

Aus der Klinik für Psychiatrie und Psychotherapie
der Medizinischen Fakultät
der Otto-von-Guericke-Universität Magdeburg

**Immunhistochemische Untersuchung Chinolinsäure-positiver
Mikrogliazellen in Post-mortem-Gehirnen von Patienten mit affektiven
Störungen: Bedeutung für die Serotonin-, Glutamat- und
Inflammationstheorie depressiver Störungen**

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
aus
Magdeburg

Louise Dorothea Meyer zu Schwabedissen
Hannover
2011

Dokumentationsblatt

Bibliographische Daten:

Meyer zu Schwabedissen, Louise Dorothea

Immunhistochemische Untersuchung Chinolinsäure-positiver Mikrogliazellen in Post-mortem-Gehirnen von Patienten mit affektiven Störungen: Bedeutung für die Serotonin-, Glutamat- und Inflammationstheorie depressiver Störungen. – 2011 – 94 Blatt: – 12 Abbildungen – 3 Tabellen

Kurzreferat:

Während depressiver Episoden wurden erhöhte Konzentrationen proinflammatorischer Zytokine sowie vermehrte Monozytenzahlen im peripheren Blut beschrieben. Post-mortem-Studien ergaben zudem Hinweise darauf, dass solche peripheren Immunprozesse von einer zerebralen Mikrogliaaktivierung begleitet sein könnte. Interessant sind hier insbesondere Subregionen des anterioren Cingulums (ACC) in denen depressionsassoziierte Veränderungen der glutamatergen Neurotransmission beschrieben wurden. Deshalb wurde im Rahmen der vorliegenden Promotionsarbeit immunhistochemisch die mikrogliale Expression des endogenen N-Methyl-D-Aspartat-(NMDA)-Glutamatrezeptor-Agonisten Chinolinsäure (ChS) im subgenualen und prägenualen ACC (sACC,pACC) sowie im anterioren mittleren CC (aMCC) von sieben Patienten mit unipolarer Depression (UD) und fünf mit bipolarer Depression (BS) im Vergleich zu zehn neuropsychiatrisch Gesunden untersucht. Depressive Patienten zeigten eine signifikant höhere Dichte ChS-positiver Mikrogliazellen im sACC ($p=0,006$) und aMCC ($p=0,043$), nicht jedoch im pACC. Post-hoc-Analysen ergaben, dass die signifikanten Unterschiede auf die Fälle mit UD zurückzuführen waren. Diese Ergebnisse weisen auf eine mögliche Verbindung zwischen Immunsystem und Neurotransmission bei akuter Depression hin. Die Hochregulation von ChS wurde in Hirnregionen gefunden, die auf eine Therapie durch den NMDA-Rezeptor-Antagonisten Ketamin ansprechen. Weiterführende Studien könnten zu einem besseren Verständnis der Pathophysiologie affektiver Störungen führen und den Weg für neue Immun- und Glutamat-modulierende Therapiestrategien bereiten.

Schlüsselwörter: Affektive Störungen, unipolare Depression, bipolare Störung, Chinolinsäure, Monozyten, Mikroglia, Kynurenin, Glutamat

Diese Arbeit ist meinen Eltern gewidmet.

Inhaltsverzeichnis

	Seite
Abkürzungsverzeichnis	III
Abbildungsverzeichnis	VI
Tabellenverzeichnis	VI
1 Einleitung	1
1.1 Neurobiochemische Modelle zur Ätiopathogenese von affektiven Störungen	2
1.1.1 Das serotonerge System	2
1.1.2 Das glutamaterge System	4
1.2 Immunologische Veränderungen bei affektiven Störungen	11
1.2.1 Die Bedeutung der Mikroglia	13
1.3 Der Tryptophanmetabolismus	14
1.4 Die Bedeutung der Chinolinsäure	16
1.5 Morphologische Veränderungen in Hirnen von Patienten mit affektiven Störungen	18
1.6 Depressionsrelevante Hirnregionen	19
1.6.1 Der anteriore cinguläre Cortex	19
1.6.2 Der Hippocampus	22
1.7 Gegenstand dieser Arbeit	23
2 Material und Methoden	24
2.1 Materialaufbereitung	27
2.2 Immunhistochemie	29
2.3 Morphometrie	31
2.4 Statistische Analyse	32
2.4.1 Hypothesen	32
2.4.2 Auswertung	33

3	Ergebnisse	34
3.1	Qualitative Auswertung	34
3.2	Quantitative Auswertung	35
3.2.1	Diagnose-Hauptgruppeneffekte	35
3.2.2	Diagnose-Subgruppeneffekte	36
3.2.3	Intragruppenvergleich	39
3.2.4	Kofaktorenanalyse	39
3.2.5	Test-Retest-Reliabilität und Interrater-Reliabilität	42
4	Diskussion	44
4.1	Die Morphologie der Mikroglia	44
4.2	Der Chinolinsäuremetabolismus	45
4.2.1	Zytokin-induzierte Chinolinsäuresynthese	46
4.2.2	Astrozytäre Chinolinsäuremetabolisierung	48
4.3	Die Rolle der NMDA-Rezeptoren	50
4.3.1	NMDA-Rezeptoren und affektive Störungen	52
4.3.2	NMDA-Rezeptoren und Chinolinsäure	53
4.4	Regionenspezifische Besonderheiten	54
4.5	Bipolare versus unipolare affektive Störungen	58
4.6	Methodenkritische Betrachtung	59
4.7	Schlussfolgerung und Ausblick	62
5	Zusammenfassung	65
	Literaturverzeichnis	67
	Danksagung	83
	Erklärung	84
	Curriculum Vitae	85

Abkürzungsverzeichnis

3-OHK	3-Hydroxykynurenin
5-HIAA	5-Hydroxyindolylessigsäure
5-HT	5-Hydroxytryptamin, Serotonin
5-HTP	5-Hydroxytryptophan
Abb.	Abbildung
ABC	Avidin-Biotin-Complex
ACC	anteriorer cingulärer Cortex
ALS	Amyotrophe Lateralsklerose
aMCC	anteriorer Teil des mittleren cingulären Cortex
AMPA	α -Amino-3-Hydroxy-5-Methyl-Isoxazolepropionic-Acid
AS	affektive Störungen
ASS	Acetylsalicylsäure
BA	Brodman Areal
BDNF	brain derived neurotrophic factor
BHS	Blut-Hirn-Schranke
BS	Bipolare Störung
COX-1/-2	Cyclooxygenase-1/-2
ChS	Chinolinsäure
DAB	3,3'-Diaminobenzidin
DALY	disability-adjusted life years
DLPFC	dorsolateraler präfrontaler Cortex
DMN	Default Mode Network
DSM	Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders
DSM-IV-TR	Diagnostic and Statistical Manual, Fourth Edition, Text Revision
EAAT	Excitatory-Amino-Acid-Transporter
EKT	Elektrokonvulsive Therapie
ELISA	enzyme-linked immunosorbent assay
fMRT	funktionelle Magnetresonanztomographie
GABA	γ -Aminobuttersäure
GFAP	glial fibrillary acidic protein
Gln	Glutamin
Glu	Glutamat
Glx	Glutamat + Glutamin
GS	Glutaminsynthetase
H ₀	Nullhypothese

H ₁	Alternativhypothese
H1-MRS	Protonen-Magnetresonanzspektroskopie
HPLC	High performance liquid chromatography
HRP	Horseradish Peroxidase, Meerrettisch-Peroxidase
Hi	Hippocampus
IDO	Indolamin-2,3-Dioxygenase
IgG	Immunglobulin G
iGlu	ionotrope Glutamatrezeptoren
IL	Interleukin
INF	Interferon
KOH	Kynureninhydroxylase
KS	Kynureninsäure
LPS	Lipopolysacharide
M	männlich
MADRS	Montgomery-Asberg Depression Rating Scale
MAO	Monoaminoxidase
MAPK	mitogen-assoziierte Proteinkinase
MCP-1	monocyte chemotactic protein-1
MCC	mittlerer cingulärer Cortex
Mg ²⁺	Magnesiumion
mGlu	metabotrope Glutamatrezeptoren
Min.	Minuten
MRS	Magnetresonanzspektroskopie
Na ⁺	Natriumion
NAD	Nicotinamid-adenin-dinukleotid
NADP	Nicotinamid-adenin-dinukleotid-phosphat
NARI	noradrenalin-reuptake-inhibitor
n.b.	nicht bekannt
NF-κB	nuclear factor 'kappa-light-chain-enhancer' of activated B-cells
NGF	nerve growth factor
NMDA	N-Methyl-D-Aspartat
NMDAR	N-Methyl-D-Aspartat-Rezeptor
NO	Stickstoffmonoxid
NOS	Stickstoffmonoxid-Synthase
NR	NMDA-Rezeptor-Untereinheit
o.g.	oben genannte
P38MAPK	p38 aktivierte MAPK

pACC	prägenualer anteriorer cingulärer Cortex
PBS	phosphat-gepufferte Salzsäure
PCC	posteriorer cingulärer Cortex
PET	Positron-Emissions-Tomographie
PFC	präfrontaler Cortex
PG	Prostaglandin
PGE2	Prostaglandin E2
Q1/3	1./3. Quartil
ROS	radikale Sauerstoffspezies
RSA	resting state activity
RSC	rostrosplenialer Cortex
sACC	subgenualer anteriorer cingulärer Cortex
sIL-2R	soluble (löslicher) Interleukin-2-Rezeptor
SPSS	Statistical Product and Service Solutions
SSRI	selective serotonin reuptake inhibitors
Std.	Stunden
Tab.	Tabelle
TDO	Tryptophan-2,3-Dioxygenase
TNF- α	Tumornekrosefaktor- α
TNF- α R1	TNF- α -Rezeptor Typ 1
TPN	task-positive-network
UD	unipolare Depression
VF	Volumenschrumpfungsfaktor
W	weiblich
WHO	World Health Organization
Zn ²⁺	Zinkion
ZNS	Zentrales Nervensystem

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Die glutamaterge Synapse	6
Abbildung 2: Der Tryptophanstoffwechsel	16
Abbildung 3: Der cinguläre Cortex	20
Abbildung 4: Grafische Darstellung der koronaren Schnittführung	28
Abbildung 5: Fotografische Darstellung der Mikrogliazellen	34
5A: Cortex gesunder Vergleichspersonen	34
5B: Subcorticale Region gesunder Vergleichspersonen	34
5C: Cortex depressiver Patienten	34
5D: Subcorticale Region depressiver Patienten	34
Abbildung 6: Graphische Darstellung der Ergebnisse	35-38
6A: Diagnose-Hauptgruppeneffekte	35
6B: Diagnose-Hauptgruppeneffekte nach Hemisphären	36
6C: Diagnose-Subgruppeneffekte	37
6D: Diagnose-Subgruppeneffekte nach Hemisphären	38
Abbildung 7: Test-Reliabilität	42/43
7A: Test-Retest-Reliabilität	42
7B: Interrater-Reliabilität	43
Abbildung 8: Schematische Darstellung des NMDA-Rezeptors.....	52

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Synopse der Glutamat-Studien	10
Tabelle 2: Demografische Daten.....	26/27
Tabelle 3: Korrelationsanalysen.....	40/41

1 Einleitung

Affektive Störungen (AS) sind vorrangig durch eine klinisch relevante Veränderung der Stimmungslage definiert.

Erste Erwähnungen einer krankhaft veränderten Affektivität finden sich bereits in der antiken Viersäftelehre im Corpus Hippocraticum (5. Jahrhundert vor Christus) unter dem Begriff der Melancholie (von griechisch „melos“: schwarz, und „cholos“: Galle). Es war der erste Versuch einen auffallend traurigen Gemütszustand als organisch bedingt, im Sinne einer Multisystemerkrankung, anzusehen. Seitdem war der Begriff der affektiven Störungen einem ständigen Wandel unterzogen. Jüngste Diagnose- und Klassifikationssysteme zielen vor allem auf eine Beschreibung der Symptome ab (1). Zusätzlich zu den Störungen der Affektivität und den damit einhergehenden Beeinträchtigungen der Kognition lassen sich oft vegetative Symptome sowie Störungen der sozialen Interaktion aufzeigen.

Die beiden Hauptformen der affektiven Störungen, die mit einer Lebenszeitprävalenz von zusammen etwa 20% eine der häufigsten Erkrankungen darstellen (2), bilden die unipolare Depression (UD, ICD-10: Rezidivierende depressive Störung, DSM-IV: Major Depression) und die bipolare Störung (BS, ICD-10: bipolare Störung, DSM-IV: Bipolar Disorder).

Der Begriff der Depression (von lat. deprimere = niederdrücken) erhielt seinen Einzug in die medizinische Nomenklatur während der ersten Hälfte des 19. Jahrhunderts, wobei er anfänglich allen Patienten mit einer sogenannten Minussymptomatik (psychische Unterfunktion) zuteil wurde. Heute stellt er einen symptomorientierten Oberbegriff mit einer deutlich engeren inhaltlichen Ausrichtung dar (3). Der unipolaren Depression kommt aufgrund ihrer Häufigkeit innerhalb der affektiven Störungen die größte Bedeutung zu. Untersuchungen der Weltgesundheitsorganisation (WHO) und der Weltbank zufolge nahm die Major Depression 1990 den vierten Rang der 15 Hauptursachen für „verlorene Lebensjahre durch schwerwiegende Behinderung oder Tod“ („disability adjusted life years“, DALY) ein (4).

Die Komplexität des Krankheitsbildes hat zahlreiche Theorien zur Ätiologie und Pathophysiologie der Erkrankung hervorgerufen. Man geht heute bei den affektiven Störungen von einer multifaktoriellen Ätiopathogenese im Sinne eines Vulnerabilitäts-Stress-Modells aus, bei dem sowohl genetische als auch psychosoziale Faktoren sowie neurobiologische Erklärungsansätze eine Rolle spielen.

Die hohe Zahl an Therapieversagern (5) demonstriert deutlich, dass die Pathophysiologie affektiver Störungen nicht hinreichend geklärt ist und dass ein umfassenderes Verständnis der neurobiologischen und neurobiochemischen

Vorgänge unabdingbar ist, um die therapeutischen Möglichkeiten im Rahmen eines multimodalen Behandlungskonzeptes zu optimieren.

1.1 Neurobiochemische Modelle zur Ätiopathogenese von affektiven Störungen

Die neurobiochemischen Modelle zur Ätiopathogenese von affektiven Störungen beziehen sich auf verschiedene Neurotransmitter. Im Mittelpunkt der Forschung stehen dabei das monoaminerge und das glutamaterge System. Es geht hierbei nicht nur um die isolierte Betrachtung der Transmitterkonzentrationen im synaptischen Spalt, sondern in erster Linie um eine Dysbalance diverser Neurotransmitter sowie Veränderungen auf der Rezeptorebene.

1.1.1 Das serotonerge System

Serotonin, auch 5-Hydroxytryptamin (5-HT), ist ein biogenes Amin, welches sowohl ein Gewebshormon als auch einen Neurotransmitter darstellt. Die Synthese erfolgt vorwiegend in den enterochromaffinen Zellen der Darmschleimhaut aus L-Tryptophan. Da Serotonin die Blut-Hirn-Schranke (BHS) nicht überwinden kann (6), muss auch eine zentrale Biosynthese stattfinden. Im Zentralen Nervensystem (ZNS) wird 5-HT ausschließlich in den Raphekernen im Hirnstamm synthetisiert und gelangt über serotonerge Bahnen zum Cortex, Hippocampus, Thalamus und Striatum sowie zahlreichen anderen Hirnstrukturen (7). Im menschlichen Organismus unterscheidet man zurzeit sieben verschiedene 5-HT-Rezeptor-Untergruppen, 5-HT₁₋₇, die ihrerseits insgesamt 15 strukturell und pharmakologisch unterschiedliche Subtypen bilden. Der 5-HT₃-Rezeptor ist ein ligandengesteuerter Ionenkanal, alle anderen 5-HT-Rezeptoren sind G-Protein-gekoppelte Rezeptoren mit second-messengergesteuerter Signaltransduktion (8). Die große Zahl verschiedener 5-HT-Rezeptoren ist auch für die mannigfachen Wirkungen des Serotonins verantwortlich: Neben der Beteiligung an Blutdruckregulation, Blutgerinnung und Darmmotilität, nimmt 5-HT auch Einfluss auf den Schlaf-Wach-Rhythmus (9;10), die Temperaturregulation (11), den Appetit sowie die sexuelle Aktivität. Ferner werden auch eine Beteiligung bei Impulskontrolle, Lernfähigkeit und Gedächtnis angenommen (6;12). Im Rahmen affektiver Störungen kommt in erster Linie dem 5-HT_{1A}-Rezeptor eine zentrale Bedeutung zu. Er kommt im ZNS sowohl prä- als auch postsynaptisch vor und spielt eine wichtige Rolle bei Lernvorgängen und Affektivität (8). Darüber hinaus ist der 5-HT_{1A}-Rezeptor als Zielstruktur bei der Behandlung zentralnervöser Erkrankungen, wie Angstzuständen und depressiven Störungen, von pharmakologischem Interesse (13). Mittlerweile

werden jedoch auch weitere Untergruppen, wie der 5-HT_{2A}- und 5-HT_{3A}-Rezeptor, mit affektiven Störungen bzw. deren pharmakologischer Behandlung (14) in Verbindung gebracht. Dies liegt vor allem an ihrer funktionellen Bedeutung bei der Regulation des Schlafverhaltens und der Entstehung von Angst (8).

Seit über 40 Jahren ist die sogenannte Amindefizithypothese eine wichtige Komponente der neurobiologischen Erklärungsansätze depressiver Störungen. Neben einem verminderten Angebot des Neurotransmitters Noradrenalin, spielt hierbei die serotonerge Dysregulation die wichtigste Rolle (3;15). Beispielsweise lässt sich die bei Patienten mit affektiven Störungen oft beobachtete verminderte kognitive Leistungsfähigkeit (16) auch durch einen artifiziell herbei geführten 5-HT-Mangel hervorrufen (17). Weitere Hinweise auf ein serotonerges Defizit geben nicht zuletzt die Wirkmechanismen der modernen antidepressiven Medikamente (18). In erster Linie sind in diesem Kontext die selektiven Serotonin-Wiederaufnahme-Hemmer (SSRI) zu nennen, welche zu einer erhöhten Konzentration sowie zu einem längeren Verbleib von Serotonin im synaptischen Spalt führen. Doch auch die älteren Medikamente beeinflussen besonders die serotonerge Neurotransmission: Trizyklische Antidepressiva hemmen, zumindest als eine der Wirkkomponenten, den Transport von 5-HT aus dem synaptischen Spalt, Monoaminoxidasehemmer (MAO-Hemmer) inhibieren den Abbau der biogenen Amine, einschließlich Serotonin, allgemein (19).

Aufgrund der Tatsache, dass 5-HT im Gegensatz zu seinen Vorstufen Tryptophan und 5-Hydroxytryptophan (5-HTP) die Blut-Hirn-Schranke nicht passieren kann, wird angenommen, dass ein peripher verminderter Tryptophanspiegel zu einem verminderten Angebot von Serotonin im ZNS führt. Im Umkehrschluss kann angenommen werden, dass durch eine Tryptophandepletion eine depressive Symptomatik ausgelöst bzw. durch Tryptophangabe eine depressive Symptomatik verbessert werden kann. Eine negative Veränderung der Stimmungslage durch Tryptophandepletion kann zwar nicht eindeutig demonstriert werden (20), jedoch gibt es Hinweise darauf, dass bei Vorliegen einer entsprechenden Vulnerabilität, wie situativ bedingte Stressoren (20) oder eine abgelaufene depressive Episode (21), eine akute Tryptophandepletion negativen Einfluss auf das aktuelle emotionale Erleben hat. Positivere Ergebnisse erzielten die Versuche eine bestehende depressive Symptomatik durch die Gabe von 5-HTP zu verbessern (22). Auch konnte gezeigt werden, dass die zentrale 5-HT-Synthese durch orale Tryptophanaufnahme bis auf das Zweifache gesteigert werden kann (23). Birdsall et al. geben einen gut recherchierten Überblick über 15 Studien mit dem Ziel die Wirksamkeit der 5-HTP-Gabe zu beurteilen: 56% der depressiven Patienten (unipolar Depressive und bipolar

Depressive) zeigten eine signifikante Verbesserung der depressiven Symptomatik nach einer Therapie mit 5-HTP (24).

Zusammenfassend ist festzustellen, dass es viele Hinweise auf eine Beteiligung des serotonergen Systems bei der Ätiopathogenese von affektiven Störungen gibt. Die bisherigen Erkenntnisse reichen jedoch nicht aus um die pathophysiologischen Zusammenhänge vollständig zu erklären. Folglich scheint bei der Entstehung der affektiven Störungen nicht nur ein Transmittersystem involviert zu sein. Unterstützt wird diese Hypothese unter anderem dadurch, dass die Gabe antidepressiver Medikamente nicht nur das monoaminerge System beeinflusst: SSRI's (Fluoxetin, Paroxetin) und trizyklische Antidepressiva (Desipramin) führen neben einer erhöhten 5-HT-Konzentration im synaptischen Spalt auch zu einer vermehrten Expression von Glutamattransportern (VGLUT1) im Gyrus Cinguli sowie im Hippocampus (25).

1.1.2 Das glutamaterge System

Die nicht-essentielle Aminosäure Glutamat (Glutaminsäure, L-Glutamat, Glu) gilt als der bedeutendste Transmitter der exzitatorischen synaptischen Signalübertragung im ZNS der Wirbeltiere (26). Seine Wirkungen entfaltet Glu über zahlreiche Rezeptoren. Diese sind in metabotrope (mGlu) und ionotrope (iGlu) Rezeptoren unterteilt. Die mGlu steuern über G-Proteine intrazelluläre Stoffwechselfvorgänge. Die iGlu führen nach Aktivierung zum Eintritt von Kationen in die Zelle und setzen somit Ca^{2+} -abhängige intrazelluläre Signalkaskaden in Gang, die über neurotrophe Faktoren die neuronale Modifizierung bestimmen. Die iGlu sind nach ihren synthetischen Agonisten, die zur jeweiligen Aktivierung führen unterteilt: α -Amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazol Propionsäure- (AMPA), N-methyl-D-aspartat- (NMDA), und Kainat-Rezeptoren (27).

Unter physiologischen Bedingungen spielt Glutamat unter anderem eine wichtige Rolle in der synaptischen Plastizität. Diese beschreibt die aktivitätsabhängige Stärke der synaptischen Signalübertragung, welche als Grundlage für neurophysiologische Mechanismen wie Lernprozesse und Gedächtnis angesehen wird (28). Hierbei spielen die ionotropen Glu-Rezeptoren vom NMDA-Typ (NMDAR) eine entscheidende Rolle. Durch ihre Besonderheit der prä- und postsynaptischen Präsenz kommt es zu einer Leitfähigkeitserhöhung, welche als eines der wesentlichen Elemente für die Induktion der synaptischen Plastizität gilt und damit den molekularen Mechanismus für Prozesse wie Lernen und Gedächtnis im Ansatz erklärbar macht (29;30). Bei hohen Konzentrationen oder pathologischer Überaktivität gilt Glu jedoch als stark exzitotoxisch. Das heißt, dass eine exzessive Stimulation die neuronale Lebensfähigkeit durch Behinderung struktureller und funktioneller Integrität gefährdet.

Folglich kann es sowohl zur direkten als auch zu einer verzögert auftretenden Neurotoxizität kommen.

Die glutamaterge Synapse besteht im Prinzip aus drei Komponenten: der Präsynapse, der Postsynapse und einer Gliazelle, in der Regel einem Astrozyten oder einer Mikrogliazelle (siehe Abbildung 1) (31). Die Depolarisation der Präsynapse induziert einen erhöhten Ca^{2+} -Einstrom mit folgender Glu-Freisetzung aus den Vesikeln der Präsynapse in den synaptischen Spalt. Der Effekt an der Postsynapse wird durch verschiedene Glu-Rezeptoren vermittelt. Der Na^+ -Einstrom durch AMPA-Rezeptoren führt zu einer Depolarisation der postsynaptischen Membran. Erst jetzt kommt es zur Aktivierung des NMDAR und zum weiteren Ca^{2+} -Einstrom in die postsynaptische Membran und damit zur Induktion zahlreicher Ca^{2+} -abhängiger Signalkaskaden (31). Die Aufnahme von Glu in die Gliazellen oder das Re-Uptake in die Präsynapse terminiert die Wirkung des Glu. Die Wiederaufnahme erfolgt größtenteils über die Transporter für exzitatorische Aminosäuren (EAAT), die unspezifisch alle exzitatorischen Aminosäuren transportieren. Der gliale Glu-Transporter EAAT-2 ist ausschließlich auf Astrozyten lokalisiert, mit besonders hoher Expression im cerebralen Cortex (32;33). Zudem ist er an fast 90% des gesamten Glu-Uptakes beteiligt (34;35). In den Gliazellen wird Glu von der Glutaminsynthetase (GS) in Glutamin und in α -Ketoglutarat umgewandelt und kann so der Glutamatsynthese in den Nervenendigungen wieder zur Verfügung gestellt werden (36).

Abbildung 1: Die glutamaterge Synapse

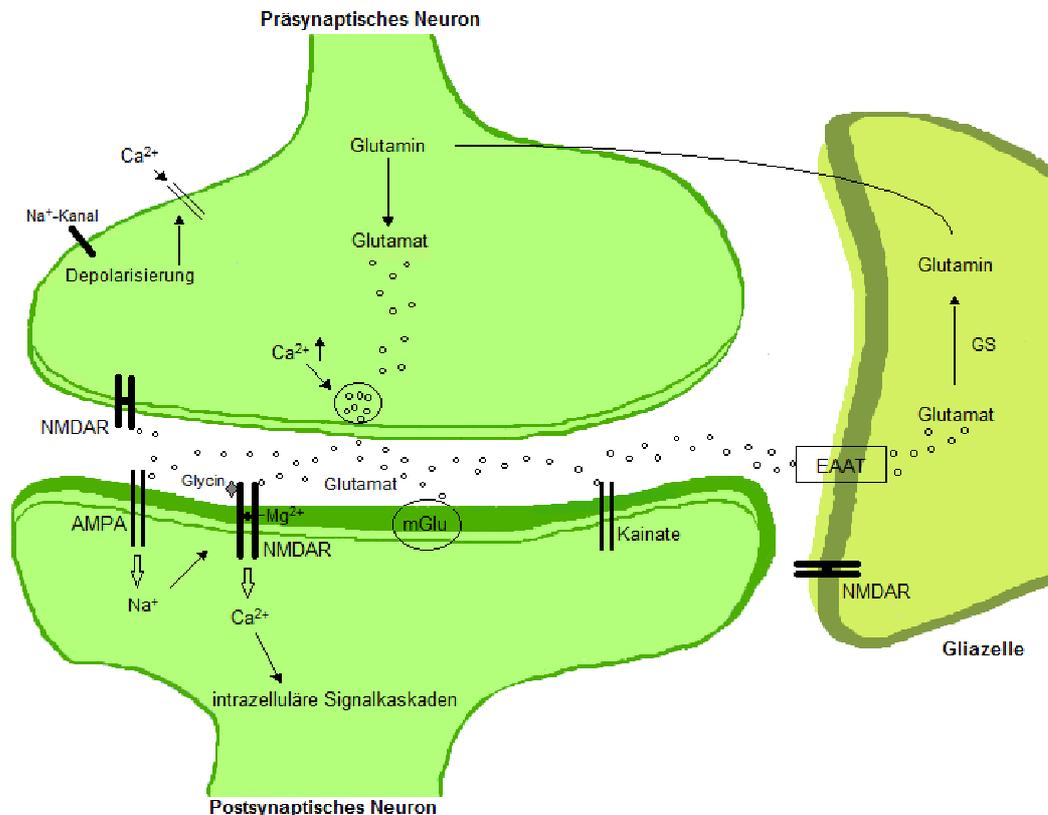


Abbildung modifiziert nach Machado-Vieira et al. (31)

Abkürzungen: AMPA α -Amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazol Propionsäure-Rezeptor; NMDAR N-methyl-D-aspartat-Rezeptor; mGlu metabotroper Glutamat-Rezeptor; EAAT excitatory amino acid transporter; GS Glutaminsynthetase

Anmerkungen:

Präsynaptisches Neuron: durch spannungsgesteuerte Na^+ -Kanäle kommt es zum Anstieg der intrazellulären Na^+ -Konzentration. Die folgende Depolarisation erhöht den Ca^{2+} -Einstrom und führt somit zur Fusion der glutamatergen Vesikel mit der präsynaptischen Membran. Es kommt zur Glutamatfreisetzung in den synaptischen Spalt.

Postsynaptisches Neuron: die Aktivierung postsynaptischer AMPA-Rezeptoren führt zum Einstrom von Na^+ (geringfügig auch Ca^{2+}) und somit zur Depolarisation der postsynaptischen Membran. Erst durch die Bindung von Glutamat und Glycin an den NMDAR sowie durch die Depolarisation der Membran kommt es zur Aktivierung der NMDAR und somit zum Ca^{2+} -Einstrom in die Postsynapse. Durch den Ca^{2+} -Anstieg werden intrazelluläre Signalkaskaden zur neuronalen Modifizierung und Differenzierung in Gang gesetzt.

Gliazelle: Mit Hilfe von Glutamat-Transportern (EAAT) kommt es durch die Aufnahme des Glutamats in die Gliazelle zur Beendigung der glutamatergen Neurotransmission. Intraglial wird Glutamat durch die Glutaminsynthetase zu Glutamin umgewandelt, dieses wird wieder in das präsynaptische Neuron transportiert und steht dort wieder der Glutamatsynthese zur Verfügung.

Veränderungen im glutamatergen System werden mit der Pathophysiologie verschiedenster Krankheitsbilder, wie Amyotrophe Lateralsklerose (ALS), Chorea Huntington, Schizophrenie und Angststörungen in Verbindung gebracht (37). Eine potentielle Dysfunktion der glutamatergen Neurotransmission in der Entstehung von affektiven Störungen rückte in den letzten Jahren zunehmend in den Blickpunkt der Forschung. Es wird davon ausgegangen, dass eine abnorme Aktivität im glutamatergen System zu Beeinträchtigungen der synaptischen und neuronalen Plastizität führt, welche auch bei Patienten mit schweren oder wiederkehrenden affektiven Störungen beobachtet werden (26).

Erste Hinweise auf eine Beteiligung des Glutamatsystems bei der Entstehung von affektiven Störungen geben zahlreiche Studien über die Auswirkungen der Verabreichung von NMDAR-Antagonisten. Crane et al. beobachteten schon 1959 einen antidepressiven Effekt bei der Gabe von D-Cycloserin, einem NMDAR-Modulator, der in hohen Dosen vor allem als NMDAR-Antagonist wirkt (38). Es folgten weitere tierexperimentelle Studien, die anderen NMDAR-Antagonisten, wie MK-801 (Dizocilpine), Ketamin und Memantin antidepressive Effekte zusprachen (39-41). Besondere Aufmerksamkeit galt einer Publikation von Zarate et al., in der ein anhaltender antidepressiver Effekt nach Einmalgabe von Ketamin bei therapieresistenter Depression geschildert wurde (42). Infolge der Antagonisierung der NMDAR kommt es neben ansteigenden Glu-Konzentrationen im anterioren Cingulum (43), vor allem prägenual, zu einem Anstieg der Noradrenalin- und Serotoninspiegel im ZNS, was als Erklärungsansatz für die antidepressive Wirkung der Substanzen betrachtet wird (44). Der zugrundeliegende Mechanismus dabei ist bisher nicht geklärt. In diesem Zusammenhang wird eine Beteiligung GABAerger Interneurone diskutiert (45). Dabei wird davon ausgegangen, dass es als Folge der Antagonisierung von NMDAR der GABAergen Interneurone (46;47) in corticalen und/oder subcorticalen Strukturen zu einer fehlenden Hemmung glutamaterger Neurone und somit zur gesteigerten Glu-Freisetzung kommt (48).

Auch Lamotrigin, ein Antikonvulsivum, welches die Glutamatfreisetzung durch Modulation der Natrium-, Calcium- und Kaliumkanäle reduziert, wird effektiv zur Phasenprophylaxe, vor allem zur Prävention depressiver Episoden, bei der Bipolar-II-Störung eingesetzt. Zudem wird Lamotrigin als Adjuvans bei der Behandlung von therapieresistenten bi- und unipolaren Depressionen angewendet (49;50).

Im Folgenden werden die Ergebnisse einiger Studien bezüglich glutamaterger Veränderungen bei affektiven Störungen zusammenfassend dargestellt (siehe Tabelle 1).

In diversen bildgebenden Studien konnte der Glu-Metabolismus bzw. das Vorkommen von Glx (Glutamat + Glutamin) mittels der Protonen-Magnetresonanzspektroskopie (H1-MRS) dargestellt werden. In diesen Studien wird bei unipolar Depressiven von vermindertem Glx im anterioren Cingulum (ACC), vor allem prägenual (51;52), im linken dorsolateralen präfrontalen Cortex (DLPFC) (53) sowie in der Amygdala (54) und im linken Hippocampus (55) berichtet. Ferner wird eine Normalisierung der Glx-Konzentrationen im DLPFC und im ACC nach erfolgreicher elektrokonvulsiver Therapie (EKT) beobachtet (52;53). Eine weitere Untersuchung mittels H1-MRS, in der Glutamat separat betrachtet wurde, zeigt erhöhte Glu-Spiegel insbesondere im okzipitalen Cortex unmedizierter depressiver Patienten (56). Die Frage, ob sich Glx und Glu gleichgerichtet verändern, ist nicht geklärt.

Weitere H1-MRS-Studien demonstrierten bei Patienten mit bipolarer Störung, unabhängig von der Krankheitsphase (depressiv, euthym, manisch), ein erhöhtes corticales Vorkommen von Glx in folgenden Hirnregionen: ACC, medialer PFC (57), DLPFC (58) und Hippocampus (59).

Des Weiteren wurde bei Bipolaren eine verminderte Bindung von MK-801 im Hippocampus beobachtet, was auf eine erhöhte Glutamatkonzentration mit daraus resultierender Herunterregulation der entsprechenden Rezeptoren hinweisen könnte (60).

In Post-mortem-Untersuchungen konnte ein erhöhter Glu-Gehalt im frontalen Cortex von Patienten mit bipolarer Störung und unipolarer Depression nachgewiesen werden (61).

Untersuchungen des Glutamats im Liquor sind weder konsistent noch vergleichbar. Es wurden sowohl ein erhöhtes Glu-Vorkommen im Liquor von unmedizierten akut-depressiven Patienten (62) beschrieben, als auch physiologische Glu-Konzentrationen bei therapieresistenten medizierten depressiven Patienten (63) und verminderte Glu-Spiegel bei Patienten mit refraktärer bipolarer Störung, die mindestens eine Woche vor Beginn der Studie keine Medikation erhielten (64).

Auch bezüglich des peripheren Glutamats wurden Veränderungen bei Patienten mit affektiven Störungen aufgezeigt. Bei unipolar Depressiven wurden erhöhte Glu-Konzentrationen in Plasma und in Serum beobachtet (65-67). Maes et al. schilderten keine signifikante Abweichungen der Glu-Spiegel bei unipolar Depressiven im Vergleich zu gesunden Vergleichspersonen. Sie konnten jedoch eine Reduktion nach fünfwöchiger antidepressiver Therapie demonstrieren (68).

Zusammenfassend ist festzuhalten, dass viele Studien bezüglich Veränderungen im glutamatergen System durchgeführt wurden, die trotz mangelnder Vergleichbarkeit vornehmlich Abweichungen von physiologischen glutamatergen Verhältnissen

aufzeigen. Zu überwiegend konsistenten Befunden kommen die bildgebenden Studien, in denen eine Reduktion von Glx bei unipolar Depressiven demonstriert wird sowie die Plasmauntersuchungen, die einen erhöhten Glu-Spiegel bei unipolar Depressiven zeigen. Es ist nicht klar, ob sich das Vorkommen von Glx und Glu gleichgerichtet verändert. Trotzdem sei hier angemerkt, dass ein konträres Verhalten des peripheren und zentralen Glutamats ein bekanntes, nicht geklärtes Phänomen ist, das sowohl bei Patienten als auch bei gesunden Vergleichspersonen auftritt (69).

Zudem sind die dargestellten Befunde in Bezug auf den Glu-Gehalt im Liquor von den Ergebnissen der bildgebenden Studien abzugrenzen, da im Liquor nur der integrale, d.h. der aus dem gesamten ZNS stammende Glu-Gehalt bestimmt werden kann. In verschiedenen Hirnregionen kann die Glu-Konzentration dagegen unterschiedlich hoch sein. Daher ist es wichtig bestimmte Hirnregionen isoliert und nicht das Glu-Vorkommen als Ganzes zu betrachten. Auf die Frage welche Regionen bei affektiven Störungen von Relevanz sind und in welchen folglich eine Veränderung im glutamatergen System erwartet werden kann, wird im weiteren Verlauf dieser Arbeit noch eingegangen.

Tabelle 1: Synopse der Glutamatstudien

Referenz	Diagnose	Medikation	Studie	Region	Glx	Glu	Anmerkungen
Hasler et al.	UD	keine	H1 MRS	PFC	↓		
Auer et al.	UD	AD	H1 MRS	ACC	↓		
Pfleiderer et al.	UD	AD	H1 MRS	ACC	↓		Normalisierung nach EKT
Michael et al.	UD	3 Tage keine AD	H1 MRS	DLPFC	↓		Normalisierung nach EKT
Michael et al.	UD	3 Tage keine AD	H1 MRS	Amg	↓		
Block et al.	UD	keine	H1 MRS	Hi	↓		
Sanacora et al.	UD	2 Wochen keine AD	H1 MRS	Okz		↑	
Frye et al.	BS ₁	keine	H1 MRS	ACC/mPFC	↑	↑	Durchführung vor und nach Lamotrigingabe; Reduktion von Glx nach Therapie
Hashimoto et al.	UD+BS ₂	mediziert	Postmortem	PFC		↑	
Levine et al.	UD	keine	Liquor			↑	
Pangalos et al.	UD	AD	Liquor			o	nur therapieresistente Patienten
Frye et al.	BS ₃	1 Woche keine AD	Liquor		↓		
Altamura et al.	UD	unbekannt	Plasma			↑	
Kim et al.	UD	unbekannt	Plasma			↑	
Mauri et al.	UD	4 Wochen keine AD	Plasma			↑	
Maes et al.	UD	keine	Plasma			o	Durchführung vor und nach Pharmako- therapie: nach Therapie Reduktion der Glu- Spiegel und Anstieg von Glutamin

Abkürzungen: Glx Glutamat+ Glutamin; Glu Glutamat; UD Unipolare Depression; BS Bipolare Störung; AD Antidepressiva; H1 MRS Protonen Magnetresonanztomographie; PFC Präfrontaler Cortex; ACC Anteriorer Cingulärer Cortex; DLPFC Dorsolateraler Präfrontaler Cortex; Amg Amygdala; Hi Hippocampus; okz Okzipitalhirn; mPFC medialer Präfrontaler Cortex; EKT Elektrokonvulsive Therapie; ↓ Reduktion; ↑ Anstieg; o keine Veränderung

1 Patienten mit BS, depressive Episode

2 gleichgerichtete Veränderungen bei depressiven und manischen Patienten

3 hauptsächlich depressive Patienten; gleichgerichtet Veränderungen bei depressiven und manischen Patienten im Ggs. Zu Kontrollen und psychotischen Patienten

1.2 Immunologische Veränderungen bei affektiven Störungen

Neben den bisher beschriebenen Erklärungsansätzen spielt auch das neuroinflammatorische Konzept eine zunehmende Rolle bei der Erforschung der pathophysiologischen Zusammenhänge von affektiven Störungen.

Erste Hinweise auf die Beteiligung neuroinflammatorischer Prozesse an der Pathogenese von depressiven Störungen geben die bekannten neuropsychiatrischen Nebenwirkungen einer Therapie mit Interferon- α (INF- α) (70;71). INF- α ist ein proinflammatorisches Zytokin mit starken immunmodulatorischen und antiviralen Eigenschaften und wird vor allem zur Therapie von Hepatitis C eingesetzt. Die Ursache für die neuropsychiatrischen Nebenwirkungen ist nicht geklärt. Es gibt jedoch klinische Studien die zeigen, dass 30 - 40 % der Patienten unter einer Therapie mit INF- α depressive Symptome entwickeln (72). Aber nicht nur die Entwicklung einer depressiven Symptomatik infolge einer Aktivierung des Immunsystems wurde beschrieben, sondern auch die Verbesserung einer bestehenden depressiven Symptomatik infolge anti-inflammatorischer Therapien. Einige Studien demonstrierten, dass bei depressiven Störungen eine immunmodulatorische Therapie zusätzlich zur antidepressiven Pharmakotherapie vorteilhaft bezüglich der Symptom-Remission ist. Mendlewicz et al. zeigten in einer „open-label-Studie“, dass Acetylsalicylsäure (ASS), welches sowohl die Cyclooxygenase-1 (COX-1) als auch die COX-2 hemmt und zur Senkung der Prostaglandinsynthese (PGE₂) führt, als Adjuvans zu Fluoxetin (SSRI) bei depressiven Patienten zu einer gesteigerten Remissionsrate führt. Dies zeigte sich besonders bei Patienten, die unter alleiniger Fluoxetin-Therapie als Therapieversager eingestuft wurden (73).

Prostaglandin E₂ (PGE₂) ist ein Gewebshormon, welches an Entzündungsprozessen maßgeblich beteiligt ist. Es wird infolge Stimulation durch Entzündungsmediatoren, wie Zytokine, in diversen Zellen des Immunsystems, insbesondere in Monozyten, Makrophagen und Mikroglia synthetisiert. Auch mit depressiven Störungen wurde PGE₂ bereits in Verbindung gebracht. Unter anderem wurden erhöhte Spiegel in Liquor (74), Serum (75) und Speichel (76) depressiver Patienten gefunden. Und bereits vor mehr als 20 Jahren kam es zu der Annahme der Hemmung von PGE₂ durch trizyklische Antidepressiva (77). Yaron et al. zeigten in einer In-vitro-Studie, dass sowohl SSRIs als auch trizyklische Antidepressiva die zytokininduzierte PGE₂-Produktion durch inflammatorische Zellen abschwächen (78).

Neben ASS als Adjuvans einer antidepressiven Pharmakotherapie konnten auch Erfolge mit selektiven COX-2-Hemmern (Celecoxib) erzielt werden. Eine deutliche Verbesserung der Symptomatik von organisch gesunden depressiven Patienten

stellte sich unter einer Therapie mit Reboxetin (selektiver Noradrenalin-Wiederaufnahme-Hemmer, NARI) in Kombination mit Celecoxib im Vergleich zu einer Therapie unter Reboxetin in Kombination mit einem Placebo dar (79).

Die Theorie, dass immunologische Veränderungen an der Entstehung und Aufrechterhaltung von affektiven Störungen beteiligt sind, wird auch durch das Modell des so genannten „sickness behaviour“ unterstützt. Dies beschreibt eine unspezifische Reaktion von Geist und Körper auf Infektionen und Entzündungen, welche durch Adynamie, Antriebslosigkeit, Schlaf- und Konzentrationsstörungen, Interessensverlust sowie weiteren Symptomen einhergeht (80-82). Dieser Symptomenkomplex, der vor allem bei infektiösen und autoimmunen Erkrankungen deutlich wird und dessen Ursprung in der Aktivierung des Immunsystems vermutet wird, findet sich auch bei depressiven Patienten (81;82). Die Tatsache, dass eine depressive Symptomatik im Rahmen einer infektiösen Erkrankung voll reversibel ist, gibt Grund für die Annahme, dass bei der Entstehung von affektiven Störungen neben einer überschießenden oder fehlerhaft ablaufenden Immunantwort noch andere Faktoren eine Rolle spielen müssen, die diese begünstigen bzw. aufrechterhalten.

Die neuroinflammatorische Hypothese wird zudem durch weitgehend übereinstimmende Befunde darüber unterstützt, dass bei depressiven Erkrankungen eine Aktivierung des proinflammatorischen Systems vorliegt. In diesem Sinne wurde ein Anstieg von Interleukin-6 (IL-6) (83-85), löslichen IL-2-Rezeptoren (s-IL-2R) und Transferrin-Rezeptoren (Trf-R) (83;85;86) beobachtet, wobei der s-IL-2R als ein Maß für die T-Zell-Aktivierung betrachtet werden kann. Auch wurde von erhöhten Spiegeln des Tumornekrosefaktor- α (TNF- α) (87) und Interferon- γ berichtet (88). Andere Untersuchungen demonstrierten eine Erhöhung weiterer Entzündungsindikatoren bei depressiven Patienten. Zu nennen ist hier in erster Linie Neopterin (89-91), neben IL-6 ein empfindlicher Marker für die Aktivierung von Monozyten. Hinweise auf eine Monozytose im Blut depressiver Patienten bestehen ebenfalls (92;93).

Eine wichtige Frage die sich in diesem Kontext stellt ist, wie Veränderungen des peripheren Immunsystems zu Störungen der Neurotransmission bei unipolarer Depression und bipolarer Störung führen können.

Dantzer et al. nehmen an, dass systemische Inflammationen im ZNS wiedergespiegelt werden. An diesem Prozess sind sowohl afferente neuronale Verbindungen, als auch makrophagen-ähnliche Zellen der zirkumventrikulären Organe und Zytokintransporter in der Blut-Hirn-Schranke (BHS) beteiligt. Zusammen führen diese Komponenten dazu, dass proinflammatorische Zytokine, je nach Rezeptorverteilung, in verschiedenen Hirnregionen zu Störungen der Neurotransmission führen können (94).

1.2.1 Die Bedeutung der Mikroglia

Eine zentrale Rolle in der Frage nach der Interaktion zwischen Immunsystem und ZNS spielt auch die Mikroglia. Sie macht ca. zehn Prozent aller Gliazellen aus und stellt als Zellen myelomonozytären Ursprungs im Prinzip das Immunsystem des ZNS dar. Man geht davon aus, dass die Vorläufer der Mikroglia bereits während der frühen Embryonalentwicklung in das ZNS einwandern um dann im ausgereiften ZNS als Angehörige der unspezifischen Immunabwehr und als die primären immunkompetenten Zellen des ZNS dort ansässig werden (95). Unter physiologischen Bedingungen befinden sich die Mikrogliazellen in einem Ruhezustand. Dieser wird durch die normale elektrische Aktivität von Neuronen sowie durch Astrozyten aufrechterhalten. Die physiologische elektrische Aktivität der Neurone bedingt die Freisetzung von Substanzen, wie nerve growth factor (NGF) und brain-derived growth factor (BDNF) (96). Diese unterdrücken die mikrogliale Expression ko-stimulatorischer Moleküle der Antigenpräsentation, wie z.B. CD86 (97), das für die Aktivierung inflammatorischer Prozesse notwendig ist, und verhindern somit eine inflammatorische Aktivierung, einschließlich der Mikroglia-Aktivierung. Des Weiteren exprimieren intakte Neurone das Glykoprotein CD200, welches eine Verbindung mit dem CD200-Rezeptor auf Mikrogliazellen eingeht und somit ebenfalls vor einer übermäßigen Mikroglia-Aktivierung schützt (98). Zudem sind Astrozyten in der Lage durch die Freisetzung von transforming growth factor- β (TGF- β) oder IL-10, beides anti-inflammatorische Zytokine, die Mikroglia-Aktivierung zu unterdrücken (99;100). Im Falle einer gestörten Integrität des ZNS-Parenchyms kommt es jedoch zu einer schnellen Aktivierung der Mikroglia, die vermutlich sowohl aus dem Wegfall der neuronalen Hemmung als auch aus einer direkten neuronalen Aktivierung resultiert (101). Dabei könnte eine veränderte Konzentration von Neurotransmittern eine Rolle spielen.

Aktivierte Mikroglia synthetisieren im Sinne einer zielgerichteten Immunantwort proinflammatorische Zytokine wie IL-1, IL-6 und TNF- α (102). Umstände die zu einer übermäßigen oder anhaltenden Aktivierung der Mikroglia führen, können akute oder chronische neuropathologische Veränderungen hervorrufen (103). Die Produktion proinflammatorischer Zytokine durch aktivierte Mikroglia lässt sich experimentell durch die Gabe von Lipopolysacchariden (LPS) zeigen. LPS sind Bestandteile der Zellwand gramnegativer Bakterien, die bei Zerfall der Bakterien Endotoxine abgeben. Gelangen LPS in das Blut binden sie an ein Serumprotein. Dieser Komplex bindet an den Membranrezeptor CD14, der unter anderem von Monozyten exprimiert wird, und induziert somit die Freisetzung von TNF- α und IL-1 β . LPS können durch zirkumventrikuläre Organe direkt in das ZNS gelangen und dort ebenfalls über CD14

auch mikrogliale Zellen aktivieren (104). Tierexperimentell konnte durch die periphere Gabe von LPS neben einer Aktivierung von Mikrogliazellen mit vermehrter Zytokinproduktion auch eine Verhaltensänderung im Sinne eines sickness-behaviour herbeigeführt werden (105).

Eine quantitative Veränderung mikroglialer Zellen im Hirnparenchym suizidaler schizophrener und bipolarer Patienten zeigte bereits eine Studie, in der vermehrt HLA-DR-positive (Human-Leucocyte-antigen-DR) Mikroglia im aMCC, DLPFC sowie im mediodorsalen Thalamus von Patienten im Vergleich zu Gesunden nachgewiesen wurden (106;107). Da HLA-DR ein konstitutiv exprimiertes Oberflächenantigen ist, sagt die Anzahl HLA-DR-positiver Mikroglia jedoch nichts über die metabolische Aktivität dieser monozytären Zellen aus (108).

1.3 Der Tryptophanmetabolismus

Das Enantiomer L-Tryptophan (im Folgenden nur noch als Tryptophan bezeichnet) ist eine aromatische Aminosäure und zählt zu den sogenannten essentiellen Aminosäuren. Es kann also nicht vom menschlichen Organismus synthetisiert werden und muss mit der Nahrung zugeführt werden. Tryptophan ist sowohl die Ausgangssubstanz der Serotoninsynthese als auch des Kynureninmetabolismus. Daher steht der Tryptophanmetabolismus bezüglich der Erklärung der pathophysiologischen Zusammenhänge von affektiven Störungen im Mittelpunkt der Forschung.

Ein Mangel an 5-HT spielt im Rahmen der oben dargelegten Amindefizithypothese eine bedeutende Rolle bei der Ätiopathogenese von affektiven Störungen (siehe Kapitel 1.1.1). Da sowohl Tryptophan als auch 5-Hydroxytryptophan (5-HTP) die Blut-Hirn-Schranke passieren können (6), wird angenommen, dass ein peripher verminderter Tryptophanspiegel zu einem verminderten Angebot von Serotonin im ZNS führt.

Der primäre Stoffwechselweg des Tryptophans ist jedoch der Kynureninmetabolismus. Dieser führt zur Biosynthese von Nicotinamid-Adenin-Dinukleotid und Nicotinamid-Adenin-Dinukleotidphosphat (NAD und NADP). NAD und NADP sind Koenzyme, die an zahlreichen Redoxreaktionen des Zellstoffwechsels beteiligt sind.

Der erste Schritt im Tryptophanabbau führt durch die Enzyme Tryptophan-2,3-Dioxygenase (TDO) und/oder Indolamin-2,3-Dioxygenase (IDO) zur Bildung von Kynurenin. Im Gegensatz zu der nur hepatisch vorkommenden TDO, deren Aktivität durch steigende Tryptophankonzentrationen (109;110) und hohe Cortisolspiegel (111)

gesteigert wird, kommt es bei der auch zentral exprimierten IDO durch proinflammatorische Zytokine wie IFN- γ (112) und IL-1 (113) sowie durch Prostaglandin E2 (PGE2) (114) zur verstärkten Enzymaktivität. Kynurenin wird in verschiedenen Zelltypen zu unterschiedlichen Metaboliten verstoffwechselt. In Makrophagen und Mikroglia wird 3-Hydroxykynurenin (3-OHK) synthetisiert, welches durch eine Überproduktion radikaler Sauerstoffspezies (ROS) zu neuronaler Apoptose führt (115). Doch auch der neurodegenerative und exzitotoxische NMDAR-Agonist Chinolinsäure (ChS) wird in monozytären Zellen produziert (116;117). In Astrozyten hingegen kommt es aufgrund des Fehlens der Kynureninhydroxylase (KOH) nicht zur ChS-Synthese (118). Hier wird Kynurenin zum neuroprotektiven NMDAR-Antagonisten Kynureninsäure (KS) metabolisiert (119), die den exzitotoxischen Effekten der ChS protektiv antagonisiert (120). Daraus folgt, dass ein ausgeglichener Kynureninmetabolismus wichtig ist für das neuroprotektiv-neurodegenerative Gleichgewicht im ZNS und, dass Störungen dieses Gleichgewichts zu neuropathologischen Veränderungen führen können. Im Rahmen der Ätiopathogenese von affektiven Störungen ist eine Störung der neuroprotektiv-neurodegenerativen Balance der Ausgangspunkt für die Neurodegenerationshypothese (121). Die Relevanz der zytokin-induzierten Aktivitätssteigerung der IDO für die Ausbildung einer depressiven Symptomatik wird in einer Studie von O'Connor et al. verdeutlicht, in der bei Mäusen ohne INF- γ -Rezeptor (knock-out-Mäuse) trotz einer generalisierten Aktivierung des Immunsystems weder eine Aktivitätssteigerung der IDO noch eine Ausprägung depressiver Symptome beobachtet werden konnte (122).

Auf der Grundlage des Tryptophanstoffwechsels wird in dieser Arbeit versucht mithilfe der Chinolinsäure eine Brücke zwischen der Inflammationshypothese sowie der Glutamat- und Serotoninhypothese affektiver Störungen zu schlagen.

Abbildung 2: Der Tryptophanmetabolismus

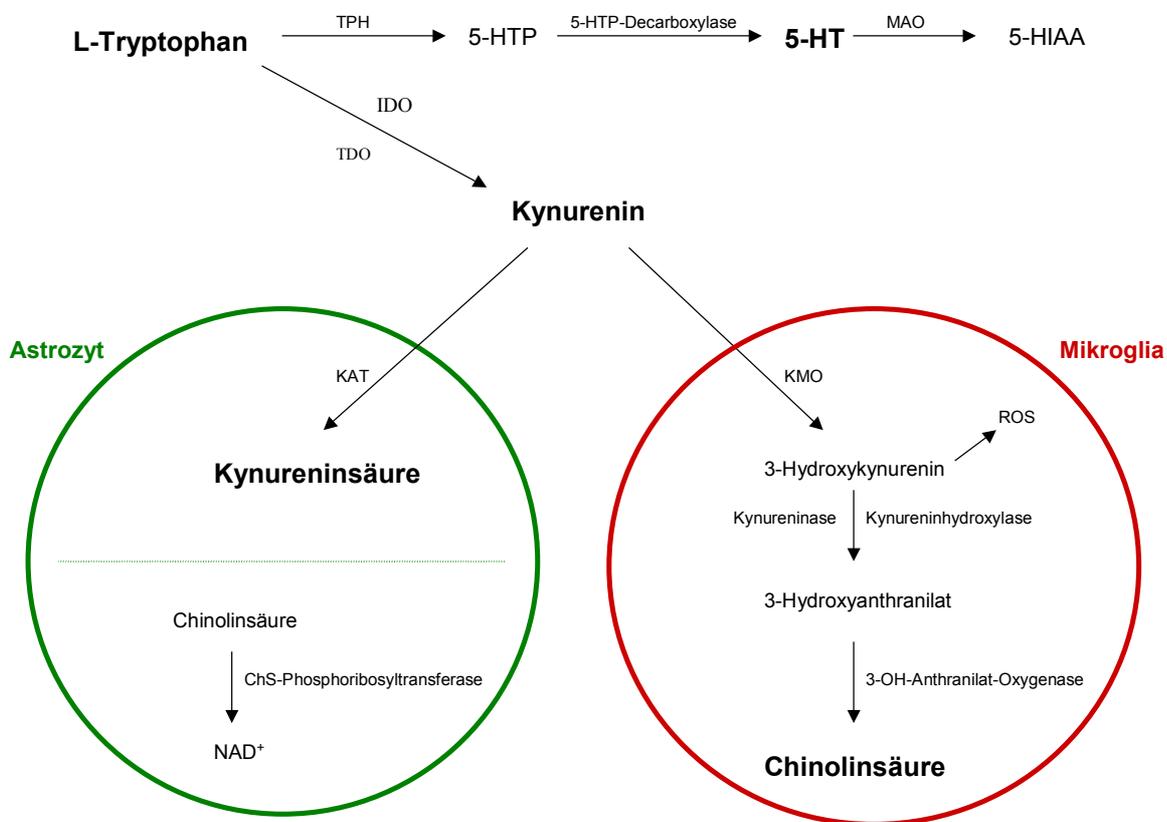


Abbildung modifiziert nach Wonodi et al. (119)

Abkürzungen: TPH Tryptophanhydroxylase; 5-HTP 5-Hydroxytryptophan; 5-HT Serotonin; MAO Monoaminoxigenase; 5-HIAA 5-Hydroxyindolylessigsäure; IDO Indolamin-2,3-Dioxygenase; TDO Tryptophan-2,3-Dioxygenase; KAT Kynurenin-Aminotransferase; KMO Kynurenin-3-Monooxygenase; 3-OH-Anthranilat-Oxygenase 3-Hydroxyanthranilat-Oxygenase; NAD Nicotinamidadenindinukleotid

1.4 Die Bedeutung der Chinolinsäure

Ein Interessenschwerpunkt bei der Erforschung des Kynureninmetabolismus liegt aufgrund ihrer biologischen Eigenschaft als NMDAR-Agonist bei der Chinolinsäure (ChS). Ihre neurotoxischen Eigenschaften konnten tierexperimentell schon 1983 gezeigt werden. Schwarcz et al. induzierten durch die intrazerebrale ChS-Injektion die Zerstörung lokaler neuronaler Zellkörper (117). Hinweise auf eine Beteiligung bei entzündlichen Prozessen ergaben sich aus Modellen neuroinflammatorischer

Erkrankungen wie der experimentellen allergischen Enzephalitis (123) und bakteriellen sowie viralen Infektionen (124), in denen signifikant erhöhte zentrale ChS-Spiegel demonstriert wurden. Aus diesen NMDAR-vermittelten neurotoxischen Eigenschaften der ChS leitet sich eine Theorie zur Ätiopathogenese von affektiven Störungen ab, welche die bisherigen neurobiologischen Erklärungsansätze durch die Hypothese der zytokin-induzierten Neurodegeneration im Rahmen einer gestörten neuroprotektiv-neurodegenerativen Balance (121) mit daraus resultierendem 5-HT-Mangel durch die IDO-induzierte Tryptophandepletion verbindet. Zudem ist die ChS ein etablierter Marker des mikogliale Aktivitätszustandes (125;126) und schlägt somit eine weitere Brücke zur neuroinflammatorischen Hypothese im Rahmen einer übermäßigen Aktivierung der Mikroglia (siehe Kapitel 1.2).

Wichers et al. zeigen schon 2005, dass die depressive Symptomatik infolge einer INF- α -Therapie mit einem gesteigerten Abbau von Tryptophan sowie mit einem verminderten Spiegel von KS im Plasma einhergeht (127). Andere Studien bestätigen diese Befunde und demonstrieren eine erhöhte IDO-Aktivität und eine Verschiebung der neuroprotektiv-neurodegenerativen Balance zugunsten der neurodegenerativen Metabolite (128). Auch ein Anstieg von Neopterin und INF- γ bei gleichzeitig geringeren Tryptophanspiegeln im Plasma depressiver Patienten konnte gezeigt werden (91). Weiterhin werden im Liquor von Hepatitis-Patienten, die unter Interferon- α -Therapie eine depressive Symptomatik entwickeln, erhöhte Spiegel von Kynurenin und ChS nachgewiesen, wobei sich die erhöhten Spiegel von Kynurenin im Gegensatz zu denen der ChS auch im Plasma zeigen ließen (129). Ein Bezug zur depressiven Symptomatik kann durch bei HIV-positiven Patienten mit erhöhten ChS-Spiegeln im Liquor auftretende Auffälligkeiten wie verlängerte Reaktionszeiten (130), Lernschwierigkeiten, Gedächtnisstörungen und weiteren kognitiven Defiziten hergestellt werden (131).

Die agonistische Wirkung am NMDAR ist auf die Bindung der ChS an der Glutamat-Bindungsstelle zurückzuführen (132). Die exakten Mechanismen sind bisher nicht geklärt. Behan et al. zeigten 1999 in einer tierexperimentellen Studie, dass es durch eine ChS-getriggerte NMDAR-Überstimulation zur apoptosebedingten hippocampalen Atrophie kommt (133), welche auch bei depressiven Patienten zu finden ist (134;135). Eine Untersuchung bezüglich des Kynureninstoffwechsels im Hirnparenchym von Patienten mit affektiven Störungen, demonstrierte eine verstärkte Induktion des initialen Schrittes des Kynureninmetabolismus im anterioren cingulären Cortex (ACC) depressiver Patienten (136).

Trotz der Hinweise auf eine Beteiligung der neurotoxischen Kynureninmetabolite bei der Ätiopathogenese von affektiven Störungen existiert bisher keine systematische

Untersuchung bezüglich des ChS-Vorkommens im Hirnparenchym betroffener Patienten.

1.5 Morphologische Veränderungen in Hirnen von Patienten mit affektiven Störungen

Die beschriebenen pathobiochemischen Dysregulationen im Rahmen der Ätiopathogenese affektiver Störungen sowie die Tatsache, dass Läsionen wie Tumore oder Schlaganfälle in bestimmten Hirnregionen zur Ausbildung sekundärer affektiver Störungen führen können (137) lassen vermuten, dass die Entstehung affektiver Störungen mit strukturellen Veränderungen einiger Hirnregionen assoziiert ist. Im Vergleich zu organischen Hirnerkrankungen und der Schizophrenie existieren diesbezüglich nur wenige Studien. Dennoch gibt es einige Hinweise auf strukturelle Veränderungen in bestimmten Hirnregionen bei Patienten mit affektiven Störungen. Schon 1986 verglichen Brown et al. in einer Post-mortem-Studie die Gehirne schizophrener Patienten mit denen von Patienten mit bipolarer Störung. Im Vergleich zu Schizophrenen zeigte sich bei den Bipolaren ein größeres Hirngewicht, ein dickerer parahippocampaler Cortex sowie kleinere Temporalhörner (138). Da in dieser Studie keine gesunden Vergleichspersonen mit eingeschlossen waren, ist die Aussagekraft dieser Befunde beschränkt. Mit fortschreitender Entwicklung computertomographischer und magnetresonanztomographischer Untersuchungen wurden in erster Linie bildgebende Studien zur Detektion morphologischer Veränderungen bei Patienten mit affektiven Störungen durchgeführt. Die in morphometrischen MRT-Studien am häufigsten erwähnte spezifische Veränderung bei Patienten mit affektiven Störungen gegenüber gesunden Vergleichspersonen ist eine Volumenminderung der grauen Substanz vor allem im Bereich der Hippokampusformation, des präfrontalen Cortex und der Basalganglien. So wurden bei Patienten mit bipolarer Störung im Vergleich zu Gesunden vor allem erweiterte Ventrikel, verbreiterte corticale Sulci (139) und ein verkleinertes Volumen des rechten Hippocampus (140) sowie der Temporalhörner (141) festgestellt. Bei Patienten mit unipolarer Depression wurden neben einer hippocampalen Volumenreduktion (134) auch ein vermindertes Volumen subcorticaler Regionen, wie dem Nucleus caudatus und dem Putamen (142) sowie eine corticale Reduktion im linken Temporallappen (143) festgestellt. Eine diagnostische Spezifität konnte bisher jedoch nicht erreicht werden.

Weiterführend kam es zur Durchführung histologischer Studien, die bei Patienten mit affektiven Störungen ebenfalls ein vermindertes subcorticales Volumen aufzeigten:

bei Bipolaren zeigte sich hier ein reduziertes Volumen des Hypothalamus, des lateralen Pallidum, des Putamen und Thalamus, bei Unipolaren konnte ein signifikant reduziertes Volumen nur im lateralen Pallidum nachgewiesen werden (144). Baumann et al. demonstrierten, dass bei affektiven Störungen gegenüber gesunden Vergleichspersonen vor allem das Volumen der Basalganglien reduziert ist, die eine direkte Verbindung zum limbischen System haben (145). Andere Studien konnten sowohl bei Bipolaren als auch bei Unipolaren eine geringere corticale Dicke im Bereich des DLPFC demonstrieren ohne dabei eine Reduktion der neuronalen Dichte festzustellen (146). Auch Drevets et al. fanden trotz Volumenreduktion der Amygdala eine unveränderte Neuronendichte, dafür aber eine verminderte Gliazahl bei familiären affektiven Störungen (147). Weitere Studien zu familiären affektiven Störungen demonstrierten eine 35-prozentige subgenuale Volumenreduktion (anterioren cingulärer Cortex, Brodman-Areal 24) (148) und 24% bis 41% weniger Gliazellen bei den Patienten gegenüber den Vergleichspersonen (148;149).

In anderen Regionen, zum Beispiel im Bereich der lateralen septalen Nuclei konnte wiederum eine Reduktion der neuronalen Dichte bei Bipolaren im Vergleich zu gesunden Personen festgestellt werden sowie eine negative Korrelation zwischen der neuronalen Dichte und der Krankheitsdauer bei Patienten mit unipolarer Depression (150). Zusammenfassend gibt es viele Hinweise auf cerebrale Strukturveränderungen bei Patienten mit affektiven Störungen. Konsistente Befunde konnten bisher jedoch weder in den post-mortalen Untersuchungen noch in bildgebenden Studien erhoben werden.

1.6 Depressionsrelevante Hirnregionen

Die Vielfalt der Symptome depressiver Störungen ist wahrscheinlich auf das Zusammenspiel vieler netzwerkartig verknüpfter Hirnregionen zurückzuführen. Eine wichtige Rolle spielen hier vor allem das anteriore Cingulum, der präfrontale Cortex, der Hippocampus, die Amygdala, der Thalamus und der Hypothalamus, sowie die oben angeführten Korrelate des monoaminergen Systems im Hirnstamm (151;152).

1.6.1 Der anteriore cinguläre Cortex

Der Gyrus cinguli ist Teil des limbischen Systems und umschließt fast das gesamte Corpus Callosum. Er ist außerdem ein Element des Papez-Neuronenkreises, einem neurobiologischen Konzept zur Erklärung von Emotionen und Gedächtnis. Die ursprüngliche zytoarchitektonische Einteilung nach Brodman beschreibt den Gyrus cinguli als eine aus zwei Teilen, einem anterioren und einem posterioren, bestehende

Hirnregion. Neuere Forschungsarbeiten diskutieren ein „Vier-Regionen-Modell“, bestehend aus einem anterioren, mittleren, posterioren und retrosplenialen cingulären Cortex (153).

Im posterioren und retrosplenialen cingulären Cortex (PCC,RSC) finden hauptsächlich Prozesse der visuell-räumlichen Wahrnehmung, sowie des Gedächtnisses statt (154). Dem anterioren cingulären Cortex (ACC), bestehend aus den Brodman Arealen 24, 25, 32, und 33, sowie dem mittleren cingulären Cortex (MCC), bestehend aus den Brodman Arealen 24, 32 und 33, werden in erster Linie eine Rolle bei der Modulation von Emotionen (155), Aufmerksamkeit, Gedächtnis und Motorik zugesprochen (154;156). Wobei hier vor allem der anteriore Teil des MCC (aMCC) beteiligt ist. Der posteriore Teil wird funktionell eher dem PCC zugesprochen. Der ACC lässt sich wiederum aufteilen in einen subgenualen (sACC), der unter dem Genu des Balkens liegt, und einen prägenualen (pACC) cingulären Cortex (153).

Abbildung 3: Der cinguläre Cortex

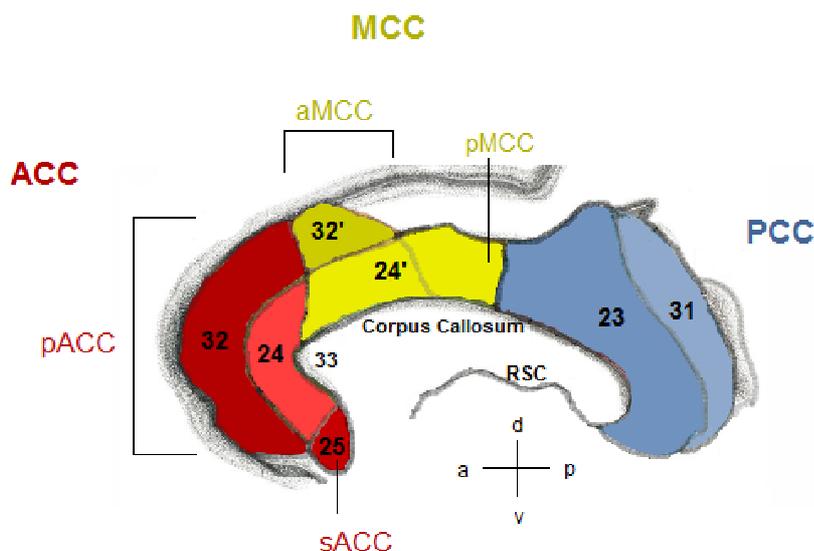


Abbildung modifiziert nach Palomero-Gallagher et al. (153)

Abkürzungen.: ACC anteriorer cingulärer Cortex; pACC prägenualer ACC; sACC subgenualer ACC; MCC mittlerer cingulärer Cortex; aMCC anteriorer MCC; pMCC posteriore MCC; RSC retrospleniales Cingulum

Die Ziffern bezeichnen die Areale nach Brodman

Durch verschiedene bildgebende Studien hat der ACC im Rahmen der Depressionsforschung in den letzten Jahren zunehmend an Bedeutung gewonnen. Diverse Studien haben gezeigt, dass das Volumen des sACC bei familiär auftretender bipolarer Störung sowie bei unipolarer Depression reduziert ist, wobei kein

Neuronenverlust sondern eine Gliareduktion nachzuweisen ist (148). Diese Volumenminderung persistiert unter antidepressiver Therapie und stellt sich sowohl in manischen als auch in depressiven Phasen gleichermaßen dar (157).

Zudem korreliert die mittels funktioneller Magnetresonanztomographie (fMRI) gemessene metabolische Aktivität im sACC positiv mit dem Ausmaß depressiver Symptome (158) und ist die Zielregion der antidepressiven Therapie durch Tiefe Hirnstimulation (159). Die Aktivität des pACC korreliert vorrangig mit dem Ansprechen auf antidepressive Pharmakotherapien (160).

Entsprechend der unterschiedlichen Funktionen der einzelnen Regionen des Gyrus cinguli, unterscheiden sich diese untereinander auch in der Expression diverser Neurotransmitter-Rezeptoren. Im Brodman-Areal 25 (sACC) zeigt sich eine besonders hohe Dichte von 5-HT_{1A}-Rezeptoren, sowie von NMDAR. Auch im BA 32' (aMCC) findet sich eine überdurchschnittliche NMDAR-Expression, wohingegen im pACC die NMDA-Rezeptoren unterdurchschnittlich repräsentiert sind. Im Gegensatz zu den übrigen Regionen finden sich im gesamten ACC weniger GABA_A und Acetylcholin-Rezeptoren, dafür jedoch ein erhöhtes Vorkommen von Glu-Rezeptoren (besonders AMPA- und Kainat-Rezeptoren), sowie von 5-HT_{1A}-Rezeptoren (153). Diese heterogene Rezeptorverteilung lässt darauf schließen, dass die im Rahmen der Depressionsforschung vermutete Dysregulation der unterschiedlichen Neurotransmittersysteme in diesen Regionen eine übergeordnete Rolle spielt.

Bezüglich des Glu-Haushalts zeigen sich entsprechende Befunde eines verminderten Glu-Vorkommens im pACC, das mit der Schwere der klinischen Symptomatik bei unipolar Depressiven korreliert (51;161;162) und ausschlaggebend für das Ansprechen auf eine EKT ist (163). Analog dazu demonstrierten Walter et al. eine relative Hypofunktion des pACC bei unipolar depressiven Patienten mit einer ausgeprägten anhedonistischen Symptomatik (164). Auch die oben beschriebenen positiven Effekte des NMDAR-Antagonisten Ketamin auf die klinische Symptomatik therapieresistenter Depressionen (42) geben einen Hinweis auf die zentrale Rolle des Glu-Metabolismus im ACC bei affektiven Störungen, da Ketamin insbesondere im ACC zu ansteigenden Glu-Konzentrationen führt (43).

Zwei Studien, in denen die Positronen-Emissions-Tomographie (PET) angewandt wurde, demonstrierten zudem eine serotonerge Hypofunktion im ACC (BA 24 und 32) bei depressiven Patienten mit überwiegend negativistischer und selbstaggressiver Symptomatik (165;166). Es ist davon auszugehen, dass bei suizidalen Depressiven gerade diese Symptomatik im Vordergrund steht. Zusammenfassend kann davon ausgegangen werden, dass der ACC eine zentrale Rolle bei der Entstehung und Aufrechterhaltung von affektiven Störungen spielt. Die Unterteilung des Gyrus cinguli

in vier Regionen erscheint aufgrund der heterogenen Rezeptorverteilung sinnvoll und soll auch in dieser Arbeit zur Anwendung kommen.

1.6.2 Der Hippocampus

Der Hippocampus liegt im Temporallappen und ist der zentrale Teil des limbischen Systems. Aufgrund seiner übergeordneten Rolle bei der Verarbeitung von Emotionen und der Konsolidierung und Koordination von Gedächtnisinhalten ist der Hippocampus schon früh in den Zusammenhang mit der Ätiopathogenese von affektiven Störungen gebracht worden (167). Ein konsistenter Befund bei Patienten mit depressiven Störungen ist die hippocampale Volumenreduktion (134;168;169). Die Ursache für diese Volumenreduktion ist unklar. Unter anderem werden reduzierte neurotrophe Faktoren wie BDNF vermutet. BDNF ist ein Polypeptid, das unter anderem bei Wachstum und Differenzierung von Neuronen beteiligt ist und auch bei der neuronalen Plastizität, also bei Lernprozessen und Gedächtniskonsolidierung, eine Rolle spielt (170;171). Auch eine hippocampale Serotonindepletion wird mit einer gestörten Neurogenese bei affektiven Störungen in Verbindung gebracht (172;173). Zudem werden eine Neuropilreduktion (135) und ein apoptosebedingter Neuronenverlust infolge NMDAR-abhängiger Überstimulation (174) diskutiert. Bei der Ätiopathogenese von affektiven Störungen wird eine Veränderung der Expression, Struktur oder Stimulation von NMDAR angenommen. Entsprechend wird in Post-mortem-Studien von einer Verminderung hippocampaler NMDAR-Untereinheiten sowie von verminderten Bindungsstellen der NMDAR im Hirnparenchym von Patienten mit affektiven Störungen berichtet (175).

1.7 Gegenstand dieser Arbeit

Trotz jahrelanger Forschungsarbeit auf dem Gebiet der affektiven Störungen ist die genaue Ätiopathogenese noch ungeklärt. In der vorliegenden Arbeit wird untersucht, ob das Diagnose-abhängige hirnregionale Verteilungsmuster Chinolinsäure-positiver Mikroglia einen Brückenschlag zwischen Psychoneuroimmunologie und veränderter Neurotransmission ermöglicht: emotionale Stressoren in Kombination mit einer übermäßigen Mikrogliaaktivierung könnten über die Akkumulation des NMDAR-Agonisten Chinolinsäure und lokaler Tryptophandepletion zu einer Veränderung der glutamatergen und serotonergen Neurotransmission und damit zum Auftreten depressiver Symptome führen.

Aufgrund der Tatsache, dass transiente Veränderungen im Rahmen der meist schubweise auftretenden affektiven Störungen in Post-mortem-Studien eventuell nicht erfassbar sind, wurde der Fokus dieser Arbeit auf akut kranke Patienten gelegt, die zum Todeszeitpunkt depressiv waren und sich suizidiert hatten.

Entsprechend lassen sich folgende Teilfragen formulieren, die in der vorliegenden Arbeit beantwortet werden sollen:

1. Können die in anderen Studien im peripheren Blut dargestellten Veränderungen im Kynureninmetabolismus bei affektiven Störungen durch den Nachweis quantitativer Veränderungen Chinolinsäure-positiver Mikroglia im Hirnparenchym von Patienten mit affektiven Störungen gegenüber gesunden Vergleichspersonen bestätigt werden?
2. Gibt es Unterschiede in der Quantität der Chinolinsäure-positiven Mikroglia zwischen den Subgruppen der affektiven Störung?
3. Gibt es Unterschiede in der Quantität Chinolinsäure-positiver Mikroglia im Hirnparenchym zwischen den Opfern unterschiedlicher Suizidformen: Suizid durch Strangulierung oder Erhängen gegenüber anderen Suizidformen?
4. Können morphologische Unterschiede der Chinolinsäure-positiven Mikroglia im Inter- und Intragruppenvergleich aufgezeigt werden, die auf den Aktivitätszustand der Zellen hinweisen?
5. Liegen analog der heterogenen Rezeptorverteilung hirnregionale Unterschiede in der Dichte der Chinolinsäure-positiven Mikroglia vor?

Zur Beantwortung dieser Fragen wurden mittels einer immunhistochemischen Färbung mit einem polyklonalen Chinolinsäure-Antikörper Chinolinsäure-positiv Mikroglia dargestellt. Neben einer qualitativ-zytomorphologischen Analyse wurde eine statistische Auswertung quantitativ-stereologischer Daten durchgeführt.

2 Material und Methoden

Im Rahmen dieser Post-mortem-Studie wurde das Hirngewebe von insgesamt 22 Personen immunhistologisch aufgearbeitet und anschließend untersucht.

Alle Gehirne stammen aus der Magdeburger Hirnsammlung der Klinik für Psychiatrie und Psychotherapie der Otto-von-Guericke-Universität Magdeburg. Die Sammlung des Materials erfolgte unter strikter Einhaltung der deutschen Gesetzgebung, sowie in Übereinstimmung mit der Deklaration von Helsinki und nach positivem Votum des lokalen Ethik-Komitees. Entsprechend den Richtlinien in der Stellungnahme der Zentralen Ethik-Kommission bei der Bundesärztekammer zur (Weiter-)Verwendung von menschlichen Körpermaterialien für Zwecke der medizinischen Forschung (Deutsches Ärzteblatt 100, A: 1632, 2003) wird versichert, dass Rechte des Betroffenen oder Dritter nicht verletzt werden. Insbesondere wird zugesichert, dass das Material nicht mehr im Interesse des Betroffenen (beispielsweise für Diagnosezwecke) benötigt wird, dass keine individualisierten Genuntersuchungen vorgenommen werden und voraussichtlich keine Forschungsergebnisse erarbeitet werden, die für den Betroffenen bzw. dessen Verwandte von individuellem Belang sein werden. Patientendaten wurden zu keinem Zeitpunkt der Untersuchung bzw. der Veröffentlichung der erhobenen Befunde öffentlich zugänglich gemacht (Zusicherung der unbedingten Anonymität der Daten). Zudem bestehen keine Anhaltspunkte dafür, dass der Betroffene die Forschung abgelehnt hätte (Einverständniserklärungen der Angehörigen wurden eingeholt).

Für diese Studie standen die Gehirne von 12 Patienten mit depressiven Störungen zur Verfügung (mittleres Alter 51,2 Jahre; 6 männliche (m), 6 weibliche (w) Probanden): davon litten 7 Patienten unter wiederkehrenden depressiven Störungen (mittleres Alter 50,1; 2 m, 5 w) und 5 Patienten unter einer bipolaren Störung (mittleres Alter 52,6; 1 w, 4 m.). Zum Vergleich wurde das Hirngewebe von 10 gesunden Personen untersucht (mittleres Alter 56,7; 5 m, 5 w). Die Patienten und die gesunden Vergleichspersonen starben zwischen 1986 und 2003.

Die klinische Diagnose der Patienten wurde zu Lebzeiten gemäß DSM IV-TR gestellt (Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, Fourth Edition, Text Revision; Washington DC: American Psychiatric Press, 2000) (176). Im weiteren Verlauf dieser Arbeit werden nur noch die Begriffe unipolare Depression und bipolare Störung/Depression verwendet. Dabei entspricht die Bezeichnung unipolare Depression dem im DSM IV verwendeten Begriff „Major Depression“, die Bezeichnung bipolare Störung/Depression dem im DSM IV verwendeten Begriff „Bipolar Disorders“.

Alle Patienten befanden sich zum Zeitpunkt des Todes in einer akuten depressiven Krankheitsphase. Vier Patienten erhielten psychotrope Medikamente, drei erhielten gar keine Medikamente, bei den übrigen fünf Patienten ist es nicht bekannt. Die mittlere Tagesdosis der letzten 90 Lebenstage wurde mit Hilfe der klinischen Dokumentation unter Berücksichtigung von Amitriptylin-, Chlorpromazin- und Diazepam-Äquivalenzdosen ermittelt (177-179). Carbamazepin und Lithium wurden gesondert betrachtet. Die mittlere Krankheitsdauer betrug sechs Jahre.

Innerhalb der Patientengruppe befanden sich ausschließlich Suizidopfer. Es handelte sich dabei überwiegend um sogenannte harte Suizide: Tod durch Erhängen (sechs Fälle), Inzision der Arteria radialis (zwei Fälle), Strangulierung (ein Fall) und Tod durch Elektrischen Schock (ein Fall). Zwei Fälle wurden Opfer des sogenannten weichen Suizids infolge Intoxikation.

Es wurden ausschließlich Gehirne von Patienten verwendet deren klinischer und demografischer Verlauf gut dokumentiert ist. Alle Fälle sind in Bezug auf Alter, Autolysezeit, Fixationstage und Krankheitsdauer aufeinander abgestimmt (Tabelle 2 – demografische Daten).

Nach Entnahme der Gehirne erfolgte eine Untersuchung auf neuropathologische Veränderungen infolge neurodegenerativer Erkrankungen durch einen erfahrenen Neuropathologen (Prof. Dr. C. Mawrin). Gehirne von Personen, in deren Anamnese Hinweise auf Alkoholabusus, Demenz oder andere neurologische Erkrankungen, schwere Traumata oder vaskuläre Ereignisse zu finden sind, die bekanntermaßen den zerebralen Stoffwechsel beeinflussen, bzw. Auswirkungen auf die Morphologie des Hirnparenchyms haben, wurden aus der Studie ausgeschlossen.

Tabelle 2: Demografische Daten

Proband	Diagnose	Geschlecht	Alter	Autolyse	Fixationsdauer
		m - männlich / w - weiblich	Jahre	Stunden	Tage
Gesunde Vergleichsgruppe (n=10)					
1	Gesund	m	56	48	75
2	Gesund	w	48	72	61
3	Gesund	m	47	8	90
4	Gesund	w	50	24	120
5	Gesund	m	64	24	240
6	Gesund	m	63	48	300
7	Gesund	w	61	24	780
8	Gesund	w	61	35	820
9	Gesund	m	54	48	250
10	Gesund	w	63	24	828
Anzahl: n=10		5w / 5m	56,70 ± 6,60	35,50 ± 18,52	379 ± 327
Patienten mit unipolarer affektiver Störungen (n=7)					
11	Unipolare Störung	w	53	47	485
12	Unipolare Störung	w	46	48	240
13	Unipolare Störung	w	53	46	245
14	Unipolare Störung	w	68	42	371
15	Unipolare Störung	m	35	24	420
16	Unipolare Störung	m	36	78	395
17	Unipolare Störung	w	60	15	850
Anzahl: n=7		5w / 2m	50,14 ± 12,10	42,86 ± 20,09	429 ± 205
Patienten mit bipolarer affektiver Störungen (n=5)					
18	Bipolare Störung	m	47	4	485
19	Bipolare Störung	w	46	24	270
20	Bipolare Störung	m	57	24	648
21	Bipolare Störung	m	60	48	887
22	Bipolare Störung	m	53	24	621
Anzahl: n=5		1w / 4m	52,60 ± 6,11	24,80 ± 15,59	582 ± 226

Differenzstatistik

Test	Chi-Quadrat-Test	ANOVA	ANOVA	ANOVA
Testwert	$\chi^2 = 3,086$	F=1,235	F=1,394	F=0,919
p-Wert	0,291	0,313	0,272	0,416

ID	Antidepressiva	Neuroleptika	Benzodiazepine	Carbamazepin	Lithium
	mittlere Tagesdosis der letzten 90 Tage [mg]	mittlere Tagesdosis der letzten 90 Tage [mg]	mittlere Tagesdosis der letzten 28 Tage [mg]	mittlere Tagesdosis [mg]	mittlere Tagesdosis [mg]
Patienten mit unipolarer affektiver Störungen (n=7)					
11	67	0	0	0	0
12	124	109	0	0	0
13	0	0	0	0	0
14	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.
15	0	0	0	0	0
16	0	0	0	0	0
17	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.
Patienten mit bipolarer affektiver Störungen (n=5)					
18	20	0	0	0	0
19	133	327	3	0	558
20	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.
21	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.
22	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.

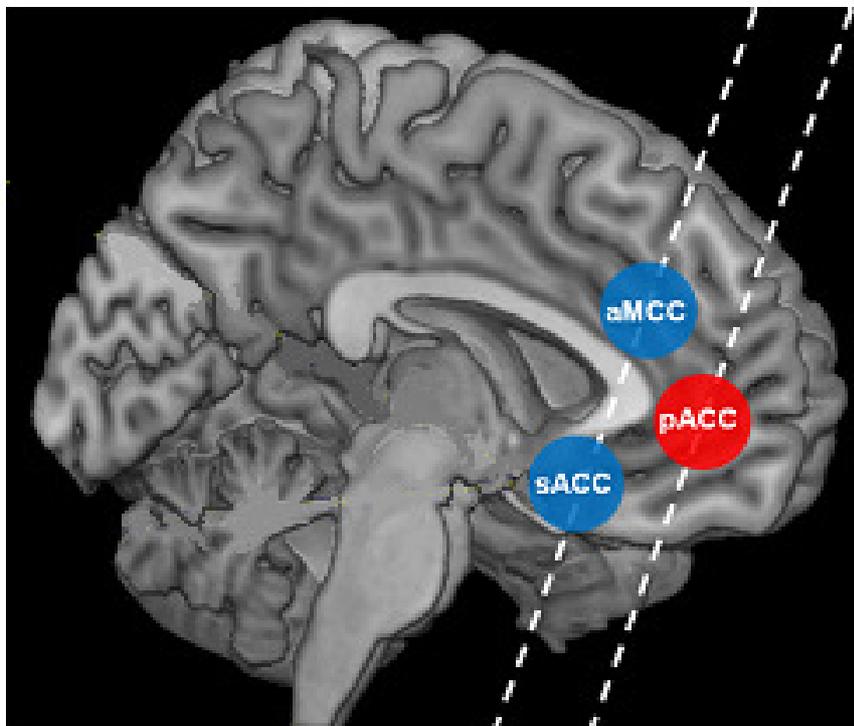
Abkürzung: n.b. nicht bekannt

2.1 Materialaufbereitung

Die Gehirne wurden im Mittel innerhalb von 35 Stunden (Std.) post-mortem entnommen und in toto für 3 Monate in einer achtprozentigen Formaldehydlösung fixiert (ph 7,0, T 15-20° C). Nach Separation von Hirnstamm und Kleinhirn wurde sowohl der frontale als auch der okzipitale Pol durch koronare Schnitfführung anterior des Genu und posterior des Splenium des Corpus Callosum abgetrennt. Es folgte eine dreistündige Wässerung der auf diesem Wege gewonnenen Hirnblöcke (anteriorer, mittlerer und posteriorer Block) unter fließendem Wasser mit anschließender Entwässerung in aufsteigender Alkoholreihe: für eine Woche wurden die Hirne in 50% Alkohol, in der zweiten Woche nacheinander in 60%, dann 70%, 80%, 90% und 96% Alkohol eingetaucht. Schließlich befanden sich die Blöcke zwei Wochen lang in 100% Alkohol bei einer wöchentlichen Erneuerung desselben. In den darauffolgenden sieben Tagen waren die Hirne in einem chloroformhaltigen Intermedium eingebracht, welches täglich gewechselt wurde. Abschließend folgte die Einbettung der drei Blöcke in Paraffin (Paraplast, Shandon).

Mit Hilfe eines Großschnittmikrotoms (Polycut S®, Jung) wurde eine Serie von koronaren Schnitten mit einer Schnittdicke von 20µm angefertigt. Es wurden zwei Schnitte vom anterioren Block sowie ein Schnitt vom Mittelblock zur Darstellung Chinolinsäure-positiver Zellen immunhistochemisch behandelt (siehe Abbildung 3). Die Untersuchungen wurden im Bereich des anterioren cingulären Cortex (ACC) vorgenommen. Brodmann Areal (BA) 24: anteriorer Teil des mittleren Cingulum (aMCC), BA 25: subgenuales anteriores Cingulum (sACC) und BA 24 / 32: prägenuales anteriores Cingulum (pACC), sowie im Hippocampus (Hi).

Abbildung 4: Grafische Darstellung der koronaren Schittführung



Abkürzungen: aMCC anteriorer Part des mittleren Cingulum; pACC prägenualer anteriorer cingulärer Cortex; sACC subgenualer anteriorer cingulärer Cortex

Das Ausmaß der Volumenschrumpfung (Schrumpfungsfaktor) wurde vor und nach Dehydratation und Einbettung des Gewebes in Paraffin für jedes Gehirn einzeln bestimmt, indem die Fläche der am weitesten rostral und am weitesten kaudal gelegenen Schnitte miteinander verglichen wurde. Dabei kam die Formel $VF = (A1/A2)^{3/2}$ zum Einsatz (VF = volume shrinking factor; A1 = Querschnittsfläche vor Gewebeaufbereitung; A2 = Querschnittsfläche nach Gewebeaufbereitung) (145).

Die tatsächliche Schnittdicke wurde unter Zuhilfenahme der Ober- und Unterfläche der einzelnen Schnitte bestimmt, indem die Koordinaten der Z-Achse der unteren Fläche von denen der oberen Fläche subtrahiert wurden. Unregelmäßigkeiten im Verlauf der Z-Achse wurden mit einem in dem Leica DM RB Mikroskop (Leica, Gießen, Deutschland) integrierten microcator (Mikroindikator, ein Instrument zur Messung kleinster Größen- und Positionsabweichungen) bestimmt.

Nach der histologischen Materialaufbereitung (Entparaffinierung und Färbung) betrug die ursprünglich auf dem Mikrotom eingestellte Schichtdicke nur noch $18,7 \pm 1,1 \mu\text{m}$ (mittlere Schichtdicke \pm Standardabweichung.)

2.2 Immunhistochemie

Zur immunhistochemischen Darstellung von Chinolinsäure (ChS) wurde ein polyklonaler Antikörper vom IgG-Typ benutzt (Produktnummer: 37106; polyclonal rabbit anti-quinolinic acid-antibody; Abcam, United Kingdom, Cambridge, Verdünnung: 1:150).

Die Spezifität des Antikörpers wurde vom Anbieter mittels ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay) im Rahmen von Vergleichsversuchen mit ChS, Kynureninsäure und Phenylalanin getestet.

Zunächst erfolgte die Deparaffinisierung mittels Xylen (Dimethylbenzene), anschließend wurde eine absteigende Alkoholreihe zur Lösung der Fixierung durchgeführt: fünf Minuten (Min.) in 100% Alkohol, jeweils weitere fünf Min. in 96%, 80% und 60% Alkohol und anschließende Spülung mittels Aqua dest (2 x 5 Min.). Es folgte die Antigendemaskierung durch vierminütiges Kochen jeden Schnittes in Citratpuffer (10 mM; pH 6) und eine weitere Spülung mit Aqua dest (2 x 5 Min).

Die Gewebeschnitte wurden für fünf Minuten mit phosphatgepufferter Salzlösung (PBS) behandelt, dann für zehn Minuten in 1,5-prozentigen Wasserstoffperoxid (H_2O_2) gebracht und anschließend noch zweimal fünf Minuten mit PBS behandelt um die Aktivität der endogenen Peroxidasen zu hemmen, da diese molekularen Sauerstoff freisetzen, welcher mit dem Gewebe reagiert. Anschließend wurden unspezifische Bindungsstellen wie Kollagen- bzw. Retikulinfasern mit Hilfe von zehnprozentigem Normalserum der Ziege blockiert. Diese Schritte dienen der Reduktion unspezifischer Hintergrundfärbungen. Nach 60 Minuten folgt die Inkubation mit dem Anti-ChS-Antikörper über 72 Std. bei 4°C in einer Verdünnung von 1:150. Es handelt sich hierbei um einen polyklonalen Antikörper vom Isotyp IgG (s.o.).

Anschließend folgte eine erneute Spülung mit PBS um alle ungebundenen Antikörper auszuwaschen. Diese Spülungen mit PBS (2 x 5 Min.) wurden bis zu dem Vorgang der Farbvisualisierung vor und nach jedem Arbeitsschritt durchgeführt.

Die Primärantikörper (Anti-ChS-Antikörper) wurden mit Hilfe einer indirekten Nachweismethode, der Avidin-Biotin-Complex-Methode (ABC-Methode) in Kombination mit dem Streptavidin-Biotin-Peroxidase-Komplex (Produktnummer: RPN 1051V, Amersham biosciences UK, Ltd., Little Chalford, England) bei einer Verdünnung von 1:100 und einer Inkubationszeit von zwei Std. bei Raumtemperatur, detektiert. Die beiden erwähnten Methoden ergänzen sich und folgen dem gleichen Prinzip: der hohen Affinität von Avidin/Streptavidin zu Biotin zur Kopplung enzymmarkierten Avidins an biotinylierte Sekundärantikörper.

Bei der ABC-Methode erfolgt nach Bindung des Primärantikörpers, in diesem Falle handelt es sich um den Anti-ChS-Antikörper, die Zugabe eines biotinylierten Sekundär-Antikörpers, welcher das Fc-Fragment des Primärantikörpers bindet. Anschließend wird enzymmarkiertes Avidin zugegeben, welches mit darauffolgender Enzym-Substrat-Reaktion einen Farbnachweis bringt.

Bei den in dieser Studie genutzten Sekundärantikörper handelt es sich um polyklonale Ziegen-Anti-Kaninchen-Antikörper vom IgG-Typ (Produktnummer: E 0432; DakoCytomation, Dänemark). Diese lagen in einer Verdünnung von 1:100 vor, die Inkubationszeit betrug zwei Std. bei Raumtemperatur. Als Enzym diente bei dieser Färbung die Meerrettichperoxidase (horseradish peroxidase, HRP).

Die Visualisierung des Reaktionsproduktes der immunhistochemischen Reaktion erfolgte mit 3,3'-Diaminobenzidin (DAB, Tetrahydrochlorid, Aufbewahrung bei -20°C , SIGMA-ALDRICH, FLUKA, Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Taufkirchen, Deutschland). DAB fungiert als Substrat der HRP, wobei es durch diese oxidiert wird und ein unlösliches Präzipitat brauner Farbe bildet, welches im normalen Licht detektiert werden kann. Zur Intensitätssteigerung der Farbreaktion wurde Ammoniumnickelsulfat eingesetzt (Amm. NiSO_4 , SIGMA-ALDRICH, Saint-Louis, Missouri, USA). Dazu wurde 0,5 g Amm. NiSO_4 und 0,0125 g DAB in Sigma PBS getrennt voneinander gelöst. Beide Lösungen wurden zusammengegeben und mit PBS auf 25 ml aufgefüllt und anschließend filtriert. Kurz vor Gebrauch müssen 250 ml einprozentige H_2O_2 -Lösung hinzugefügt werden. Dieses Gemisch wurde auf die Schnitte gegeben. Nach 20minütiger Einwirkzeit wurde erneut 2 x 10 Min. mit Aqua dest gespült. Abschließend wurde eine aufsteigende Alkoholreihe nach oben genanntem Schema durchgeführt und die Schnitte mit Eukitt (O.Kindler GmbH & Co) bei Raumtemperatur eingedeckt. Die Spezifität der Immunreaktion auf Chinolinsäure wurde mittels eines Präabsorptionsverfahrens überprüft. Bei diesem Verfahren wird der Primärantikörper

vor Durchführung der eigentlichen immunhistochemischen Färbung mit der nachzuweisenden Substanz inkubiert. Ist der Antikörper spezifisch, bleibt eine Immunreaktion aus, da der Antikörper bereits eine spezifische Bindung mit dem Antigen eingegangen ist, wenn er mit dem Gewebe inkubiert wird. In dieser Arbeit wurde anstelle des Primärantikörpers ein Gemisch aus Chinolinsäure (Sigma-Aldrich, München, Deutschland) und dem Anti-ChS-Antikörper unter Beibehaltung der oben erläuterten Schritte der immunhistochemischen Färbung eingesetzt. Dazu wurde 1 mg ChS in 10 µl Aqua dest gelöst und mit dem Primärantikörper (1:150) in 2 ml PBS für 24 Std. im Kühlschrank inkubiert. Anschließend folgte die Spezifitätsprüfung. Es konnte keine Anfärbung festgestellt werden und somit die Spezifität des Antikörpers bestätigt werden.

2.3 Morphometrie

Die Quantifizierung Chinolinsäure-positiver (ChS-positiver) Mikroglia erfolgte mit einem BH2 Stereomikroskop (Olympus, Hamburg, Deutschland). Die immunpositiven Zellen wurden in den vorher markierten oben genannten Regionen sACC, pACC, aMCC und Hippokampus in 40-facher Vergrößerung gezählt. ChS-positive Strukturen, die nicht eindeutig als zelluläre Strukturen beurteilt werden können, wurden nicht berücksichtigt. Die zytologische Klassifikation der immunpositiven Zellen erfolgte nach etablierten zytomorphologischen Kriterien (180). Da ChS nicht nur von Mikrogliazellen exprimiert wird, sondern vor allem auch von Monozyten im Blut (125), wurden ausschließlich die Zellen gezählt, die eindeutig außerhalb der Gefäße lagen, Zellen die sich intravaskulär befanden wurden als Monozyten klassifiziert und nicht in die Wertung genommen.

Die Zählungen wurden diagnoseblind durchgeführt. Für die Interrater-Testung wurden die Quantifizierung an allen Hirnschnitten durch einen anderen Untersucher wiederholt. Für die Test-Retest-Reliabilität wurden die Auswertungen an 15 zufällig ausgewählten Hirnschnitten wiederholt durchgeführt.

Die Fläche der zu evaluierenden Hirnregionen wurde mit Hilfe eines Stereomikroskops (Olympus SZX12, Olympus optical, Japan: Vergrößerung mit einem 2,5 Objektiv) und mittels einer Software für graphische Analysen ermittelt: Digitrace v. 2.10a (Imatec, Miesbach, Deutschland). Anschließend folgte die Bestimmung der Zelldichte durch Berechnung des Quotienten aus der Anzahl ChS-positiver Mikroglia und der Fläche des entsprechenden Areals multipliziert mit der Schichtdicke:

Zelldichte in Zellen/mm³ = Zellzahl / (Fläche x Schnittdicke).

2.4 Statistische Analyse

Mit Hilfe statistischer Analysen wurden die in Kapitel 1.7 formulierten Fragestellungen überprüft. Zu diesem Zweck wurden die folgenden Hypothesen formuliert:

2.4.1 Hypothesen

Statistisch wurde die entsprechende Nullhypothese H_0 überprüft. Zeigten sich hierbei Unterschiede ($p \leq \alpha$), wurde die Nullhypothese verworfen und es musste im Umkehrschluss anstelle der Nullhypothese die Alternativhypothese H_1 angenommen werden. In Bezug auf die vorliegende Arbeit bedeutet dies, dass im Falle der Assoziation der ChS-positiven Zelldichte mit der Diagnose einer affektiven Störung auf einem dem p-Wert entsprechenden Signifikanzniveau davon ausgegangen werden kann, dass eine veränderte Dichte ChS-positiver Mikroglia mit Störungen des Affekts vergesellschaftet ist.

H_{0_1} : Es besteht kein Zusammenhang zwischen der Chinolinsäure-positiven Zelldichte und affektiven Störungen.

H_{1_1} : Es besteht ein Zusammenhang zwischen der Chinolinsäure-positiven Zelldichte und affektiven Störungen.

H_{0_2} : Es bestehen keine quantitativen Unterschiede Chinolinsäure-positiver Mikroglia zwischen den Subgruppen affektiver Störungen.

H_{1_2} : Es bestehen quantitative Unterschiede Chinolinsäure-positiver Mikroglia zwischen den Subgruppen affektiver Störungen.

H_{0_3} : Es finden sich keine Unterschiede in der Quantität Chinolinsäure-positiver Mikroglia im Hirnparenchym zwischen den Opfern unterschiedlicher Suizidformen (Suizid durch Strangulierung/Erhängen gegenüber anderen Suizidformen).

H_{1_3} : Es finden sich Unterschiede in der Quantität Chinolinsäure-positiver Mikroglia im Hirnparenchym zwischen den Opfern unterschiedlicher Suizidformen.

H_{0_4} : Im Inter- und Intragruppenvergleich können keine morphologischen Unterschiede der Chinolinsäure-positiven Mikroglia aufgezeigt werden.

H_{1_4} : Im Inter- und Intragruppenvergleich können morphologische Unterschiede der Chinolinsäure-positiven Mikroglia aufgezeigt werden.

H_{0_5} : 5. Bezüglich der Verteilung Chinolinsäure-positiver Mikroglia können keine hirnregionalen Unterschiede analog der NMDAR-Verteilung aufgezeigt werden.

H_{1_5} : Bezüglich der Verteilung Chinolinsäure-positiver Mikroglia können hirnregionale Unterschiede analog der NMDAR-Verteilung aufgezeigt werden.

2.4.2 Auswertung

Die statistische Analyse wurde mittels SPSS Version 15.0 (Statistical Product and Service Solutions, Chicago, USA) ausgearbeitet.

Wie allgemein üblich wurde der α -Fehler mit 0,05 festgelegt. Das heißt, dass die maximal zulässige Wahrscheinlichkeit für das irrtümliche Ablehnen einer eigentlich richtigen Nullhypothese 5 % beträgt (Fehler 1. Art). Ein statistisch relevanter Zusammenhang ist somit bei $p \leq 0,05$ gegeben.

Eine Normalverteilung der Daten konnte nach Durchführung des Kolmogorow-Smirnow-Tests und des Shapiro-Wilk-Tests nicht angenommen werden. Daher wurde die gesamte Statistik mit parameterfreien Tests durchgeführt.

Mit dem Chi-Quadrat-Test wurde die Geschlechterverteilung zwischen den Stichproben geprüft. Die Differenzstatistik wurde mit Hilfe des Mann-Whitney-U-Tests und des Kruskal-Wallis-Tests realisiert. Der Mann-Whitney-U-Test ist zum Vergleich zweier Gruppen geeignet, weshalb durch Anwendung dieser Tests die Diagnose-Hauptgruppeneffekte zwischen Depressiven und gesunden Vergleichspersonen, sowie die Effekte des Geschlechtes auf die Dichte immunpositiver Zellen ermittelt wurden. Der Kruskal-Wallis-Test dient dazu mehr als zwei Gruppen mit einander zu vergleichen. Mit Hilfe dieses Tests wurden die Diagnose-Subgruppeneffekte bestimmt (unipolare Depression versus bipolare Depression versus gesunde Vergleichspersonen) sowie die Effekte Tod durch Erhängen/Strangulierung im Gegensatz zu anderen Suizidmethoden herausgearbeitet.

Es wurde der Median der quantitativen Daten dargestellt sowie das untere Quartil (Q1) und das obere Quartil (Q3) angegeben. Zwischen Q1 und Q3 befinden sich 50% der erhobenen Daten.

Da die Wahrscheinlichkeit der Annahme einer fehlerhaften Hypothese mit der Anzahl der Hypothesen auf einen Datensatz steigt, wurde zur Vermeidung dieser α -Fehlerkumulierung die Bonferroni-Holm-Korrektur angewandt.

Der eingesetzte Korrelationskoeffizient nach Spearman gibt Auskunft über einen möglichen Einfluss demografischer, histologischer und klinischer Variablen auf die Dichte ChS-positiver Mikroglia in den untersuchten Hirnregionen. Unter diese Variablen fallen die Kriterien Krankheitsdauer, psychotrope Medikation, das Alter zum Zeitpunkt des Todes, das Hirngewicht und die Autolysezeit.

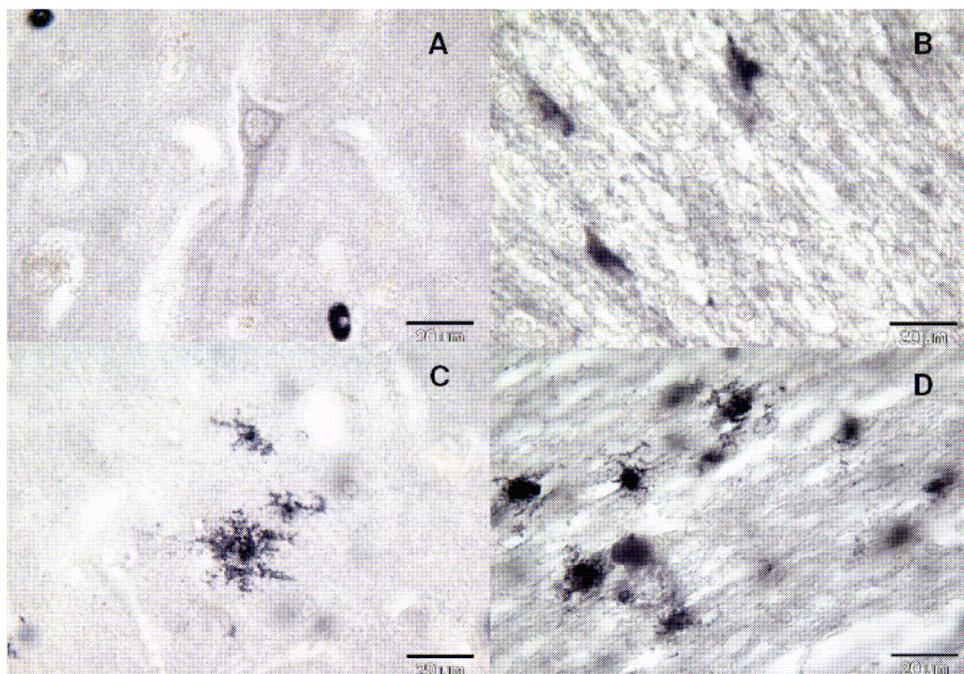
3 Ergebnisse

Im Folgenden werden die Ergebnisse der qualitativen und quantitativen Analyse dargestellt.

3.1 Qualitative Auswertung

Chinolinsäure konnte sowohl in der gewebeständigen Mikroglia, als auch in den Gefäßen in Monozyten immunhistochemisch nachgewiesen werden. Im Gegensatz dazu zeigte sich nur gelegentlich eine schwache Immunreaktion in anderen Zelltypen, wie z.B. in Pyramidenzellen, Astroglia oder auch in Nervenfasern. Die ChS-positiven Mikroglia bei gesunden Vergleichspersonen und Depressiven zeigten unterschiedliche morphologische Charakteristika: in den corticalen Arealen der gesunden Vergleichspersonen konnten fast ausschließlich glatte, ovale bis längliche, amöboide Mikroglia dargestellt werden (Abb. 5 A), wobei im Cortex der Depressiven vorwiegend ramifizierte Mikroglia mit granulärer Struktur zu finden waren (Abb. 5 C). Subcortical konnten in beiden Diagnosegruppen sowohl ramifizierte als auch amöboide Mikrogliaformen dargestellt werden (Abb. 5 B/D).

Abbildung 5A-D: Fotografische Darstellung der Mikrogliazellen



Anmerkungen: A Cortex, B Subcorticale Region einer gesunden Vergleichsperson; C Cortex, D Subcorticale Region eines depressiven Patienten

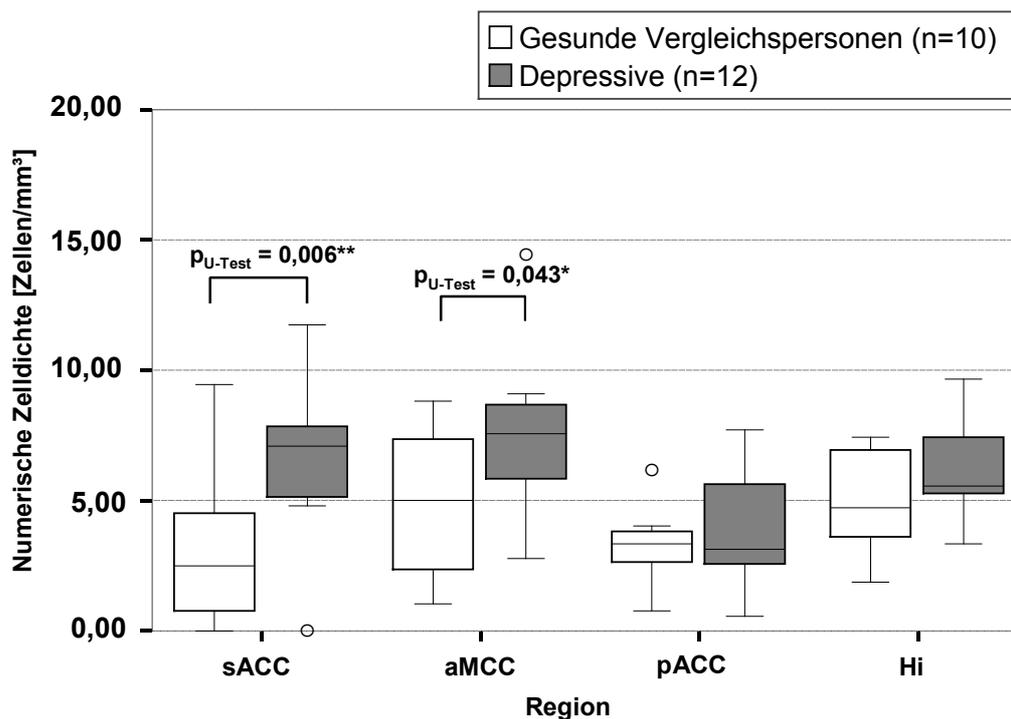
3.2 Quantitative Auswertung

Die folgende quantitative Auswertung beinhaltet Effekte der Diagnose, einschließlich der Subgruppen (unipolare und bipolare Depression), sowie die Effekte des Faktors Suizid auf die Dichte Chinolinsäure-positiver Mikroglia. Darüber hinaus werden die Ergebnisse der Korrelationsanalyse sowie der Prüfung der Interrater-Reliabilität und der Test-Retest-Reliabilität dargestellt.

3.2.1 Diagnose-Hauptgruppeneffekte

Gegenüber den gesunden Vergleichspersonen zeigte sich bei der Gesamtgruppe der Depressiven eine signifikant höhere Dichte immunpositiver Zellen im sACC ($p = 0,006$) sowie im aMCC ($p = 0,043$) (siehe Abbildung 6A). Im pACC und im Hippocampus fanden sich keine Diagnose-abhängigen Unterschiede in der Dichte ChS-immunreaktiver Mikrogliazellen.

Abbildung 6A: Diagnose-Hauptgruppeneffekte

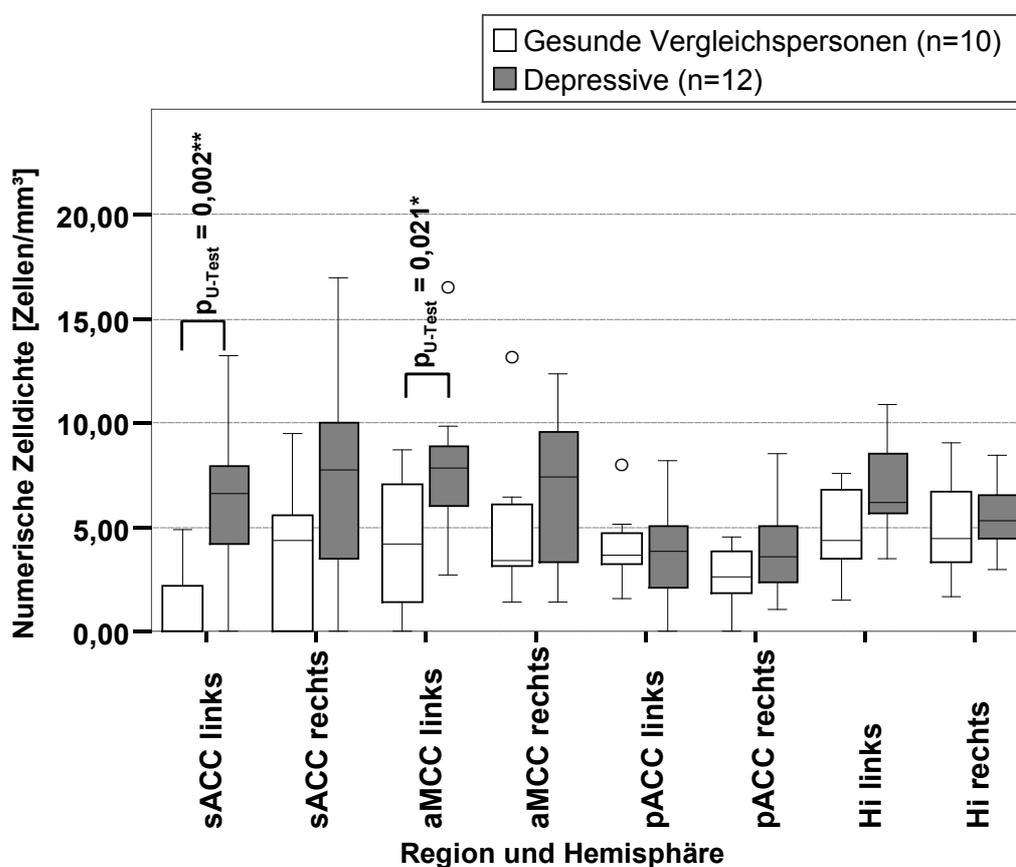


Abkürzungen: sACC subgenualer cingulärer Cortex; aMCC anteriorer Part des mittleren Cingulum; pACC prägenualer cingulärer Cortex; Hi Hippocampus
 * p-Wert < 0,05: Post-Hoc U-Test korrigiert nach Bonferroni-Holm
 ** p-Wert < 0,01: Post-Hoc U-Test korrigiert nach Bonferroni-Holm

Die getrennte Betrachtung der Zelldichte in den einzelnen Hemisphären ergab, dass die erhöhte Zelldichte in den o.g. Hirnregionen der Depressiven auf die linke Hemisphäre zurückzuführen sind: Eine signifikant höhere Dichte Chinolinsäure-positiver Mikrogliazellen fand sich bei den Depressiven im linken sACC ($p = 0,002$) und im linken aMCC ($p = 0,021$). Ein ähnlicher Trend konnte für den linken Hippocampus gezeigt werden ($p = 0,063$).

Den pACC betreffend wurden keine Unterschiede gefunden (siehe Abbildung 6B).

Abbildung 6B: Diagnose-Hauptgruppeneffekte nach Hemisphären



Abkürzungen: sACC subgenualer cingulärer Cortex; aMCC anteriorer Part des mittleren Cingulum; pACC prägenualer cingulärer Cortex; Hi Hippocampus

* p-Wert < 0,05: Post-Hoc U-Test korrigiert nach Bonferroni-Holm

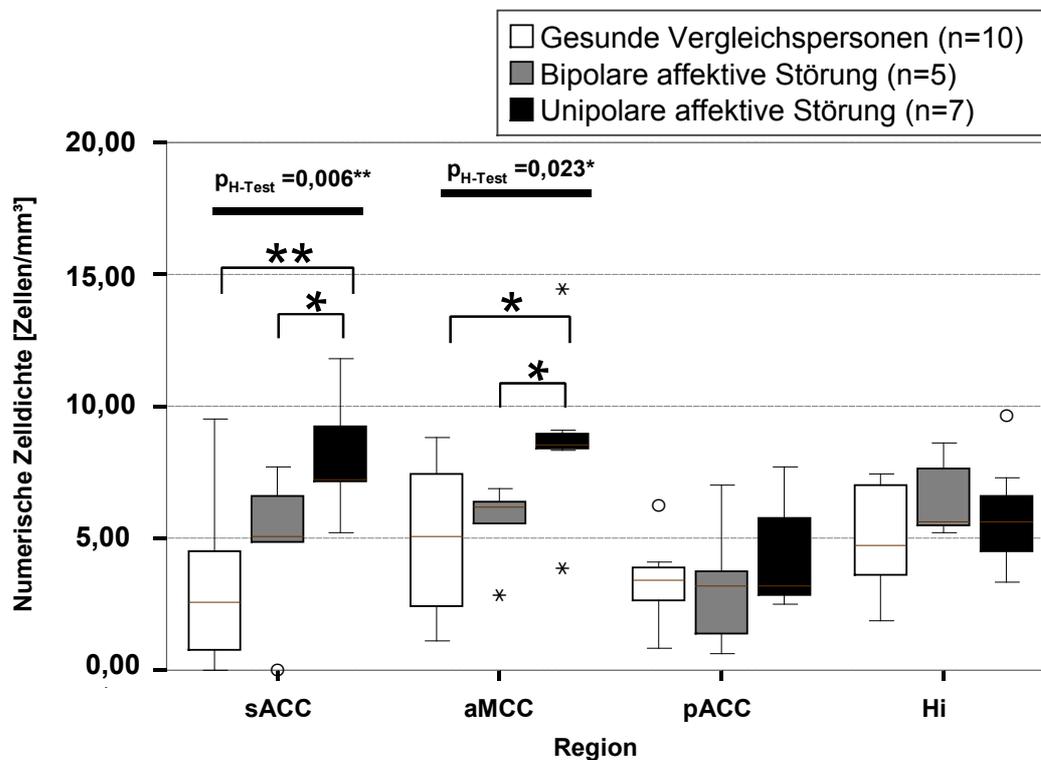
** p-Wert < 0,01: Post-Hoc U-Test korrigiert nach Bonferroni-Holm

3.2.2 Diagnose-Subgruppeneffekte

Der Vergleich zwischen unipolar Depressiven, bipolar Depressiven und Gesunden zeigte einen signifikanten Unterschied im Sinne einer erhöhten Chinolinsäure-

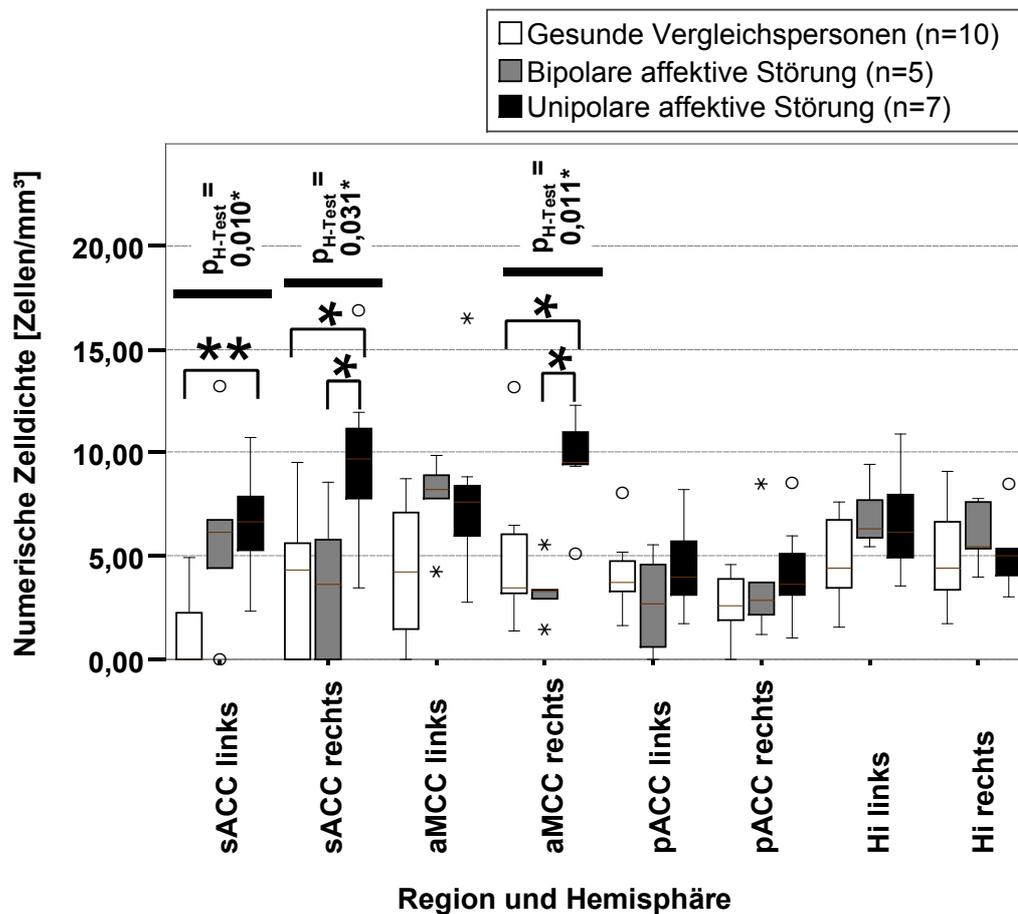
positiven Zelldichte in den Hirnen der Unipolaren im sACC ($p = 0,006$) sowie im aMCC ($p = 0,023$), jedoch weder im Hippocampus noch im pACC (siehe Abbildung 6C).

Abbildung 6C: Diagnose-Subgruppeneffekte der einzelnen Regionen



Abkürzungen: sACC subgenualer cingulärer Cortex; aMCC anteriorer Part des mittleren Cingulum; pACC prägenualer cingulärer Cortex; Hi Hippocampus
 * p-Wert < 0,05: Post-Hoc U-Test korrigiert nach Bonferroni-Holm
 ** p-Wert < 0,01: Post-Hoc U-Test korrigiert nach Bonferroni-Holm

Die isolierte Betrachtung der rechten und linken Hemisphäre führte zu folgendem Ergebnis: linker sACC $p = 0,010$; rechter sACC $p = 0,031$), linker aMCC $p = 0,057$; rechter aMCC $p = 0,011$) (siehe Abbildung 6 D).

Abbildung 6D: Diagnose-Subgruppeneffekte nach Hemisphären

Abkürzungen: sACC subgenualer cingulärer Cortex; aMCC anteriorer Part des mittleren Cingulum; pACC prägenualer cingulärer Cortex; Hi Hippocampus
 * pWert < 0,05: Post-Hoc U-Test korrigiert nach Bonferroni-Holm
 ** pWert < 0,01: Post-Hoc U-Test korrigiert nach Bonferroni-Holm

Auch die dargestellten Signifikanzen zwischen Depressiven und gesunden Vergleichspersonen sind vor allem einer höheren Zelldichte im sACC und aMCC der unipolar Depressiven zuzuschreiben. Bei dem Vergleich zwischen unipolar Depressiven versus Gesunde zeigten sich folgende Signifikanzen zugunsten der Unipolaren: sACC (links: $p = 0,003$; rechts: $p = 0,016$), aMCC (links: $p = 0,079$; rechts: $p = 0,017$).

Bei dem Vergleich zwischen unipolar Depressiven und bipolar Depressiven zeigte sich eine erhöhte Zelldichte bei den Unipolaren im rechten sACC ($p = 0,042$), sowie im rechten aMCC ($p = 0,007$). Der erwähnte Trend im linken Hippocampus depressiver Patienten ist einer erhöhten immunpositiven Zellzahl bei den bipolaren zuzuschreiben (Bipolare versus gesunde Vergleichspersonen: $p = 0,051$).

3.2.3 Intragruppenvergleich

Die immunreaktive Zelldichte des linken und des rechten Hippocampus korrelierte bei den gesunden Vergleichspersonen ($p = 0,011$) sowie bei der Gesamtheit aller Depressiven ($p = 0,006$). Ein ähnlicher Trend konnte bei den unipolaren ($p = 0,052$) und bipolaren ($p = 0,072$) Subgruppen beobachtet werden. Außerdem korrelierte die ChS-positive Zelldichte zwischen dem rechten aMCC und dem rechten sACC bei den gesunden Vergleichspersonen ($p = 0,038$), wobei eine umgekehrte (negative) Korrelation bei den Bipolaren ($p = 0,005$) und im Gegensatz dazu keine Korrelation bei den Unipolaren zu finden war. Depressive ($p = 0,017$), insbesondere Bipolare ($p = 0,037$) zeigten zusätzlich eine positive Korrelation zwischen dem linken und dem rechten pACC.

3.2.4 Kofaktorenanalyse

Um zu prüfen, ob bestimmte Kofaktoren einen konfundierenden Einfluss auf die Zelldichte der ChS-positiven Mikroglia haben, wurden Variablen wie Alter und Geschlecht, Krankheitsdauer, Autolysezeit, Fixierungsdauer und Medikamentendosierung in die Analyse mit einbezogen. Keiner dieser Faktoren beeinflusste die immunreaktive Zelldichte, weder bei der Haupt-, Sub- oder Intragruppenanalyse (siehe Tabelle 3).

Des Weiteren wurden auch keine Effekte der Suizidmethoden Erhängen und Strangulierung, welche zu cerebrovaskulären Stauungsergebnissen führen können, gegenüber anderen Suizidmethoden beobachtet.

Tabelle 3: Korrelationsanalyse

Korrelationen nach Pearson	Alter Jahre	Autolyse Stunden	Fixationsdauer Tage	Krankheitsbeginn Jahre	Krankheitsdauer Jahre
sACC					
r	-0,025	0,062	0,076	0,140	-0,144
p	0,911	0,784	0,773	0,792	0,786
N	22	22	17	6	6
<i>sACC links</i>					
r	0,258	0,012	-0,014	0,147	0,286
p	0,259	0,957	0,960	0,781	0,582
N	21	21	16	6	6
<i>sACC rechts</i>					
r	-0,287	0,110	-0,023	0,115	-0,420
p	0,206	0,636	0,933	0,829	0,407
N	21	21	16	6	6
aMCC					
r	-0,441	-0,022	-0,004	0,017	0,027
p	0,040	0,921	0,988	0,975	0,959
N	22	22	17	6	6
<i>aMCC links</i>					
r	-0,395	-0,103	-0,228	-0,037	0,525
p	0,069	0,650	0,379	0,944	0,285
N	22	22	17	6	6
<i>aMCC rechts</i>					
r	-0,345	0,049	0,244	0,069	-0,532
p	0,126	0,832	0,363	0,897	0,277
N	21	21	16	6	6
pACC					
r	0,105	-0,024	0,189	-0,011	-0,582
p	0,642	0,916	0,468	0,984	0,226
N	22	22	17	6	6
<i>pACC links</i>					
r	0,005	0,011	-0,043	-0,081	-0,560
p	0,983	0,963	0,869	0,878	0,248
N	22	22	17	6	6
<i>pACC rechts</i>					
r	0,175	-0,051	0,406	0,094	-0,511
p	0,437	0,823	0,106	0,860	0,301
N	22	22	17	6	6
Hi					
r	-0,164	-0,019	0,353	-0,336	-0,659
p	0,465	0,932	0,165	0,515	0,154
N	22	22	17	6	6
<i>Hi links</i>					
r	-0,299	0,134	0,215	-0,444	-0,632
p	0,176	0,552	0,408	0,378	0,178
N	22	22	17	6	6
<i>Hi rechts</i>					
r	0,012	-0,190	0,448	-0,123	-0,596
p	0,957	0,397	0,071	0,816	0,212
N	22	22	17	6	6

Korrelationen nach Pearson	Antidepressiva	Neuroleptika	Benzodiazepine	Lithium
sACC				
r	0,099	-0,085	-0,218	-0,218
p	0,832	0,857	0,638	0,638
N	7	7	7	7
<i>sACC links</i>				
r	0,613	0,368	0,180	0,180
p	0,143	0,416	0,700	0,700
N	7	7	7	7
<i>sACC rechts</i>				
r	-0,190	-0,318	-0,405	-0,405
p	0,683	0,487	0,368	0,368
N	7	7	7	7
aMCC				
r	0,260	-0,200	-0,502	-0,502
p	0,574	0,667	0,251	0,251
N	7	7	7	7
<i>aMCC links</i>				
r	0,633	0,222	-0,094	-0,094
p	0,127	0,632	0,841	0,841
N	7	7	7	7
<i>aMCC rechts</i>				
r	-0,270	-0,580	-0,734	-0,734
p	0,558	0,172	0,061	0,061
N	7	7	7	7
pACC				
r	-0,254	-0,172	-0,088	-0,088
p	0,582	0,713	0,852	0,852
N	7	7	7	7
<i>pACC links</i>				
r	-0,152	-0,186	-0,200	-0,200
p	0,745	0,689	0,668	0,668
N	7	7	7	7
<i>pACC rechts</i>				
r	-0,355	-0,115	0,096	0,096
p	0,434	0,806	0,837	0,837
N	7	7	7	7
Hi				
r	-0,297	-0,224	-0,188	-0,188
p	0,518	0,629	0,686	0,686
N	7	7	7	7
<i>Hi links</i>				
r	-0,263	-0,121	-0,080	-0,080
p	0,569	0,797	0,864	0,864
N	7	7	7	7
<i>Hi rechts</i>				
r	-0,317	-0,355	-0,330	-0,330
p	0,489	0,434	0,469	0,469
N	7	7	7	7

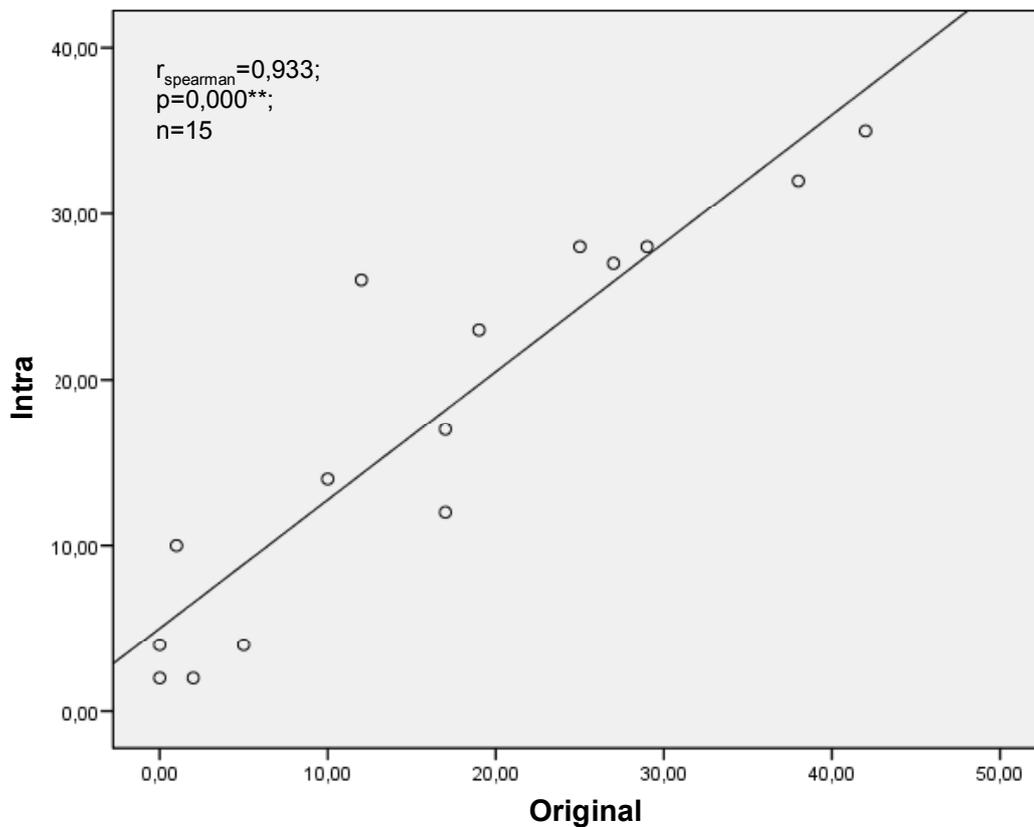
Abkürzungen: r Korrelationskoeffizient, p Signifikanzniveau, N Anzahl, sACC subgenualer anteriorer cingulärer Cortex, pACC prägenualer anteriorer cingulärer Cortex, aMCC anteriorer Teil des mittleren anterioren Cingulum, Hi Hippocampus

3.2.5 Test-Retest-Reliabilität und Interrater-Reliabilität

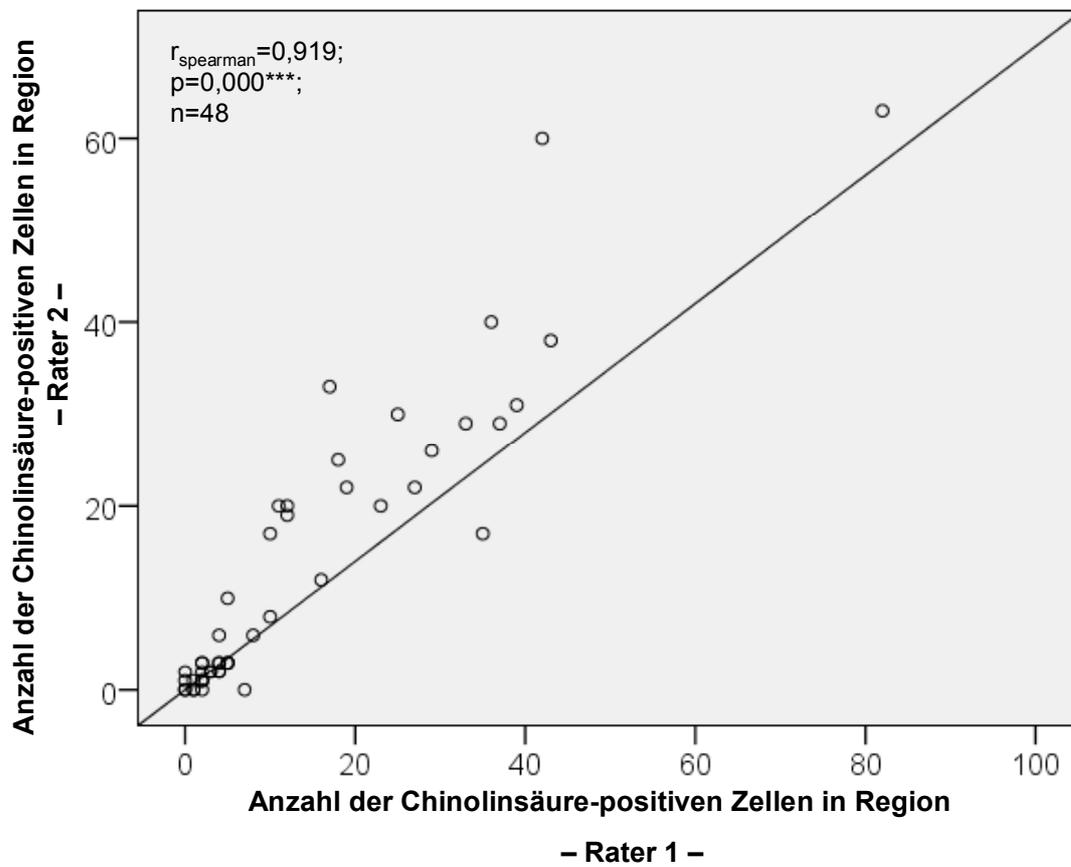
Die Prüfung auf die Test-Retest-Reliabilität ergab eine positive Korrelation zwischen der ersten und der zweiten Messung. Der Korrelationskoeffizienten nach Spearman ergab $r = 0,933$ (siehe Abbildung 7A).

Der Interrater-Test ergab ebenfalls eine positive Korrelation der Ergebnisse. Der Korrelationskoeffizient nach Spearman ergab $r = 0,919$ (siehe Abbildung 7B).

Abbildung 7A: Test-Retest-Reliabilität



Anmerkungen: ** p-Wert < 0,01: Post-Hoc U-Test korrigiert nach Bonferroni-Holm

Abbildung 7B: Interrater-Reliabilität

Anmerkungen: ** p-Wert < 0,01: Post-Hoc U-Test korrigiert nach Bonferroni-Holm

4 Diskussion

Die Ursache der Entwicklung affektiver Störungen ist trotz jahrelanger Forschungsarbeit noch nicht völlig geklärt. Die Theorie der multifaktoriellen Ätiopathogenese im Sinne eines Vulnerabilitäts-Stress-Modells nimmt ein Zusammenspiel von psychosozialen, genetischen und neurobiologischen Faktoren an, die zu der Entstehung von affektiven Störungen führen. Um Betroffenen bessere Therapieoptionen zu bieten und somit ihre Lebensqualität zu verbessern, ist es von großer Relevanz die Entstehungsmechanismen weiter zu erforschen und somit auch die therapeutischen Angriffspunkte zu erweitern.

Die vorliegende Arbeit soll einen weiteren Beitrag zur Aufklärung der Ätiopathogenese von affektiven Störungen und ihren bedeutendsten Subgruppen, der unipolaren Depression und der bipolaren Störung, leisten.

Es wurde die Quantifizierung der Dichte Chinolinsäure-positiver Mikroglia in ausgewählten Arealen des limbischen Systems vorgenommen. Anhand dieser Untersuchungen, in deren Fokus die Chinolinsäure (ChS) steht, wurde versucht, eine Brücke zwischen der Glutamat- und der Serotoninhypothese sowie der Inflammationshypothese affektiver Störungen zu schlagen.

Zur Beantwortung der einleitend gestellten Fragen, wurde eine immunhistochemische Färbung mittels eines polyklonalen Anti-ChS-Antikörpers durchgeführt. Dabei konnten qualitative und quantitative Diagnose-abhängige Unterschiede bezüglich der ChS-immunreaktiven Mikroglia herausgearbeitet werden. Es fand sich mittels qualitativer Gewebsbeurteilung eher ramifizierte immunpositive Mikroglia in den corticalen Hirnarealen depressiver Patienten. Daneben ergab die quantitative Analyse eine signifikant höhere Dichte ChS-positiver Mikrogliazellen im sACC und im aMCC von Patienten mit unipolarer Depression. Im Folgenden werden die in der Einleitung genannten Fragestellungen (Kapitel 1.7) im Kontext dieser Ergebnisse diskutiert.

4.1 Die Morphologie der Mikroglia

Der ChS-Metabolismus im ZNS findet hauptsächlich in Mikrogliazellen und Astrozyten statt. Die Produktion der ChS erfolgt in Zellen der monozytären Zellreihe, die weitere Metabolisierung vorrangig in Astrozyten.

In diesem Zusammenhang gilt die ChS als etablierter Marker der metabolischen Aktivität mikroglialer Zellen (siehe Kapitel 1.2 sowie Kapitel 1.4).

Mikrogliazellen ändern mit ihrem Funktionszustand auch ihre Morphologie. Dabei unterscheidet man ramifizierte von amöboider Mikroglia. Ramifizierte mikrogliale

Zellen zeichnen sich durch deutlich erkennbare verzweigte Zellfortsätze aus und werden auch als ruhende Mikroglia bezeichnet (181). Dahingegen ist die sogenannte aktivierte Mikroglia bzw. die amöboide, phagozytäre Form infolge zerebraler Pathologien durch eine ovale Morphologie ohne erkennbare Fortsätze gekennzeichnet (182).

In der vorliegenden Arbeit zeigten die ChS-positiven Mikroglia bei gesunden Vergleichspersonen und Depressiven unterschiedliche morphologische Charakteristika: in den corticalen Arealen der gesunden Vergleichspersonen konnten fast ausschließlich glatte, ovale bis längliche, amöboide Mikroglia dargestellt werden (Abbildung 5 A), wobei im Cortex der Depressiven vorwiegend ramifizierte Mikroglia mit granulärer Struktur zu finden waren (Abbildung 5 C). In der subcortical gelegenen weißen Substanz beider Diagnosegruppen wurden sowohl ramifizierte als auch amöboide Mikrogliaformen dargestellt (Abbildung 5 B/D). Diese Befunde lassen darauf schließen, dass ChS sowohl in der sogenannten ruhenden, als auch in der aktivierten Mikroglia synthetisiert wird. Die Zusammenhänge zwischen der Mikrogliamorphologie und der Funktion sind in der Literatur viel diskutiert. Die ramifizierte Mikroglia kann in ihrer Rolle als Wächter der Integrität des ZNS nicht als inaktiv bezeichnet werden und ihre Fortsätze zeigen auch in intaktem Hirngewebe eine hohe Motilität (183). Zudem wurde eine Reaktion der Mikroglia auf subklinische Veränderungen im Hirngewebe beobachtet, ohne dass es zu einer kompletten aktivitätsbedingten Transformation gekommen ist (184). Wake et al. demonstrierten direkte Verbindungen der Fortsätze ramifizierter mikroglialer Zellen zu prä- und postsynaptischen Elementen, wobei die Dichte dieser Konnektivitäten direkt mit der neuronalen Aktivität korrelierte (185). Folglich kann der ramifizierten Mikroglia, die in der vorliegenden Arbeit vorrangig in den Hirnen depressiver Patienten gefunden wurde, eine wichtige Rolle in der Integrität synaptischer Plastizität zugeschrieben werden, die auch im Hinblick auf das glutamaterge System bestätigt werden kann. Die in dieser Arbeit dargestellte erhöhte metabolische Aktivität ramifizierter Mikroglia bei depressiven Patienten könnte demnach als Folge chronischer subklinischer Veränderungen des ZNS, die mit einer gestörten synaptischen Plastizität einhergeht, interpretiert werden.

4.2 Der Chinolinsäuremetabolismus

In der vorliegenden Arbeit wurde eine erhöhte Dichte ChS-positiver Mikroglia in Subregionen des ACC depressiver Patienten nachgewiesen. Als Auslöser für eine erhöhte Dichte ChS-positiver Mikroglia werden hier zwei mögliche Ursachen

diskutiert. Zum einen können inflammatorische Prozesse durch eine verstärkte Induktion des Enzyms IDO zu einem vermehrten Angebot von Kynurenin führen (siehe Abbildung 2). Da bei neuroinflammatorischen Prozessen prinzipiell Mikrogliazellen beteiligt sind und hauptsächlich in diesen die Synthese der ChS stattfindet, kann angenommen werden, dass inflammatorische Prozesse zu einer gesteigerten ChS-Produktion führen (siehe Kapitel 1.2). Zum anderen kann eine Störung in der weiteren Verstoffwechslung der ChS zu einer Akkumulation führen. Die Metabolisierung von ChS zu NAD findet hauptsächlich in Astrozyten statt (118). Daraus könnte alternativ vermutet werden, dass ein Verlust an funktionsfähigen Astrozyten zu einem verminderten Abbau der ChS führt. Hier sei erwähnt, dass eine Gliareduktion durch übermäßige Apoptose von Gliazellen, insbesondere von Astrozyten, als morphologisches Korrelat bei affektiven Störungen zählt (186) und dass ein Funktionsverlust astrozytärer Zellen zu einer gesteigerten Aktivierung mikroglialer Zellen führen kann (siehe Kapitel 1.2).

Ist also das Verhältnis von Astrozyten zu Mikrogliazellen gestört, findet sich möglicherweise nicht nur eine gestörte Balance zwischen Chinolinsäure und Kynureninsäure, also zwischen neurodegenerativen und neuroprotektiven Metaboliten, sondern auch eine gestörte Relation zwischen Synthese und Abbau der ChS. Dies könnte dazu führen, dass die einleitend beschriebenen neurotoxischen Effekte der ChS zum tragen kommen. Diese Mechanismen werden in den nachfolgenden Kapiteln genauer erläutert.

4.2.1 Zytokin-induzierte Chinolinsäuresynthese

Die erhöhte Dichte metabolisch aktiver Mikroglia unterstützt die These neuroinflammatorischer Prozesse im Rahmen von affektiven Störungen.

Dennoch ist nicht bekannt, ob der Ausgangspunkt ein peripher-inflammatorischer Prozess ist, der zentrale Auswirkungen hat, oder ob die Ursache im ZNS selbst liegt. Der klinische Alltag, aber auch diverse Studien zeigen, dass eine klare Abgrenzung zwischen zentralen und peripheren Entzündungsprozessen nicht möglich ist.

Die periphere Gabe von IFN- α bei Patienten mit Hepatitis C führt auch im Liquor zu einem Anstieg von IFN- α , was zusätzlich mit einem Anstieg der IL-6 Konzentration im Liquor jedoch nicht im Plasma verbunden ist. Diese Veränderungen korrelieren mit dem Anstieg des Chemokins monocyte-chemoattractant-protein-1 (MCP-1) (187). MCP-1 wird von Astrozyten und Endothelzellen freigesetzt und fördert die Produktion von IL-1 und TNF- α durch Mikrogliazellen, führt also zu einer Aktivierung derselben (188). Solch eine Mikrogliaaktivierung mit vermehrter Produktion proinflammatorischer Zytokine kann tierexperimentell durch die periphere Gabe von

Lipopolysacchariden (LPS) induziert werden und führt zusätzlich zu Verhaltensänderungen im Sinne eines sickness-behaviour (105).

Diese Prozesse sind durch das inflammatorische Signalmolekül NF- κ B-vermittelt, das als essentieller Mediator der Grenzfläche zwischen der Blutbahn und dem Hirnparenchym die peripher inflammatorischen Signale zum ZNS kommuniziert. In Ratten führt die zentrale Blockade von NF- κ B zur Hemmung von IL-1 β und LPS-induzierten Verhaltensänderungen (189;190). Neben kognitiven Störungen und einer allgemeinen Zytokinproduktion führt die periphere Gabe von LPS ganz besonders in Arealen des limbischen Systems, wie dem Hippocampus, zu einer erhöhten Konzentration von TNF- α und IL-1 mit gleichzeitig auftretender verminderter hippocampalen Expression von BDNF und seinen Rezeptoren, sowie zu einer reduzierten hippocampalen Neurogenese (191;192). Beides wurde schon mehrfach mit der Ätiopathogenese von affektiven Störungen in Verbindung gebracht (193).

Der Vergleich von der Entwicklung affektiver Störungen mit einer LPS-induzierten depressiven Symptomatik dient dem Verständnis neurobiologischer Veränderungen im Rahmen inflammatorischer Prozesse. Trotzdem soll hier betont werden, dass man bei affektiven Störungen nicht von einer typischen Enzephalitis ausgehen kann. Mittels PCR-Analysen durchgeführte Studien konnten in Hirnen von Patienten mit affektiven Störungen keine viralen, bakteriellen oder Protozoen-bedingte Infektion nachweisen (194;195). Bechter et al. entwickelten die Hypothese der „milden Enzephalitis“ (196). Dabei wird davon ausgegangen, dass slow-virus-Infektionen zu veränderter Neurotransmission und somit zu psychiatrischen Störungen führen könnten. Diese Theorie beruht auf Studien, in denen in Liquor und Blut psychiatrischer Patienten Virus-RNA und Antigen-Antikörper-Komplexe des Bornavirus gefunden wurden. Die Bornavirus-Immunkomplexe korrelierten positiv mit der Ausprägung psychiatrischer Symptome in Verbindung mit einer hohen Antigenämie. Das Bornavirus gilt eigentlich nicht als humanpathogen, führt bei Tieren jedoch zu Meningoenzephalitiden und löst Verhaltensänderungen und andere psychiatrische Symptome aus (196;197). Eine chronische latente Infektion führt zu einer dauerhaften Aktivierung des Immunsystems und könnte somit eine erhöhte Aktivität mikroglialer Zellen induzieren. Diese Theorie ist gut vereinbar mit den Ergebnissen dieser Arbeit, die vor allem metabolisch aktive ramifizierte Mikroglia im Cortex depressiver Patienten zeigt: Im Rahmen einer chronischen latenten Infektion käme es zu subklinischen Veränderungen im ZNS, die lediglich zu einer erhöhten metabolischen Aktivität ramifizierter Mikroglia führt ohne dabei die vollständige Transformation der Mikroglia in ihre eigentlich aktive amöboide Form zu induzieren (siehe Kapitel 4.1).

Unabhängig vom Auslöser können die durch aktivierte Mikroglia sezernierten Zytokine, neben dem Anstoß inflammatorischer Signalkaskaden, auch den Transmitterhaushalt im ZNS beeinflussen. Zum Beispiel wird durch proinflammatorische Zytokine die Wiederaufnahme von Monoaminen in die Synaptosomen beeinflusst (198). Diverse Signaltransduktionswege über mitogenaktivierte Proteinkinasen (MAPK), welche die Effekte von Zytokinen auf Zellproliferation und -differenzierung, Apoptose sowie die Genexpression inflammatorischer Mediatoren vermitteln, können die Aktivität von Membrantransportern für 5-HT, Dopamin und Noradrenalin ausschlaggebend steigern (199-201). Tierexperimentell wurde beispielsweise demonstriert, dass IL-1 und TNF- α durch Aktivierung der p38 mitogenaktivierten Proteinkinase (p38 MAPK) die Wiederaufnahme von Serotonin in die Synaptosomen erhöhen können (199). Durch dieses gesteigerte Re-Uptake fehlt es dann an 5-HT im synaptischen Spalt, wodurch es zur Ausprägung einer depressiven Symptomatik kommen kann. Interessanterweise wurde in jungen Rhesusaffen, die von ihrer Mutter abgelehnt wurden, aktiviertes p38 in peripheren Monozyten mit verminderten Liquorkonzentrationen des Serotonin-Metaboliten 5-Hydroxyindolylelessigsäure (5-HIAA) in Verbindung gebracht (202). 5-HIAA als Hauptmetabolit von Serotonin (5-HT) wird im klinischen Alltag im Urin gemessen um den gesamten 5-HT-Gehalt zu bestimmen. Verminderte Liquorkonzentrationen von 5-HIAA stehen in einem noch ungeklärten Zusammenhang mit der Häufigkeit des Auftretens von harten Suiziden bei depressiven Patienten (203). Die vorliegende Arbeit lässt eine Serotonin-Depletion durch eine vermehrte ChS-Synthese bei depressiven Suizidpatienten als mögliche Ursache vermuten.

4.2.2 Astrozytäre Chinolinsäuremetabolisierung

Eine wichtige Rolle sowohl bei der Metabolisierung der ChS als auch bei der Regulation des Glutamathaushalts spielen die Astrozyten. Sie sind ebenso wie die Mikroglia Teil der Neuroglia, welche 90% der Zellen des Hirnparenchyms ausmacht. Ebenso wie die Mikroglia sind die Astrozyten wichtig für die Sicherung der synaptischen Integrität glutamaterger Synapsen (32), indem sie verhindern, dass es zu exzitotoxischen Glutamat-Konzentrationen mit folgendem Zelltod kommt. Neben der Regulation des Glutamat-Haushalts, sind sie auch an der Bildung der BHS beteiligt und spielen eine wichtige Rolle in der Aufrechterhaltung des intra- und extrazellulären Ionenmilieus.

Dass Störungen innerhalb der dreiteiligen glutamatergen Synapse (siehe Abbildung 1), also im sogenannten Glutamat-Glutamin-Zyklus vorliegen, zeigen die einleitend erwähnten Studien (siehe Kapitel 1.1.2), in denen Veränderungen corticaler Glu-

Spiegel festzustellen sind. Es liegt nahe anzunehmen, dass die Ergebnisse dieser Studien im Zusammenhang mit einer bei Depressiven in Post-mortem-Studien festgestellten verminderten Astrozytendichte (204), sowie mit einer verminderten Dichte glutamaterger Pyramidalzellen (205) steht. Der Verlust von Gliazellen ist im sACC (148), sowie im DLPFC (206) nachgewiesen worden, wohingegen eine erhöhte gliale Zelldichte im Hippokampus depressiver Patienten gezeigt worden ist (135). Der Auslöser für astrozytäre Veränderungen ist nicht bekannt. Tierexperimentell konnte jedoch gezeigt werden, dass es fünf Tage nach einer striatalen ChS-Injektion zu einer stärkeren Immunreaktion auf GFAP-positive Astrozyten im Sinne einer Zellproliferation kommt. Bei steigenden Konzentrationen der ChS kommt es dann jedoch zu einer signifikanten Astrozytenreduktion durch Apoptose (207). Diese Befunde bestätigen sowohl die Beteiligung der Astrozyten an der weiteren Metabolisierung der ChS, als auch die zytotoxische Wirkung der ChS.

Neben der beschriebenen Reduktion der astrozytären Zelldichte, die sowohl zu einem veränderten ChS-Metabolismus als auch zu Störungen der glutamatergen Neurotransmission führen, konnten weitere Hinweise auf eine astrozytäre Dysfunktion aufgezeigt werden: im DLPFC sowie im ACC depressiver Patienten findet sich eine verminderte Transkriptionsmenge (mRNA) glialer Glu-Transporter (EAAT1/2), sowie eine verminderte Expression der Glutamin-Synthetase (GS) (208). Die Glu-Transporter sorgen für eine Aufnahme des synaptischen Glutamats durch Astrozyten. Die GS katabolisiert im Rahmen des Glutamin-Glutamatzyklus die Reaktion des von den Astrozyten aus dem synaptischen Spalt aufgenommenen Glutamats zu Glutamin (siehe Abbildung 1). Anschließend gelangt das Gln wieder in die Präsynapse, wird dort wieder in Glu umgewandelt und in Vesikel verpackt. Eine Störung in diesem Zyklus ist auf einen astrozytären Defekt zurückzuführen und hat mit großer Wahrscheinlichkeit einen gestörten Glutamatmetabolismus zur Folge. Eine Studie in diesem Kontext berichtete, dass die Menge an Glu in der Präsynapse direkt von der Aktivität der GS abhängig ist (36). Auch die tierexperimentell nachgewiesene ChS-induzierte Astrozytenreduktion geht mit einer verminderten Aktivität der GS einher (207).

Ob der Verlust von Astrozyten als Ursache oder als Folge des gesteigerten ChS-Vorkommens anzusehen ist, kann hier nicht geklärt werden. Dennoch ist anzunehmen, dass ein Verlust von Astrozyten, als Ort des ChS-Abbaus, einen Einfluss auf den Kynureninmetabolismus hat und zu gesteigerten ChS-Spiegeln mit exzitotoxischen Effekten und weiterem Zellverlust führen könnte. Die genauen Auswirkungen auf den Glu-Metabolismus sind nicht bekannt.

Die in diesem Kontext bisher durchgeführten Studien geben etliche Hinweise auf eine Veränderung im Glu-Metabolismus. Es konnte jedoch noch nicht geklärt werden ob es sich hierbei um einen Hypo- oder einen Hypermetabolismus handelt. Bildgebende Studien zum Glu-Stoffwechsel (siehe Tabelle 1) zeigen verminderte Glx-Spiegel im limbischen System von unipolar depressiven Patienten. Bei diesen Untersuchungen wurde der Fokus auf den DLPFC und das anteriore Cingulum gelegt.

Zwischen den einzelnen Subregionen des ACC wurde nicht unterschieden, so dass keine Rückschlüsse auf den Zusammenhang der veränderten Glx-Spiegel mit der jeweiligen Rezeptorverteilung (siehe Kapitel 1.5) gezogen werden können. Unklar ist auch, ob das in diesen Studien mittels MRS gemessene verminderte Glx auf einen verminderten Glutamin- oder einen verminderten Glutamat-Gehalt zurückzuführen ist. Die oben erwähnten Störungen in der astrozytären Gln-Synthese bei depressiven Störungen weisen darauf hin, dass diese Ergebnisse auch auf einer reinen Gln-Reduktion basieren können. Zudem ist nicht sicher, dass bei der Messung von Glx mittels MRS die glutamaterge Transmission dargestellt wird oder lediglich die metabolische Aktivität von Glu und Gln aufgezeigt wird, die nicht zwangsläufig auch zu einem vermehrten intrasynaptischen Glu-Vorkommen führt (209).

Wahrscheinlich ist, dass jegliche Veränderungen im Glu-Haushalt sowie im Kynureninmetabolismus nicht im gesamten ZNS einheitlich auftreten, sondern dass sich je nach Region und Rezeptorverteilung unterschiedliche Konstellationen zeigen. Wie einleitend beschrieben unterscheidet sich die Rezeptorverteilung selbst innerhalb des ACC (siehe Kapitel 1.5). Auch die hier vorliegenden Ergebnisse mit einer erhöhten Dichte ChS-positiver Zellen im subgenualen ACC sowie im aMCC, die sich weder im pACC noch im Hippocampus zeigen, sprechen für hirregionale Unterschiede metabolischer Prozesse, die sich auch bei pathologischen Veränderungen im Rahmen affektiver Störungen finden.

In diesem Kontext stellt sich die Frage, ob es sich primär um eine Störung des Glu-Metabolismus handelt, oder ob den beschriebenen Veränderungen eventuell eine Störung auf Rezeptorebene zugrundeliegt.

4.3 Die Rolle der NMDA-Rezeptoren

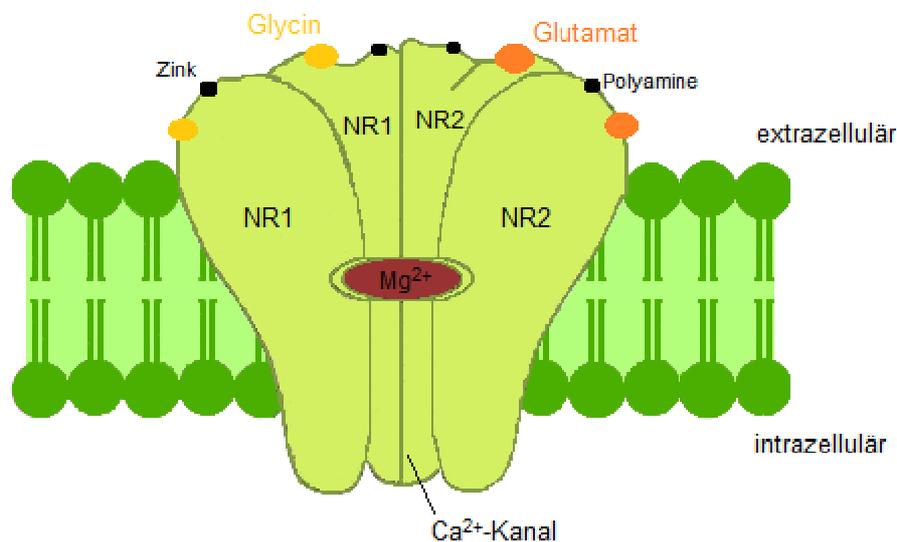
Als NMDAR-Agonist muss die ChS und ihre gesteigerte Synthese in mikroglialen Zellen bei Patienten mit affektiven Störungen im Zusammenhang mit den Befunden bezüglich des glutamatergen Systems und Veränderungen der NMDAR bei depressiven Patienten betrachtet werden.

Abbildung 4 zeigt eine schematische Darstellung eines NMDAR und soll damit die folgenden Erläuterungen verdeutlichen.

NMDAR kommen im gesamten ZNS, einschließlich des Rückenmarks, aber auch in der Peripherie vor. Diese ionotropen heterotetrameren Glu-Rezeptoren bestehen aus mindestens zwei verschiedenen Untereinheiten. Man geht davon aus, dass durch diverse Splicing-Varianten bei der Synthese der einzelnen Untereinheiten sowie durch unterschiedliche Kombinationen der jeweiligen Dimere eine Vielzahl unterschiedlicher NMDAR existiert (210). Bisher bekannt sind folgende Untereinheiten: die ubiquitär exprimierte NR1-Untereinheit, die Bestandteil eines jeden NMDA-Rezeptors ist und in mindestens acht Isoformen existiert; weiterhin gibt es die Untereinheiten vom Typ NR2 A-D, von denen wiederum mehrere Isoformen exprimiert werden. Eine Ausnahme bildet NR2A, von der bisher keine Isoformen bekannt sind (210). Zu guter Letzt gibt es noch die Untereinheiten NR3 A und B, deren Beteiligung am Aufbau eines NMDAR die Rezeptoraktivität verringert (211).

Jeder NMDAR hat mehrere Bindungsstellen. Für Glycin, Polyamine, Zn^{2+} und Protonen existieren Bindungsstellen, die den NMDA-Rezeptor-Kanal modulieren (37;212;213). Für die Aktivierung des Rezeptors ist sowohl die Bindung von Glu, bzw. eines Glu-Agonisten, an der NR2-Untereinheit, als auch die Bindung von Glycin an der NR1-Untereinheit erforderlich. Diese Notwendigkeit der doppelten Ligandenbindung unterscheidet den NMDAR grundlegend von anderen Glu-Rezeptoren.

Bei bestehendem Ruhemembranpotential ist der NMDAR-Kanal durch ein Mg^{2+} -Ion blockiert. Nur nach Depolarisation durch primäre Erregung über AMPA-oder Kainat-Rezeptoren, wodurch es zum Einstrom von Na^+ kommt, und durch die Bindung von Glutamat und Glycin, kommt es zur Aktivierung des NMDAR. Wird der Kanal aktiviert, öffnet er sich neben K^+ und Na^+ vor allem für Ca^{2+} -Ionen.

Abbildung 8: Schematische Darstellung eines NMDA-Rezeptors

Die Expression der einzelnen NMDAR-Subtypen variiert in Abhängigkeit von der Funktion der jeweiligen Region. Im Hippocampus und in corticalen Arealen dominieren NR1/NR2A und NR1/NR2B. Astrozyten exprimieren beispielsweise alle Typen von NMDAR (214).

Die veränderte Expression unterschiedlicher NR2-Untereinheiten kann die Funktion der Rezeptoren grundlegend modifizieren. Es ist bekannt, dass verschiedene Kombinationen spezifischer Untereinheiten von NR1 und NR2 in einem Rezeptor-Kanal-Komplex mit jeweils charakteristischen Eigenschaften resultieren. Beispielsweise reagieren Rezeptoren, die NR2A oder NR2B enthalten besser auf Glu und lassen einen stärkeren Ca²⁺-Einstrom zu als Heteromere aus NR2C oder NR2D (215;216). NR1 wird immer exprimiert. Bleibt jedoch die Verbindung mit NR2 aus, wird NR1 schnell abgebaut (217). Folglich kann man davon ausgehen, dass die Anzahl der funktionstüchtigen NMDAR von der Expression der NR2 abhängt.

4.3.1 NMDA-Rezeptoren und affektive Störungen

Den ersten Hinweis auf eine Beteiligung der NMDAR an der Ätiopathogenese von affektiven Störungen gibt die einleitend dargestellte antidepressive Wirkung von NMDAR-Antagonisten (siehe Kapitel 1.2). Es folgten weitere Studien mit dem Versuch Veränderungen der NMDAR bei Patienten mit affektiven Störungen aufzudecken. Im

präfrontalen Cortex (PFC) depressiver Patienten wurde eine reduzierte Expression bestimmter Untereinheiten des NMDAR gezeigt. Beneyto et al. demonstrierten eine Reduktion von NR2A und NR2B im DLPFC von Patienten mit affektiven Störungen (218), andere fanden eine verminderte Expression von NR2A im Brodman-Areal 24 (entspricht in dieser Arbeit vor allem dem aMCC und einem Teil des pACC, siehe Abbildung 3) bei Patienten mit affektiven Störungen (219). Hier ist einschränkend zu erwähnen, dass die meisten Patienten dieser Studien eine nicht näher bezeichnete psychotrope Medikation erhielten und dass andere Studien eine verminderte Transkriptionsmenge von NR2A und B infolge Imipramin-Therapie nachwiesen (220). Es ist also nicht klar, ob die verminderte Expression der genannten Untereinheiten krankheits- oder medikationsbedingt ist. Im Locus Coeruleus hingegen wurde bei hauptsächlich unmedizierten depressiven Patienten eine gesteigerte Expression von NR2C (221), in der Amygdala von NR2A aufgezeigt (222).

Die neuronale Aktivität des Locus Coeruleus und der Amygdala ist über die glutamaterge Stimulation durch den PFC kontrolliert (223). Daraus kann man schließen, dass es bei einer Hypofunktion der glutamatergen Transmission im PFC zu einer Hochregulierung der Rezeptoren in konnektierten Arealen kommt.

Da die Anzahl funktionstüchtiger NMDAR von der NR2-Expressionsmenge abhängt und eine verminderte Expression von NR2A und NR2B im aMCC und im DLPFC bei depressiven Patienten demonstriert wurde, kann man davon ausgehen, dass depressive Störungen mit einer regionalen Hypofunktion des NMDAR einhergehen.

4.3.2 NMDAR und Chinolinsäure

Die Mechanismen der ChS am NMDAR sowie der Einfluss auf den Glu-Metabolismus sind unzureichend geklärt.

Eine weit verbreitete Annahme ist, dass die ChS ein Agonist an der Glu-Bindungsstelle ist und selektiv an die NR2A oder NR2B Untereinheit bindet (224). Auch eine Bindung an NR2C wurde beschrieben, jedoch mit kaum nachweisbarer Aktivität (224). Lisý et al. zeigten, dass die intracerebroventrikuläre (i.c.v.) Injektion von ChS zu einer verminderten Bindung von Glu an ionotrope Glu-Rezeptoren, einschließlich NMDAR, führt und demonstrierte damit den Zusammenhang zwischen ChS, NMDAR und Glu (225). Darüber hinaus wird davon ausgegangen, dass Homochinolinsäure (synthetisch hergestellte ChS) Konformationsänderungen der NMDAR-Bindungstasche induziert, die sich von der durch die glutamaterge Bindung unterscheiden und somit auch zu einer abweichenden intrazellulären Antwort führt (132). Die Ursachen und Folgen dieser Konformationsänderung sind ungewiss.

Tavares et al. gehen davon aus, dass ChS zu einer gesteigerten Glu-Freisetzung in den synaptischen Spalt führt (226). In einer tierexperimentellen Studie wurde Ratten ChS i.c.v. injiziert und nach anschließender Synaptosomenpräparation aus dem Proenzephalon die Glu-Menge bestimmt, welche sich bei den Tieren nach ChS-Injektion im Vergleich zu den Tieren ohne Injektion erhöht zeigte (226). Erklärt wird dieser Befund damit, dass ChS vermutlich präsynaptische Auto-NMDAR aktiviert, wodurch es zum Ca^{2+} -Einstrom in die Präsynapse mit folgender Vesikelfusion und Glu-Freisetzung kommt. Sequeira et al. zeigten dahingegen, dass die präsynaptische NMDAR-Aktivierung durch NMDA zu einer Induktion der Stickoxid(NO)-Synthetase (NOS) führt und die daraus resultierende NO-Bildung zu einer verminderten Freisetzung von Glu führt (227). Die präsynaptische Präsenz der NOS, sowie eine NO-getriggerte verminderte Freisetzung von Glu wurden schon früher beschrieben (228).

Ob eine Aktivierung der präsynaptischen NMDAR durch ChS bzw. Glu zu einer gesteigerten oder verminderten Freisetzung von Glu in den synaptischen Spalt führt bedarf weiterer Forschung. Fraglich ist, ob die ChS überhaupt präsynaptische NMDAR aktiviert. Auch GABAerge Interneurone exprimieren NMDAR, deren Aktivierung zu einer Verstärkung der inhibitorischen Wirkung führt und somit die Glu-Freisetzung am Zielneuron vermindern könnte. Diese Überlegung basiert auf der Annahme, dass NMDAR-Antagonisten wie Ketamin einen antidepressiven Effekt haben, der unter anderem mit einer gesteigerten Glu-Freisetzung durch die NMDAR-Blockade gabaerger Interneurone begründet wird (47;48).

Die Wirkung der ChS am NMDAR und ihr Einfluss auf das glutamaterge System bedarf weiterer Forschung. Festzuhalten ist jedoch, dass die ChS vorrangig an NR2A- und B-Untereinheiten des NMDAR bindet und dass deren Expression entweder durch affektive Störungen oder durch die antidepressive Therapie verändert zu sein scheint. Die gleichzeitig bestehende glutamaterge Dysregulation unterstützt die Theorie einer ChS-abhängigen NMDAR-Modulation.

4.4 Regionenspezifische Besonderheiten

Die in der vorliegenden Arbeit gezeigte erhöhte Dichte ChS-positiver Mikroglia bei Patienten mit depressiven Störungen findet sich im sACC sowie im aMCC, jedoch nicht im pACC und auch nicht im Hippocampus.

Interessanterweise ist dieses Ergebnis in Zusammenhang zu bringen mit der regionenspezifischen Rezeptordichte innerhalb des Cingulum. Palomero-Gallagher et al. untersuchten die Dichte diverser Neurotransmitter-Rezeptoren um die

Notwendigkeit der neuen Aufteilung des Gyrus cinguli in vier Regionen, wie sie auch in dieser Arbeit erfolgte, im Vergleich zu der alten Aufteilung nach Brodman in zwei Regionen, zu unterstreichen (153). In dieser Post-mortem-Studie wurde mittels einer Multirezeptorautoradiographie die Dichte von 15 verschiedenen Neurotransmitter-Rezeptoren im gesamten menschlichen cingulären Cortex bestimmt. Dabei zeigte sich, dass in den Arealen 25 (sACC) und 32' (aMCC, ein geringer Teil pACC) eine überdurchschnittlich hohe Dichte von NMDAR zu finden ist, wohingegen im Areal 24 (pACC, geringer Teil aMCC) eine unterdurchschnittliche Dichte von NMDAR nachzuweisen ist (siehe Abb. 3) (153). Im Kontext der hier vorliegenden Ergebnisse bedeuten diese Befunde, dass in den Arealen, in denen eine physiologisch höhere Expression von NMDAR vorliegt, auch eine erhöhte Dichte an ChS-positiven Mikrogliazellen bei Depressiven, im Sinne einer Verstärkung der hirntypischen Dysbalance des glutamatergen Systems, zu finden ist.

Die strukturellen Ähnlichkeiten zwischen bestimmten Regionen, sowie die Unterschiede zu anderen Regionen in Kombination mit gleichgerichteten pathologischen Veränderungen lässt darauf schließen, dass einzelne Hirnregionen nicht isoliert voneinander zu betrachten sind. Die Entstehung von affektiven Störungen ist nicht auf die Störung einer Struktur oder eines Transmittersystems zurückzuführen. Erst das Zusammenspiel von diversen Störungen innerhalb des cortico-limbischen Netzwerkes führt zur Ausprägung depressiver Symptome. Es müssen also Veränderungen in den neuronalen Schaltkreisen bestehen, in denen Emotionen, Verhaltensweisen und Gedächtnisinhalte entstehen und reguliert werden. Damit einher geht die Hypothese einer frontocingulären Dysfunktion bei depressiven Störungen, die besagt, dass die funktionelle Konnektivität zwischen einzelnen corticalen und limbischen Arealen gestört ist (229). Diese funktionelle Konnektivität ist ein Konzept zur Charakterisierung funktioneller Interaktionen innerhalb neuronaler Systeme (230). Veränderungen eines beteiligten neuronalen Systems führen zu einer gestörten Funktion des Netzwerkes und könnten somit psychiatrische Symptome auslösen. Aizenstein et al. berichteten über eine reduzierte funktionelle Konnektivität zwischen dem aMCC und dem DLPFC bei depressiven Patienten (231). Während sich die lokale Aktivität innerhalb des DLPFC nach einer erfolgreichen Therapie mit Paroxetin normalisierte, blieb die reduzierte funktionelle Konnektivität zwischen dem DLPFC und dem aMCC bestehen (231).

In diesem Kontext gilt es zwischen zwei besonderen neuronalen Netzwerken zu unterscheiden: zum einen gibt es das „task-positive network“ (TPN), zu welchem unter anderem der DLPFC sowie der aMCC zählen. Das TPN wird während Aufgaben aktiviert, die kognitive Kontrolle und Aufmerksamkeit verlangen. Zum anderen ist hier

das „default-mode-network“ (DMN) von besonderem Interesse. Das DMN schließt unter anderem den pACC, den posterioren und retrosplenialen cingulären Cortex sowie die Hippocampusformation mit ein (229). Es stellt ein funktionelles Netzwerk dar, welches vor allem bei selbst-referentiellen Prozessen aktiviert wird, also dann, wenn sich die Person nicht auf die Außenwelt konzentriert. Die neuronale Aktivität in diesem Zustand wird als „resting state activity“ (RSA) bezeichnet (232;233). Bei Vorgängen, die kognitive Kontrolle erfordern kommt es physiologischerweise zu einer Aktivierung in Regionen des TPN sowie zur Deaktivierung des DMN (234), also zu einer Reduktion der bestehenden RSA. Pizzagalli et al. nehmen bei affektiven Störungen eine Dysbalance des Gleichgewichts zwischen dem PTN und dem DMN an (229), was zu Konzentrationsstörungen sowie Veränderungen der kognitiven Beurteilung emotionaler Prozesse (235) und somit auch zu einer depressiven Symptomatik führen könnte. Auch Grimm et al. zeigten in diesem Kontext bereits, dass depressive Patienten die RSA des pACC während kognitiv anspruchsvollen Tests nicht ausreichend deaktivieren können (236).

Im Rahmen der Forschung über die Hypothese einer frontocingulären Dysfunktion bei affektiven Störungen wird die Aktivität durch Beurteilung des zerebralen Blutflusses sowie des Glucosemetabolismus mittels PET oder fMRT gemessen. Die Ergebnisse dieser Studien sind inkonsistent. Drevets et al. geben einen gut recherchierten Überblick über die Ergebnisse der bildgebenden Studien im Kontext der Aktivität in einzelnen Regionen des PFC bei affektiven Störungen (237). Die Patientenkollektive in diesen Studien unterscheiden sich hinsichtlich der Medikation, des Alters und der depressiven Symptomatik. Zudem wurden die einzelnen Subregionen des ACC in Bezug auf die Brodman Areale uneinheitlich definiert. Folglich kann keine Aussage darüber getroffen werden, in welchen Regionen bei Depressiven, im Falle einer gestörten Aktivität, eine Hyper- oder Hypoaktivität gegeben ist. Möglich wäre auch, dass unterschiedliche depressive Phänotypen mit variablen regional abweichenden Aktivitätsveränderungen einhergehen.

Trotz dieser Einschränkungen, die die Ergebnisse der Studien nicht vergleichbar machen, kann angenommen werden, dass Veränderungen der metabolischen Aktivität sowie des cerebralen Blutflusses in den einzelnen Subregionen des ACC mit depressiven Erkrankungen in Zusammenhang zu bringen sind. Interessanterweise besteht eine inverse Korrelation der Aktivitäten zwischen dem sACC, als Teil des DMN, und dem DLPFC, als Teil des TPN (238) und auch die Aktivitäten zwischen dem pACC und dem sACC scheinen negativ zu korrelieren (239). Zudem wurde bei einer Untersuchung der Konnektivität der einzelnen Subregionen des ACC mit anderen Strukturen mittels diffusionsgewichteter MRT (Traktographie) demonstriert,

dass der pACC und der sACC unterschiedliche Konnektivitätsmuster aufzeigen, wobei der sACC eine faserreichere Verbindung zum aMCC aufzeigt als der pACC (159). Diese Befunde bestätigen die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit dahingehend, dass physiologischerweise neben einer differierenden Rezeptordichte, auch Unterschiede in der Konnektivität zu anderen limbischen und corticalen Regionen zwischen den einzelnen Subregionen des ACC bestehen. Interessanterweise unterscheiden sich auch hier vor allem der sACC und der aMCC vom pACC.

In dieser Arbeit wurde eine Korrelation der ChS-positiven Mikroglia-Dichte zwischen dem rechten aMCC und dem rechten sACC der gesunden Vergleichspersonen festgestellt ($p = 0,038$), wohingegen bei den unipolar Depressiven keine Korrelation mehr zu finden ist. Auch diese Befunde sprechen für eine spezielle funktionelle und anatomische Konnektivität zwischen dem aMCC und dem sACC, die bei affektiven Störungen gestört zu sein scheint und somit zu einer Dysbalance innerhalb des cortico-limbischen Systems mit folgender Veränderung kognitiver und affektiver Prozesse führt.

Die Hypothese der frontocingulären Dysfunktion zeigt auch direkte Verbindungen zu Veränderungen der Neurotransmittersysteme. Bildgebende Studien demonstrierten in diesem Kontext, dass die bei Patienten mit unipolarer Depression auftretende Verschlechterung der depressiven Symptomatik infolge einer akuten Tryptophandepletion mit einer signifikanten Reduktion der kognitions-induzierten Aktivierung im aMCC assoziiert ist (240). Salvatore et al. untersuchten die Aktivität im rostralen ACC (BA 24, BA 32) und wiesen bei depressiven Patienten eine Hyperaktivität nach Stimulation mit einer schnellen Folge furchtsamer Bilder nach (241). Dies ist ein etabliertes Verfahren zur Aktivierung des ventralen ACC (242). Anschließend wurde den Probanden einmalig Ketamin verabreicht. Neben einer übermäßigen Aktivierung im Vergleich zu gesunden Personen, korrelierte das Ausmaß der Aktivierung dabei positiv mit dem antidepressiven Effekt von Ketamin (241). Walter et al. gelang es erstmalig bei depressiven Patienten eine Korrelation zwischen einer pathologischen Deaktivierung des pACC infolge emotionaler Stimulation mit Veränderungen des glutamatergen Systems in derselben Region zu zeigen (164). Die in dieser Arbeit dargestellten regionalen Unterschiede in der Dichte chinolinsäure-positiver Mikroglia bei Patienten mit unipolarer Depression entsprechen folglich nicht nur der physiologischen NMDAR-Expression in den einzelnen Subregionen des ACC, sondern finden sich auch in funktionellen und neuroanatomischen Konnektivitätsmustern wieder, deren Veränderungen, wie oben beschrieben, bei der Ätiopathogenese von affektiven Störungen eine wichtige Rolle zu spielen scheinen.

4.5 Bipolare versus unipolare Depression

Aus der Subtypenanalyse der hier vorliegenden Ergebnisse ist zu entnehmen, dass die erhöhte Dichte ChS-positiver mikroglialer Zellen den Patienten mit der Diagnose einer unipolaren Depression zuzuschreiben ist (Unipolare vs. Bipolare: sACC $p = 0,042$; aMCC $p = 0,007$). Ein Unterschied zwischen Patienten mit unipolarer Depression und bipolarer Störung war zu erwarten und entspricht den Ergebnissen bildgebender Studien bezüglich des glutamatergen Systems bei Patienten mit affektiven Störungen. Im Vergleich zu den unipolar Depressiven wird bei Patienten mit bipolarer Störung mittels MRS ein gesteigertes Glx-Vorkommen im ZNS (ACC, DLPFC, Hi) (58;59) sowie ein verminderter Glu-Gehalt im Liquor demonstriert (siehe auch Tabelle 1). Diese Befunde sind unabhängig davon, ob sich die Patienten zum Zeitpunkt der Untersuchung in einer euthymen, depressiven oder manischen Stimmungslage befanden. Zu erwähnen sei hier auch, dass die Phasenprophylaktika Lithium und Valproat zu einer Senkung des intrasynaptischen Glutamats führen (28), wohingegen die antidepressiven Effekte von NMDAR-Antagonisten wie Ketamin mit einer gesteigerten Glu-Freisetzung im ACC erklärt werden (siehe Kap. 1.1.2). Diese verschiedenen pharmakotherapeutischen Wirkungsweisen unterstützen die aufgedeckten Unterschiede sowohl der bildgebenden Studien bezüglich des glutamatergen Systems, als auch der hier vorliegenden Ergebnisse.

In der vorliegenden Arbeit wurden ausschließlich Gehirne von akut depressiven Patienten verwendet, die durch Suizid verstarben. Daher sind die hier gemachten Beobachtungen lediglich auf die depressive Phase der bipolaren Störung zu beziehen, möglicherweise auch auf die Suizidalität (siehe Kapitel 4.6).

Studienergebnisse zur inflammatorischen Komponente bei bipolaren Störungen sind wenig konsistent und reichen von vermindertem Vorkommen proinflammatorischer Zytokine in akut manischen Phasen (243) bis zu vermehrtem Vorkommen proinflammatorischer Zytokine sowohl in akut manischen Phasen (244;245) als auch in akut depressiven Phasen (245). Ein Unterschied im Aktivierungsstatus des Immunsystems in den verschiedenen Phasen der bipolaren Störung (depressiv, manisch, euthym) ist aufgrund der Gegensätzlichkeit des klinischen Bildes durchaus denkbar.

Interessanterweise ist der erwähnte Trend im linken Hippocampus depressiver Patienten einer erhöhten immunpositiven Mikroglialdichte bei den Patienten mit bipolarer Störung zuzuschreiben (Bipolare versus gesunde Vergleichspersonen: $p = 0,051$) ist. Dieser Befund lässt darauf schließen, dass auch hier wieder die regionenspezifische Verteilung von NMDAR eine Rolle spielt und sich nicht die

pathophysiologischen Zusammenhänge an sich voneinander unterscheiden müssen, sondern lediglich die Lokalisation der Ereignisse.

Wie bereits erwähnt, konnte bei unipolar Depressiven eine verminderte Expression von NR2A im DLPFC sowie im aMCC nachgewiesen werden, was mit der in dieser Arbeit gefundenen erhöhten Dichte ChS-positiver Mikroglia in Zusammenhang stehen könnte. Analog dazu konnte bei Patienten mit bipolarer Störung eine verminderte Expression von NR2A und NR1 im Hippocampus gezeigt werden (175;246), so wie hier ein Trend zu einer erhöhten Zelldichte im Hippocampus gefunden wurde. Zudem zeigt sich im DLPFC eine verminderte Expression von NR3A bei Patienten mit bipolarer Störung (247). Da NR3A einen hemmenden Effekt auf den NMDAR besitzt, könnte dies als Hinweis auf eine Hypofunktion des NMDAR ausgelegt werden.

Zudem zeigt die Intragruppenanalyse eine umgekehrte (negative) Korrelation der ChS-positiven Mikroglia-Dichte zwischen dem aMCC und dem sACC bei Bipolaren ($p = 0,005$). Bei den gesunden Vergleichspersonen besteht hier eine positive Korrelation und bei den Unipolaren gar keine Korrelation. Dieser Befund kann als weiterer Hinweis auf eine Beeinträchtigung des corticolimbischen Systems sowohl bei unipolaren als auch bei bipolaren Patienten betrachtet werden (siehe Kapitel 4.5).

4.6 Methodenkritische Betrachtung

Die erhöhte Dichte ChS-positiver Mikroglia in einzelnen Subregionen des ACC depressiver Patienten bestätigt die einleitend beschriebenen Befunde bezüglich der Veränderungen des Tryptophanmetabolismus bei Patienten mit depressiven Störungen. In diesem Zusammenhang deutet das anfangs beschriebene gesteigerte proinflammatorische Zytokinprofil depressiver Patienten darauf hin, dass ChS aufgrund einer Immunaktivierung bei diesen Patienten vermehrt entsteht. Dem könnte sowohl ein peripherer Prozess zugrundeliegen, wobei hier Monozyten oder Hepatozyten als ChS-Produzenten in Frage kämen, als auch ein neuroinflammatorischer Vorgang im Sinne einer Beteiligung der Mikroglia. Entsprechende Untersuchungen am Hirngewebe von Patienten mit affektiven Störungen erfolgten bisher jedoch nicht.

In der vorliegenden Studie ist es nun erstmals gelungen, tatsächlich eine Vermehrung ChS-immunreaktiver Mikroglia in depressionsrelevanten Hirnarealen nachzuweisen. Bei depressiven Patienten konnte im Vergleich zu den gesunden Personen eine signifikant höhere Dichte immunpositiver Zellen im sACC ($p = 0,006$) sowie im aMCC ($p = 0,043$) gezeigt werden.

Die Nutzung eines polyklonalen Antikörpers war dabei vorteilhaft, da sich bei polyklonalen Antikörpern die Epitope, die von dem jeweiligen Antikörper auf dem

Antigen erkannt werden, unterscheiden können. Somit bestand die Möglichkeit das nachzuweisende Antigen auch dann zu detektieren, wenn ein Molekülabschnitt des Antigens in verschiedenen Konformationen vorliegt.

Anhand der vorliegenden Ergebnisse kann aber nicht darauf geschlossen werden, ob es sich um eine gesteigerte Synthese oder einen verzögerten Abbau der Chinolinsäure handelt. Auch ist nicht klar, ob die hier nachgewiesene vermehrte ChS-Produktion für die synaptische Signalübertragung relevant ist.

Vorteilhaft wäre es, zur Bestätigung der Ergebnisse eine Messung der verschiedenen Metabolite des Kynureninstoffwechsels mittels einer Hochleistungsflüssigkeitschromatographie (HPLC) aus Gefriermaterial durchzuführen. Die HPLC ist ein chemisches Verfahren mit dem man Substanzen voneinander trennen kann und die Möglichkeit hat diese anschließend zu identifizieren und zu quantifizieren. Somit könnten die Konzentrationsbalancen der einzelnen Metabolite des Kynureninstoffwechsels bestimmt werden und eine eventuelle Dysbalance zwischen neuroprotektiven und neurotoxischen Metaboliten überprüft werden.

Eine weitere Limitierung dieser Studie stellt die geringe Fallzahl dar. Um die Bedeutung des Ergebnisses zu bestätigen sollte der Stichprobenumfang gesteigert werden. Sinnvoll wäre in einer erweiterten Studie auch der Einschluss von Patienten mit depressiven Störungen, die eines natürlichen Todes gestorben sind. Bei den in dieser Studie untersuchten Patienten handelt es sich ausschließlich um Suizidopfer, die unter einer akuten schweren Depression litten. Diese Auswahl wurde getroffen, um in der Post-mortem-Analyse eventuelle transiente Effekte der in der Regel schubförmig verlaufenden affektiven Störungen aufzudecken. Somit sind aber bei dem einfachen Gruppenvergleich zwischen Depressiven und Gesunden zwei Effekte zu beachten: die Diagnose und die Todesart. Bezüglich histologischer sowie inflammatorischer Veränderungen im Rahmen von Suizidalität gibt es einige Studien, die ähnliche Ergebnisse aufweisen wie die bisher in dieser Arbeit beschriebenen Veränderungen bei Patienten mit affektiven Störungen. Beispielsweise wird Suizidalität ebenfalls mit Serotonindefiziten in Verbindung gebracht (248). Sublette et al. untersuchten das Vorkommen von Tryptophanmetaboliten im Plasma von depressiven Patienten mit und ohne Zustand nach Suizidversuch im Vergleich zu gesunden Personen und stellten dabei erhöhte Kynureninspiegel lediglich bei den depressiven Patienten fest, die unter Suizidalität litten (249). Ob hier ein ursächlicher Zusammenhang zwischen Veränderungen im Tryptophanstoffwechsel und der Suizidalität besteht ist nicht geklärt. Auch könnten depressionsassoziierte Dysregulationen im Tryptophanstoffwechsel mit dem Ausprägungsgrad der depressiven Symptomatik zunehmen und folglich bei suizidalen Patienten ihren

Höhepunkt erreichen und deshalb im Plasma vermehrt nachgewiesen werden. Unterstützt wird diese These durch eine Studie von Lindqvist et al., in welcher der IL-6-Spiegel suizidaler Patienten im Liquor untersucht wurde (250). In dieser Studie konnten höhere IL-6-Spiegel bei Patienten mit einem Suizidversuch in der Anamnese im Vergleich zu gesunden Personen festgestellt werden. Alle Suizidversuche fanden jedoch im Rahmen einer depressiven Erkrankung statt. Außerdem bestand eine positive Korrelation zwischen der Punktzahl im MADRS (Montgomery-Asberg Depression Rating Scale) und dem Ausmaß des IL-6-Anstiegs (250), weshalb hier eher von einem Effekt der Diagnose als einem Effekt der Suizidalität ausgegangen werden kann.

Auch andere Studien befassten sich mit veränderten Zytokinprofilen bei Suizidopfern. In einer Post-mortem-Analyse depressiver Patienten wurde ein erhöhtes Vorkommen von IL-4 und IL-13 im orbitofrontalen Cortex depressiver Suizidopfer im Vergleich zu depressiven Patienten die eines natürlichen Todes gestorben sind beschrieben (251). Sowohl IL-4 als auch IL-13 gelten jedoch als antiinflammatorische Zytokine, die in erster Linie die humorale Immunabwehr beeinflussen, weshalb die Ergebnisse mit den in dieser Arbeit beschriebenen Veränderungen des Immunsystems bei depressiven Patienten schwer zu vergleichen sind. Andere Arbeitsgruppen untersuchten die Zytokinprofile im Blut von depressiven Patienten, die anamnestisch einen Suizidversuch aufwiesen im Vergleich zu depressiven Patienten ohne Suizidversuch in der Vorgeschichte. Die Ergebnisse dieser Studien sind nicht konsistent. Während Kim et al. einen verminderten IL-6-Spiegel bei Patienten mit Zustand nach einem Suizidversuch beschreiben, kommen Janelidze et al. zu einem erhöhten IL-6-Spiegel bei Patienten mit Suizidversuch in der Anamnese. Zusammenfassend fällt jedoch auf, dass depressive Patienten mit einem Suizidversuch in der Anamnese ein anderes Zytokinprofil aufweisen als depressive Patienten ohne Suizidversuch in der Vorgeschichte. Ob dies ein Effekt der Suizidalität oder des Schweregrads der Depression ist, oder aber unterschiedliche klinische Subtypen depressiver Störungen in diesem Kontext eine Rolle spielen, ist nicht geklärt. Steiner et al. quantifizierten in einer Post-mortem-Analyse HLA-DR-positive Mikroglia in frontalen Hirnregionen von depressiven und schizophrenen Suizidopfern im Vergleich zu gesunden Personen, die eines natürlichen Todes gestorben sind. In dieser Studie zeigte sich eine erhöhte Dichte HLA-DR-positiver Mikroglia im DLPFC, im ACC sowie im mediodorsalen Thalamus bei den Suizidopfern, unabhängig von der Diagnose, was als Folge immunologischer Veränderungen im Rahmen suizidalen Verhaltens interpretiert worden ist (106). Da HLA-DR jedoch ein konstitutiv exprimiertes Oberflächenmolekül ist, sagt die Dichte HLA-DR-positiver Mikroglia nichts über die metabolische Aktivität

mikroglialer Zellen aus. Auch muss berücksichtigt werden, dass dieses Ergebnis alternativ eine Folge des Suizids sein kann (überwiegend Tod durch Erhängen) und nicht zwangsläufig ein kausaler Zusammenhang zur Suizidalität bestehen muss.

In der vorliegenden Arbeit konnte der Subgruppenvergleich zwischen den unipolar Depressiven und den Patienten mit bipolarer Störung zeigen, dass die erhöhte Zelldichte mit der Diagnose einer unipolaren Depression zusammenhängt und bei Patienten mit bipolarer Störung nicht nachzuweisen ist, obwohl auch in dieser Gruppe ausschließlich Suizidopfer vorkommen. Dies unterstreicht bei den vorliegenden Ergebnissen den Effekt der Diagnose.

Ebenfalls muss kritisch hinterfragt werden, ob psychotrope Medikamente einen Einfluss auf den Tryptophanstoffwechsel oder die mikrogliale Zellfunktion haben. Hinsichtlich der Wirkmechanismen und der Wirksamkeit psychotroper Medikamente (siehe Kapitel 1.1) ist von einem solchen Einfluss auszugehen, so dass ein sekundärer Medikationseffekt nicht sicher ausgeschlossen werden kann. Die erhöhte Dichte ChS-positiver Mikroglia ist jedoch auf die Subgruppe der unipolar depressiven Patienten zurückzuführen, von denen nur 28,6% in den letzten Wochen vor dem Suizid psychotrope Medikamente erhielten. Die Tatsache, dass im Vergleich dazu mindestens 40% der Patienten mit bipolaren Störungen zum Zeitpunkt des Todes psychotrope Medikamente erhielten, unterstützt jedoch den Effekt der Diagnose. Überdies konnte in der Kofaktorenanalyse ein Medikationseffekt ausgeschlossen werden.

Es sei noch erwähnt, dass ein physiologisch erhöhtes zentrales ChS-Vorkommen im Alter beschrieben wird (252). In der Kofaktorenanalyse dieses Kollektivs wurde jedoch keine Korrelation zwischen dem Alter und der immunpositiven Zelldichte gefunden (siehe Kapitel 3.2.4), so dass ein Effekt des Alters ausgeschlossen werden kann.

4.7 Schlussfolgerungen und Ausblick

In dieser Arbeit wurde eine gesteigerte Synthese der Chinolinsäure durch mikrogliale Zellen im sACC sowie im aMCC bei Patienten mit affektiven Störungen aufgezeigt. Damit kann die einleitend beschriebene Brücke zwischen der Serotoninmangelhypothese, der Glutathypothese und der Inflammationshypothese geschlagen werden. Im Rahmen dieser Arbeit kann nicht geklärt werden, ob die gesteigerte Aktivität mikroglialer Zellen auf subklinische inflammatorische Prozesse zurückzuführen ist oder ob der Aktivitätssteigerung andere Prozesse zugrundeliegen. Eine Zytokin-vermittelte Induktion derIDO mit daraus resultierendem gesteigerten

Kynureninmetabolismus und folgender Tryptophandepletion kann jedoch angenommen werden.

Die vermehrte Produktion der Chinolinsäure ist in Regionen nachgewiesen worden, in denen bereits zuvor glutamaterge Veränderungen und eine verminderte Expression von NMDAR bei depressiven Patienten beschrieben wurden. Auch folgt die heterogene Verteilung der chinolinsäure-positiven Mikroglia der in diesen Regionen physiologisch höheren NMDAR-Expression. Damit wird mit dieser Arbeit neben der Regionenspezifität der zerebralen Rezeptorausstattung auch die maßgebliche Rolle des PFC als Ursprung affektiver Störungen unterstrichen. Unklar ist, ob sich die beschriebenen Veränderungen der Expression von NMDAR auf gliale oder neuronale Rezeptoren beziehen. Eine Reduktion von NMDAR an der Prä- oder Postsynapse corticaler Neurone könnte dazu führen, dass ChS vor allem die NMDAR gabaerger Interneurone aktiviert. Somit käme es zu einer Induktion der inhibitorischen Funktion dieser Interneurone, woraus wiederum eine verminderte Glu-Freisetzung in den betroffenen Regionen resultieren würde. Additiv oder alternativ könnte ein verminderter Glu-Vorkommen wiederum zu einer Untererregbarkeit mit anschließender Herunterregulation der NMDAR führen. Diesen Prozessen könnte durch eine gesteigerte Synthese des endogenen NMDAR-Agonisten Chinolinsäure entgegen gewirkt werden. Eine vermehrte ChS-Synthese wäre demnach ein Versuch der Mikrogliazellen eine vorhandene NMDAR-Hypofunktion auszugleichen. In diesem Sinne wäre die vermehrte Produktion der ChS als regulierender Effekt zu betrachten, der neurotoxische Nebenwirkungen aufweist und zu Störungen kognitiver und affektiver Prozesse führt.

Die regionenspezifische Verteilung der NMDAR steht im Zusammenhang mit diversen neuroanatomischen und funktionellen Konnektivitäten, die affektive und kognitive Neuronenschaltkreise unterscheidet. Der pACC steht dabei mit anderen corticalen und limbischen Arealen in Verbindung als der sACC, welcher insbesondere eine ausgeprägte Verbindung zum aMCC ausbildet. Daher kann angenommen werden, dass eine funktionelle Konnektivität zwischen dem sACC und dem aMCC besteht und dass deren Störung zu depressiven Symptomen, wie der abweichenden kognitiven Beurteilung emotionaler Prozesse sowie Aufmerksamkeitsstörungen führt. Zusammenfassend kann davon ausgegangen werden, dass erst das Zusammenspiel mehrerer Dysfunktionen innerhalb des cortico-limbischen Netzwerkes zur Ausprägung depressiver Symptome führt und dass die Chinolinsäure als Bindeglied zwischen dem Immunsystem und dem glutamatergen System eine zentrale Rolle dabei spielt.

Im Rahmen künftiger Studien könnte z.B. die Dichte Kynureninsäure-positiver Astrozyten im anterioren cingulären Cortex sowie im Hippocampus aus benachbarten

Hirnschnitten untersucht werden. Möglicherweise besteht eine Dysbalance zwischen Chinolinsäure und Kynureninsäure und somit zwischen einem neurodegenerativen NMDAR-Agonismus und einem neuroprotektiven NMDAR-Antagonismus bei akut an einer Depression erkrankten Patienten.

Eine weitergehende Klärung der in dieser Arbeit aufgedeckten Prozesse könnte zum Einsatz neuer medikamentöser Therapiestrategien führen. Beispielsweise hemmt das Tetrazyklin Minozyklin durch die Blockade von NFκB die Aktivierung mikroglialer Zellen und könnte somit einer übermäßigen Chinolinsäureproduktion entgegen wirken. Auch Ketamin sollte als potenter NMDAR-Antagonist wieder eine bedeutendere Rolle bei der Suche nach effektiven antidepressiven Medikamenten spielen.

5 Zusammenfassung

Affektive Störungen stellen mit einer Lebenszeitprävalenz von ca. 20% eine der häufigsten Erkrankungen dar. Aufgrund der Komplexität des Krankheitsbildes existieren zahlreiche Theorien zur Ätiologie und Pathophysiologie. Die hohe Zahl an Therapieversagern zeigt jedoch, dass die Pathophysiologie affektiver Störungen noch nicht hinreichend geklärt ist und dass ein umfassenderes Verständnis der neurobiologischen Vorgänge unabdingbar ist, um die therapeutischen Möglichkeiten im Rahmen eines multimodalen Behandlungskonzeptes zu optimieren.

In den letzten Jahren wurden zunehmend Untersuchungen zur Frage durchgeführt, ob eine Dysfunktion des Immunsystems an der Pathogenese depressiver Störungen beteiligt sein könnte. Studien am peripheren Blut während depressiver Krankheitsphasen ergaben in der Tat erhöhte Konzentrationen von Interleukin-1, -6 und Tumornekrosefaktor-alpha, sowie vermehrte Monozytenzahlen. Dies wurde als Hinweis auf eine Aktivierung des Makrophagen-Monozyten-Systems im Rahmen akuter Depressionen interpretiert. Für die vorliegende Arbeit wurde die Hypothese aufgestellt, dass sich solche Veränderungen des peripheren Immunsystems eventuell auch in einer Aktivierung zerebraler Mikrogliazellen, die ebenfalls zum Makrophagen-Monozyten-System gehören, widerspiegeln könnten. Als besonders interessant für die Analyse erschienen Subregionen des anterioren cingulären Cortex, wo Depressions-assoziierte Störungen der glutamatergen Neurotransmission beschrieben wurden.

Deshalb wurde die mikrogliale Expression des endogenen N-Methyl-D-Aspartat (NMDA) Glutamatrezeptor-Agonisten Chinolinsäure im subgenualen anterioren cingulären Cortex (sACC), anterioren mittleren cingulären Cortex (aMCC) und prägenualen anterioren cingulären Cortex (pACC) von 12 akut depressiven suizidalen Patienten (unipolare Depression: n=7; bipolare Depression: n=5) mittels Immunhistochemie untersucht und mit 10 gesunden Personen verglichen.

Depressive Patienten hatten signifikant erhöhte Dichten Chinolinsäure-immunpositiver Mikrogliazellen im sACC ($P=0.006$) und aMCC ($P=0.043$) im Vergleich zu den gesunden Personen. Im pACC fanden sich hingegen keine Diagnose-abhängigen Unterschiede. Post-hoc-Analysen ergaben, dass die signifikanten Unterschiede in erster Linie auf die Fälle mit unipolarer Depression, nicht jedoch auf die Fälle mit bipolarer Depression zurückzuführen waren.

Diese Ergebnisse weisen auf eine mögliche Verbindung zwischen Immunsystem und Neurotransmission bei akuter Depression hin. Die Hochregulation von Chinolinsäure wurde insbesondere in Hirnregionen gefunden, die bekanntermaßen auf eine Therapie durch den NMDA-Rezeptor-Antagonisten Ketamin ansprechen. Zukünftige

Arbeiten in diesem Gebiet könnten zu einem besseren Verständnis der Pathophysiologie affektiver Störungen führen und den Weg für neue Immun- und Glutamat-modulierende Therapiestrategien bereiten.

Literaturverzeichnis

- (1) Laux G. Affektive Störungen. In: Möller, Laux, Kapfhammer, editors. Psychiatrie und Psychotherapie. 4 ed. Berlin: Springer; 2010. p. 391-7.
- (2) Kessler RC, Berglund P, Demler O, Jin R, Merikangas KR, Walters EE. Lifetime prevalence and age-of-onset distributions of DSM-IV disorders in the National Comorbidity Survey Replication. Arch Gen Psychiatry 2005 June;62(6):593-602.
- (3) Laux G. Depressive Störungen. In: Möller, Laux, Kapfhammer, editors. Psychiatrie und Psychotherapie. 4 ed. Berlin: Springer; 2010. p. 400-21.
- (4) Murray CJ, Lopez AD. Global mortality, disability, and the contribution of risk factors: Global Burden of Disease Study. Lancet 1997 May 17;349(9063):1436-42.
- (5) Fekadu A, Wooderson SC, Markopoulou K, Donaldson C, Papadopoulos A, Cleare AJ. What happens to patients with treatment-resistant depression? A systematic review of medium to long term outcome studies. J Affect Disord 2009 July;116(1-2):4-11.
- (6) Struder HK, Weicker H. Physiology and pathophysiology of the serotonergic system and its implications on mental and physical performance. Part I. Int J Sports Med 2001 October;22(7):467-81.
- (7) Takano H, Ito H, Takahashi H, Arakawa R, Okumura M, Kodaka F, Otsuka T, Kato M, Suhara T. Serotonergic neurotransmission in the living human brain: A positron emission tomography study using [(11)C]dasb and [(11)C]WAY100635 in young healthy men. Synapse 2010 November 23.
- (8) Barnes NM, Sharp T. A review of central 5-HT receptors and their function. Neuropharmacology 1999 August;38(8):1083-152.
- (9) Oswald I, Ashcroft GW, Berger RJ, Eccleston D, Evans JI, Thacore VR. Some experiments in the chemistry of normal sleep. Br J Psychiatry 1966 April;112(485):391-9.
- (10) Koella WP, Czicman J. Mechanism of the EEG-synchronizing action of serotonin. Am J Physiol 1966 October;211(4):926-34.
- (11) FELDBERG W, MYERS RD. EFFECTS ON TEMPERATURE OF AMINES INJECTED INTO THE CEREBRAL VENTRICLES. A NEW CONCEPT OF TEMPERATURE REGULATION. J Physiol 1964 September;173:226-31.
- (12) Buhot MC. Serotonin receptors in cognitive behaviors. Curr Opin Neurobiol 1997 April;7(2):243-54.
- (13) Savitz J, Lucki I, Drevets WC. 5-HT(1A) receptor function in major depressive disorder. Prog Neurobiol 2009 May;88(1):17-31.
- (14) Yamauchi M, Hiraoka S, Imanishi T. [Role of the serotonergic nervous system in anxiety disorders and the anxiolytic mechanism of selective serotonin reuptake inhibitors]. Nihon Shinkei Seishin Yakurigaku Zasshi 2006 November;26(5-6):193-8.
- (15) Coppen A. The biochemistry of affective disorders. Br J Psychiatry 1967 November;113(504):1237-64.
- (16) Den Hartog HM, Derix MM, Van Bommel AL, Kremer B, Jolles J. Cognitive functioning in young and middle-aged unmedicated out-patients with major depression: testing the effort and cognitive speed hypotheses. Psychol Med 2003 November;33(8):1443-51.

- (17) Murphy FC, Smith KA, Cowen PJ, Robbins TW, Sahakian BJ. The effects of tryptophan depletion on cognitive and affective processing in healthy volunteers. *Psychopharmacology (Berl)* 2002 August;163(1):42-53.
- (18) Meyers S. Use of neurotransmitter precursors for treatment of depression. *Altern Med Rev* 2000 February;5(1):64-71.
- (19) Müller WE, Eckert A. Psychopharmakotherapie - Pharmakologische Grundlagen. In: Möller H-J, Laux G, Kampfhammer H.-P., editors. *Psychiatrie und psychotherapie*. 3 ed. Heidelberg: Springer Medizin Verlag; 2008. p. 601-9.
- (20) Robinson OJ, Cools R, Crockett MJ, Sahakian BJ. Mood state moderates the role of serotonin in cognitive biases. *J Psychopharmacol* 2010 April;24(4):573-83.
- (21) Van der Does AJ. The effects of tryptophan depletion on mood and psychiatric symptoms. *J Affect Disord* 2001 May;64(2-3):107-19.
- (22) Sano I. [L-5-hydroxytryptophan-(L-5-HTP) therapy]. *Folia Psychiatr Neurol Jpn* 1972 January;26(1):7-17.
- (23) Young SN, Gauthier S. Effect of tryptophan administration on tryptophan, 5-hydroxyindoleacetic acid and indoleacetic acid in human lumbar and cisternal cerebrospinal fluid. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1981 April;44(4):323-8.
- (24) Birdsall TC. 5-Hydroxytryptophan: a clinically-effective serotonin precursor. *Altern Med Rev* 1998 August;3(4):271-80.
- (25) Tordera RM, Pei Q, Sharp T. Evidence for increased expression of the vesicular glutamate transporter, VGLUT1, by a course of antidepressant treatment. *J Neurochem* 2005 August;94(4):875-83.
- (26) Orrego F, Villanueva S. The chemical nature of the main central excitatory transmitter: a critical appraisal based upon release studies and synaptic vesicle localization. *Neuroscience* 1993 October;56(3):539-55.
- (27) Monaghan DT, Bridges RJ, Cotman CW. The excitatory amino acid receptors: their classes, pharmacology, and distinct properties in the function of the central nervous system. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 1989;29:365-402.
- (28) Sanacora G, Zarate CA, Krystal JH, Manji HK. Targeting the glutamatergic system to develop novel, improved therapeutics for mood disorders. *Nat Rev Drug Discov* 2008 May;7(5):426-37.
- (29) Morris RG, Anderson E, Lynch GS, Baudry M. Selective impairment of learning and blockade of long-term potentiation by an N-methyl-D-aspartate receptor antagonist, AP5. *Nature* 1986 February 27;319(6056):774-6.
- (30) Kandel ER. The molecular biology of memory storage: a dialog between genes and synapses. *Biosci Rep* 2001 October;21(5):565-611.
- (31) Machado-Vieira R, Manji HK, Zarate CA. The role of the tripartite glutamatergic synapse in the pathophysiology and therapeutics of mood disorders. *Neuroscientist* 2009 October;15(5):525-39.
- (32) Rothstein JD, Martin L, Levey AI, Dykes-Hoberg M, Jin L, Wu D, Nash N, Kuncl RW. Localization of neuronal and glial glutamate transporters. *Neuron* 1994 September;13(3):713-25.
- (33) Huang YH, Sinha SR, Tanaka K, Rothstein JD, Bergles DE. Astrocyte glutamate transporters regulate metabotropic glutamate receptor-mediated excitation of hippocampal interneurons. *J Neurosci* 2004 May 12;24(19):4551-9.

- (34) Lehre KP, Levy LM, Ottersen OP, Storm-Mathisen J, Danbolt NC. Differential expression of two glial glutamate transporters in the rat brain: quantitative and immunocytochemical observations. *J Neurosci* 1995 March;15(3 Pt 1):1835-53.
- (35) Lehre KP, Danbolt NC. The number of glutamate transporter subtype molecules at glutamatergic synapses: chemical and stereological quantification in young adult rat brain. *J Neurosci* 1998 November 1;18(21):8751-7.
- (36) Laake JH, Slyngstad TA, Haug FM, Ottersen OP. Glutamine from glial cells is essential for the maintenance of the nerve terminal pool of glutamate: immunogold evidence from hippocampal slice cultures. *J Neurochem* 1995 August;65(2):871-81.
- (37) Parsons CG, Danysz W, Quack G. Glutamate in CNS disorders as a target for drug development: an update. *Drug News Perspect* 1998 November;11(9):523-69.
- (38) CRANE GE. Cyloserine as an antidepressant agent. *Am J Psychiatry* 1959 May;115(11):1025-6.
- (39) Trullas R, Skolnick P. Functional antagonists at the NMDA receptor complex exhibit antidepressant actions. *Eur J Pharmacol* 1990 August 21;185(1):1-10.
- (40) Yilmaz A, Schulz D, Aksoy A, Canbeyli R. Prolonged effect of an anesthetic dose of ketamine on behavioral despair. *Pharmacol Biochem Behav* 2002 January;71(1-2):341-4.
- (41) Ossowska G, Klenk-Majewska B, Szymczyk G. The effect of NMDA antagonists on footshock-induced fighting behavior in chronically stressed rats. *J Physiol Pharmacol* 1997 March;48(1):127-35.
- (42) Zarate CA, Jr., Singh JB, Carlson PJ, Brutsche NE, Ameli R, Luckenbaugh DA, Charney DS, Manji HK. A randomized trial of an N-methyl-D-aspartate antagonist in treatment-resistant major depression. *Arch Gen Psychiatry* 2006 August;63(8):856-64.
- (43) Rowland LM, Bustillo JR, Mullins PG, Jung RE, Lenroot R, Landgraf E, Barrow R, Yeo R, Lauriello J, Brooks WM. Effects of ketamine on anterior cingulate glutamate metabolism in healthy humans: a 4-T proton MRS study. *Am J Psychiatry* 2005 February;162(2):394-6.
- (44) Yan QS, Reith ME, Jobe PC, Dailey JW. Dizocilpine (MK-801) increases not only dopamine but also serotonin and norepinephrine transmissions in the nucleus accumbens as measured by microdialysis in freely moving rats. *Brain Res* 1997 August 8;765(1):149-58.
- (45) Becquet D, Faudon M, Hery F. In vivo evidence for an inhibitory glutamatergic control of serotonin release in the cat caudate nucleus: involvement of GABA neurons. *Brain Res* 1990 June 11;519(1-2):82-8.
- (46) Quirk MC, Sosulski DL, Feierstein CE, Uchida N, Mainen ZF. A defined network of fast-spiking interneurons in orbitofrontal cortex: responses to behavioral contingencies and ketamine administration. *Front Syst Neurosci* 2009;3:13.
- (47) Homayoun H, Moghaddam B. NMDA receptor hypofunction produces opposite effects on prefrontal cortex interneurons and pyramidal neurons. *J Neurosci* 2007 October 24;27(43):11496-500.
- (48) Vollenweider FX, Kometer M. The neurobiology of psychedelic drugs: implications for the treatment of mood disorders. *Nat Rev Neurosci* 2010 September;11(9):642-51.
- (49) Gutierrez RL, McKercher RM, Galea J, Jamison KL. Lamotrigine augmentation strategy for patients with treatment-resistant depression. *CNS Spectr* 2005 October;10(10):800-5.
- (50) Nierenberg AA, Ostacher MJ, Calabrese JR, Ketter TA, Marangell LB, Miklowitz DJ, Miyahara S, Bauer MS, Thase ME, Wisniewski SR, Sachs GS. Treatment-resistant bipolar depression: a STEP-BD equipose randomized effectiveness trial of antidepressant

augmentation with lamotrigine, inositol, or risperidone. *Am J Psychiatry* 2006 February;163(2):210-6.

- (51) Auer DP, Putz B, Kraft E, Lipinski B, Schill J, Holsboer F. Reduced glutamate in the anterior cingulate cortex in depression: an in vivo proton magnetic resonance spectroscopy study. *Biol Psychiatry* 2000 February 15;47(4):305-13.
- (52) Pfeleiderer B, Michael N, Erfurth A, Ohrmann P, Hohmann U, Wolgast M, Fiebich M, Arolt V, Heindel W. Effective electroconvulsive therapy reverses glutamate/glutamine deficit in the left anterior cingulum of unipolar depressed patients. *Psychiatry Res* 2003 April 1;122(3):185-92.
- (53) Michael N, Erfurth A, Ohrmann P, Arolt V, Heindel W, Pfeleiderer B. Metabolic changes within the left dorsolateral prefrontal cortex occurring with electroconvulsive therapy in patients with treatment resistant unipolar depression. *Psychol Med* 2003 October;33(7):1277-84.
- (54) Michael N, Erfurth A, Ohrmann P, Arolt V, Heindel W, Pfeleiderer B. Neurotrophic effects of electroconvulsive therapy: a proton magnetic resonance study of the left amygdalar region in patients with treatment-resistant depression. *Neuropsychopharmacology* 2003 April;28(4):720-5.
- (55) Block W, Traber F, von WO, Metten M, Schild H, Maier W, Zobel A, Jessen F. Proton MR spectroscopy of the hippocampus at 3 T in patients with unipolar major depressive disorder: correlates and predictors of treatment response. *Int J Neuropsychopharmacol* 2009 April;12(3):415-22.
- (56) Sanacora G, Gueorguieva R, Epperson CN, Wu YT, Appel M, Rothman DL, Krystal JH, Mason GF. Subtype-specific alterations of gamma-aminobutyric acid and glutamate in patients with major depression. *Arch Gen Psychiatry* 2004 July;61(7):705-13.
- (57) Frye MA, Watzl J, Banakar S, O'Neill J, Mintz J, Davanzo P, Fischer J, Chirichigno JW, Ventura J, Elman S, Tsuang J, Walot I, Thomas MA. Increased anterior cingulate/medial prefrontal cortical glutamate and creatine in bipolar depression. *Neuropsychopharmacology* 2007 December;32(12):2490-9.
- (58) Michael N, Erfurth A, Ohrmann P, Gossling M, Arolt V, Heindel W, Pfeleiderer B. Acute mania is accompanied by elevated glutamate/glutamine levels within the left dorsolateral prefrontal cortex. *Psychopharmacology (Berl)* 2003 July;168(3):344-6.
- (59) Colla M, Schubert F, Bubner M, Heidenreich JO, Bajbouj M, Seifert F, Luborzewski A, Heuser I, Kronenberg G. Glutamate as a spectroscopic marker of hippocampal structural plasticity is elevated in long-term euthymic bipolar patients on chronic lithium therapy and correlates inversely with diurnal cortisol. *Mol Psychiatry* 2009 July;14(7):696-704, 647.
- (60) Scarr E, Pavey G, Sundram S, MacKinnon A, Dean B. Decreased hippocampal NMDA, but not kainate or AMPA receptors in bipolar disorder. *Bipolar Disord* 2003 August;5(4):257-64.
- (61) Hashimoto K, Sawa A, Iyo M. Increased levels of glutamate in brains from patients with mood disorders. *Biol Psychiatry* 2007 December 1;62(11):1310-6.
- (62) Levine J, Panchalingam K, Rapoport A, Gershon S, McClure RJ, Pettegrew JW. Increased cerebrospinal fluid glutamine levels in depressed patients. *Biol Psychiatry* 2000 April 1;47(7):586-93.
- (63) Pangalos MN, Malizia AL, Francis PT, Lowe SL, Bertolucci PH, Procter AW, Bridges PK, Bartlett JR, Bowen DM. Effect of psychotropic drugs on excitatory amino acids in patients undergoing psychosurgery for depression. *Br J Psychiatry* 1992 May;160:638-42.
- (64) Frye MA, Tsai GE, Huggins T, Coyle JT, Post RM. Low cerebrospinal fluid glutamate and glycine in refractory affective disorder. *Biol Psychiatry* 2007 January 15;61(2):162-6.

- (65) Altamura C, Maes M, Dai J, Meltzer HY. Plasma concentrations of excitatory amino acids, serine, glycine, taurine and histidine in major depression. *Eur Neuropsychopharmacol* 1995;5 Suppl:71-5.
- (66) Kim JS, Schmid-Burgk W, Claus D, Kornhuber HH. Increased serum glutamate in depressed patients. *Arch Psychiatr Nervenkr* 1982;232(4):299-304.
- (67) Mauri MC, Ferrara A, Boscati L, Bravin S, Zamberlan F, Alecci M, Invernizzi G. Plasma and platelet amino acid concentrations in patients affected by major depression and under fluvoxamine treatment. *Neuropsychobiology* 1998;37(3):124-9.
- (68) Maes M, Verkerk R, Vandoolaeghe E, Lin A, Scharpe S. Serum levels of excitatory amino acids, serine, glycine, histidine, threonine, taurine, alanine and arginine in treatment-resistant depression: modulation by treatment with antidepressants and prediction of clinical responsiveness. *Acta Psychiatr Scand* 1998 April;97(4):302-8.
- (69) Shulman Y, Grant S, Seres P, Hanstock C, Baker G, Tibbo P. The relation between peripheral and central glutamate and glutamine in healthy male volunteers. *J Psychiatry Neurosci* 2006 November;31(6):406-10.
- (70) Beratis S, Katrivanou A, Georgiou S, Monastirli A, Pasmatzis E, Gourzis P, Tsambaos D. Major depression and risk of depressive symptomatology associated with short-term and low-dose interferon-alpha treatment. *J Psychosom Res* 2005 January;58(1):15-8.
- (71) Capuron L, Dantzer R, Miller AH. [Neuro-immune interactions in psychopathology with the example of interferon-alpha-induced depression]. *J Soc Biol* 2003;197(2):151-6.
- (72) Krueger C, Hawkins K, Wong S, Enns MW, Minuk G, Rempel JD. Persistent pro-inflammatory cytokines following the initiation of pegylated IFN therapy in hepatitis C infection is associated with treatment-induced depression. *J Viral Hepat* 2010 December 8.
- (73) Mendlewicz J, Kriwin P, Oswald P, Souery D, Alboni S, Brunello N. Shortened onset of action of antidepressants in major depression using acetylsalicylic acid augmentation: a pilot open-label study. *Int Clin Psychopharmacol* 2006 July;21(4):227-31.
- (74) Linnoila M, Whorton AR, Rubinow DR, Cowdry RW, Ninan PT, Waters RN. CSF prostaglandin levels in depressed and schizophrenic patients. *Arch Gen Psychiatry* 1983 April;40(4):405-6.
- (75) Calabrese JR, Skwerer RG, Barna B, Gullledge AD, Valenzuela R, Butkus A, Subichin S, Krupp NE. Depression, immunocompetence, and prostaglandins of the E series. *Psychiatry Res* 1986 January;17(1):41-7.
- (76) Ohishi K, Ueno R, Nishino S, Sakai T, Hayaishi O. Increased level of salivary prostaglandins in patients with major depression. *Biol Psychiatry* 1988 February 15;23(4):326-34.
- (77) Mtabaji JP, Manku MS, Horrobin DF. Actions of the tricyclic antidepressant clomipramine on responses to pressor agents. Interactions with prostaglandin E2. *Prostaglandins* 1977 July;14(1):125-32.
- (78) Yaron I, Shirazi I, Judovich R, Levartovsky D, Caspi D, Yaron M. Fluoxetine and amitriptyline inhibit nitric oxide, prostaglandin E2, and hyaluronic acid production in human synovial cells and synovial tissue cultures. *Arthritis Rheum* 1999 December;42(12):2561-8.
- (79) Muller N, Schwarz MJ, Dehning S, Douhe A, Cerovecky A, Goldstein-Muller B, Spellmann I, Hetzel G, Maino K, Kleindienst N, Moller HJ, Arolt V, Riedel M. The cyclooxygenase-2 inhibitor celecoxib has therapeutic effects in major depression: results of a double-blind, randomized, placebo controlled, add-on pilot study to reboxetine. *Mol Psychiatry* 2006 July;11(7):680-4.

- (80) Hart BL. Biological basis of the behavior of sick animals. *Neurosci Biobehav Rev* 1988;12(2):123-37.
- (81) Dantzer R. Cytokine, sickness behavior, and depression. *Neurol Clin* 2006 August;24(3):441-60.
- (82) Dantzer R, Kelley KW. Twenty years of research on cytokine-induced sickness behavior. *Brain Behav Immun* 2007 February;21(2):153-60.
- (83) Maes M, Meltzer HY, Bosmans E, Bergmans R, Vandoolaeghe E, Ranjan R, Desnyder R. Increased plasma concentrations of interleukin-6, soluble interleukin-6, soluble interleukin-2 and transferrin receptor in major depression. *J Affect Disord* 1995 August 18;34(4):301-9.
- (84) Frommberger UH, Bauer J, Haselbauer P, Fraulin A, Riemann D, Berger M. Interleukin-6 (IL-6) plasma levels in depression and schizophrenia: comparison between the acute state and after remission. *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci* 1997;247(4):228-33.
- (85) Sluzewska A, Rybakowski J, Bosmans E, Sobieska M, Berghmans R, Maes M, Wiktorowicz K. Indicators of immune activation in major depression. *Psychiatry Res* 1996 October 16;64(3):161-7.
- (86) Maes M, Meltzer HY, Buckley P, Bosmans E. Plasma-soluble interleukin-2 and transferrin receptor in schizophrenia and major depression. *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci* 1995;244(6):325-9.
- (87) Mikova O, Yakimova R, Bosmans E, Kenis G, Maes M. Increased serum tumor necrosis factor alpha concentrations in major depression and multiple sclerosis. *Eur Neuropsychopharmacol* 2001 June;11(3):203-8.
- (88) Myint AM, Leonard BE, Steinbusch HW, Kim YK. Th1, Th2, and Th3 cytokine alterations in major depression. *J Affect Disord* 2005 October;88(2):167-73.
- (89) Dunbar PR, Hill J, Neale TJ, Mellsop GW. Neopterin measurement provides evidence of altered cell-mediated immunity in patients with depression, but not with schizophrenia. *Psychol Med* 1992 November;22(4):1051-7.
- (90) Duch DS, Woolf JH, Nichol CA, Davidson JR, Garbutt JC. Urinary excretion of biopterin and neopterin in psychiatric disorders. *Psychiatry Res* 1984 February;11(2):83-9.
- (91) Maes M, Scharpe S, Meltzer HY, Okayli G, Bosmans E, D'Hondt P, Vanden Bossche BV, Cosyns P. Increased neopterin and interferon-gamma secretion and lower availability of L-tryptophan in major depression: further evidence for an immune response. *Psychiatry Res* 1994 November;54(2):143-60.
- (92) Seidel A, Arolt V, Hunstiger M, Rink L, Behnisch A, Kirchner H. Major depressive disorder is associated with elevated monocyte counts. *Acta Psychiatr Scand* 1996 September;94(3):198-204.
- (93) Maes M, Van der Planken M, Stevens WJ, Peeters D, DeClerck LS, Bridts CH, Schotte C, Cosyns P. Leukocytosis, monocytosis and neutrophilia: hallmarks of severe depression. *J Psychiatr Res* 1992 April;26(2):125-34.
- (94) Dantzer R, O'Connor JC, Freund GG, Johnson RW, Kelley KW. From inflammation to sickness and depression: when the immune system subjugates the brain. *Nat Rev Neurosci* 2008 January;9(1):46-56.
- (95) Alliot F, Godin I, Pessac B. Microglia derive from progenitors, originating from the yolk sac, and which proliferate in the brain. *Brain Res Dev Brain Res* 1999 November 18;117(2):145-52.

- (96) Neumann H, Wekerle H. Neuronal control of the immune response in the central nervous system: linking brain immunity to neurodegeneration. *J Neuropathol Exp Neurol* 1998 January;57(1):1-9.
- (97) Wei R, Jonakait GM. Neurotrophins and the anti-inflammatory agents interleukin-4 (IL-4), IL-10, IL-11 and transforming growth factor-beta1 (TGF-beta1) down-regulate T cell costimulatory molecules B7 and CD40 on cultured rat microglia. *J Neuroimmunol* 1999 March 1;95(1-2):8-18.
- (98) Hoek RM, Ruuls SR, Murphy CA, Wright GJ, Goddard R, Zurawski SM, Blom B, Homola ME, Streit WJ, Brown MH, Barclay AN, Sedgwick JD. Down-regulation of the macrophage lineage through interaction with OX2 (CD200). *Science* 2000 December 1;290(5497):1768-71.
- (99) Vincent VA, Tilders FJ, Van Dam AM. Inhibition of endotoxin-induced nitric oxide synthase production in microglial cells by the presence of astroglial cells: a role for transforming growth factor beta. *Glia* 1997 March;19(3):190-8.
- (100) Aloisi F. Immune function of microglia. *Glia* 2001 November;36(2):165-79.
- (101) Kim YS, Joh TH. Microglia, major player in the brain inflammation: their roles in the pathogenesis of Parkinson's disease. *Exp Mol Med* 2006 August 31;38(4):333-47.
- (102) Kloss CU, Kreutzberg GW, Raivich G. Proliferation of ramified microglia on an astrocyte monolayer: characterization of stimulatory and inhibitory cytokines. *J Neurosci Res* 1997 July 15;49(2):248-54.
- (103) Hanisch UK. Microglia as a source and target of cytokines. *Glia* 2002 November;40(2):140-55.
- (104) Rivest S, Lacroix S, Vallieres L, Nadeau S, Zhang J, Laflamme N. How the blood talks to the brain parenchyma and the paraventricular nucleus of the hypothalamus during systemic inflammatory and infectious stimuli. *Proc Soc Exp Biol Med* 2000 January;223(1):22-38.
- (105) Henry CJ, Huang Y, Wynne A, Hanke M, Himler J, Bailey MT, Sheridan JF, Godbout JP. Minocycline attenuates lipopolysaccharide (LPS)-induced neuroinflammation, sickness behavior, and anhedonia. *J Neuroinflammation* 2008;5:15.
- (106) Steiner J, Bielau H, Brisch R, Danos P, Ullrich O, Mawrin C, Bernstein HG, Bogerts B. Immunological aspects in the neurobiology of suicide: elevated microglial density in schizophrenia and depression is associated with suicide. *J Psychiatr Res* 2008 January;42(2):151-7.
- (107) Steiner J, Mawrin C, Ziegeler A, Bielau H, Ullrich O, Bernstein HG, Bogerts B. Distribution of HLA-DR-positive microglia in schizophrenia reflects impaired cerebral lateralization. *Acta Neuropathol* 2006 September;112(3):305-16.
- (108) Mittelbronn M, Dietz K, Schluesener HJ, Meyermann R. Local distribution of microglia in the normal adult human central nervous system differs by up to one order of magnitude. *Acta Neuropathol* 2001 March;101(3):249-55.
- (109) Saito K, Ohta Y, Nagamura Y, Sasaki E, Ishiguro I. Relationship between L-tryptophan uptake and L-tryptophan 2,3-dioxygenase activity in rat hepatocytes. *Biochem Int* 1990;20(1):71-80.
- (110) Satyanarayana U, Rao BS. Dietary tryptophan level and the enzymes of tryptophan NAD pathway. *Br J Nutr* 1980 January;43(1):107-13.
- (111) Salter M, Pogson CI. The role of tryptophan 2,3-dioxygenase in the hormonal control of tryptophan metabolism in isolated rat liver cells. Effects of glucocorticoids and experimental diabetes. *Biochem J* 1985 July 15;229(2):499-504.

- (112) Carlin JM, Borden EC, Sondel PM, Byrne GI. Biologic-response-modifier-induced indoleamine 2,3-dioxygenase activity in human peripheral blood mononuclear cell cultures. *J Immunol* 1987 October 1;139(7):2414-8.
- (113) Hu B, Hissong BD, Carlin JM. Interleukin-1 enhances indoleamine 2,3-dioxygenase activity by increasing specific mRNA expression in human mononuclear phagocytes. *J Interferon Cytokine Res* 1995 July;15(7):617-24.
- (114) Braun D, Longman RS, Albert ML. A two-step induction of indoleamine 2,3 dioxygenase (IDO) activity during dendritic-cell maturation. *Blood* 2005 October 1;106(7):2375-81.
- (115) Okuda S, Nishiyama N, Saito H, Katsuki H. 3-Hydroxykynurenine, an endogenous oxidative stress generator, causes neuronal cell death with apoptotic features and region selectivity. *J Neurochem* 1998 January;70(1):299-307.
- (116) Stone TW, Perkins MN. Quinolinic acid: a potent endogenous excitant at amino acid receptors in CNS. *Eur J Pharmacol* 1981 July 10;72(4):411-2.
- (117) Schwarcz R, Whetsell WO, Jr., Mangano RM. Quinolinic acid: an endogenous metabolite that produces axon-sparing lesions in rat brain. *Science* 1983 January 21;219(4582):316-8.
- (118) Guillemin GJ, Kerr SJ, Smythe GA, Smith DG, Kapoor V, Armati PJ, Croitoru J, Brew BJ. Kynurenine pathway metabolism in human astrocytes: a paradox for neuronal protection. *J Neurochem* 2001 August;78(4):842-53.
- (119) Wonodi I, Schwarcz R. Cortical kynurenine pathway metabolism: a novel target for cognitive enhancement in Schizophrenia. *Schizophr Bull* 2010 March;36(2):211-8.
- (120) Kim JP, Choi DW. Quinolinic acid neurotoxicity in cortical cell culture. *Neuroscience* 1987 November;23(2):423-32.
- (121) Myint AM, Kim YK. Cytokine-serotonin interaction through IDO: a neurodegeneration hypothesis of depression. *Med Hypotheses* 2003 November;61(5-6):519-25.
- (122) O'Connor JC, Andre C, Wang Y, Lawson MA, Szegedi SS, Lestage J, Castanon N, Kelley KW, Dantzer R. Interferon-gamma and tumor necrosis factor-alpha mediate the upregulation of indoleamine 2,3-dioxygenase and the induction of depressive-like behavior in mice in response to bacillus Calmette-Guerin. *J Neurosci* 2009 April 1;29(13):4200-9.
- (123) Flanagan EM, Erickson JB, Viveros OH, Chang SY, Reinhard JF, Jr. Neurotoxin quinolinic acid is selectively elevated in spinal cords of rats with experimental allergic encephalomyelitis. *J Neurochem* 1995 March;64(3):1192-6.
- (124) Heyes MP, Saito K, Crowley JS, Davis LE, Demitrack MA, Der M, Dilling LA, Elia J, Kruesi MJ, Lackner A, . Quinolinic acid and kynurenine pathway metabolism in inflammatory and non-inflammatory neurological disease. *Brain* 1992 October;115 (Pt 5):1249-73.
- (125) Guillemin GJ, Smith DG, Smythe GA, Armati PJ, Brew BJ. Expression of the kynurenine pathway enzymes in human microglia and macrophages. *Adv Exp Med Biol* 2003;527:105-12.
- (126) Guillemin GJ, Smythe G, Takikawa O, Brew BJ. Expression of indoleamine 2,3-dioxygenase and production of quinolinic acid by human microglia, astrocytes, and neurons. *Glia* 2005 January 1;49(1):15-23.
- (127) Wichers MC, Koek GH, Robaey G, Verkerk R, Scharpe S, Maes M. IDO and interferon-alpha-induced depressive symptoms: a shift in hypothesis from tryptophan depletion to neurotoxicity. *Mol Psychiatry* 2005 June;10(6):538-44.

- (128) Myint AM, Kim YK, Verkerk R, Scharpe S, Steinbusch H, Leonard B. Kynurenine pathway in major depression: evidence of impaired neuroprotection. *J Affect Disord* 2007 February;98(1-2):143-51.
- (129) Raison CL, Dantzer R, Kelley KW, Lawson MA, Woolwine BJ, Vogt G, Spivey JR, Saito K, Miller AH. CSF concentrations of brain tryptophan and kynurenines during immune stimulation with IFN-alpha: relationship to CNS immune responses and depression. *Mol Psychiatry* 2010 April;15(4):393-403.
- (130) Martin A, Heyes MP, Salazar AM, Kampen DL, Williams J, Law WA, Coats ME, Markey SP. Progressive slowing of reaction time and increasing cerebrospinal fluid concentrations of quinolinic acid in HIV-infected individuals. *J Neuropsychiatry Clin Neurosci* 1992;4(3):270-9.
- (131) Heyes MP, Brew BJ, Martin A, Price RW, Salazar AM, Sidtis JJ, Yergey JA, Mouradian MM, Sadler AE, Keilp J, . Quinolinic acid in cerebrospinal fluid and serum in HIV-1 infection: relationship to clinical and neurological status. *Ann Neurol* 1991 February;29(2):202-9.
- (132) Erreger K, Geballe MT, Dravid SM, Snyder JP, Wyllie DJ, Traynelis SF. Mechanism of partial agonism at NMDA receptors for a conformationally restricted glutamate analog. *J Neurosci* 2005 August 24;25(34):7858-66.
- (133) Behan WM, McDonald M, Darlington LG, Stone TW. Oxidative stress as a mechanism for quinolinic acid-induced hippocampal damage: protection by melatonin and deprenyl. *Br J Pharmacol* 1999 December;128(8):1754-60.
- (134) Sheline YI, Wang PW, Gado MH, Csernansky JG, Vannier MW. Hippocampal atrophy in recurrent major depression. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1996 April 30;93(9):3908-13.
- (135) Stockmeier CA, Mahajan GJ, Konick LC, Overholser JC, Jurjus GJ, Meltzer HY, Uylings HB, Friedman L, Rajkowska G. Cellular changes in the postmortem hippocampus in major depression. *Biol Psychiatry* 2004 November 1;56(9):640-50.
- (136) Miller CL, Llenos IC, Dulay JR, Weis S. Upregulation of the initiating step of the kynurenine pathway in postmortem anterior cingulate cortex from individuals with schizophrenia and bipolar disorder. *Brain Res* 2006 February 16;1073-1074:25-37.
- (137) Scherk H, Reith W, Falkai P. [Changes in brain structure in bipolar affective disorders]. *Nervenarzt* 2004 September;75(9):861-72.
- (138) Brown R, Colter N, Corsellis JA, Crow TJ, Frith CD, Jagoe R, Johnstone EC, Marsh L. Postmortem evidence of structural brain changes in schizophrenia. Differences in brain weight, temporal horn area, and parahippocampal gyrus compared with affective disorder. *Arch Gen Psychiatry* 1986 January;43(1):36-42.
- (139) Andreasen NC, Swayze V, Flaum M, Alliger R, Cohen G. Ventricular abnormalities in affective disorder: clinical and demographic correlates. *Am J Psychiatry* 1990 July;147(7):893-900.
- (140) Swayze VW, Andreasen NC, Alliger RJ, Yuh WT, Ehrhardt JC. Subcortical and temporal structures in affective disorder and schizophrenia: a magnetic resonance imaging study. *Biol Psychiatry* 1992 February 1;31(3):221-40.
- (141) Altshuler LL, Conrad A, Hauser P, Li XM, Guze BH, Denikoff K, Tourtellotte W, Post R. Reduction of temporal lobe volume in bipolar disorder: a preliminary report of magnetic resonance imaging. *Arch Gen Psychiatry* 1991 May;48(5):482-3.
- (142) Krishnan KR, McDonald WM, Escalona PR, Doraiswamy PM, Na C, Husain MM, Figiel GS, Boyko OB, Ellinwood EH, Nemeroff CB. Magnetic resonance imaging of the caudate nuclei in depression. Preliminary observations. *Arch Gen Psychiatry* 1992 July;49(7):553-7.

- (143) Shah PJ, Ebmeier KP, Glabus MF, Goodwin GM. Cortical grey matter reductions associated with treatment-resistant chronic unipolar depression. Controlled magnetic resonance imaging study. *Br J Psychiatry* 1998 June;172:527-32.
- (144) Bielau H, Trubner K, Krell D, Agelink MW, Bernstein HG, Stauch R, Mawrin C, Danos P, Gerhard L, Bogerts B, Baumann B. Volume deficits of subcortical nuclei in mood disorders A postmortem study. *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci* 2005 December;255(6):401-12.
- (145) Baumann B, Danos P, Krell D, Diekmann S, Leschinger A, Stauch R, Wurthmann C, Bernstein HG, Bogerts B. Reduced volume of limbic system-affiliated basal ganglia in mood disorders: preliminary data from a postmortem study. *J Neuropsychiatry Clin Neurosci* 1999;11(1):71-8.
- (146) Rajkowska G. Morphometric methods for studying the prefrontal cortex in suicide victims and psychiatric patients. *Ann N Y Acad Sci* 1997 December 29;836:253-68.
- (147) Bowley MP, Drevets WC, Ongur D, Price JL. Low glial numbers in the amygdala in major depressive disorder. *Biol Psychiatry* 2002 September 1;52(5):404-12.
- (148) Ongur D, Drevets WC, Price JL. Glial reduction in the subgenual prefrontal cortex in mood disorders. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1998 October 27;95(22):13290-5.
- (149) Rajkowska G. Cell pathology in mood disorders. *Semin Clin Neuropsychiatry* 2002 October;7(4):281-92.
- (150) Brisch R, Bernstein HG, Dobrowolny H, Krell D, Stauch R, Trubner K, Steiner J, Ghabriel MN, Bielau H, Wolf R, Winter J, Kropf S, Gos T, Bogerts B. A morphometric analysis of the septal nuclei in schizophrenia and affective disorders: reduced neuronal density in the lateral septal nucleus in bipolar disorder. *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci* 2011 February;261(1):47-58.
- (151) Price JL, Drevets WC. Neurocircuitry of mood disorders. *Neuropsychopharmacology* 2010 January;35(1):192-216.
- (152) Krishnan V, Nestler EJ. The molecular neurobiology of depression. *Nature* 2008 October 16;455(7215):894-902.
- (153) Palomero-Gallagher N, Vogt BA, Schleicher A, Mayberg HS, Zilles K. Receptor architecture of human cingulate cortex: evaluation of the four-region neurobiological model. *Hum Brain Mapp* 2009 August;30(8):2336-55.
- (154) Devinsky O, Morrell MJ, Vogt BA. Contributions of anterior cingulate cortex to behaviour. *Brain* 1995 February;118 (Pt 1):279-306.
- (155) Posner MI, Rothbart MK, Sheese BE, Tang Y. The anterior cingulate gyrus and the mechanism of self-regulation. *Cogn Affect Behav Neurosci* 2007 December;7(4):391-5.
- (156) Vogt BA, Finch DM, Olson CR. Functional heterogeneity in cingulate cortex: the anterior executive and posterior evaluative regions. *Cereb Cortex* 1992 November;2(6):435-43.
- (157) Drevets WC, Price JL, Simpson JR, Jr., Todd RD, Reich T, Vannier M, Raichle ME. Subgenual prefrontal cortex abnormalities in mood disorders. *Nature* 1997 April 24;386(6627):824-7.
- (158) Osuch EA, Ketter TA, Kimbrell TA, George MS, Benson BE, Willis MW, Herscovitch P, Post RM. Regional cerebral metabolism associated with anxiety symptoms in affective disorder patients. *Biol Psychiatry* 2000 November 15;48(10):1020-3.
- (159) Johansen-Berg H, Gutman DA, Behrens TE, Matthews PM, Rushworth MF, Katz E, Lozano AM, Mayberg HS. Anatomical connectivity of the subgenual cingulate region targeted with

deep brain stimulation for treatment-resistant depression. *Cereb Cortex* 2008 June;18(6):1374-83.

- (160) Mayberg HS, Brannan SK, Mahurin RK, Jerabek PA, Brickman JS, Tekell JL, Silva JA, McGinnis S, Glass TG, Martin CC, Fox PT. Cingulate function in depression: a potential predictor of treatment response. *Neuroreport* 1997 March 3;8(4):1057-61.
- (161) Rosenberg DR, Macmaster FP, Mirza Y, Smith JM, Easter PC, Banerjee SP, Bhandari R, Boyd C, Lynch M, Rose M, Ivey J, Villafuerte RA, Moore GJ, Renshaw P. Reduced anterior cingulate glutamate in pediatric major depression: a magnetic resonance spectroscopy study. *Biol Psychiatry* 2005 November 1;58(9):700-4.
- (162) Agren H, Reibring L, Hartvig P, Tedroff J, Bjurling P, Hornfeldt K, Andersson Y, Lundqvist H, Langstrom B. Low brain uptake of L-[11C]5-hydroxytryptophan in major depression: a positron emission tomography study on patients and healthy volunteers. *Acta Psychiatr Scand* 1991 June;83(6):449-55.
- (163) Merkl A, Schubert F, Quante A, Luborzewski A, Brakemeier EL, Grimm S, Heuser I, Bajbouj M. Abnormal Cingulate and Prefrontal Cortical Neurochemistry in Major Depression After Electroconvulsive Therapy. *Biol Psychiatry* 2010 October 15.
- (164) Walter M, Henning A, Grimm S, Schulte RF, Beck J, Dydak U, Schnepf B, Boeker H, Boesiger P, Northoff G. The relationship between aberrant neuronal activation in the pregenual anterior cingulate, altered glutamatergic metabolism, and anhedonia in major depression. *Arch Gen Psychiatry* 2009 May;66(5):478-86.
- (165) Meyer JH, Houle S, Sagrati S, Carella A, Hussey DF, Ginovart N, Goulding V, Kennedy J, Wilson AA. Brain serotonin transporter binding potential measured with carbon 11-labeled DASB positron emission tomography: effects of major depressive episodes and severity of dysfunctional attitudes. *Arch Gen Psychiatry* 2004 December;61(12):1271-9.
- (166) Oquendo MA, Placidi GP, Malone KM, Campbell C, Keilp J, Brodsky B, Kegeles LS, Cooper TB, Parsey RV, van Heertum RL, Mann JJ. Positron emission tomography of regional brain metabolic responses to a serotonergic challenge and lethality of suicide attempts in major depression. *Arch Gen Psychiatry* 2003 January;60(1):14-22.
- (167) Dere E, Pause BM, Pietrowsky R. Emotion and episodic memory in neuropsychiatric disorders. *Behav Brain Res* 2010 December 31;215(2):162-71.
- (168) Bremner JD, Narayan M, Anderson ER, Staib LH, Miller HL, Charney DS. Hippocampal volume reduction in major depression. *Am J Psychiatry* 2000 January;157(1):115-8.
- (169) Frodl T, Meisenzahl EM, Zetsche T, Born C, Groll C, Jager M, Leinsinger G, Bottlender R, Hahn K, Moller HJ. Hippocampal changes in patients with a first episode of major depression. *Am J Psychiatry* 2002 July;159(7):1112-8.
- (170) Huang EJ, Reichardt LF. Neurotrophins: roles in neuronal development and function. *Annu Rev Neurosci* 2001;24:677-736.
- (171) Schinder AF, Poo M. The neurotrophin hypothesis for synaptic plasticity. *Trends Neurosci* 2000 December;23(12):639-45.
- (172) Djavadian RL. Serotonin and neurogenesis in the hippocampal dentate gyrus of adult mammals. *Acta Neurobiol Exp (Wars)* 2004;64(2):189-200.
- (173) Kempermann G, Krebs J, Fabel K. The contribution of failing adult hippocampal neurogenesis to psychiatric disorders. *Curr Opin Psychiatry* 2008 May;21(3):290-5.
- (174) McEwen BS. Possible mechanisms for atrophy of the human hippocampus. *Mol Psychiatry* 1997 May;2(3):255-62.

- (175) Law AJ, Deakin JF. Asymmetrical reductions of hippocampal NMDAR1 glutamate receptor mRNA in the psychoses. *Neuroreport* 2001 September 17;12(13):2971-4.
- (176) American Psychiatric Association. *Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders DSM-IV-TR Fourth Edition (Text Revision)*. 4 ed. USA: Amer Psychiatric Pub; 2000.
- (177) Bollini P, Pampallona S, Tibaldi G, Kupelnick B, Munizza C. Effectiveness of antidepressants. Meta-analysis of dose-effect relationships in randomised clinical trials. *Br J Psychiatry* 1999 April;174:297-303.
- (178) Rey MJ, Schulz P, Costa C, Dick P, Tissot R. Guidelines for the dosage of neuroleptics. I: Chlorpromazine equivalents of orally administered neuroleptics. *Int Clin Psychopharmacol* 1989 April;4(2):95-104.
- (179) Perry PJ, Alexander B. Sedative/hypnotic dependence: patient stabilization, tolerance testing, and withdrawal. *Drug Intell Clin Pharm* 1986 July;20(7-8):532-7.
- (180) Webb Haymaker, Ramond D.Adams. *Histology and Histopathology of the Nervous System*. 1 ed. Charles C Thomas Pub Ltd; 1982.
- (181) Perry VH, Gordon S. Macrophages and the nervous system. *Int Rev Cytol* 1991;125:203-44.
- (182) Banati RB, Gehrman J, Schubert P, Kreutzberg GW. Cytotoxicity of microglia. *Glia* 1993 January;7(1):111-8.
- (183) Nimmerjahn A, Kirchhoff F, Helmchen F. Resting microglial cells are highly dynamic surveillants of brain parenchyma in vivo. *Science* 2005 May 27;308(5726):1314-8.
- (184) Hanisch UK, Kettenmann H. Microglia: active sensor and versatile effector cells in the normal and pathologic brain. *Nat Neurosci* 2007 November;10(11):1387-94.
- (185) Wake H, Moorhouse AJ, Jinno S, Kohsaka S, Nabekura J. Resting microglia directly monitor the functional state of synapses in vivo and determine the fate of ischemic terminals. *J Neurosci* 2009 April 1;29(13):3974-80.
- (186) Rajkowska G, Miguel-Hidalgo JJ. Gliogenesis and glial pathology in depression. *CNS Neurol Disord Drug Targets* 2007 June;6(3):219-33.
- (187) Raison CL, Borisov AS, Majer M, Drake DF, Pagnoni G, Woolwine BJ, Vogt GJ, Massung B, Miller AH. Activation of central nervous system inflammatory pathways by interferon-alpha: relationship to monoamines and depression. *Biol Psychiatry* 2009 February 15;65(4):296-303.
- (188) Rankine EL, Hughes PM, Botham MS, Perry VH, Felton LM. Brain cytokine synthesis induced by an intraparenchymal injection of LPS is reduced in MCP-1-deficient mice prior to leucocyte recruitment. *Eur J Neurosci* 2006 July;24(1):77-86.
- (189) Nadjar A, Bluth RM, May MJ, Dantzer R, Parnet P. Inactivation of the cerebral NFkappaB pathway inhibits interleukin-1beta-induced sickness behavior and c-Fos expression in various brain nuclei. *Neuropsychopharmacology* 2005 August;30(8):1492-9.
- (190) Godbout JP, Berg BM, Krzyszton C, Johnson RW. Alpha-tocopherol attenuates NFkappaB activation and pro-inflammatory cytokine production in brain and improves recovery from lipopolysaccharide-induced sickness behavior. *J Neuroimmunol* 2005 December;169(1-2):97-105.
- (191) Wu CW, Chen YC, Yu L, Chen HI, Jen CJ, Huang AM, Tsai HJ, Chang YT, Kuo YM. Treadmill exercise counteracts the suppressive effects of peripheral lipopolysaccharide on hippocampal neurogenesis and learning and memory. *J Neurochem* 2007 December;103(6):2471-81.

- (192) Goshen I, Kreisel T, Ben-Menachem-Zidon O, Licht T, Weidenfeld J, Ben-Hur T, Yirmiya R. Brain interleukin-1 mediates chronic stress-induced depression in mice via adrenocortical activation and hippocampal neurogenesis suppression. *Mol Psychiatry* 2008 July;13(7):717-28.
- (193) Sen S, Duman R, Sanacora G. Serum brain-derived neurotrophic factor, depression, and antidepressant medications: meta-analyses and implications. *Biol Psychiatry* 2008 September 15;64(6):527-32.
- (194) Conejero-Goldberg C, Torrey EF, Yolken RH. Herpesviruses and *Toxoplasma gondii* in orbital frontal cortex of psychiatric patients. *Schizophr Res* 2003 March 1;60(1):65-9.
- (195) Schwemmler M. Borna disease virus infection in psychiatric patients: are we on the right track? *Lancet Infect Dis* 2001 August;1(1):46-52.
- (196) Bechter K. [The mild encephalitis-hypothesis--new findings and studies]. *Psychiatr Prax* 2004 November;31 Suppl 1:S41-S43.
- (197) Bechter K, Hodgkiss A. Research strategies in 'slow' infections in psychiatry. *Hist Psychiatry* 1995 December;6(24 Pt 4):503-11.
- (198) Miller AH. Norman Cousins Lecture. Mechanisms of cytokine-induced behavioral changes: psychoneuroimmunology at the translational interface. *Brain Behav Immun* 2009 February;23(2):149-58.
- (199) Zhu CB, Blakely RD, Hewlett WA. The proinflammatory cytokines interleukin-1beta and tumor necrosis factor-alpha activate serotonin transporters. *Neuropsychopharmacology* 2006 October;31(10):2121-31.
- (200) Moron JA, Zakharova I, Ferrer JV, Merrill GA, Hope B, Lafer EM, Lin ZC, Wang JB, Javitch JA, Galli A, Shippenberg TS. Mitogen-activated protein kinase regulates dopamine transporter surface expression and dopamine transport capacity. *J Neurosci* 2003 September 17;23(24):8480-8.
- (201) Chang L, Karin M. Mammalian MAP kinase signalling cascades. *Nature* 2001 March 1;410(6824):37-40.
- (202) Sanchez MM, Alagbe O, Felger JC, Zhang J, Graff AE, Grand AP, Maestripieri D, Miller AH. Activated p38 MAPK is associated with decreased CSF 5-HIAA and increased maternal rejection during infancy in rhesus monkeys. *Mol Psychiatry* 2007 October;12(10):895-7.
- (203) Asberg M, Traskman L, Thoren P. 5-HIAA in the cerebrospinal fluid. A biochemical suicide predictor? *Arch Gen Psychiatry* 1976 October;33(10):1193-7.
- (204) Si X, Miguel-Hidalgo JJ, O'Dwyer G, Stockmeier CA, Rajkowska G. Age-dependent reductions in the level of glial fibrillary acidic protein in the prefrontal cortex in major depression. *Neuropsychopharmacology* 2004 November;29(11):2088-96.
- (205) Rajkowska G, Miguel-Hidalgo JJ, Dubey P, Stockmeier CA, Krishnan KR. Prominent reduction in pyramidal neurons density in the orbitofrontal cortex of elderly depressed patients. *Biol Psychiatry* 2005 August 15;58(4):297-306.
- (206) Rajkowska G, Miguel-Hidalgo JJ, Wei J, Dilley G, Pittman SD, Meltzer HY, Overholser JC, Roth BL, Stockmeier CA. Morphometric evidence for neuronal and glial prefrontal cell pathology in major depression. *Biol Psychiatry* 1999 May 1;45(9):1085-98.
- (207) Ting KK, Brew BJ, Guillemin GJ. Effect of quinolinic acid on human astrocytes morphology and functions: implications in Alzheimer's disease. *J Neuroinflammation* 2009;6:36.
- (208) Choudary PV, Molnar M, Evans SJ, Tomita H, Li JZ, Vawter MP, Myers RM, Bunney WE, Jr., Akil H, Watson SJ, Jones EG. Altered cortical glutamatergic and GABAergic signal

transmission with glial involvement in depression. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2005 October 25;102(43):15653-8.

- (209) Yuksel C, Ongur D. Magnetic resonance spectroscopy studies of glutamate-related abnormalities in mood disorders. *Biol Psychiatry* 2010 November 1;68(9):785-94.
- (210) Cull-Candy S, Brickley S, Farrant M. NMDA receptor subunits: diversity, development and disease. *Curr Opin Neurobiol* 2001 June;11(3):327-35.
- (211) Henson MA, Roberts AC, Perez-Otano I, Philpot BD. Influence of the NR3A subunit on NMDA receptor functions. *Prog Neurobiol* 2010 May;91(1):23-37.
- (212) Barnard EA. Ionotropic glutamate receptors: new types and new concepts. *Trends Pharmacol Sci* 1997 May;18(5):141-8.
- (213) Lipton SA, Rosenberg PA. Excitatory amino acids as a final common pathway for neurologic disorders. *N Engl J Med* 1994 March 3;330(9):613-22.
- (214) Lee MC, Ting KK, Adams S, Brew BJ, Chung R, Guillemin GJ. Characterisation of the expression of NMDA receptors in human astrocytes. *PLoS One* 2010;5(11):e14123.
- (215) Monyer H, Burnashev N, Laurie DJ, Sakmann B, Seeburg PH. Developmental and regional expression in the rat brain and functional properties of four NMDA receptors. *Neuron* 1994 March;12(3):529-40.
- (216) Yamakura T, Shimoji K. Subunit- and site-specific pharmacology of the NMDA receptor channel. *Prog Neurobiol* 1999 October;59(3):279-98.
- (217) Huh KH, Wenthold RJ. Turnover analysis of glutamate receptors identifies a rapidly degraded pool of the N-methyl-D-aspartate receptor subunit, NR1, in cultured cerebellar granule cells. *J Biol Chem* 1999 January 1;274(1):151-7.
- (218) Beneyto M, Meador-Woodruff JH. Lamina-specific abnormalities of NMDA receptor-associated postsynaptic protein transcripts in the prefrontal cortex in schizophrenia and bipolar disorder. *Neuropsychopharmacology* 2008 August;33(9):2175-86.
- (219) 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 in schizophrenia and bipolar disorder. *Arch Gen Psychiatry* 2004 July;61(7):649-57.
- (220) Boyer PA, Skolnick P, Fossom LH. Chronic administration of imipramine and citalopram alters the expression of NMDA receptor subunit mRNAs in mouse brain. A quantitative in situ hybridization study. *J Mol Neurosci* 1998 June;10(3):219-33.
- (221) Karolewicz B, Stockmeier CA, Ordway GA. Elevated levels of the NR2C subunit of the NMDA receptor in the locus coeruleus in depression. *Neuropsychopharmacology* 2005 August;30(8):1557-67.
- (222) Karolewicz B, Szebeni K, Gilmore T, Maciag D, Stockmeier CA, Ordway GA. Elevated levels of NR2A and PSD-95 in the lateral amygdala in depression. *Int J Neuropsychopharmacol* 2009 March;12(2):143-53.
- (223) Mahanty NK, Sah P. Excitatory synaptic inputs to pyramidal neurons of the lateral amygdala. *Eur J Neurosci* 1999 April;11(4):1217-22.
- (224) de Carvalho LP, Bochet P, Rossier J. The endogenous agonist quinolinic acid and the non endogenous homoquinolinic acid discriminate between NMDAR2 receptor subunits. *Neurochem Int* 1996 April;28(4):445-52.

- (225) Lisy V, Stastny F. Nitric oxide synthase inhibition and glutamate binding in quinolinate-lesioned rat hippocampus. *Physiol Res* 2002;51(3):299-307.
- (226) Tavares RG, Schmidt AP, Abud J, Tasca CI, Souza DO. In vivo quinolinic acid increases synaptosomal glutamate release in rats: reversal by guanosine. *Neurochem Res* 2005 April;30(4):439-44.
- (227) Sequeira SM, Malva JO, Carvalho AP, Carvalho CM. Presynaptic N-methyl-D-aspartate receptor activation inhibits neurotransmitter release through nitric oxide formation in rat hippocampal nerve terminals. *Brain Res Mol Brain Res* 2001 April 18;89(1-2):111-8.
- (228) Sistiaga A, Miras-Portugal MT, Sanchez-Prieto J. Modulation of glutamate release by a nitric oxide/cyclic GMP-dependent pathway. *Eur J Pharmacol* 1997 February 26;321(2):247-57.
- (229) Pizzagalli DA. Frontocingulate dysfunction in depression: toward biomarkers of treatment response. *Neuropsychopharmacology* 2011 January;36(1):183-206.
- (230) Friston K. Functional integration and inference in the brain. *Prog Neurobiol* 2002 October;68(2):113-43.
- (231) Aizenstein HJ, Butters MA, Wu M, Mazurkewicz LM, Stenger VA, Gianaros PJ, Becker JT, Reynolds CF, III, Carter CS. Altered functioning of the executive control circuit in late-life depression: episodic and persistent phenomena. *Am J Geriatr Psychiatry* 2009 January;17(1):30-42.
- (232) Gusnard DA, Raichle ME, Raichle ME. Searching for a baseline: functional imaging and the resting human brain. *Nat Rev Neurosci* 2001 October;2(10):685-94.
- (233) Raichle ME, MacLeod AM, Snyder AZ, Powers WJ, Gusnard DA, Shulman GL. A default mode of brain function. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2001 January 16;98(2):676-82.
- (234) Fox MD, Snyder AZ, Vincent JL, Corbetta M, Van Essen DC, Raichle ME. The human brain is intrinsically organized into dynamic, anticorrelated functional networks. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2005 July 5;102(27):9673-8.
- (235) Weissman DH, Roberts KC, Visscher KM, Woldorff MG. The neural bases of momentary lapses in attention. *Nat Neurosci* 2006 July;9(7):971-8.
- (236) Grimm S, Boesiger P, Beck J, Schuepbach D, Bermpohl F, Walter M, Ernst J, Hell D, Boeker H, Northoff G. Altered negative BOLD responses in the default-mode network during emotion processing in depressed subjects. *Neuropsychopharmacology* 2009 March;34(4):932-843.
- (237) Drevets WC, Savitz J, Trimble M. The subgenual anterior cingulate cortex in mood disorders. *CNS Spectr* 2008 August;13(8):663-81.
- (238) Mayberg HS, Liotti M, Brannan SK, McGinnis S, Mahurin RK, Jerabek PA, Silva JA, Tekell JL, Martin CC, Lancaster JL, Fox PT. Reciprocal limbic-cortical function and negative mood: converging PET findings in depression and normal sadness. *Am J Psychiatry* 1999 May;156(5):675-82.
- (239) Drevets WC, Videen TO, Price JL, Preskorn SH, Carmichael ST, Raichle ME. A functional anatomical study of unipolar depression. *J Neurosci* 1992 September;12(9):3628-41.
- (240) Smith KA, Morris JS, Friston KJ, Cowen PJ, Dolan RJ. Brain mechanisms associated with depressive relapse and associated cognitive impairment following acute tryptophan depletion. *Br J Psychiatry* 1999 June;174:525-9.
- (241) Salvatore G, Cornwell BR, Colon-Rosario V, Coppola R, Grillon C, Zarate CA, Jr., Manji HK. Increased anterior cingulate cortical activity in response to fearful faces: a

neurophysiological biomarker that predicts rapid antidepressant response to ketamine. *Biol Psychiatry* 2009 February 15;65(4):289-95.

- (242) Vuilleumier P, Armony JL, Driver J, Dolan RJ. Effects of attention and emotion on face processing in the human brain: an event-related fMRI study. *Neuron* 2001 June;30(3):829-41.
- (243) Su KP, Leu SJ, Yang YY, Shen WW, Chou YM, Tsai SY. Reduced production of interferon-gamma but not interleukin-10 in bipolar mania and subsequent remission. *J Affect Disord* 2002 September;71(1-3):205-9.
- (244) Kim YK, Jung HG, Myint AM, Kim H, Park SH. Imbalance between pro-inflammatory and anti-inflammatory cytokines in bipolar disorder. *J Affect Disord* 2007 December;104(1-3):91-5.
- (245) O'Brien SM, Scully P, Scott LV, Dinan TG. Cytokine profiles in bipolar affective disorder: focus on acutely ill patients. *J Affect Disord* 2006 February;90(2-3):263-7.
- (246) McCullumsmith RE, Kristiansen LV, Beneyto M, Scarr E, Dean B, Meador-Woodruff JH. Decreased NR1, NR2A, and SAP102 transcript expression in the hippocampus in bipolar disorder. *Brain Res* 2007 January 5;1127(1):108-18.
- (247) Mueller HT, Meador-Woodruff JH. NR3A NMDA receptor subunit mRNA expression in schizophrenia, depression and bipolar disorder. *Schizophr Res* 2004 December 1;71(2-3):361-70.
- (248) Mann JJ. Neurobiology of suicidal behaviour. *Nat Rev Neurosci* 2003 October;4(10):819-28.
- (249) Sublette ME, Galfalvy HC, Fuchs D, Lapidus M, Grunebaum MF, Oquendo MA, Mann JJ, Postolache TT. Plasma kynurenine levels are elevated in suicide attempters with major depressive disorder. *Brain Behav Immun* 2011 August;25(6):1272-8.
- (250) Lindqvist D, Janelidze S, Hagell P, Erhardt S, Samuelsson M, Minthon L, Hansson O, Bjorkqvist M, Traskman-Bendz L, Brundin L. Interleukin-6 is elevated in the cerebrospinal fluid of suicide attempters and related to symptom severity. *Biol Psychiatry* 2009 August 1;66(3):287-92.
- (251) Tonelli LH, Stiller J, Rujescu D, Giegling I, Schneider B, Maurer K, Schnabel A, Moller HJ, Chen HH, Postolache TT. Elevated cytokine expression in the orbitofrontal cortex of victims of suicide. *Acta Psychiatr Scand* 2008 March;117(3):198-206.
- (252) Guillemin GJ, Williams KR, Smith DG, Smythe GA, Croitoru-Lamoury J, Brew BJ. Quinolinic acid in the pathogenesis of Alzheimer's disease. *Adv Exp Med Biol* 2003;527:167-76.

Danksagung

Herrn Priv.-Doz. Dr. med. J. Steiner danke ich für die Überlassung des Dissertationsthemas und für die stets hervorragende, engagierte und kritische fachliche Unterstützung, seine Geduld, seinen Einsatz und seine motivierende Begeisterung für die wissenschaftliche Forschung.

Herrn Professor Dr. med. B. Bogerts danke ich die freundliche Unterstützung bei der Bearbeitung des Themas.

Frau Dipl. Ing. Stauch, Frau Paelchen und Frau Funke danke ich herzlich für die freundliche und kompetente Unterstützung bei der Vorbereitung und Durchführung der immunhistochemischen Färbungen.

Frau Gabriela Meyer-Lotz bin ich sehr dankbar für die freundliche, kompetente und geduldige Einweisung, Unterstützung und Kontrolle bei der Datenerhebung.

Herrn Henrik Dobrowolny danke ich herzlich für die geduldige Unterstützung bei der Datenauswertung.

Herrn PhD T. Gos und Prof. Dr. H.G. Bernstein danke ich für die stets freundliche und wertvolle Unterstützung bei dieser Arbeit.

Meinen Eltern bin ich sehr dankbar für so vieles, in diesem Kontext jedoch insbesondere für die fortwährende Unterstützung während meiner Aus- und Weiterbildung, ihr Interesse an meiner wissenschaftlichen und praktischen Arbeit, ihre Geduld und zahlreiche hilfreiche Ratschläge.

Meinem Freund danke ich für seine unendliche Geduld und seine wertvolle Unterstützung insbesondere während der Examensvorbereitungszeit und dem Abschluss der schriftlichen Arbeit.

Eidesstattliche Erklärung

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

Immunhistochemische Untersuchung Chinolinsäure-positiver
Mikrogliazellen in Post-mortem-Gehirnen von Patienten mit affektiven
Störungen: Bedeutung für die Serotonin-, Glutamat- und
Inflammationstheorie depressiver Störungen

in der Klinik für Psychiatrie und Psychotherapie
mit Unterstützung durch Herrn Priv.-Doz. Dr. med. J. Steiner und Herrn Prof. Dr.
med. B. Bogerts 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.

Düsseldorf, den 18.11.2011

(Louise Meyer zu Schwabedissen)

Curriculum Vitae

Persönliche Informationen

Louise Dorothea Meyer zu Schwabedissen

geboren in Hannover am 19.02.1983

wohnhaft in der Camphausenstraße 16, 40479 Düsseldorf

Familienstand: ledig

Eltern: Dr. Hubertus Meyer zu Schwabedissen, Arzt

Gabriele Meyer zu Schwabedissen, Lehrerin

Geschwister: Cordula (Assistenzärztin der Inneren Medizin), Almut (Academic Dean, IES Abroad European Union Center) und Georg (Student, master of science in international business) Meyer zu Schwabedissen

Schulbildung

1989-1993 Grundschulen Gelsenkirchen und Braunschweig

1993-1995 Orientierungsstufe Stöckheim, Braunschweig

1995-2003 Gymnasium Raabeschule, Braunschweig

Hochschulausbildung

2003-2004 Studium der Romanistik, Technische Universität Dresden

2004-2006 Studium der Humanmedizin, Medizinische Hochschule Hannover

2006-2010 Studium der Humanmedizin, Otto-von-Guericke-Universität Magdeburg

2009-2010 Praktisches Jahr: Hospital O'Horan, Yucatán, México (Chirurgie);
Städtisches Klinikum Magdeburg (Innere Medizin und Neurologie)

2010 Abschluss des Medizinstudiums, Otto-von-Guericke-Universität Magdeburg

Seit dem 01.05.11 als Assistenzärztin tätig in der Neurologie, Marien Hospital
Düsseldorf

(Louise Meyer zu Schwabedissen)