, Cote LJ: GABA and its relationship to putrescine metobolism in the rat brain and pancreas. Nerochem Int. 10. 219-229 (1987)

(44) Chana G, Everall I, Landau S, et al.: Glial cell number and nuclear size in the mediodorsal thalamic nucleus (MDNT) in schizophrenia. Schizophrenia Res. 102. 344-345 (2008)

(45) Cheetham SC, Crompton MR, Katona CL, et al.: Brain $GABA_A$/benzodiazepine binding sites and glutamic acid decarboxylase activity in depressed suicide victims. Brain. Res. 460. 114-123 (1988)

(46) Chen YW, Dilsaver SC: Lifetime rates of suicide attempts among subjects with bipolar and unipolar disorders relative to subjects with other Axis I disorder. Biol Psychiatry. 39. 896-899 (1996)

(47) Cheng AT: Mental illness and suicide. A case-control study in east Taiwan. Arch. Gen. Psychiatry. 52. 594-603 (1995)

(48) Choundary PV, Molnar M, Evans SJ, et al.: Altered cortical glutamatergic and GABAergic signal transmission with glial involvement in depression. PNAS USA. 102 (43). 15653-15658 (2005)

(49) Clapcorte SJ, Lipina TV, Millar JK, et al.: Behavioral phenotypes of DISC1 missence mutations in mice. Neuron. 54. 387-402 (2007)

(50) Costa E, Davis J, Grayson DR, et al.: Dendritic spine hypoplasticity and downregulation of reelin and GABAergic tone in schizophrenia vulnerability. Neurobiology of Disease. 8. 723-742 (2001)

(51) Coffman JA , Bornstein RA, Olson SC, et al.: Cognitive impairment and cerebral structure by MRI in bipolar disorder. Biol. Psychiatry. 27. 1188-1196 (1990)

(52) Cotter D, Mackay D, Landau S, et al.: Reduced glia cell densityand neuronal size in the anterior cingulate cortex in major depressive disorder. Arch. Gen. Psychiatry. 58. 545-553 (2001)

(53) Cotter D, Landau S, Beasley C, et al.: The density and spatial distribution of GABAergic neurons, labelled using calcium binding proteins, in the anterior cingulate cortex in major depression disorder, bipolar disorder, and schizophrenia. Biol. Psychiatry. 51. 377-386 (2002)

(54) Cotter D, Hudson L, Landau S: Evidence for orbitofrontal pathology in bipolar disorder and major depression, but not in schizophrenia. Bipolar Disorder. 7. 358-369 (2005)

(55) Daune G, Seiler N: Interrelationships between ornithine, glutamate, and GABA. II. Consequences of inhibition of GABA-T and ornithine aminotransferase in brain. Neurochem Res. 13. 69-75 (1988)

(56) de Montigny C, Blier P: Potentiation of 5-HT neurotransmission by short-term lithium: in vivo electrophysiological studies. Clinical Neuropharmacology. 15. 610A-611A (1992)

(57) Dewan MJ, Haldipur CV, Lane EE, et al.: Bipolar affective disorder: I. Comprehensive quantitative computed tomography. Acta. Psychiatry Scand. 77. 670-676 (1988a)

(58) Dewey SL, Smith GS, Logan J, et al.: Modulation of central cholinergic activity by GABA and serotonin : PET studies with 11C-bentropine in primates. Neuropsychopharmacology. 8. 371-376 (1993a)

(59) Dilsaver SC, Akiskal HS, Akiskal KK: Dose response relationship between number of comorbid aniety disorders in adolescent bipolar/unipolar disorders, and psychosis, suicidality, substance abuse and familiality. J. Affect. Disord. 96. 249-258 (2006)

(60) Dracheva S, Elhakern SL, McGurk SR, et al.: GAD67 and GAD65 mRNA and protein expression in cerebrocortical regions of elderly patients with schizophrenia. J. Neuroscience Research. 76. 581-592 (2004)

(61) Dupont RM, Jernigan TL, Heindel W, et al.: Magnetic resonance imaging and mood disorders – Localization of white matter and other subcortical abnormalities. Arch. Gen. Psychiatry. 52. 747-755 (1995)

(62) Eder M, Rammes G, Zieglgansberger W, et al.: GABAA and GABAB receptor on neocortical neurons are differentialy distributed. Eur J Neurosci. 13. 1065-1069 (2001)

(63) Fatemi SH, Stary JM, Earle JA, et al.: GABAergic dysfunction in schizophrenia an mood disorders as reflected by decreased levels of glutamic acid decarboxylase 65 and 67 kDa an Reelin proteins in cerebellum. Schizophr. Res. 72. 109-122 (2005)

(64) Fountoulakis KN, Giannakopoulos P, Kövari E, et al.: Assessing the role of cingulate cortex in bipolar disprder: Neuropathological, structural and functional imaging data. Brain Res Reviews 59. 9-21 (2008)

(65) Fu Q, Heath AC, Buchholz KK, et al.: A twin study of genetic and environmental influences on suicidality in men. Psychol Med. 32. 11-24 (2002)

(66) Gamma A, Angst J, Ajdacic-Gross V, et al.: Are hypomanics the happier normals? J Affect Disord. 111 (2-3): 235-243 (2008)

(67) Garlow SJ, Ciaranello RD: Transcriptional control of the rat serotonin-2 receptor gene. Brain Res Mol Brain Res. 31(1-2). 201-9 (1995)

(68) Gershon ES, Hamovit J, Guroff JJ, et al.: A family study of schizoaffektive, bipolar I, bipolar II, unipolar, and normal control probands. Arch Gen Psychiatry. 39. 1157-1167 (1982)

(69) Getz GE, DelBello MP, Fleck DE, et al.: Neuroanatomic characterization of schizoaffective disorder usind MRI: a pilot study. Schizophr. Res. 55. 55-59 (2002)

(70) Gijsman HJ, Geddes JR, Rendell JM, et al.: Antidepressants for bipolar depression: a systematic review of randomized, controlled trials. Am J Psychiatry. 161. 1537-1547 (2004)

(71) Gillet G, Ammor S, Fillon G, et al.: Serotonin inhibits acetylcholine release from rat striatum slices: evidence for a presynaptic receptor-mediated effects. Journal of Neurochemistry. 45. 1687-1691 (1985)

(72) Gluck MR, Thomas RG, Davis KL, et al.: Implications for altered glutamate and GABA metabolism in the dorsolateral prefrontal cortex of aged schizophrenic patients. Am J Psychiatry. 159. 1165-1173 (2002)

(73) Goldberg JF, Truman CJ: Antidepressant-induced mania: an overview of current controversies. Bipolar Disord. 5. 407-420 (2003)

(74) Goldberg JF, Allen MH, Miklowitz DA, et al: Suicidal ideation and pharmacotherapy among STEP-BD patients. Psychiatr Serv. 56. 1534-1540 (2005)

(75) Goldberg JF: What psychotherapists should know about pharmacotherapies for bipolar disorder. J Clin Psychol. 63. 475-490 (2007)

(76) Goldstein BI, Levitt AJ: Is current alcohol consumption associated with increased lifetime prevalence of major depression and suicidality? Results from a pilot community survey. Compr. Psychiatry. 47. 330-333 (2006)

(77) Gos T, Becker K, Bock J, et al.: Early neonatal and postweaning social emotional deprivation interferes with the maturation of serotonergic and tyrosine hydroxylase-immunoreactive afferent fiber systems in the rodent nucleus accumbens, hippocampus and amygdala. Neuroscience. 140(3). 811-21 (2006)

(78) Gos T, Günther K, Bielau H, et al.: Suicide and depression in the quantitative analysis of glutamic acid decarboxylase-immunreactive neuropil. J Affect Disord. 113 (1-2). 45-55 (2009)

(79) Grahame-Smith DG, Green AR: The role of brain 5-hydroxytryptamine in the hyperaktivity produced by lithium and monoamine oxidase inhibition. British Journal of Pharmacology. 52. 19-26 (1974)

(80) Grobin AC, Deutch AY: Dopaminergic regulation of extracellular GABA levels in the prefrontal cortex. J Pharm Exp Ther. 285. 350-357 (1998)

(81) Guidotti A, Corda MG, Wise BC, et al.: GABAergic synapses. Supramolecular organization and biochemical regulation. Neuropharmacology. 22. 1471-1479 (1983)

(82) Guidotti A, Auta J, Davis JM, et al.: Decrease in reelin and glutamic acid decarboxylase67 (GAD67) expression in schizophrenia and bipolar disorder: a postmortem brain study. Arch. Gen. Psychiatry. 57. 1061-1069 (2000)

(83) Hakak Y, Wlaker JR, Li C, et al.: Genome-wide expression analysis reveals dysregulation of myelination-related genes in chronic schizophrenia. Proc Natl Acad Sci USA 98. 4746-4751 (2001)

(84) Haldane M, Frangou S: New insights help define the pathophysiology of bipolar affective disorder : neuroimaging and neuropathology findings. Progress in Neuro-Psychopharmakology & Biol. Psychiatry. 28. 943-960 (2004)

(85) Hantouche EG, Angst J: Enquête nationales bipolact. À la recherche de l´hypomanie dans la dépressions difficiles. Bipolact. 1. 4-12 (2007)

(86) Harvey I, Persaud R, Ron MA, et al.: Volumetric MRI measurements in bipolars compared with schizophenics and healthy controls. Psycol. Med. 24. 689-699 (1994)

(87) Heckers S, Stone D, Walsh J, et al.: Differential hippocampal expression of glutamic acid decarboxylase 65 and 67 messenger RNA in bipolar disorder and schizophrenia . Arch. Gen. Psychiatry. 59. 521-529 (2002)

(88) Hendrickson AE, Tilakaratne NJK, Mehra RD, et al.: Differential locationof two glutamic acid decarboxylase (GAD65 and GAD67) in adult monkey visual cortex. J. Comp. Neurol. 343. 566-581 (1994)

(89) Henry C, Demotes-Mainard J: Avoiding drug-induced switching in patients with bipolar depression. Drug Saf. 26. 337-351 (2003)

(90) Hoge EA, Friedman L, Schulz SC: Meta-analysis of brain size in bipolar disorder. Schizophr. Res. 37. 177-181 (1999)

(91) Husain MM, McDonald WM, Doraiswamy PM, et al.: A magnetic resonance imaging study of putamen nuclei in major depression. Psychiatry Res. 40. 95-99 (1991a)

(92) Insel TR, Charney DS: Research on major depression. JAMA. 289. 3167-3168 (2003)

(93) Ishikawa M, Mizukami K, Iwakiri M, et al.: Immunohistochemical and immunoblot study of GABA (A) alpha 1 and beta 2/3 subunits in the prefrontal cortex of subjects with schizophrenia and bipolar disorder. Neurosci. Res. 50. 77-84 (2004)

(94) Ishikawa M, Mizukami K, Iwakiri M, et al.: Immunohistochemical and immunoblot analysis of gamma-aminobutyric acid B receptor in the prefrontal cortex of subjects with schizophrenia and bipolar disorder. Neurosc. Lett. 383. 272-277 (2005)

(95) Jamison KR: Suicide and bipolar disorder. Ann NY Acad Sci. 487. 301-315 (1986)

(96) Kaiya H, Namba M, Yoshida H, et al.: Plasma glutamate decarboxylase activity in neuropsychiatry. Psychiatry Research. 6. 335-343 (1982)

(97) Kalkman HO , Loetscher E: GAD67: the link between the GABA-deficit hypothesis and the dopaminergic- and glutamatergic theories of psychosis. J Neural Transm. 110. 803-812 (2003)

(98) Kamat SA, Rajagopalan K, Pethick N, et al: Prevalence and humanistic impact of potential misdiagnosis of bipolar disorder among patients with major depressive disorder in a commercially insured population. J Manag Care Pharm. 14(7). 632-642 (2008)

(99) Kanner AM: Structural MRI changes in the brain in depression. Clinical EEG and Neuroscience 35. 46-52 (2004)

(100) Karage F, Vaudan G, Schwald M, et al.: Neurotropin levels in postmortem brains of suicide victoms and the effects of antemortem diagnosis and psychotropic drugs. Brain Res Mol Brain Res. 136. 29-37 (2005)

(101) Karlsen AE, Hagopian WA, Grubin CE, et al.: Cloning and primary structure of a human islet isoform of glutamic acid decarboxylase from chromosom 10. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 88. 8337-8341 (1991)

(102) Kash SF, Johnson RS, Tecott LH, et al.: Epilepsy in mice deficient in the 65-kDa isoform of glutamic acid decarboxylase. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 94. 14060-14065 (1997)

(103) Kaufman DL, McGinnis JF, Krieger NR, et al.: Brain glutamate decarboxylase cloned in λgt-11: fusion protein produces γ-aminobutyric acid. Science. 232. 1138-1140 (1986)

(104) Kaufmann DL, Houser CR, Tobin AJ: Two forms of the γ-aminobutyric acid synthetic enzyme glutamate decarboxylase have distinct intraneuronal

distributions and cofaktor interactions. Journal of neurochemistry. 56/2. 720-723 (1991)

(105) Kemmerer M, Nasrallah HA, Sharma S, et al.: Increased hippocampal volume in bipolar disorder. Biol. Psychiatry. 35. 626 (1994)

(106) Kessler RC, Borges G, Walters EE: Prevalence of and risk factors for lifetime suicide attempts in the National Comorbidity Survey. Arch Gen Psychiatry. 56. 617-626 (1999)

(107) Kessing LV, Sondergard L, Kvist K, et al.: Suicide risk in patients treated with lithium. Arch Gen Psychiatry. 62. 806-866 (2005)

(108) Kim MJ, Lyoo IK, Dager SR, et al.: The occurrence of cavum septi pellucidi enlargement is increased in bipolar disorder patients. Bipolar Disord. 9(3). 274-280 (2007)

(109) Kim S, Webster MJ: Correlation analysis between genome-wide expression profiles and cytoarchitectural abnormalities in the prefrontal cortex of psychiatric disorders. Molecular Psychiatry.
in press, doi: 10.1038/mp.2008.99 (2008)

(110) Kim YK, Lee HP, Won SD, et al.: Low plasma BDNF is associated with suicidal behavior in major depression. Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry. 31(1). 78-85 (2007)

(111) Kolbeisson H, Arnaldsson OS, et al.: Computed tomographic scans in ECT-patients. Acta. Psychiatr. Scand. 73. 28-32 (1986)

(112) Korpi ER, Kleinman JE, Wyatt RJ: GABA concentrations in forebrain areas of suicide victims. Biol. psychiatry. 23. 109-114 (1988)

(113) Kostovic´ I, Jovanov-Miloševic´ N, Petranjek Z: Neuronal migration and cortical migratory disorders. Paedia Croat. 51(4). 179-190 (2007)

(114) Krishnan KR, McDonald WM, Escalona PR, et al.: Magnetic resonance imaging of the caudate nuclei in depression. Preliminary observations. Arch. Gen. Psychiatry. 49. 553-557 (1992)

(115) Kvajo M, Dhilla A, Swor DE, et al. : Evidence implicating the candidate schizophrenia /bipolar disorder susceptibility gene G72 in mitochondrial funktion. Molecular Psychiatry. 13. 685-696 (2008)

(116) Lammers CH, Garcia-Borreguerro D, Schmider J, et al.: Combined dexamethasone/corticotropin-releasing hormones test in patients with schizophrenia and in normal controls. 2. Biol. psychiatry 38. 803-807 (1995)

(117) Laprade N, Soghomonian JJ: Gene expression of the GAD67 and GAD 65 isoforms of glutamate decarboxylase is differentially altered in

subpopulations of striatal neurons in adult rats lesioned with 6-OHDA as neonates. Synapse. 33: 36-48 (1999)

(118) Lim KO, Rodenbloom MJ, Faustman WO, et al.: Cortical gray matter deficit in patients with bipolar disorder. Schizophr. Res. 40. 219-227 (1999)

(119) Liu Y, Fung EK, Dwork AJ, et al.: A quantitative immunocytochemical study of the human anterior cingulate cortex in normal and suicide subjects. Soc Neurosci. abstr. 368.18 (2006)

(120) Lloyd KG, Shibuya M, Davidson L, et al.: Chronic neuroleptic therapy: tolerance and GABA systems. Advances in Biochemical Psychopharmacology. 16. 409-415 (1977)

(121) López-Larson MP, DelBello MP, Zimmermann ME, et al.: Regional prefrontal gray and white matter abnormalities in bipolar disorder. Biol. Psychiatry. 52. 93-100 (2002)

(122) Löscher W, Honack D, Taylor CP, et al.: Gabapentin increases aminooxyacetic acid-induced GABA accumulation in several regions of rat brain. Neurosci Lett. 28. 150-154 (1991)

(123) Manaye KF, Lei DL, Tizabi Y et al.: Selective neuron loss in the paraventricular nucleus of hypothalamus in patients suffering from major depression and bipolar disorder. J Neuropathol Exp Neurol. 64(3). 224-9. (2005)

(124) Maris RW: Suicide. Lancet. 360. 319-326 (2002)

(125) Martin A, Young C, Leckman JF, et al.: Age effects on antidepressant-induced manic conversion. Arch Pediatr Adolesc Med. 158. 773-780 (2004)

(126) Martin DL: Short-term control of GABA-synthesis in brain. Prog. Biophys. Molec. Biol. 60. 17-28 (1993)

(127) Martin DL, Rimvall K: Regulation of gamma-aminobutyric acid synthesis in the brain. Neurochem. 60(2). 395-407 (1993)

(128) Martin DL, Tobin AJ: Mechanism controlling GABA synthesis and degradation in the brain. In: DL Martin: GABA in the nervous system: a view at fifthy years. pp. 25-41. Lippinkott Williams and Wilkins Philadelphia. 2000

(129) Martin DL, Hongcheng L, Martin SB, et al.: Struktural features and regulatory properties of the brain glutamate decarboxylase. Neurochemistry International. 37. 111-119 (2000)

(130) Martin SB, Waniewski RA, Battaglioli G, et al.: Post-mortem degradation of brain glutamate decarboxylase. Neurochemistry International. 42. 549-554 (2003)

(131) Mc Elroy SL, Kotwal R, Kaneria R, et al.: Antidepressants and suicidal behavior in bipolar disorder. Bipolar Disorder. 8. 596-617 (2006)

(132) Meldrum B: Pharmacology of GABA. Clin. Neuropharmacol. 5. 293-316 (1982)

(133) Merail Z, Du L, Hrdina P, et al.: Dysregulation in the suicide brain: mRNA expression of corticotropin-releasing hormone receptors and GABA(A) receptor subunits in frontal cortical brain region. J. Neurosci. 24. 1478-1485 (2004)

(134) Modestin J, Kopp W: A study of clinical suicide. J. Nerv. Ment. Dis. 176. 668-674 (1988)

(135) Möller H-J.: Bipolar Disorder and Schizophrenia: Distinct Illnesses or a Continuum. J Clin Psychiatry. 64(Suppl 6). 23-27 (2003)

(136) Molnar M, Potkin SG, Bunny WE, et al.: MRNA expression patterns and distribution of white matter neurons in dorsolateral prefrontal cortex of depressed patients differ from those in schizophrenia patients. Biol. Psychiatry. 53. 39-47 (2002)

(137) Monkul ES, Hatch JP, Nicoletti MA, et al.: Fronto-limbic brain structures in suicidal and non-suicidal female patients with major depressive disorder. Molecular Psychiatry. 12. 360-366 (2007)

(138) Moroni F, Cheney DL, Peralta E, et al.: Opiate receptor agonists as modulators of γ-aminobutyric acid turnover in nucleus caudatus, globus pallidus, and substantia nigra of the rat. J Pharmacol Exp Ther. 207. 870-877 (1978)

(139) Muir WJ, Pickard BS, Blackwood DHR: Disrupted-in-Schizophrenia-1. Current Psychiatry Reports. 10.140-147 (2008)

(140) Muller-Oerlinghausen B, Berghofer A: Antidepressants and suicidal risk. J. Clin. Psychiatry 2 (Suppl.60). 94-99 (1999)

(141) Muller-Oerlinghausen B, Roggenbach J: Concretism in biological suicide research - Are we eating menu instead of the meal? Some thoughts on present research strategies. Pharmacopsychiatry. 35. 44-49 (2002)

(142) Murray CJ, Lopez AD: Alternative projections of mortality and disability by cause 1999-2020: Global burden of disease study. Lancet. 349. 1498-1504 (1997)

(143) Nasrallah HA, McCalley-Whitters M, Jacoby CG: Cortical atrophy in schizophrenia and mania : A comparative CT study. J. Clin. Psychiatry. 43. 439-441 (1982b)

(144) Neafsey EJ, Terreberry RR,Hurley KM, et al.: Anterior cingulate cortex in rodents: connections, visceral control functions, and implications for emotion. In: Kolb B, Tess RC, editors. The cerebral cortex of the rat. Cambridge, MA: MIT Press. p 206-223 (1993)

(145) Numata S, Iga J, Nakataki M, et al.: Gene expression and association analyses of the phosphodiesterase 4B (PDE4B) gene in major depressive disorder in the Japanese population. Am J Med Genet B Neuropsychiatry Genet. in press, doi: 10.1002/ajmg.b.30852 (2008)

(146) Olfson M, Marcus SC, Shaffer D: Antidepressant drug therapy and suicide in severely depressed children and aduts. Arch. Gen. Psychiatry. 63. 865-872 (2006)

(147) Otsuka M, Iversen LL, Hall ZW, et al.: Release of gamma-aminobutyric acid from inhibitory nerves of lobster Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 56. 1110-1115 (1966)

(148) Padmos RC, Bekris L, Knijff EM, et al.: A high prevalence of organ-specific autoimmunity in patients with bipolar disorder. Bol. Psychiatry. 56. 476-482 (2004)

(149) Palomero-Gallagher N, Mohlberg H, Zilles K, et al: Cytology and receptor architecture of human anterior cingulate cortex. J of Comparative Neurology. 508. 906-926 (2008)

(150) Pandey GN, Gonley RR, Pandey SC, et al.: Benzodiacepine receptors in the post-mortem brain of suicide victims and schizophrenic subjects. Psychiatry Res. 71. 137-149 (1997)

(151) Pasquini M, Picardi A, Speca Azzurra, et al.: Combining an SSRI with an anticonvulsant in depressed patients with dysphoric mood: an open study. Clinical Practice and Epidemiology in Mental Health 3: 3 (2007)

(152) Perry EK, Gibson PH, Blessed G, et al.: Neurotransmitter enzyme abnormalities in senile dementia. Choline acetyltransferase and glutamic acid decarboxylase activities in necropsy brain tissue. J. Neurol. Sci. 34. 247-265 (1977)

(153) Petroff OAC: GABA and glutamate in the human brain. Neuroscientist 8. 562-573 (2002)

(154) Phan KL, Wager T, Taylor SF, et al.: Functional neuroanatomy of emotion: a meta-analysis of emotion activation studies in PET and fMRI. Neuroimage 16. 331-348 (2002)

(155) Pitchot W, Herrera C, Ansseau M: HPA axis dysfunction in major depression: relationship to 5-HT_{1A} receptor activity. Neuropsychobiology 44. 74-77 (2001)

(156) Post RM: The impact of bipolar depression. Clin. Psychiatry. 66 Suppl. 5-10 (2005)

(157) Pradhan SN, Bose S: Interactions among central neurotransmitters. In: MA Lipton: Psychopharmacology: A Generation of Progress. pp.271. Raven Press NY 1978

(158) Rihmer A, Gonda X, Balazs J, et al.:The importance of depressive mixed states in suicidal behaviour. Neuropsychopharmacol Hung. 10(1). 45-49 (2008)

(159) Rihmer Z, Gonda X: Suicide behaviour of patients treated with antidepressants. Neuropsychopharmacol. Hung. 8. 13-16 (2006)

(160) Rimvall K, Martin DL: The level of GAD67 protein is highly sensitive to small increases in intraneuronal gamma-aminabutyric acid levels. J. Neurochem. 62. 1375-1381 (1994)

(161) Robinson RG, Kubos KL, Starr LB, Price TR: Mood changes in stroke patients: relation to lesion location. Brain. 107. 81-93 (1984)

(162) Robinson RG: Poststroke depression: prevalence, diagnosis, treatment and disease progression. Biol. Psychiatry. 54. 376-387 (2003)

(163) Roy A: Neuropeptides in relation to suicidal behavior in depression. Neuropsychobiology. 28. 184-186 (1993)

(164) Sanacora G, Mason GF, Rothman DL, et al.: Reduced cortical gamma-aminabutyric acid levels in depressed patients determined by proton magnetic resonance spectroscopy. Arch. Gen. Psychiatry. 56. 10043-1047 (1999)

(165) Sanacora G, Mason GF, Rothman DL, et al.: Increased occipital cortex GABA concentrations in depressed patients after therapy with selective serotonin reuptake inhibitors. Am. J. Psychiatry. 159. 663-665 (2002)

(166) Sanacora G, Mason GF, Rothman DL, et al.: Increased occipital cortex GABA concentrations in depressed patients receiving ECT. Am. J. Psychiatry. 160. 577-579 (2003)

(167) Sanacora G, Gueorguieva R, Epperson CN, et al.: Subtype-specific alterations of (gamma)-aminobutyric acid and glutamate in pations with major depression. Arch Gen Psychiatry. 61. 705-713 (2004)

(168) Scherk H, Reith W, Falkai P: Hirnstrukturelle Veränderungen bei bipolaren affektiven Störungen. Nervenarzt. 75. 861-872 (2004)

(169) Segovia J, Tillakaratne NJK, Whelan K, et al.: Parallel increases in striatal glutamic acid decarboxylase activity and mRNA levels in rats with lesions of the nigrostriatal pathway. Brain Research. 529. 345-348 (1990)

(170) Shah SA, Doraiswamy PM, Husain MM, et al.: Posterior fossa abnormalities in major depression: A controlled magnetic resonance imaging study. Arch. Psychiatr. Scand. 85. 474-479 (1992)

(171) Sheikh SN, Martin DL: Elevation of brain GABA levels with vigabatrin (gamma-vinylGABA) differentially affects GAD65 and GAD67 expression in various regions of rat brain. J. Neurosci. Res. 52. 736-741 (1998)

(172) Sherman AD, Davidson AT, Baruah S, et al.: Evidence of glutamatergic deficiency in schizophrenia. Neuroscience Letters. 121. 77-80 (1991)

(173) Simon GE: Social and economic burden of mood disorders . Biol. Psychiatry. 54. 208-215 (2003)

(174) Soghomonian JJ, Martin DL: Two isoforms of glutamate decarboxylase: why? Trends. Pharmacol. Sci. 19. 500-505 (1998)

(175) Stephanie Schwarzlose, Dissertation: Morphometrische Analyse inhibitorischer Neurone in Hippocampusformation und Gyrus parahippocampalis Schizophrener und gesunder Kontrollfälle mittels immunhistochemischer Darstellung mittels Glutamatdecarboxylase und Paralbumin. Magdeburg, 2006.

(176) Stocks GM, Cheetham SC, Crompton MR, et al.: Benzodiazepine binding sites in amygdala and hippocampus of depressed suicide victims. J. Affect. Disord. 18. 11-15 (1990)

(177) Stone DJ, Walsh J, Benes FM, et al.: Effekts of pre- and postnatal stress on the rat GABA system. Hippocampus.11(5).492-507 (2001)

(178) Stoppel C, Bielau H, Bogerts B, et al.: Neurobiological basics of depressive disorders. Fortschr. Neurol. Psychiatr. 74(12). 696-705 (2006)

(179) Strakowski SM, Adler CM, DelBello MP: Volumetric MRI studies of mood disorders: do they distinguish unipolar and bipolar disorder ? Bipolar Disord. 4. 80-88 (2002)

(180) Swayze VW 2nd, Andreasen NC, Alliger RE, et al.: Subcortical and temporal structures in affective disorder and schizophrenia: a magnetic resonance immaging study. Biol. Psychiatry. 31. 221-240 (1992)

(181) Todtenkopf MS, Benes FM: Distribution of glutamate decarboxylase65 immunoreactive puncta on pyramidal and nonpyramidal neurons in hippocampus of schizophrenic brain. Synapse. 29. 323-332 (1998)

(182) Tondo L, Lepri B, Baldessarini RJ: Suicidal status during antidepressant treatment in 789 Sardinian patients with major affektive disorder. Acta Psychiatr Scand. 118. 106-115 (2008)

(183) Vincze I, Perroud N, Buresi C, et al.: Assosiation between brain-derived neurotrophic faktor gene and severe form of bipolar disorder, but no interaction with the serotonin transporter gene. Bipolar Disorders 10. 580-587 (2008)

(184) Vogt BA, Vogt L, Farber NB, et al.: Architecture and neurocytology of monkey cingulate gyrus. J Comp Neurol. 485. 218-239 (2005)

(185) Willour VL, Zandi PP, Badner JA et al.: Attempted suicide in bipolar disorder pedigrees: evidence for linkage to 2p12. Biol Psychiatry. 61(5). 725-7 (2007)

(186) Woo TU, Walsh JP, Benes FM: Density of glutamic acid decarboxylase 67 messenger RNA-containing neurons that express the N-methyl-D-aspartate receptor subunit NR2A in the anterior cingulate cortex schizophrenia and bipolar disorder . Arch. Gen. Psychiatry. 61. 649-657 (2004)

(187) World Health Report 2001: Mental Health: New Understanding, New Hope, World Health Organization, Geneva (2001)

(188) Wurthmann C, Bogerts B, Falkai P: Brain morphology assessed by computed tomography in patients with geriatric depression, patients with degenerative dementia, and normal control subjects. Psychiatry Res: Neuroimaging. 61. 103-111 (1995)

(189) Yates WR, Jacoby CG, Andreasen NC: Cerebellar atrophy in schizophrenia and affective disorder. Am. J. Psychiatry. 144. 465-467 (1987)

(190) Zalsman G, Braun M, Arendt M, et al.: A comparison of the medical lethality of suicide attempts in bipolar and major depressive disorders. Bipolar Disorder. 8. 558-565 (2006)

(191) Zhang ZJ, Reynolds GP: A selective decrease in the density of parvalbumin-immunreactive neurons in the hippocampus in schizophrenia. Schizophr. Res. 55. 1-10 (2002)

7. Tabellen- & Abbildungsverzeichnis

7.1. Tabellen

2.1: Deskriktive Statistik der demographischen Daten für MDD vs. BPD vs. C Seite 18

2.2: Deskriptive Statistik der demographischen Daten für S vs. NSz vs. C Seite 18

3.1: Statistische Auswertung und Ergebnisse beim Vergleich MDD vs. BPD vs. C Seite 26-27

3.2: Statistische Auswertung und Ergebnisse beim Vergleich S vs. NSz vs. C Seite 34-35

7.2. Abbildungen

Abb.1: GAD-Immunhistochemie der hippocampalen CA1-Region a.) eines Patienten mit einer unipolaren Depression und b.) einer Kontrollperson Seite 30

Abb.2: GAD-Immunhistochemie der Region des dorsolateralen präfrontalen Kortex a.) eines Patienten mit einer unipolaren Depression, b.) einer Kontrollperson und c.) eines Patienten mit einer bipolaren Depression Seite 31

Abb.3: GAD-Immunhistochmie im entorhinalen Kortex a.) eines Patienten mit einer unipolaren Depression und b.) einer Kontrollperson Seite32

Abb.4: GAD-Immunhistochemie der hippocampalen CA1-Region a.) eines Patienten mit einer bekannten affektiven Störung, der durch Suizid verstorben ist, b.) einer Kontrollperson und c.) eines Patienten, die beide eines natürlichen Todes gestorben sind. Seite 38

Abb.5: GAD-Immunhistochemie der Region des dorsolateralen präfrontalen Kortex a.) eines Patienten mit bekannter depressiver Erkrankung, der durch einen Suizid gestorben ist, b.) einer Kontrollperson und c.) eines Patienten, die jeweils eines natürlichen Todes gestorben sind. Seite 39

Abb.6: GAD-Immunhistochmie im entorhinalen Kortex a.) eines Patienten mit diagnostizierter Form einer Depression, der Seite 40

sich suizidiert hat, b.) einer Kontrollperson und c.) eines Patienten mit einer bekannten affektiven Störung, der eines natürlichen Todes gestorben ist.

Abb.7: GAD-Immunhistochemie in der Region des Gyrus dentatus bei Patienten mit einer diagnostizierten affektiven Störung, wobei a.) einer durch einen Suizid verstarb und b.) einer eines natürlichen Todes gestorben ist. Seite 41

Abb.8: vergrößerter Ausschnitt aus der Schicht V des rechten ENT: GABA-rezeptive Neurone (BGL-Nr.: 67), die selber GAD-ir negativ sind Seite 42

Erklärung

Ich erkläre, dass ich die der Medizinischen Fakultät der Otto-von-Guericke-Universität zur Promotion eingereichte Dissertation mit dem Titel

Glutamatdecarboxylase-Immunreaktivität im Neuropil ausgewählter Areale des limbischen Systems bei Patienten mit affektiven Störungen mit und ohne suizidalem Verhalten und Kontrollen – eine morphometrische Untersuchung

in der Klinik für Psychiatrie, Psychotherapie und Psychosomatische Medizin (Direktor: Professor Dr. med. B. Bogerts)

mit der Unterstützung durch Herrn Professor Dr. H.-G. Bernstein

ohne sonstige Hilfe durchgeführt und bei der Abfassung der Dissertation keine anderen als die dort aufgeführten Hilfsmittel benutzt habe.

Bei der Abfassung der Dissertation sind Rechte Dritter nicht verletzt worden.

Ich habe diese Dissertation bisher an keiner in- oder ausländischen Hochschule zur Promotion eingereicht. Ich übertrage der Medizinischen Fakultät das Recht, weitere Kopien meiner Dissertation herzustellen und zu vertreiben.

Magdeburg, den 24.04.2009

Danksagung

In erster Linie gilt mein Dank Herrn Prof. Dr. H.-G. Bernstein für die Überlassung des Themas und für die Unterstützung bei der Erarbeitung und Fertigstellung dieser Dissertationsarbeit, für die kritischen Hinweise und hilfreichen Diskussionen bezüglich der Interpretation der vorliegenden Ergebnisse. Auch Herrn Prof. Dr. B. Bogerts möchte ich für die Ermöglichung der wissenschaftlichen Arbeit danken.

Mein besonderer Dank gilt Dr. H. Bielau und Dr. T. Gos für die kontinuierliche Betreuung und Begleitung während der Erarbeitung der Problematik, dem Umgang mit der Methodik sowie für wertvolle Anregungen, konstruktive Kritik und Unterstützung während der Erstellung der vorliegenden Dissertation.

Bei Herrn Dipl.-Ing. H. Dobrowolny möchte ich mich für die statistische Aufarbeitung der Daten und die Unterstützung bei der Erstellung der Photographien und die Beratung bei computertechnischen sowie statistischen Fragestellungen danken. Er zeigte unermüdlichen Einsatz und unerschöpfliche Hilfsbereitschaft und trug damit maßgeblich zum gelingen der Arbeit bei.

Nicht zuletzt danke ich Frau Dipl.-Ing. R. Strauch, Frau S. Funke und Frau K. Paelchen für die Erstellung der histologischen Präparate und die angenehme Zusammenarbeit im Labor.

Ein persönlicher Dank gilt Frau E. Kollert, Frau I. Knackstedt und Herrn L. Rückert.

Abschließend sei meiner Familie, insbesondere Herrn Dr. med. F. und C. Günther für ihre Unterstützung, ihre Geduld und ihre Rücksichtnahme gedankt. Zusätzlich Franziska Sepp und Christian Pfeifer ein Danke für Ihre Hilfe in der Endphase dieser Arbeit.

Darstellung des Bildungsweges

24.01.1983	geboren in Luckenwalde
1989-1995	Grundschule V Görden II, Brandenburg a.d. Havel
1995-2002	Bertolt-Brecht-Gymnasium Brandenburg a.d. Havel
07/2002	Abitur
2002-2008	Studium der Humanmedizin an der Otto-von-Guericke-Universität Magdeburg
2004	Ärztliche Vorprüfung
08/2007-11/2007	Praktisches Jahr (Innere Medizin) am Kantonspital St. Gallen, Schweiz
12/2007-03/2008	Praktisches Jahr (Chirurgie) am Klinikum Altstädten, Magdeburg
04/2008-07/2008	Praktisches Jahr (Gynäkologie) an der Landesfrauenklinik Magdeburg, Universitätsklinikum Magdeburg
10/2008-11/2008	Staatsexamen mit anschließender Approbation als Ärztin
seit 01/2009	Anstellung als Assistenzärztin der Gynäkologie und Geburtshilfe im evangelischen Krankenhaus Ludwigsfelde-Teltow

wissenschaftliche Leistungen:

Publikation:

Gos T, Günther K, Bielau H, Dobrowolny H, Mawrin C, Trübner K, Brisch R, Steiner J, Bernstein HG, Jankowski Z, Bogerts B: Suicide and depression in the quantitative analysis of glutamic acid decarboxylase-immunreactive neuropil. J Affect Disord. 113 (1-2). 45-55 (2009)