

**DIE KLINISCHE RELEVANZ VON STATE-, TRAIT- UND RESIDUALMARKERN FÜR DIE  
BIOLOGISCHE PSYCHIATRIE AM BEISPIEL NEUROENDOKRINER UND  
PHARMAKOGENETISCHER BEFUNDE**

Habilitationsschrift

zur Erlangung der Lehrbefähigung

für das Fach

**Psychiatrie und Psychotherapie**

vorgelegt dem Fakultätsrat der Medizinischen Fakultät Charité

der Humboldt-Universität zu Berlin

von

Herrn Dr. med. Michael Dettling

geboren am 10.03.1964 in Stuttgart

Präsident: Prof. Dr. Dr. h.c. H. Meyer

Dekan: Prof. Dr. med. Dr. h.c. R. Felix

Eingereicht am: 21.02.00

Gutachter:

1. Prof. Dr. med. H. Emrich

2. Prof. Dr. med. D. Naber

3. Prof. Dr. med. R. Uebelhack

## **Danksagungen**

An allen im folgenden beschriebenen Untersuchungen waren an den jeweiligen Kliniken unzählige Mitarbeiter und Kollegen beteiligt, die ich nicht alle namentlich erwähnen kann. Mein Dank schließt das gesamte Pflegepersonal, Medizinisch-Technische Personal sowie die Kollegenschaft ein, die an der Planung und Durchführung der verschiedenen Untersuchungen am Max-Planck-Institut für Psychiatrie in München, der Psychiatrischen Universitätsklinik und Poliklinik der Freien Universität Berlin und der Psychiatrischen Klinik der Humboldt-Universität zu Berlin beteiligt waren.

Pars pro toto möchte ich aber einige Personen namentlich erwähnen, denen ich auf verschiedene Art und Weise zu großem Dank verpflichtet bin. Ohne die Unterstützung dieser Kollegen wäre diese Habilitationsschrift nicht entstanden.

Ich danke in besonderem Maße Prof. Dr. Ralf Uebelhack (Berlin), Prof. Dr. Ivar Roots (Berlin), PD Dr. Jürgen Schmider (Croton, USA), Prof. Dr. Müller-Oerlinghausen (Berlin), PD Dr. Rainer Hellweg (Berlin), Prof. Dr. Arndt Rolfs (Rostock), Dr. Nicolas Hoffmann (Berlin) und in ganz besonderem Maße Frau Prof. Dr. Isabella Heuser (Mannheim).

Von Herzen danken möchte ich auch Frau Susanne Scholl und Frau Karin Dettling für deren permanente Unterstützung.

**Ich widme diese Arbeit meinem Vater, Herrn Horst Dettling (1930-1985)**

Diese Habilitationsschrift wurde ohne fremde Hilfe verfaßt. Die beschriebenen Ergebnisse wurden eigenhändig gewonnen. Verwendete Hilfsmittel, Zusammenarbeit mit anderen Wissenschaftlern, technischen Hilfskräften und Literatur sind vollständig angegeben.

Diese Habilitationsschrift basiert auf dem Inhalt der nachfolgenden Veröffentlichungen, die allesamt Ergebnisse wissenschaftlicher Untersuchungen aus dem Max-Planck-Institut für Psychiatrie in München, aus der Psychiatrischen Klinik und Poliklinik der Freien Universität Berlin sowie der Psychiatrischen Klinik des Universitätsklinikums Charité der Humboldt Universität zu Berlin sind. Die Veröffentlichungen sind ihrem Erscheinungsjahr entsprechend chronologisch geordnet.

Dettling M: Neuropeptidhormon-Konzentrationen von Corticotropin-Releasing-Hormon, Vasopressin und Somatostatin im spinalen Liquor von depressiven Patienten und Probanden vor und nach Behandlung mit Antidepressiva. Dissertation zum Erwerb des Doktorgrades der Medizin an der Medizinischen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität zu München, München, 1994

Heuser IJE, Gotthard U, Schweiger U, Schmider J, Lammers C.-H, Dettling M, Holsboer F: Age-associated changes of pituitary-adrenocortical hormone regulation in humans: importance of gender. *Neurobiol Aging*. 15: 227-231, 1994

Dettling M, Heinz A, Dufeu P, Rommelspacher H, Gräf KJ, Schmidt LG: Dopaminergic responsivity in alcoholism: trait, state, or residual marker? *Am J Psychiatry*. 152: 1317-1321, 1995

Schmider J, Lammers CH, Gotthard U, Dettling M, Holsboer F, Heuser IJE: Combined dexamethasone/corticotropin-releasing-hormone test in acute and remitted manic patients, in acute depression and in normal controls. *Biol Psychiatry*. 38: 797-802, 1995

Lammers CH, Garcia-Borreguerro D, Schmider J, Gotthard U, Dettling M, Holsboer F, Heuser IJE: Combined dexamethasone/corticotropin-releasing-hormone test in patients with schizophrenia and in normal controls. *Biol Psychiatry*. 38: 803-807, 1995

Heinz A, Dettling M, Kuhn S, Dufeu P, Gräf KJ, Kürten I, Rommelspacher H, Schmidt LG: Blunted growth hormone response is associated with early relapse in alcohol-dependent patients. *Alcohol Clin Exp Res*. 19: 62-65, 1995

Heinz A, Lichtenberg-Kraag B, Sallström-Baum S, Gräf KJ, Krüger F, Dettling M, Rommelspacher H: Evidence for prolonged recovery of dopaminergic transmission after detoxification in alcoholics with poor treatment outcome. *J Neural Transm Gen* 102:149-157, 1995

Dettling M, Tretter, F: Der "Opiatentzug in Narkose" bei Opiatabhängigkeit: Entzugsbehandlungen im Wandel der Zeit-Wunsch und Wirklichkeit. *Nervenarzt*. 67: 805-810, 1996

Heuser IJE, Gotthard U, Schmider J, Lammers CH, Schweiger U, Dettling M, Grasser A, Holsboer F: Pituitary-adrenal-system regulation and psychopathology during amitriptyline treatment in elderly depressed patients and normal comparison subjects. *Am J*

- Psychiatry. 153: 93-99, 1996
- Heinz A, Dufeu P, Kuhn S, Dettling M, Gräf KJ, Kürten I, Rommelspacher H, Schmidt LG: Psychopathological and behavioral correlates of reduced dopaminergic sensitivity in alcoholism. Arch Gen Psychiatry. 53: 1123-1128, 1996
- Schmidt LG, Dettling M, Gräf KJ, Heinz A, Kuhn S, Podschus J, Rommelspacher H: Reduced dopaminergic function is related to severe dependence. Biol Psychiatry. 39: 193-198, 1996
- Heinz A, Sander T, Harms H, Finckh U, Kuhn S, Dufeu P, Dettling M, Gräf KJ, Rolfs A, Rommelspacher H, Schmidt LG: Lack of allelic association of dopamine D1 and D2 (Taq IA) receptor gene polymorphisms with reduced dopaminergic sensitivity in alcoholism. Alcohol Clin Exp Res. 20: 1109-1113, 1996
- Heinz A, Dufeu P, Kuhn S, Dettling M, Podschus J, Gräf K, Rommelspacher H, Schmidt LG: Reduced dopaminergic sensitivity is associated with low levels of depression, but not craving, in alcohol-dependent patients with poor treatment outcome. Alcoholism. 32: 19-27, 1996
- Dettling M, Müller-Oerlinghausen B, Rolfs A: Pathomechanisms of clozapine-induced agranulocytosis-impact of genetic determinants. Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology. 355: 4, suppl., 1997
- Finckh U, Rommelspacher H, Kuhn S, Dufeu P, Otto G, Heinz A, Dettling M, Giraldo-Velasquez M, Pelz J, Gräf KJ, Harms H, Sander T, Schmidt LG, Rolfs A: Influence of the dopamine D2 receptor (DRD2) genotype on neuroadaptive effects of alcohol and the clinical outcome of alcoholism. Pharmacogenetics. 7 (4): 271-281, 1997
- Dettling M, Müller-Oerlinghausen B, Britsch P: Clozapine treatment of HIV-associated psychosis: Too much bone marrow toxicity? Pharmacopsychiatry. 31: 156-157, 1998
- Heuser I, Bissette G, Dettling M, Schweiger U, Gotthardt U, Schmider J, Lammers CH, Nemeroff CB, Holsboer F: Cerebrospinal fluid concentrations of corticotropin-releasing hormone, vasopressin, and somatostatin in depressed patients and healthy controls: response to amitriptyline treatment. Depression and Anxiety. 8: 71-79, 1998
- Dettling M, Cascorbi I, Hellweg R, Deicke U, Weise L, Müller-Oerlinghausen B: Genetic determinants of drug-induced agranulocytosis-potential risk of olanzapine? Pharmacopsychiatry. 32: 110-112, 1999
- Sachse C, Ruschen S, Dettling M, Schley J, Bauer S, Müller-Oerlinghausen B, Roots I, Brockmüller J: Flavin monooxygenase (FMO3) polymorphism in a caucasian population: allele frequencies, mutation linkage and functional effects on clozapine and caffeine metabolism. Clinical Pharmacology and Therapeutics. 66: 431-438. 1999
- Dettling M, Cascorbi I, Roots I, Müller-Oerlinghausen B: Genetic determinants of clozapine-induced agranulocytosis-recent results of HLA-subtyping in a non-Jewish caucasian sample. Arch Gen Psychiatry. In press, 2000
- Dettling M, Sachse C, Müller-Oerlinghausen B, Roots I, Brockmüller J, Rolfs A, Cascorbi I: Lack of association between clozapine-induced agranulocytosis and hereditary polymorphisms of drug metabolizing enzymes myeloperoxidase and cytochrome P450 2D6. Pharmacopsychiatry. In press, 2000

- Dettling M, Sachse C, Brockmöller J, Schley J, Müller-Oerlinghausen B, Pickersgill I, Rolfs A, Schaub R, Schmider J: Longterm therapeutic drug monitoring of clozapine and metabolites in psychiatric in- and outpatients. *Psychopharmacology*. In press, 2000
- Dettling M, Schaub RT, Müller-Oerlinghausen B, Roots I, Cascorbi I: Further evidence of human-leukocyte antigen-encoded susceptibility to clozapine-induced agranulocytosis independent of ancestry. Submitted, 2000
- Kaiser R, Könneker M, Henneken M, Dettling M, Müller-Oerlinghausen B, Roots I, Brockmöller J: Dopamine D4 receptor 48-bp repeat polymorphism: no association with response to antipsychotic treatment, but association with catatonic schizophrenia. *Molecular Psychiatry*. In press, 2000
- Kaiser R, Brockmöller J, Henneken M, Tremblay PB, Schmider J, Dettling M, Müller-Oerlinghausen B, Roots I: Serotonin transporter polymorphisms: no associations with response to antipsychotic treatment, but association of the 17 bp VNTR with schizophrenia. Submitted, 2000

## INHALTSVERZEICHNIS

<b>DANKSAGUNGEN</b>	<b>2</b>
<b>INHALTSVERZEICHNIS</b>	<b>6</b>
<b>1. DEFINITION UND EINORDNUNG DES EIGENEN ARBEITSGEBIETES IN DEN STAND DER FORSCHUNG</b>	<b>7</b>
1.1 Allgemeine Einleitung	7
1.2 Biologische Psychiatrie	8
1.3 Markerdiskussion in der Psychiatrie	9
1.4 Neuroendokrinologie innerhalb der biologischen Psychiatrie	11
1.5 Pharmakogenetik und biologische Psychiatrie	12
1.6 Methoden der neuroendokrinen und pharmakogenetischen Forschung	14
<b>2. BEITRAG DER EIGENEN ARBEITEN ZUM FORSCHUNGSGEBIET</b>	<b>17</b>
2.1 Erläuterungen und Übersicht	17
2.2 HHN-System bei Depression und anderen psychiatrischen Erkrankungen	18
2.2.1 Periphere Befunde, die die Aktivität des HHN-Systems reflektieren	20
2.2.2 Zentrale Befunde, die die Aktivität des HHN-Systems im ZNS reflektieren	31
2.3 Dopaminerge Aktivität und Alkoholabhängigkeit	37
2.3.1 Neuroendokrine Abbildung zentralnervöser dopaminerger Transmission	39
2.3.2 Dopamin-Rezeptorpolymorphismen und Alkoholabhängigkeit	49
2.4 Pharmakogenetik bei unerwünschten Arzneimittelnebenwirkungen	54
2.4.1 Idiosyncratic Drug Reactions am Beispiel der Clozapin-induzierten Agranulocytose	55
2.4.2 Andere Arzneimittel-induzierte Agranulocytosen	66
2.4.3 Untersuchungen zum Metabolismus von Arzneimitteln	70
<b>3. PERSPEKTIVEN DES FORSCHUNGSGEBIETES</b>	<b>77</b>
<b>4. LITERATURVERZEICHNIS</b>	<b>86</b>
<b>5. ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS</b>	<b>104</b>

## 1. DEFINITION UND EINORDNUNG DES EIGENEN ARBEITSGEBIETES IN DEN STAND DER FORSCHUNG

### 1.1 Allgemeine Einleitung

In der psychiatrischen Forschung vollzog sich Mitte des 20. Jahrhunderts ein fundamentaler Wandel von bis dato vorherrschenden psychosozialen Erklärungsmodellen hin zu biologischen Aspekten psychiatrischer Erkrankungen. Neben den zeitgleich veröffentlichten Befunden der klinischen Pharmakologie bzw. Psychopharmakologie über die Wirkweise von Neuroleptika und Antidepressiva, war für diesen Wandel die Suche nach biologischen Markern und Risikofaktoren für Erkrankungen wie schizophrene Psychosen, Depressionen und Alkoholabhängigkeit maßgeblich, die aktuell auf einem vorläufigen Publikationshöhepunkt angekommen ist.

Die heutige Markerforschung basiert letztendlich auf Konzepten der frühen 50er und 60er Jahre, als (genetische) Begriffe wie "relatives Risiko" in die Epidemiologie von Erkrankungen aufgenommen (Cornfield, 1951; Levin 1953) und erste genetische Marker für unterschiedliche Krankheitszustände in verschiedenen Disziplinen der Humanmedizin beschrieben wurden (Renwick, 1961).

Diese Konzepte wurden mit einer gewissen Zeitverzögerung auch in die Psychiatrie integriert und zählen heute zu den traditionellen Forschungskonzepten psychiatrischer Forschung. Die wohl wichtigste Konsequenz der Markerforschung bei psychiatrischen Erkrankungen war die Tatsache, daß damit das wissenschaftliche Denken innerhalb der Psychiatrie näher an die bereits vorhandenen Standards anderer Disziplinen herangeführt wurde. Dies beinhaltete eine Annäherung sowohl an die Grundlagenforschung als auch an Disziplinen wie moderne Pathologie und medizinische Genetik.

In den letzten Jahren zeigte sich jedoch, daß diese vermeintlich attraktiven Konzepte eine gewisse Überbeanspruchung erfahren haben. Es wurden bzw. werden mitunter wahllos unterschiedliche biologische Befunde mit psychiatrischen Erkrankungen assoziiert, ohne daß die Qualität der Marker und damit deren potentielle klinische Relevanz deutlich würde.

Dieser drohende wissenschaftliche Reputationsverlust der Markerforschung scheint nur durch eine genaue Definition der unterschiedlichen Markerqualitäten (z.B. in *State*-, *Trait*- und Residualmarker) und damit eine realitätsnähere Bewertung der entsprechenden Befunde aufzuhalten zu sein. Für eine solchermaßen wissenschaftlich fundierte Markerdefinition bieten sowohl die Neuroendokrinologie für die Etablierung von *State*- und Residualmarkern als auch

die Pharmakogenetik für die Bestimmung von *Trait*-Markern durch ihre etablierten Testverfahren gute Voraussetzungen.

## 1.2 Biologische Psychiatrie

Es ist zum größten Teil ein Verdienst der Markerforschung und der klinischen Pharmakologie bzw. der Psychopharmakologie die Psychiatrie den biologischen Wissenschaften angenähert zu haben. Hierbei steht die Psychopharmakologie bei Betrachtung des historischen Ablaufes zeitlich und inhaltlich an erster Stelle, gründen sich doch auf deren Beobachtungen viele der heute noch gültigen, grundlegenden Hypothesen der biologischen Psychiatrie.

Hierbei spielte die Entdeckung der Neuroleptika eine entscheidende Rolle. Bereits unmittelbar nach dem 2. Weltkrieg wurden in Frankreich im Rahmen umfangreicher Forschungsarbeiten über antihistaminisch wirksame Substanzen auch die schon länger bekannten Phenothiazine untersucht. Diese waren aber generell zu toxisch, um klinisch angewandt werden zu können. Durch systematische Strukturabwandlungen entstanden in den folgenden Jahren jedoch mehrere Phenothiazinderivate, darunter auch das Chlorpromazin, die ein wesentlich günstigeres Nebenwirkungsprofil aufwiesen. 1951 wurde dann das erste Derivat, das Chlorpromazin von Laborit in die Klinik eingeführt (Laborit et al., 1951). Aufgrund ihrer klinischen Beobachtungen konnten Delay und Deniker 1952 belegen, daß durch die alleinige Verabreichung von Chlorpromazin manische und schizophrene Psychosen nachhaltig zu beeinflussen waren (Delay et al., 1952). Ähnliche Wirkungen wurden ein Jahr später auch dem Rauwolfia-Alkaloid Reserpin zugeschrieben, so daß diese Substanz 1954 ebenfalls als Antipsychotikum empfohlen wurde (Kline et al., 1954). Während diese Substanzen heutzutage keine Rolle mehr spielen, gelten die Butyrophenone mit ihrem Hauptvertreter Haloperidol, die 1958 entdeckt wurden, noch heute als potente antipsychotisch wirksame Arzneimittel und werden klinisch sehr häufig eingesetzt (Janssen et al., 1961).

Nahezu zeitgleich entdeckte der Schweizer Psychiater Kuhn die therapeutische Wirksamkeit des Imipramins bei depressiven Patienten und stellte bei depressiven Patienten unter Imipraminmedikation eine reduzierte depressive Gehemmtheit und eine aufgehellte Stimmung fest (Kuhn et al., 1957). Die amerikanischen Psychiater Loomer, Saunders und Kline vollzogen die gleiche Beobachtung bei der Anwendung von Iproniazid, einem Monoaminoxidasehemmer, der bei der Entwicklung neuer Tuberkulostatika entdeckt wurde (Saunders et al., 1957). So wurden durch einen glücklichen Umstand nahezu zeitgleich zwei unterschiedliche Wirkungsprinzipien für die medikamentöse antidepressive Therapie nachgewiesen.

In den darauffolgenden Jahren vollzog die Psychopharmakologie eine rasante Entwicklung und wurde nicht nur als Pharmakologie im engeren Sinne, sondern auch als experimentelle Pharmakologie betrieben. Man erhoffte sich von ihr eine gezielte psychiatrische Ätiologieforschung. Dies führte bei zeitgleicher Entwicklung leistungsfähiger biochemischer Methoden und vielversprechenden Tiermodellen zur Formulierung von für die Psychiatrie wichtigen Ätiologiehypothesen, die durch pharmakologische Wirkmechanismen erklärt wurden. Entsprechend formulierten Schildkraut 1965 die Katecholamin-, Copen 1967 die Serotonin- und Janowski 1972 die Acetylcholinhypothese der Depression als deren ätiologisches Erklärungsmodell (Schildkraut et al., 1965; Janowski et al., 1972; Meltzer et al., 1987). All diese Modelle gingen von Transmitterveränderungen an den jeweiligen Synapsen während einer Depression aus. Trotz der nach wie vor gültigen und gut belegten Tatsache, daß es im Rahmen einer Depression Mangelzustände bestimmter zentraler Neurotransmitter an den Synapsen und im umgekehrten Sinne einen dopaminergen Überschuß bei der Schizophrenie (Snyder et al., 1972) gibt, geht man heute davon aus, daß die damaligen monokausalen Neurotransmittererklärungen der Komplexität hirnpfysiologischer Regelkreise bzw. durch Erkrankung veränderter Regelkreise nicht gerecht werden und allenfalls noch heuristischen Wert haben.

### **1.3 Markerdiskussion in der Psychiatrie**

Das in Beziehungsetzen von biologischen Korrelaten zu psychopathologischen Auffälligkeiten wird bei historischer Betrachtung in der deutschsprachigen Psychiatrie bereits seit Kraepelin durchgeführt, so daß eigentlich bereits seit dieser Zeit von Markerforschung oder für die damalige Zeit zutreffender von Indikatoren-Forschung gesprochen werden kann.

In den 50er Jahren wurde der Begriff Marker exklusiv auf die genetischen Marker begrenzt. Er erfuhr im Laufe der Jahre jedoch eine begriffliche Erweiterung, um der Vielzahl von Befunden bei psychiatrischen Erkrankungen eine begriffliche Definition zuzuschreiben. Dies führte in der Psychiatrie im folgenden dazu, daß nahezu jede beobachtbare bzw. meßbare biologische Veränderung als *Trait*-, *State*- oder Residualmarker bezeichnet wurde.

Diese begriffliche Erweiterung des ursprünglich rein genetisch definierten Markerbegriffes ist eigentlich unscharf, da bei der Beschreibung z.B. veränderter Serumkonzentrationen oder Proteinstrukturen als potentielle Marker zunächst in der Regel nicht bekannt ist, ob die gemessene Veränderung genetisch determiniert ist, ob sie überhaupt eine Rolle für die Pathogenese der Erkrankung spielt (Buchsbaum et al., 1983) oder ob sie lediglich einen Marker

für eine Disposition darstellt (Schuckit et al., 1987). Trotzdem hat sich die Verwendung der erweiterten Markerdefinition in der Psychiatrieforschung durchgesetzt und wird generell beschrieben als meß- und quantifizierbarer biologischer Indikator einer psychiatrischen Erkrankung (Usdin et al., 1982).

Unter *State*-Markern versteht man zustands- bzw. zeitabhängige Variablen, die nur während aber nicht vor und/oder nach der Krankheitsepisode nachweisbar sind; *Trait*-Marker sind hingegen lebenslang beobachtbare Merkmale, die hinsichtlich ihrer Ausprägung variieren können. Als Residualmarker sind diejenigen Befunde zu definieren, die sich im Laufe einer chronischen bzw. oftmals auftretenden Erkrankung ausbilden können, nicht-reversibel sind und somit persistieren. Residualmarker sind also als eine Art "biologische Narbe" aufgrund häufiger Krankheitsepisoden zu verstehen.

Es gibt theoretisch mindestens drei bedeutsame Argumente für die psychiatrische Markerforschung, die alle potentiell zu einem Informationsgewinn führen: erstens, die Identifizierung von *State*- und *Trait*-Markern ist ein wichtiger Schritt hin zum Verstehen der Ätiologie und Art der Vererbung einer psychiatrischen Erkrankung. Zweitens, verschiedene biologische Indikatoren, seien es metabolische Produkte, Befunde neuroendokriner Stimulationsteste oder akute neurophysiologische Reaktionen, sind möglicherweise klinisch relevant und nützlich für die Forschung. Dieser Nutzen reicht von der Möglichkeit, das Fortschreiten einer psychiatrischen Erkrankung zu beschreiben bis hin zu einer Diagnosenvalidierung und der Entwicklung rationaler Therapieleitlinien. Und drittens, das Erkennen von Risikofaktoren, die eine Vulnerabilität für eine Erkrankung voraussagen, stellt möglicherweise einen Fortschritt für Präventionsprogramme jeglicher Art dar (Gershon, 1980).

Dennoch ist die aktuelle Situation in der psychiatrischen Markerforschung wenig vielversprechend. Nur wenige Marker haben sich herauskristallisiert, die eindeutig als krankheits- bzw. stadienspezifisch angesehen werden können. Alle Bestrebungen einzelne Marker in das "Diagnostische Manual für psychiatrische Erkrankungen" als diagnosespezifisch aufzunehmen sind bis heute gescheitert. Dies hat mindestens vier Ursachen: erstens, psychiatrische Erkrankungen sind multifaktoriell. Kein einzelner ätiologischer oder pathogenetischer Faktor ist notwendig und ausreichend ihr Auftreten zu erklären. Hierfür sind wohl insbesondere komplexe Interaktionen zwischen genetischen - und Umwelteinflüssen verantwortlich, die zudem noch durch Alter, Geschlecht und auch z.B kulturelle Zugehörigkeit modifiziert werden. Zweitens, psychiatrische Klassifikationssysteme haben eine relativ geringe

Reliabilität. Drittens, die statistische Power der Studiendesigns, insbesondere bei der Erforschung von *Trait*-Markern, ist relativ niedrig. Viertens, unser Wissen über den pathophysiologischen Hintergrund psychiatrischer Erkrankungen, über veränderte cerebrale Strukturen und Funktionen im Rahmen dieser Erkrankungen ist noch sehr unvollständig. Auch hat die biologische Psychiatrie vice versa kein Erklärungsmodell dafür, wie sich aus cerebralen organischen Veränderungen psychopathologische Symptome generieren (Rothpearl et al., 1981).

#### **1.4 Neuroendokrinologie innerhalb der biologischen Psychiatrie**

Nachdem Laignel-Lavastine bereits in den 20er Jahren erste Beobachtungen zu der Beziehung einer von ihm so beschriebenen "inneren Sekretion" und dem Nervensystem beschrieben hatte, bewiesen Berta und Ernst Scharrer 1939, daß bestimmte hypothalamische Zellen sekretorische Eigenschaften aufwiesen und etablierten damit das Prinzip der Neurosekretion. Manfred Bleuler war der erste deutschsprachige Wissenschaftler, der sich umfassend der Bedeutung der Neuroendokrinologie innerhalb der Psychiatrie widmete.

Basierend auf dem Konzept, daß psychische Störungen, wie z.B. die Depression, durch veränderte hirnhysiologische Abläufe bedingt sind, begann Bleuler bereits Ende der 40er Jahre, endokrine Erkrankungen und potentiell daraus resultierende Gemütsveränderungen zu beobachten. Er beschrieb z.B. schon damals genau die Vergesellschaftung einer Hypothyreose mit psychischen Defekten (Kretinismus). Bleuler hypostasierte, daß sich "psychische und endokrine Steuerungen ergänzen und in hohem Maße vereinigen", eine Behauptung, die er aus der Beobachtung ableitete, daß das Krankheitsgeschehen bei Psychosen häufiger mit Zeiten endokriner Umstellung (z.B. Menopause, post-partum) zusammenfällt. Bleuler erkannte, daß endokrine Erkrankungen jedweder Art im allgemeinen von Störungen der Stimmung, der Vitalgefühle und der Libido begleitet sind (Bleuler, 1948). Besondere Aufmerksamkeit erhielt in diesem Zusammenhang das Hypophysen-Zwischenhirnsystem. Nach dem Stand der damaligen Kenntnisse setzte Bleuler arbeitshypothetisch voraus, daß "die Zusammengehörigkeit der endokrinen und hirnlukalen Psychosynndrome nicht nur eine äußerlich erscheinungsbildliche, sondern auch eine biologisch bedingte" sei. Die Frage nach der tatsächlichen Bedeutung des Endokriniums für Auslösung, Verlauf und Remission psychiatrischer Erkrankungen sah er als die wesentliche Aufgabe der von ihm so genannten "endokrinologischen Psychiatrie".

Harris erkannte etwa zeitgleich, daß das venöse portale System, das Hypothalamus und Hypophyse verbindet, an der Regulation der Hypophysenhormone beteiligt ist, und zwar mittels

der Sekretion von hypothalamischen und hypophysären Hormonen (Harris et al., 1948).

Mitte der 70er Jahre wurde ein bis dato psychiatrischerseits wenig beachteter endokriner Parameter direkt in Zusammenhang mit psychischen Störungen gebracht. Es zeigte sich, daß Patienten mit Hypercortisolismus auf dem Boden einer Cushing-Erkrankung häufiger auch affektive Störungen aufwiesen (Whybrow et al., 1978). Dies bewirkte, in Kombination mit der klinischen Beobachtung, daß depressive Patienten typischerweise Symptome zeigen, die auf eine hypothalamische Fehlfunktion hindeuten, nämlich Schlafstörungen, Appetitstörungen, Libidoverlust, circadiane Auffälligkeiten und eine autonome Dysregulation, daß damit begonnen wurde das hypothalamisch-hypophysäre Nebennierenrinden-System (HHN-System) intensiv zu untersuchen. Heute gilt das HHN-System als bedeutendster hormoneller Regelkreis der biologischen Psychiatrie.

Die moderne Depressionsforschung etablierte in den darauffolgenden Jahren verschiedene Fragestellungen, die sich dem kausalen Bedingungsgefüge zwischen Effekten peripherer Hormone wie Cortisol auf das Gehirn (sog. *upstream*-Effekte) und Effekten der endokrinen Sekretion auf das Verhalten (Psychopathologie) widmeten (sog. *downstream*-Effekte). Diesen Fragestellungen liegt ein impliziertes Modell der Bidirektionalität zwischen zentralem Nervensystem (ZNS) und peripherer Hormonsekretion in dem Sinne zugrunde, als daß eine veränderte periphere Hormonsekretion nicht nur zentrale Regulationsstörungen reflektiert, sondern selbst wieder in zentrale Mechanismen eingreift, was sich wiederum in beobachtbarem Verhalten abbildet. Diese Bidirektionalität verläuft aber nicht nur wie beschrieben vertikal, sondern auch horizontal zwischen verschiedenen Systemen wie z.B. dem endokrinen - und dem Immunsystem (Keller et al., Strausbaugh et al., 1992).

### **1.5 Pharmakogenetik und biologische Psychiatrie**

Die Bedeutung der Genetik einschließlich der Pharmakogenetik für die Medizin ist in den letzten beiden Jahrzehnten durch die Entwicklung neuer molekularer Techniken wie dem Restriktionsfragment-Längen-Polymorphismus (RFLP) und der Polymerasenketten-Reaktion (PCR) sowie das Erkennen einer genetischen Ätiologie bei vielen Erkrankungen deutlich gestiegen und hat auch dazu beigetragen ätiologische Pathomechanismen verschiedener Erkrankungen zu identifizieren. Ein klassisches Beispiel hierfür sind die Untersuchungen zur Primaquin-induzierten Hämolyse, die zur Entdeckung der Glucose-6-Phosphat-Dehydrogenase und im weiteren zur Entdeckung einer anlagebedingten Defizienz dieser Dehydrogenase führten (Polednak, 1992). Basierend auf diesen Entdeckungen wurden die entscheidenden Hinweise

zur Identifizierung der molekularen Mechanismen auch verwandter hämolytischer Arzneimittelleffekte gefunden.

Im Bereich der Psychopharmaka haben v.a. klinische Beobachtungen schwerer toxischer Arzneimittelnebenwirkungen und Befunde, die deutlich interindividuelle Unterschiede (intra- und interethnischer Ätiologie) in den therapeutischen Effekten von Psychopharmaka beschrieben, wesentlich zu der hohen Bedeutung der pharmakogenetischen Forschung für die biologische Psychiatrie beigetragen.

Ein bedeutsames Beispiel hierfür war die Identifizierung verschiedener Mutationen des Cytochrom P450 (CYP 450), ein hepatisches Enzymsystem, das wesentlich an der Metabolisierung verschiedener Psychopharmaka beteiligt ist, und damit potentiell zu unerwünschten Nebenwirkungen beitragen kann. Ein anderes Beispiel war die Identifizierung verschiedener Neurotransmitter-Rezeptorpolymorphismen, die ebenfalls eine hohe Bedeutung für das Ansprechen auf Psychopharmaka haben (Arranz et al., 1998).

Pars pro toto werden im folgenden kurz die drei wichtigsten Bereiche pharmakogenetischer Forschung, deren klinische Implikationen und Nutzen im Sinne der Definition von *Trait*-Markern am Beispiel des CYP 450 2D6 dargestellt. Erstens, im Bereich der Arzneimittelmetabolisierung sind die klinischen Implikationen bisher am überzeugendsten beschrieben. Da Konzentration und Funktion eines Enzyms sehr häufig von der Metabolisierung seiner Substrate abhängen, haben genetische und/oder umweltbedingte Unterschiede in der Enzymaktivität Einfluß auf die Pharmakokinetik der Substrate des Enzyms. Diese Unterschiede in der Pharmakogenetik können den individuellen therapeutischen Effekt und die Toxizität von Psychopharmaka bei betroffenen Mutationsträgern beeinflussen (Cholerton et al., 1992, Coutts et al., 1994). Es gibt sogar zentralnervös wirkende Substanzen (z.B. Codein), die pharmakologisch inaktiv und deren analgetische Wirkung erst durch eine 2D6-abhängige Umwandlung (Codein in Morphin) einsetzen kann. Personen, die 2D6-Defizienzen aufweisen sind dann z.B. nicht in der Lage Codein in Morphin umzuwandeln. Diese Personen brauchen also eine zunehmend höhere Dosierung des Codein wegen fehlender analgetischer Wirkung, und nicht weil sie Codein-abhängig sind (Mortimer et al., 1990). Aus diesem Beispiel wird klar ersichtlich, daß pharmakogenetische Bestimmungen hilfreich bei der Einschätzung des therapeutischen Erfolges bzw. Mißerfolges medikamentöser Strategien sind und mitunter auch differentialdiagnostisch wertvolle Hinweise für klinische Symptome liefern können.

Die zweite wichtige klinische Implikation pharmakogenetischer Forschung besteht für den

Bereich der Interaktionen von Psychopharmaka, was anhand der oftmals in der Psychiatrie anzutreffenden medikamentösen Kombinationstherapie besonders interessant (und klinisch relevant) ist. Sowohl die Induktion von Arzneimitteln als auch deren Hemmung führt zu Wechselwirkungen zwischen Medikamenten, wobei beim CYP 450 2D6 der Mechanismus der kompetitiven Hemmung die Hauptrolle spielt. Dieses Phänomen ist z.B. verantwortlich für erhöhte Serumspiegelkonzentrationen eines Neuroleptikums und eines tricyclischen Antidepressivums, wenn beide zusammen gegeben werden (Llerena et al., 1993). Ähnliche Interaktionen bestehen auch zwischen chemisch unterschiedlichen Antidepressiva, z.B. tricyclischen Substanzen und Serotonin-Wiederaufnahmehemmern (Ciraulo et al., 1990).

Die dritte wichtige Bereich Bereich pharmakogenetischer Forschung befaßt sich mit potentiellen Assoziationen von 2D6 Mutationsträgern und Erkrankungen wie tardive Dyskinesien (Arthur et al., 1995), malignes neuroleptisches Syndrom (Iwahashi et al., 1994), aber auch Suchterkrankungen (Sellers et al., 1995, Tucker et al., 1995). Möglicherweise können diese bisher nicht gut verstandenen Nebenwirkungen von Psychopharmaka oder die Entwicklung von Suchtverhalten bei Einnahme bestimmter suchterzeugender Substanzen zumindestens partiell aufgrund eines bestimmten CYP 450 2D6 Genotypus erklärt werden.

### **1.6 Methoden der neuroendokrinen und pharmakogenetischen Forschung**

Die Regulation der glandotropen Hormone ist seit Anfang der 80er Jahre Gegenstand intensiver Forschung. Die Regulation hypothalamisch-hypophysärer endokriner Systeme wird bzgl. intrahypothalamischer und extrahypothalamischer (via biogener Transmittersysteme) Mechanismen untersucht. Die neuroendokrine Forschung bedient sich hierbei v.a. Stimulationstests und des sogenannten *Drug Challenge*-Paradigmas (Russel et al., 1987).

Die Sekretion der glandotropen Hormone der Adenohypophyse wird durch entsprechende *releasing*- und *inhibiting*-Faktoren des Hypothalamus gesteuert. Deren Steuerung erfolgt nicht nur über Rückkopplungsmechanismen durch die Hormone der peripheren endokrinen Organe, sondern auch über zentrale Transmittersysteme bzw. eine pharmakologische Beeinflußung dieser Systeme (Rolandi et al, 1984, Feldmann et al., 1985). Zu den üblichen Testverfahren im Rahmen spezifischer Stimulationstests zählt der Dexamethason/*Corticotropin-Relasing Hormone*-Test (DEX/CRH-Test; Holsboer et al., 1987, siehe 2.2.1.1.). Dieser Test ermöglicht es, die physiologischen bzw. pathologischen Regulationsmechanismen des wichtigsten streßregulatorischen Systems des Menschen, des hypothalamisch-hypophysären Nebennierenrinden-Systems (HHN-System) zu untersuchen. Das HHN-System reguliert u.a. die

basale - und streßinduzierte Cortisol-Freisetzung aus der Nebennierenrinde (Stalla et al., 1984) und wird selbst durch eine Vielzahl von Neurotransmittern, Neuromodulatoren und Hormonen beeinflusst, wobei der Hypothalamus (via *corticotropin-releasing hormone* (CRH)) und die Hypophyse (via Adrenocorticotropin (ACTH)) die Integration zentralnervöser und endokriner "Informationen" gewährleisten. ACTH wird in den basophilen Zellen des Hypophysenvorderlappens aus der Vorstufe Pre-Proopiomelanocortin gebildet. Die ACTH-Sekretion erfolgt pulsatil mit 5-8 Pulsen in 24 Stunden (Axelrod et al., 1984).

Das *Drug Challenge*-Paradigma bedient sich der Hypothese, daß eine Störung zentralnervöser Regulationen mittels der Gabe möglichst wirkungsreiner Substanzen, deren pharmakodynamische Mechanismen aus Tierpharmakologie und in-vitro-Experimenten bekannt sind darstellbar ist. Dabei werden endokrine Parameter engmaschig über die Zeit bestimmt, und es wird somit möglich indirekt Aussagen über in-vivo Funktionen von Rezeptoren und biochemische Effekte zu treffen. Prinzipiell wird diese Strategie für akute pathophysiologische (*State*-) und genetische (*Trait*)-Fragestellungen eingesetzt. Der bekannteste neuroendokrine Test im Rahmen des *Drug Challenge*-Paradigmas ist die dopaminerg induzierte Wachstumshormonsekretion aus dem Hypophysenvorderlappen. Das Wachstumshormon (HGH) unterliegt, ebenso wie Cortisol, einem circadianen Rhythmus mit einem Sekretionsmaximum in der Einschlafphase, die basalen Spiegel sind sehr niedrig. Direkte Dopaminagonisten, wie Apomorphin, stimulieren die HGH-Sekretion (Meltzer et al., 1978). Die Apomorphin-induzierte HGH-Sekretion wird deshalb schon seit Mitte der 70er Jahre als klinisch handhabbare Möglichkeit angesehen, zentrale dopaminerge Zustände (Rezeptorensensitivität und nachgeschaltete post-Rezeptorenprozesse) bei verschiedenen psychiatrischen Erkrankungen peripher abzubilden (Rotrosen et al., 1978, Meltzer et al., 1981).

Die Polymerase-Kettenreaktion (PCR) wurde Mitte der 80er Jahre entwickelt. Diese DNA-Technik erlaubt eine Vermehrung (oder Amplifikation) von bestimmtem DNA-Sequenzen und ist derart empfindlich, daß man ein einziges, definiertes DNA-Molekül in einer Untersuchungsprobe nachweisen kann. Aus diesem Grund fand diese Technik verstärkt Eingang in die medizinische Diagnostik, da schon geringe Materialien Erbmateriale (sogar das Erbmateriale einer einzigen Zelle) für einen Nachweis, z.B von Virusnukleinsäuren oder defekten Genen, ausreichen. Durch die Entwicklung der PCR-Diagnostik wurde die Forschung somit unabhängig von der Menge der für eine Untersuchung zur Verfügung stehenden DNA. Das Prinzip der PCR-Diagnostik ist hierbei die Fähigkeit von DNA-Polymerasen mittels eines RNA-Einzelstranges als Matrize einen DNA-Doppelstrang herzustellen, sofern ein kurzer doppelsträngiger Bereich als Startpunkt

vorhanden ist. Im Prinzip gleicht also die PCR dem natürlichen Vermehrungsmechanismus der DNA, mit dem Unterschied, daß der Mechanismus in diesem Fall im Reagenzglas stattfindet. Voraussetzung für die Durchführung einer PCR ist, daß man Teile der zu vervielfältigenden Nukleotidsequenz kennt, und zwar die Randbereiche, welche die interessierende Sequenz einschließen. Komplementär hierzu werden im folgenden zwei *Primer* (Startermoleküle für die DNA-Synthese) synthetisiert. Ein PCR-Zyklus läuft folgendermaßen ab: zunächst erfolgt eine Denaturierung der doppelsträngigen DNA bei hohen Temperaturen; danach erfolgt eine Zugabe der Oligonukleotid-Primer im Überschuß, diese lagern sich an die DNA-Einzelstränge an (Hybridisierung). Zuletzt erfolgt die DNA-Synthese-Reaktion in Gegenwart von DNA-Nukleotiden. Für eine ausreichende Vermehrung von DNA-Sequenzen sind mindestens 25 Reaktionszyklen erforderlich. 30 automatisierte Reaktionszyklen benötigen etwa vier Stunden Reaktionszeit, was eine, im Gegensatz zur DNA-Klonierung, relativ schnelle Klonierungszeit darstellt (Hames et al., 1985; Ibelgauffs, 1990). Eine andere DNA-Technik derer sich die Pharmakogenetik bedient ist der Restriktionsfragment-Längenpolymorphismus (RFLP). Diesem liegt folgendes Prinzip zugrunde: die Basensequenzen vieler Abschnitte der genomischen DNA weisen interindividuelle Sequenzunterschiede auf. Solche meist harmlosen Sequenzveränderungen treten häufig durch den Austausch einzelner Basen auf, können aber auch durch Umlagerungsprozesse längerer DNA-Abschnitte verursacht werden. Diese individuellen Sequenzunterschiede werden nach den Mendelschen Gesetzen weitervererbt, sofern sie in Keimzellen auftreten. Viele dieser Sequenzunterschiede betreffen die Erkennungs- und Schneidesequenzen von Restriktionsenzymen. Der Austausch von Basen in einer solchen Sequenz kann einerseits bewirken, daß das betreffende Restriktionsenzym diese Sequenz nicht mehr erkennt und nicht mehr schneiden kann (Verschwinden von Restriktionsenzym-schnittstellen), andererseits kann durch eine Sequenzänderung eine neue Schnittstelle geschaffen werden (Auftreten von Restriktionsenzym-schnittstellen). Spaltet man nun genomische DNA mit einem Restriktionsenzym, so zeigt sich das Verschwinden oder Auftreten von Schnittstellen in einer Verkürzung oder Verlängerung der DNA-Fragmente und damit in für dieses Restriktionsenzym unterschiedliche DNA-Fragmentmuster. Dieses Phänomen bezeichnet man als Restriktionsfragment-Längenpolymorphismus. Liegen diese unterschiedlichen Fragmentmuster im Bereich defekter Gene vor, kann man den RFLP zur Diagnose genetisch bedingter Erkrankungen einsetzen (Polak et al., 1990; Sambrook et al., 1989).

## 2. BEITRAG DER EIGENEN ARBEITEN ZUM FORSCHUNGSGEBIET

### 2.1 Erläuterungen und Übersicht

Die hier dargestellten Arbeiten stellen eine Auswahl von Publikationen dar, die seit 1994 federführend oder in Co-Autorschaft entstanden sind. Bereits in meiner Promotionschrift, die ich am Max-Planck-Institut für Psychiatrie in München unter Herrn Prof. Holsboer erstellte, wurden wichtige Fragen der Neuroendokrinologie und der Markerforschung innerhalb des HHN-Systems thematisiert (Kapitel 2.2): erstens, sind die Veränderungen, die in basalen DEX/CRH-Untersuchungen bei Depressiven gefunden werden auch zentral abbildbar? Zweitens, wenn basale (oder auch als zentral zu wertende Veränderungen) vorhanden sind, sind diese zustandsabhängig (im Sinne eines *State*-Markers) oder persistierend (im Sinne eines Residualmarkers/*Trait*-Markers) und sind diese Marker durch klassische Antidepressiva zu beeinflussen? Die Ergebnisse der Promotionschrift wurden 1998 in *Depression and Anxiety* veröffentlicht. Alle weiteren Veröffentlichungen zu Veränderungen des HHN-Systems bei verschiedenen psychiatrischen Erkrankungen wie Depression, Manie und Schizophrenie sind ebenfalls in meiner Münchener Zeit entstanden und dienten zum einem dem Ziel, die Bedeutung des Einflusses verschiedener klinischer Variablen wie Alter und Geschlecht auf die HHN-Achse zu bestimmen, und zum anderen dem Ziel die Wertigkeit der HHN-Veränderungen im Sinne einer Markerdefinition zu bestimmen.

Die Berliner Zeit diente wissenschaftlicherseits zunächst nochmals dazu, die Bedeutung neuroendokriner Stimulationstest für psychiatrische Erkrankungen zu bestätigen, allerdings mit einem anderen Test bei einer anderen Erkrankung. Mittels der Apomorphin-induzierten HGH-Sekretion konnten wichtige Befunde über die dopaminerge Responsivität bei der Alkoholabhängigkeit beschrieben und die entsprechende Einteilung dieser Veränderungen exemplarisch im Sinne einer Markerdefinition vorgenommen werden (Kapitel 2.3). Die entsprechenden Ergebnisse wurden u.a. im *American Journal of Psychiatry* und in den *Archives of General Psychiatry* veröffentlicht. Mit der Einbeziehung erster pharmakogenetischer Untersuchungen bzgl. potentieller Dopamin-Rezeptorpolymorphismen wurde versucht, auch auf die Frage nach *Trait*-Markern der Alkoholabhängigkeit zu fokussieren.

Fortan widmete ich mich intensiver der *Trait*-Marker-Forschung und es erwies sich als hilfreich und sinnvoll, die klassische *Idiosyncratic Drug Reaction* der Pharmakologie zu untersuchen (Kapitel 2.4). In Kooperation mit verschiedenen Berliner Instituten und in besonderem Maße mit dem Institut für Klinische Pharmakologie der Charité unter Herrn Professor Roots, begann ich

systematisch das für die Psychiatrie psychopharmakologisch bedeutsamste Beispiel einer solchen Arzneimittelreaktion, die Clozapin-induzierte Agranulocytose, hinsichtlich potentieller *Trait*-Marker zu untersuchen. Inhaltlich ging es darum, hypothesengesteuert Polymorphismen von am Clozapinmetabolismus beteiligten Enzymystemen sowie das HLA-System auf ihre ätiopathogenetische Bedeutung bei der Entwicklung der Clozapin-induzierten Agranulocytose hin zu untersuchen. Veröffentlichungen zu diesem Thema erschienen bzw. erscheinen u.a. in den *Archives of General Psychiatry* und in *Pharmacopsychiatry*.

Einige Ergebnisse der vorgestellten Untersuchungen sind noch nicht publiziert, hierauf wird gesondert verwiesen. Ohne die großzügige finanzielle Unterstützung des Bundesministeriums für Bildung und Forschung seit 1996 und ohne die formale und inhaltliche Einbindung in den Verbund Klinische Pharmakologie Berlin/Brandenburg (Sprecher: Prof. Ganten) wären die Untersuchungen zur Clozapin-induzierten Agranulocytose nicht möglich gewesen.

Auch in den nächsten Jahren wird die finanzielle Unterstützung für verschiedene Projekte im Bereich *Trait*-Marker-Forschung bei unerwünschten Arzneimittelnebenwirkungen fortgesetzt werden, unter besonderer Gewichtung von Enzymsystem-Polymorphismen und Apoptose-Mechanismen.

Die Auflistung der Publikationsschriften und Einteilung dieses Kapitels entspricht einer chronologischen Einteilung meiner wissenschaftlichen Bemühungen seit 1994.

## **2.2 HHN-System bei Depression und anderen psychiatrischen Erkrankungen**

Das HHN-System stellt das wichtigste streßregulatorische System des Menschen dar und koordiniert Anforderungen, die intern oder extern auf den Organismus einwirken. Es unterliegt einem komplexen Regulationsgefüge, welches von zentralen und basalen Faktoren beeinflusst wird. Der Hypothalamus stellt in diesem System eine Art Relaisstation dar, mit afferentem Zufluß von u.a. Amygdala und Hippocampus (Kupfermann et al., 1991). Der Hypothalamus ist mittels corticaler Strukturen als Teil des limbischen Systems, dem Regulator von Emotionen und Vegetativum, anzusehen. Die meisten Fasersysteme des Hypothalamus sind bidirektional, allerdings gibt es hiervon zwei Ausnahmen. Erstens, den hypothalamisch-hypophysealen Trakt; dieser enthält nur deszendierende Axone paraventriculärer und supraoptischer Neurone, die hauptsächlich in der hinteren Hypophyse enden. Und zweitens, den retino-hypothalamischen Trakt, dessen Fasern überwiegend zum Nucleus suprachiasmaticus projizieren.

Viele Neurone des Hypothalamus synthetisieren und sezernieren Peptide. Einige Neurone

setzen ihre Peptide in den synaptischen Spalt frei (wo diese als Neurotransmitter wirken), andere sezernieren die Peptide direkt in die Blutzirkulation, und zwar in der Eminentia mediana, einer extrahypothalamisch gelegenen Struktur des Hypothalamus (Scharrer et al, 1954). Die von Harris bereits Ende der 40er Jahre aufgestellte Hypothese, daß die hypophysäre Hormonsekretion durch Freisetzung hypothalamischer humoraler Faktoren reguliert würde, konnten Saffran und Guillemin bestätigen. Diese Wissenschaftler bewiesen, daß Homogenate der Eminentia mediana einen ACTH-freisetzenden Faktor enthielten, das *corticotropin-releasing hormone* (CRH) (Saffran et al., 1955, Guillemin et al., 1955). Erst Anfang der 80er Jahre gelang es, die Sequenzierung des Gens für humanes CRH aufzuklären und damit die Aminosäuresequenz des Peptids zu entschlüsseln (Vale et al. 1981; Furutani et al., 1993; Shibahara et al., 1983). 1988 wurde das CRH-Gen auf das Chromosom 8 lokalisiert (Arbiser et al., 1988). Die Regulationsmechanismen des HHN-Systems vollziehen sich mittels einer negativen Rückkoppelungsschleife auf drei anatomischen Ebenen und einem schnellen, langsamen und intermediären *Feedback*, wobei CRH als Schlüsselhormon fungiert und die adrenale Cortisolfreisetzung via hypophysärem ACTH reguliert (Keller-Wood et al., 1984).

HHN-Systemstörungen wurden bei einer Vielzahl von psychiatrischen Erkrankungen beobachtet (Übersicht bei Holsboer et al., 1992). Neben depressiven Patienten zeigen auch Patienten mit schizophrenen Erkrankungen, maniformen Zuständen oder dementiellem Syndrom Störungen dieses endokrinen Systems. In gewisser Weise ist eine Veränderung des HHN-Systems also durchaus zunächst nur als unspezifischer Ausdruck einer Streßsituation zu werten, was besonders für die Ergebnisse, die mit dem Dexamethason-Suppressions-Test (siehe 2.2.1.1.) erhoben wurden gilt. Die Befunde des DEX/CRH-Testes und deren vergleichsweise hohe Replizierbarkeit bei depressiven Erkrankungen deuten jedoch darauf hin, daß die Qualität dieser Befunde für deren Charakterisierung als potentieller Marker für die Depression deutlich höher als für andere psychiatrische Erkrankungen, und damit spezifischer ist (Arana et al., 1987).

Von grundlegender Bedeutung für die HHN-System-Untersuchungen bei depressiven Erkrankungen war das Streßkonzept der Depression. Dieses besagt, daß verschiedenartigste Belastungen zu einer Stimulation von ACTH und damit einer vermehrten Cortisolfreisetzung führen (Koob et al., 1985). Ebenfalls eine grundlegende Bedeutung als experimenteller Konstrukt hatten die Tiermodelle von Kalin und Seligman: Kalin konnte belegen, daß intracerebroventrikuläre CRH-Injektionen bei Rhesusaffen zu einem *despair syndrome* führen, einem Zustand der einer Depression bei Menschen durchaus ähnelt (Kalin et al., 1989) und

bestätigte damit ältere Tiermodelle der Depression wie das *learned helplessness*-Konstrukt von Seligman (Seligman et al., 1976). Schon Ende der 50er Jahre berichtete Beard, daß die basalen Cortisolspiegel Depressiver erhöht seien, Gibbons zeigte komplementär hierzu eine Erniedrigung erhöhter Cortisolspiegel bei Remission (Beard et al., 1958, Gibbons et al., 1968), was als erster früher Hinweis auf eine Qualität der Cortisolkonzentration als *State*-Marker galt. Aber erst eine Dekade später wurden das zwischenzeitlich erworbene Wissen um neuroanatomische und pathophysiologische Gegebenheiten sowie wesentlich verbesserte Meßverfahren gezielter angewendet. Hierzu zählte auch die Implementierung des Dexamethason-Suppressionstestes (DST) und des CRH-Testes bzw. im folgenden deren Kombination, des DEX/CRH-Testes (Holsboer et al., 1987, siehe 2.2.1.1.).

### **2.2.1 Periphere Befunde, die die Aktivität des HHN-Systems reflektieren**

Heuser IJE, Gotthard U, Schweiger U, Schmider J, Lammers CH, Dettling M, Holsboer F: Age-associated changes of pituitary-adrenocortical hormone regulation in humans: importance of gender. *Neurobiol Aging*. 15: 227-231, 1994

Schmider J, Lammers CH, Gotthard U, Dettling M, Holsboer F, Heuser IJE: Combined dexamethasone / corticotropin-releasing-hormone test in acute and remitted manic patients, in acute depression and in normal controls. *Biol Psychiatry*. 38: 797-802, 1995

Lammers CH, Garcia-Borreguerro D, Schmider J, Gotthard U, Dettling M, Holsboer F, Heuser IJE: Combined dexamethasone-/corticotropin-releasing-hormone test in patients with schizophrenia and in normal controls. *Biol Psychiatry*. 38: 803-807, 1995

Heuser IJE, Gotthard U, Schmider J, Lammers CH, Schweiger U, Dettling M, Grasser A, Holsboer F: Pituitary-adrenal-system regulation and psychopathology during amitriptyline treatment in elderly depressed patients and normal comparison subjects. *Am J Psychiatry*. 153: 93-99, 1996

#### **2.2.1.1 Einführung**

Die meisten Befunde zu peripheren HHN-System-Veränderungen bei der Depression aber auch anderen psychiatrischen Erkrankungen entstammen DST- und DEX/CRH-Untersuchungen. Beim DST wird eine geringe Menge des synthetischen Glukokortikoids Dexamethason um 23.00 Uhr verabreicht. Dieses bewirkt normalerweise eine Suppression von Cortisol am nächsten Tag. Beim DEX/CRH-Test werden dem DEX-vorbehandelten Probanden am darauffolgenden Tag noch zusätzlich 100 Mikrogramm CRH injiziert und die daraus resultierende ACTH- und Cortisolsekretion gemessen. Während der konventionelle DST die via peripherer Glucocorticoid-Regulierung und endogener CRH-Aktivität erfolgende Kontrolle adrenaler Funktionen widerspiegelt, gibt die zusätzliche Gabe eines zentral wirksamen Hormons wie des CRH Aufschlüsse über vorliegende zentrale Regulationsstörungen.

Mittels beider Testverfahren wurden bei depressiven Patienten folgende HHN-Systemveränderungen gefunden: erstens, erhöhte basale Cortisolplasmakonzentrationen; zweitens, nicht supprimierbare Cortisolspiegel nach DEX-Gabe und drittens, eine abgeschwächte ACTH-Antwort bei normaler Cortisolantwort nach exogener Gabe von CRH (ACTH-*Blunting*). Diese Veränderungen sind allesamt gut belegt und häufig reproduziert (Carroll et al., 1981; Gold et al., 1984; Holsboer et al., 1984, Linkowski et al., 1985). Insbesondere die HHN-System-Veränderungen depressiver Patienten im DEX/CRH-Test waren überraschend, zeigten sie doch, daß der negative Rückkopplungsmechanismus von der peripheren zur zentralen Ebene des HPA-Systems bei diesen Patienten gestört sein mußte (Holsboer et al., 1987).

Ziel unserer Untersuchungen bei depressiven Patienten war es folgende Fragen zu beantworten: Erstens, inwieweit sind HHN-System-Veränderungen durch antidepressive Medikation reversibel? Zweitens, sind Veränderungen des HHN-Systems mit der Verbesserung psychopathologischer Symptome korreliert und drittens, wie wirkt antidepressive Medikation auf das HHN-System nicht-depressiver Normalpersonen? Zudem sollte die bis dato kontrovers diskutierte Frage beantwortet werden, inwieweit alters- mit krankheitsabhängigen Veränderungen des HHN-Systems zu vergleichen sind.

Die Untersuchungen zum HHN-System bei manischen Patienten sind an Qualität und Quantität in keiner Weise mit denjenigen depressiver Patienten zu vergleichen. Dies ist v.a. Ausdruck des schwierigen klinischen Handlings dieser Patienten und der Tatsache, daß der DEX/CRH-Test zumindestens eine vierstündige Bettruhe vorschreibt, was im Falle einer ausgeprägten maniformen Symptomatik nur schwer von den Patienten einzuhalten ist. Die vorliegenden Berichte beschreiben in der Regel, daß manische Patienten generell zu einem wesentlich geringeren Teil Veränderungen der Cortisolplasmakonzentration oder des HHN-Systems aufweisen (Carroll et al., 1979; Cookson et al., 1985; Kennedy et al., 1989, Whalley et al., 1989). Unsere Untersuchungen sollten diese für den DEX-Test beschriebenen Veränderungen mittels des aussagekräftigeren DEX/CRH-Testes prüfen und potentielle HHN-System-Regulationsstörungen auch innerhalb des manischen Syndroms identifizieren.

Analog zu den Ergebnissen bei manischen Patienten wird auch bei Patienten mit einer schizophrenen Psychose berichtet, daß deren HHN-Systemveränderungen quantitativ und qualitativ geringer ausfallen als bei depressiven Patienten. Das Auftreten von HHN-System-Veränderungen scheint hierbei in Abhängigkeit des Auftretens zusätzlicher depressiver

Symptome vorzuliegen (Dewan et al., 1982; Asnis et al., 1986; Roy et al., 1986; Holsboer-Trachsler et al., 1987). Auch diese Befunde wurden bis dato nur mittels des DST erhoben, so daß auch bei diesen Patienten intendiert war, mittels des DEX/CRH-Testes neue Erkenntnisse bzgl. der Regulationsmechanismen des HHN-Systems dieser Patienten zu gewinnen.

Zusammengefaßt galten unsere Untersuchungen zur peripheren Aktivität des HHN-Systems also der Frage, inwieweit und welche HHN-System-Veränderungen Marker einer bestimmten psychiatrischen Erkrankung bzw. eines bestimmtem Krankheitszustandes oder Lebensalters sind, oder ob diese Veränderungen einfach nur pathophysiologische Veränderungen des Streßsystems ungeachtet des zugrundeliegenden psychopathologischen Syndroms abbilden.

#### **2.2.1.2 Methodik**

Alle Teilnehmer der Untersuchungen erhielten am Vortag der CRH-Stimulierung um 23.00 Uhr 1,5 mg Dexamethason. Am folgenden Tag nahmen die Probanden oder Patienten um 12.30 ein standardisiertes (NaCl armes) Mittagessen ein. Ab 13.30 lagen die Untersuchungsteilnehmer auf einem Bett in einem ruhigen, lärmabgeschirmten Raum. Mittels einer Kamera und Gegensprechanlage konnten die Probanden oder Patienten vom benachbarten Labor aus überwacht werden. Die Untersuchungsteilnehmer wurden mit einem intravenösen Verweilkatheter ("Braunüle") in einer Unterarmvene versorgt; diese Kanüle wurde mit einem verlängerten Infusionsbesteck verbunden, welches durch eine Öffnung in das benachbarte Labor geführt und dort von einem Infusomaten betrieben wurde. Von einem Dreiwegehahn aus wurde Blut im Labor entnommen. Eine heparinisierte Kochsalzlösung lief in einer Geschwindigkeit von 50 ml/h während des gesamten Untersuchungsablaufes um die Kanüle offenzuhalten. Die Blutentnahmen erfolgten von 14.00 bis 18.00 Uhr in viertelstündigem Abstand. Um 15.00 Uhr wurden 100 Mikrogramm humanes CRH (Bissendorf Peptide, Wedemark) als Bolus innerhalb von 30 Sekunden injiziert.

Die jeweilige ACTH- und Cortisolsekretion nach CRH-Gabe wurde als Fläche unter der Kurve (AUC, ohne Dimension) mittels einer trapezoidalen Integration berechnet und für die basale Sekretion korrigiert. Die nicht integrierten Stimulationswerte wurden als Maximalwert minus Basalsekretionswert (DELTA) angegeben. Der größte Wert nach CRH-Stimulation (zwischen 15.00-18.00 Uhr wurde als PEAK bezeichnet. Die mittlere Hormonkonzentration zwischen 14.00-15.00 Uhr (nach Dexamethason und vor CRH) wurde als Mittelwert aus den fünf entnommenen Proben berechnet und als BASAL-Konzentration bezeichnet. Als Grenze für die Einteilung Suppression/Non-Suppression wurde eine Cortisolkonzentration von 110 nmol/l

definiert.

Alle Patienten, die in die jeweiligen Studien aufgenommen wurden, wurden mittels eines Strukturierten Klinischen Interviews (SKID; Wittchen et al., 1990) befragt um Beurteiler-reliable Diagnosen entsprechend den Kriterien des *Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders*, 3. Revidierte Fassung (DSM-III-R, 1987) der *American Psychiatric Association* (APA), zu erstellen. Sie durften keine relevanten neurologischen und/oder internistischen Erkrankungen haben. Patienten mit Substanzmittelabusus sowie Vorbehandlung mit einem Depot-Neuroleptikum innerhalb der letzten sechs Monate wurden nicht für die Studie rekrutiert. Zum Zeitpunkt der Erstuntersuchung durften die Patienten mindestens fünf Tage keine psychotrope Medikation erhalten haben.

Der Schweregrad der jeweiligen Erkrankung wurde mit folgenden Fremdbeurteilungsskalen abgeschätzt: Brief Psychiatric-Rating-Scale für Schizophrenie (BPRS; Overall et Gorham, 1962), Mania-Rating-Scale für Manie (MRS; Bech et al., 1978), Hamilton-Depression-Rating Scale für Depression (HDRS; Hamilton, 1960).

Alle gesunden Probanden mußten eine Eigen-und Familienanamnese frei von psychiatrischen und/oder neurologischen Erkrankungen haben. Außerdem durfte keine Behandlung mit psychotroper Medikation oder Substanzmittelabusus vorausgegangen sein oder zum Untersuchungszeitraum vorliegen. Allergische Erkrankungen oder behandlungsbedürftige internistische Erkrankungen waren ebenso Ausschlußkriterien wie belastende Lebensereignisse, aufgetreten bis zu sechs Monate vor der Untersuchung.

Für unsere Therapiestudie definierten wir klinische Response (d.h. gutes Ansprechen auf Therapie) als eine Abnahme des Depressions-Wertes (HDRS) nach dem Behandlungsintervall von 50% oder mehr vom Ausgangswert (Beginn der Behandlung) und kleiner 10 Punkte nach Therapie.

ACTH im Plasma wurde mittels eines dualen Antikörper-immunoradiometrischen Assays der Firma Nicols Institute (San Juan, Capistrano, Kalifornien, USA) am Max-Planck-Institut für Psychiatrie gemessen. Die Intraassay-Variabilität betrug 3,6 bei einer mittleren Konzentration von 11pmol/L, die Interassay-Variabilität war kleiner als 3,5 mit einer unteren Nachweisgrenze von 1pmol/L.

Cortisol im Plasma wurde mit einem kommerziellen Radioimmunoassay der Firma Gamma Coat, Travenol, ebenfalls in den hauseigenen Labors bestimmt. Hier lag die Intraassay-

Variabilität bei 4-7% und die Interassay-Variabilität bei 5-8%.

Die Plasmakonzentrationen von Amitriptylin und Nortriptylin wurden mittels Hochdruckflüssigkeitschromatographie und ultravioletter Detektion bestimmt.

Gruppenunterschiede (Patienten vs. Kontrollpersonen) bei den DEX/CRH-Testen mit kleinem Stichprobenumfang wurden mit dem nonparametrischen Mann-Whitney-U-Test bzgl. der jeweiligen interessierenden abhängigen Variablen bestimmt. Wurden mehr als zwei Gruppen miteinander verglichen, so erfolgte erst eine nonparametrische Varianzanalyse (nach Kruskal-Wallis), um Globaleffekte zu identifizieren. Lokale Effekte wurden mittels Mann-Whitney-U-Test bestimmt.

Gruppenunterschiede bei Studien mit großem Stichprobenumfang (siehe auch Liquoruntersuchungen 2.2.2.2) wurden mittel multivariater Varianzanalyse (MANOVA, mit Meßwiederholung) verglichen. Ein p-Wert < 0.05 wurde als statistisch signifikant akzeptiert. Die Werte im Text und in den Tabellen sind als Mittelwert (SD) angegeben.

### 2.2.1.3 Ergebnisse und Diskussion

#### 2.2.1.3.1 Depression

39 Patienten (32 Frauen und 7 Männer), mit der DSM-III-R Diagnose einer aktuellen Episode einer *Major Depression* nahmen an der Untersuchung teil. Das Durchschnittsalter der Patienten war 69 Jahre (SD=6), das durchschnittliche Lebensalter bei Erstmanifestation war 56 Jahre (SD=15) bei durchschnittlich 5 Episoden und einem HDRS-Score von 26 (SD=6) und einem BMI (*body mass index*) von 24.5 kg/m<sup>2</sup> (SD=3.8).

Die nicht-depressiven Kontrollpersonen, neun Männer und sechs Frauen, hatten ein Durchschnittsalter von 67 Jahren (SD=5), waren medikationsfrei und wiesen eine leere Familienanamnese bzgl. psychiatrischer und/oder neurologischer Erkrankungen auf. Ihr BMI betrug 24.5 kg/m<sup>2</sup> (SD=2.6).

Beide Gruppen durchliefen ein identisches, doppelblindes Procedere: nach mindestens sechstägiger Washout-Phase erhielten sie für eine Woche ein Placebo, danach den ersten DEX/CRH-Test, eine HDRS-Bestimmung sowie EEG- und EKG-Untersuchungen. Daran schloß sich eine sechswöchige antidepressive Medikation mit Amitriptylin in aufsteigender Dosierung bis 75 mg/die an. Nach der ersten, dritten und sechsten Woche der antidepressiven Medikation wurde wiederum ein DEX/CRH-Test, parallel hierzu jeweils ein HDRS durchgeführt. Response

wurde als mindestens 50% Reduktion des basalen HDRS-Wertes oder als HDRS-Wert unter 10 Punkten definiert.

Die klinischen Ergebnisse innerhalb der Patientengruppe waren folgende: keiner der 39 Patienten entwickelte unter der sechswöchigen Amitriptylinmedikation unerwünschte Nebenwirkungen, die zum Abbruch der Studienteilnahme gezwungen hätte. Im Verlauf des sechswöchigen Behandlungsintervalls kam es zu einer kontinuierlichen Abnahme der HDRS-Werte, was einer Verbesserung der Psychopathologie entsprach ( $F_{3,38}=41,1$ ;  $p<0,0001$ ). Das erste statistisch signifikante Absinken vollzog sich nach drei Wochen der medikamentösen Behandlung. Die mittlere *steady-state* Plasmaspiegelkonzentration von Amitriptylin und Nortriptylin betrug 180 ng/ml (SD=80).

Bei der Gruppe der Kontrollpersonen zeigte sich, daß zwei der 14 Personen die Studie wegen auftretendem Schwindel bzw. massivem Fingertremor abbrechen mußten. Die mittlere *steady-state* Plasmaspiegelkonzentration von Amitriptylin und Nortriptylin betrug 118 ng/ml (SD=40).

Die seriellen DEX/CRH-Untersuchungen bei der Patientengruppe zeigten zu den vier Testzeitpunkten unterschiedliche Ergebnisse ( $p<0,001$ ). Ein signifikanter Zeiteffekt für basales ACTH ( $F_{3,38}=9,2$ ;  $p<0,0001$ ) und basales Cortisol ( $F_{3,38}=6,3$ ;  $p<0,006$ ) kam dadurch zustande, daß die Werte für diese Hormonparameter während der Placebowoche am höchsten waren, nach einer Woche antidepressiver Medikation abnahmen, und fortan auf diesem Niveau persistierten. Ähnliche Resultate zeigten sich bei der post-CRH stimulierten Hormonsekretion. Am Ende der ersten Woche waren die DELTA's für ACTH am größten und am Ende der sechsten Behandlungswoche am kleinsten ( $p<0,09$ ).

Beim Vergleich Patientengruppe/Kontrollpersonen zeigten sich signifikante Unterschiede in der basalen ACTH-Konzentration ( $F_{1,49}=14,1$ ;  $p<0,001$ ), der basalen Cortisolkonzentration ( $F_{1,49}=3,9$ ;  $p<0,05$ ) und der Cortisol-AUC ( $F_{1,49}=11,2$ ;  $p<0,01$ ). Die basale Cortisolkonzentration der Patienten korrelierte im Vergleich mit Alter, BMI, Krankheitsdauer und basaler ACTH-Konzentration am deutlichsten mit der klinischen Schwere der Depression ( $r=0,6$ ,  $N=39$ ,  $p<0,01$ ).

Innerhalb der Patientengruppe wurde nochmals zwischen Respondern/Nonrespondern und DST-Suppressoren/DST-Nonsuppressoren unterschieden:

Als Responder wurden nach Ende der sechswöchigen Amitriptylin-Behandlung 21 Patienten (54%) definiert, als Nonresponder 18 Patienten (46%). Es zeigte sich kein signifikanter

Gruppenunterschied für die ACTH-Variablen. In beiden Gruppen nahmen die Werte für basales ACTH, ACTH PEAK und ACTH DELTA nach einer Woche Amitriptylin-Behandlung deutlich ab und verblieben auf diesem Niveau (siehe Gesamt-Patientengruppe). Nonresponder hatten signifikant höhere Cortisolkonzentrationen ( $F_{3,37}=11$ ,  $p<0,01$ ) sowie signifikant höhere Cortisol-PEAK-Werte ( $F_{3,37}=7,4$ ,  $P<0,01$ ). Für die AUC's von Cortisol und ACTH zeigten sich keine signifikanten Gruppenunterschiede.

Am Ende der Placebowoche waren 13/39 Patienten (33%) DST-Nonsuppressoren, diese waren klinisch signifikant schwerer erkrankt (HDRS-Wert: 29 Punkte (SD=6) vs. 25 Punkte (SD=5),  $p<0,01$ ). DST-Nonsuppressoren hatten im Trend höhere basale ACTH-Plasmaspiegel ( $p<0,06$ ) und signifikant höhere basale Cortisol-Plasmaspiegel ( $F_{1,37}=58,3$ ,  $P<0,0001$ ) im Vergleich zu DST-Suppressoren (269,6 nmol/L (SD=141,6) vs. 39,2 nmol/L (SD=28,9)). Diese Unterschiede der Cortisol-Plasmaspiegel blieben bei jeder weiteren DEX/CRH-Untersuchung signifikant. Fünf der 13 Nonsuppressoren der Placebowoche änderten ihren DST-Status trotz antidepressiver Medikation nicht. Ein Vierfelder- $\chi^2$ -Test ergab, daß 69% aller DST-Nonsuppressoren der Placebowoche entsprechend unserer Responsekriterien nach Studienende als Nonresponder definiert werden mußten.

Die seriellen DEX/CRH-Untersuchungen bei den Kontrollpersonen zeigten im Gegensatz zu den Patienten keinen Zeiteffekt. Keiner der Kontrollpersonen durchbrach die Dexamethason-induzierte HHN-Suppression an einem der vier Testzeitpunkte.

*Diese aufwendige Studie erbrachte zusammengefaßt folgende Ergebnisse: erstens, die initial nach Dexamethason-Vorbehandlung hohen Cortisolspiegel der depressiven Patienten sanken zeitlich deutlich vor der klinischen Besserung der Patienten ab. Die basalen Cortisolspiegel der depressiven Patienten waren die einzige klinische Variable, die mit dem Schweregrad der Depression signifikant assoziiert war. Zweitens, die Zeitverläufe in den DEX/CRH-Testergebnissen waren bei Behandlungs-Respondern und Nonrespondern ähnlich pathologisch, unabhängig davon welchen DST-Status die Patienten aufwiesen. Drittens, DST-Nonsuppressoren zeigten nach zusätzlicher CRH-Stimulation signifikant größere maximale ACTH- und Cortisol-Antworten im Vergleich zu DST-Suppressoren. Und viertens, bei psychopathologisch unauffälligen Kontrollpersonen, die sechs Wochen lang 75 mg Amitriptylin erhielten, änderten sich die DEX/CRH-Testergebnisse nicht.*

*Diese Untersuchung konnte zweierlei erstmals zeigen; zum ersten, daß das klassische Antidepressivum Amitriptylin überhaupt auf das HHN-System einwirkt, und zwar im Sinne einer*

*Glukocorticoid-Suppression, und zweitens, daß im Rahmen einer medikamentösen antidepressiven Behandlung die HHN-Normalisierungen zeitlich vor den klinischen Besserungen der Patienten ablaufen. Somit konnten Einwände widerlegt werden, die besagten, daß die Besserung der psychopathologischen Symptomatik lediglich reaktiv zu einer Normalisierung des HHN-Systems führe. Es konnte gezeigt werden, daß antidepressive Effekte zumindestens auch über das HHN-System und seine Regulationsmechanismen ablaufen. Aufgrund der Tatsache, daß die erhöhten Cortisolkonzentrationen die einzige Variable darstellten, die mit der Schwere der Depression signifikant assoziiert war, konnte bestätigt werden, daß HHN-System-Veränderungen eine gewisse Markerqualität für die Depression besitzen, und in Abhängigkeit des Persistierens dieser Veränderungen, von State-Marker bzw. Residualmarker gesprochen werden kann. Erstmals wurde auch untersucht, wie ein Antidepressivum auf das HHN-System gesunder Kontrollpersonen wirkt. Wir konnten keine statistisch signifikanten Auswirkungen des Amitriptylin auf das HHN-System unserer Kontrollpersonen nachweisen, wengleich hier einschränkend darauf hingewiesen werden muß, daß in unserer Kontrollgruppe eine Überbetonung älterer Männer vorlag. Dies muß deswegen betont werden, weil es gut bekannt ist, daß die Variablen Alter und Geschlecht durchaus Relevanz für das HHN-System besitzen: in einer anderen Untersuchung hatten wir 40 gesunde, ältere Personen (Durchschnittsalter 69 Jahre (SD=5) und 20 gesunde, jüngere Personen (Durchschnittsalter 34 Jahre (SD=8)) mittels des kombinierten DEX/CRH-Testes untersucht und festgestellt, daß die Älteren höhere Cortisolkonzentrationen vor und nach CRH-Stimulation aufwiesen. Zudem zeigte sich bei dieser Untersuchung, daß Frauen, unabhängig vom Alter, signifikant höhere Cortisolsekretionen im Vergleich zu Männern aufwiesen.*

#### **2.2.1.3.2 Manie**

Sieben männliche und vier weibliche Patienten (Durchschnittsalter 39 Jahre (SD=17)) mit einer DSM-III-R Diagnose einer akuten manischen Episode nahmen an der Untersuchung teil. Der mittlere Punktwert der Patienten auf der MRS war 22 (SD=5) und der mittlere BPRS-Wert 47 (SD=8) Punkte. Die Patienten hatten eine unterschiedliche Medikamentenanamnese: ein Patient hatte noch niemals Psychopharmaka eingenommen, vier Patienten waren mindestens einen Monat medikamentenfrei, ein Patient erhielt zum Zeitpunkt der Untersuchung Clozapin, zwei weitere Patienten Clozapin und Lorazepam bzw. Clozapin und Perazin. Eine Kombination von Lorazepam, Lithium und Carbamazepin erhielten zwei Patienten, eine Kombination von Haloperidol, Lithium und Carbamazepin ein Patient. Der Schweregrad der manifformen Symptomatik bei den behandelten und den unbehandelten Patienten war vergleichbar: 23

(SD=2) vs. 23 (SD=4) Punkte auf der MRS.

Die manischen Patienten wurden sowohl mit einer Gruppe von 11 gesunden Kontrollpersonen (Durchschnittsalter 38 (SD=15)) als auch mit einer Gruppe depressiv Erkrankter (Durchschnittsalter 37 (SD=15)), die allesamt zum Zeitpunkt der DEX/CRH-Untersuchungen medikationsfrei waren verglichen. Der mittlere HDRS-Wert dieser Patienten betrug 30 (SD=5) Punkte.

Alle Patienten erhielten eine DEX/CRH-Untersuchung, 6/11 manischen Patienten wurden nach einem mindestens sechsmonatigen symptomfreien Intervall nochmals untersucht.

Im Ergebnis zeigte sich, daß die basalen Cortisol- und ACTH-Konzentrationen depressiver und manischer Patienten signifikant höher als die der Kontrollpersonen waren ( $p < 0,05$ ), wohingegen sich die beiden Patientengruppen im Vergleich nicht signifikant voneinander unterschieden. Manische Patienten hatten Cortisolkonzentrationen von 127,6 nmol/L (SD=100,0), depressive Patienten 226,4 nmol/L (SD=174,4) und die Kontrollpersonen 20,4 nmol/L (SD=7,8). Die ACTH-Konzentrationen waren 2,9 pmol/L (SD=1,5) bei manischen Patienten, 3,4 pmol/L (SD=1,2) bei depressiven Patienten und 1,2 pmol/L bei den Kontrollpersonen (SD=0,3).

6/11 (55%) der manischen, 8/11 (73%) der depressiven Patienten und 0/11 (0%) Kontrollpersonen waren DST-Nonsuppressoren nach Dexamethasongabe. Nach CRH-Gabe zeigten im Vergleich zu den Kontrollpersonen wiederum beide Patientengruppen eine signifikant höhere sekretorische Aktivität des HHN-Systems (AUC-Cortisol und AUC-ACTH). Manische Patienten hatten eine Cortisol-AUC von 24,2 (SD=28,1), depressive Patienten eine Cortisol-AUC von 14,4 (SD=31,1) und Kontrollpersonen eine Cortisol-AUC von 4,4 (SD=6,3). Für die ACTH-AUC ergab sich für manische Patienten ein Wert von 415 (SD=393), für depressive Patienten von 237 (SD=206) und für Kontrollpersonen 245 (SD=192).

Der Anteil der Nonsuppressoren in beiden Patientengruppen erhöhte sich nach der CRH-Stimulation weiter, da bei den manischen Patienten zusätzlich drei weitere Patienten und bei den depressiv Erkrankten zwei weitere Patienten nach CRH-Gabe die DEX-induzierte Cortisolsuppression durchbrachen. Insgesamt waren also 8/11 (73%) der manischen und 10/11 (91%) der depressiven Patienten Nonsuppressoren. Die Kontrollpatienten blieben auch nach CRH-Stimulation Nonsuppressoren. Die Verlaufsuntersuchung der sechs manischen Patienten nach sechs symptomfreien Monaten ergab signifikant niedrigere Konzentrationen aller HHN-Parameter (wie basale Konzentrationen, PEAK-Werte, AUC), die aber im Vergleich zu den

Kontrollpersonen immer signifikant höher waren.

Diese Untersuchung zeigte, daß Patienten mit einer Manie Veränderungen des HHN-Systems aufweisen, die den Veränderungen depressiv Erkrankter ähneln und deutlich vom Zustand des HHN-Systems bei Normalpersonen unterschieden werden können. Es zeigte sich für akut manische Patienten bei den Messungen nach CRH-Stimulation, daß die Stärke der Hormonfreisetzung (entsprechend der Höhe der AUC's) positiv mit hohen MRS-Scores korreliert war. Interessanterweise zeigte sich im Verlauf, daß diese Unterschiede zwischen manischen Patienten und Kontrollpersonen unabhängig vom psychopathologischen Zustand der manischen Patienten persistierten, denn die manischen Patienten waren bei der zweiten Untersuchung als klinisch remittiert diagnostiziert.

*Geht man davon aus, daß der DST eher krankheitsstadiumabhängige Veränderungen des HHN-Systems abbildet und der kombinierte DEX/CRH-Test endogene "Narben" dieses Systems, konnten die obigen HHN-Befunde manischer Patienten durchaus als State-Marker für diesen affektiven Zustand (Korrelation mit MRS-Scores), wenn nicht als Residualmarker (Verlaufsuntersuchung) gewertet werden. Sicher wären aber für letztere Einteilung längere Zeitintervalle zwischen den Untersuchungen wünschenswert gewesen. Die Tatsache, daß ein Teil der manischen Patienten bei den Untersuchungen mediziert war, war sogar indirekt von Vorteil für die unsere Interpretation der Befunde, denn Antipsychotika, Phasenprophylaktika und Benzodiazepine wirken nachgewiesenermaßen supprimierend auf das HHN-System (Torpy et al., 1994), so daß davon ausgegangen werden kann, daß bei diesen Patienten HHN-System-Veränderungen sogar noch maskiert waren. Die Tatsache, daß mit dem DEX/CRH-Test noch zusätzliche Nonsuppressoren identifiziert wurden, sprach dafür, daß der kombinierte Test eher als der konventionelle DST potentielle Residualmarker identifizieren kann.*

### **2.2.1.3.3 Schizophrenie**

24 Patienten, 16 Männer und 8 Frauen, mit der DSM-III-R Diagnose einer Schizophrenie, nahmen an der Studie teil. Drei Patienten litten an einer Schizophrenie vom desorganisierten Typus, einer an einer Schizophrenie vom katatonen Typus, 15 Patienten an einer Schizophrenie vom paranoiden Typus, 3 Patienten an einer Schizophrenie vom Residualtypus und 2 Patienten an einer Schizophrenie vom undifferenzierten Typus.

Das mittlere Alter der Patienten war 34 Jahre (SD=9). 9/24 Patienten waren mindestens drei Monate vor Studienbeginn medikamentenfrei, 9 Patienten wurden zum Untersuchungszeitpunkt mit einem atypischen Antipsychotikum (8 Patienten mit Clozapin, ein Patient mit Sulpirid) und 6

Patienten mit einem typischen Antipsychotikum (5 Patienten mit Haloperidol, 1 Patient mit Perphenazin) behandelt. Die Patienten hatten einen mittleren BPRS-Wert von 41 Punkten (SD=14), was einem mittelschweren Krankheitsgrad entspricht. 16 gesunde Personen mit einem Durchschnittsalter von 34 Jahren (SD=10), die keine Eigen- oder Familienanamnese von neurologischen und/oder psychiatrischen Erkrankungen aufwiesen, stellten die Kontrollgruppe dar.

Bei der Untersuchung zeigten sich folgende Befunde: 3/24 Patienten (13%) waren DST-Nonsuppressoren. Die anschließende CRH-Stimulierung identifizierte sechs weitere Nonsuppressoren, so daß insgesamt 9/24 Patienten (38%) als Nonsuppressoren mittels des DRX/CRH-Testes identifiziert wurden. Über die Hälfte der Nonsuppressoren nach CRH-Stimulierung waren unbehandelte schizophrene Patienten. Bei den Kontrollpersonen wurden fünf Nonsuppressoren erst nach CRH-Stimulierung identifiziert, dies entspricht 21% der Kontrollpersonen.

Die basalen Cortisolkonzentrationen waren bei den schizophrenen Patienten signifikant höher als bei den Kontrollpersonen (56 nmol/L (SD=71) vs. 18 nmol/L (SD=9);  $p < 0,05$ ), dies galt auch als Trend für die basalen ACTH-Konzentrationen. (2,4 pmol/L (SD=1,9) vs. 1,6 pmol/L (SD=0,6)  $p < 0,08$ ).

Patienten, die mit typischen oder atypischen Neuroleptika behandelt wurden, waren klinisch weniger schwer krank als unmedizierte Patienten (BPRS 32 Punkte (SD=8) vs. 52 Punkte (SD=16);  $p < 0,05$ ). Dies spiegelte sich folgendermaßen in den DEX/CRH-Ergebnissen wider: unmedizierte Patienten wiesen gegenüber medizierten Patienten auch nach CRH-Stimulation signifikant erhöhte Cortisol AUC- (21,4 (SD=33,5) vs. 5,5 (SD=13,1) und PEAK-Werte (248 nmol/L (SD=303) vs. 160 nmol/L (SD=223) auf. Die unterschiedlichen klinischen Subtypen unterschieden sich nicht bzgl. ihrer ACTH- oder Cortisolkonzentrationen.

*Diese DEX/CRH-Untersuchungen an schizophrenen Patienten zeigten zusammengefaßt folgende Ergebnisse: Erstens, analog zu den Untersuchungen manischer Patienten gelang es mittels des kombinierten Testes, Nonsuppressoren zu identifizieren, die mittels des einfachen DST nicht zu charakterisieren waren. Dies spricht deutlich für die Überlegenheit dieses diagnostischen Testes gegenüber dem DST bei der Identifizierung komplexerer HHN-System-Veränderungen. Zweitens, das Ausmaß der HHN-System-Veränderungen war im Vergleich zu Veränderungen manischer und depressiver Patienten deutlich geringer. HHN-System-Veränderungen schienen geringer spezifisch für schizophrene Psychosen und damit weder als*

*State - noch als Residualmarker für diese Erkrankung verwendbar zu sein. Drittens, Vorbefunde die eine das HHN-System supprimierende Wirkung von Antipsychotika postulieren (Torphy et al., 1994), konnten bestätigt werden.*

### **2.2.2 Zentrale Befunde, die die Aktivität des HHN-Systems im ZNS reflektieren**

Dettling M: Neuropeptidhormon-Konzentrationen von Corticotropin-Releasing-Hormon, Vasopressin und Somatostatin im spinalen Liquor von depressiven Patienten und Probanden vor und nach Behandlung mit Antidepressiva. Dissertation zum Erwerb des Doktorgrades der Medizin an der Medizinischen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität zu München, München, 1994

Heuser I, Bissette G, Dettling M, Schweiger U, Gotthardt U, Schmider J, Lammers CH, Nemeroff CB, Holsboer F: Cerebrospinal fluid concentrations of corticotropin-releasing hormone, vasopressin, and somatostatin in depressed patients and healthy controls: response to amitriptyline treatment. *Depression and Anxiety*. 8: 71-79, 1998

#### **2.2.2.1 Einführung**

Im Sinne einer inhaltlichen Weiterentwicklung der Studien zu HHN-System-Veränderungen insbesondere depressiv Erkrankter und im Sinne einer weiteren Differenzierung und inhaltlichen Interpretation dieser Veränderungen wurde in unserer Arbeitsgruppe parallel zu den peripheren Befunden auch auf zentrale Veränderungen des HHN-Systems fokussiert. Hierzu schienen für die klinische Forschung Liquoruntersuchungen prädestiniert. Wir untersuchten hierzu die Neuropeptidhormone *Corticotropin-Releasing Hormone* (CRH), Arginin-Vasopressin (AVP) und Somatostatin (SOM), und zwar basierend auf folgenden theoretischen, präklinischen und klinischen Vorbefunden:

CRH in besonderem Maße, aber auch das AVP, sind die "Schlüsselhormone" des Stress-responsiven und Stress-adaptiven hypothalamisch-hypophysären-Nebennierenrinden-(HHN)-Systems. Neben dieser endokrinen Funktion beider Neuropeptidhormone gibt es auch Hinweise darauf, daß CRH Neurotransmitterwirkungen im ZNS besitzt und beispielsweise physiologische Vorgänge (Blutdruck, Atmung) und Verhalten (Schlaf, Nahrungsaufnahme) moduliert; zudem wird dem AVP u.a. eine bedeutende Rolle bei kognitiven Leistungen zugeschrieben (Roberts und Bloom, 1981; Brown et al., 1982; Fisher et al., 1982; Plotsky, 1987; Sirinathsinghij, 1989).

SOM inhibiert das Wachstumshormon-Freisetzungshormon (GHRH) und reguliert somit die hypophysäre Wachstumshormon (GH)-Sekretion (Reichlin 1983). Wie CRH und AVP hat auch SOM auf Verhaltensebene eine Vielzahl von Effekten; so steigert SOM die motorische Aktivität (Rezek et al., 1977) und moduliert Schlaf, Appetit, circadiane Rhythmen, Schmerzempfindung sowie aktives und passives Vermeidungsverhalten (Reichlin et al., 1982; Rubinow et al., 1983;

Vecsei et al., 1983; Vecsei et al., 1984; Schettini et al., 1988 Florio et al., 1991).

CRH und AVP werden innerhalb des Nucleus paraventricularis (PVN) in unterschiedlichen Zellgebieten gebildet und zu verschiedenen "Speicherstätten" transportiert. Es handelt sich dabei zum einen um die großzelligen (magnocellulären) Zellgebiete, wo neben AVP auch noch Oxytocin produziert wird. AVP und Oxytocin werden von dort via Eminentia mediana zum Hypophysenhinterlappen (HHL) transportiert und dort gespeichert. Das zweite wichtige Zellgebiet besteht aus Nucleus infundibularis, ventromedialis und dorsomedialis (parvocellularus); dort liegen die Syntheseorte von CRH, GHRH, *thyreotropine releasing hormone* (TRH) und SOM. Diese Neuropeptide gelangen ebenfalls via Eminentia mediana zu ihrem Speicherort, dem Hypophysenvorderlappen (HVL).

Es wurde nun gefunden, daß es bei Gesunden mit steigender DEX-Dosis erwartungsgemäß zu einem dosisabhängigen Abfall der durch CRH stimulierbaren ACTH- und Cortisolkonzentrationen kommt (von Bardeleben, 1992). Bei hypercortisolämischen depressiven Patienten hingegen fand sich nach Dexamethason-Vorbehandlung und zusätzlicher CRH-Stimulation eine überschießende und keine verminderte ACTH- und Cortisolantwort (Holsboer, 1987; von Bardeleben, 1989), wie dies bei Gesunden der Fall ist. Dies deutete darauf hin, daß der über aktuelle Cortisolspiegel regulierte negative Rückkopplungsmechanismus bei diesen Patienten gestört ist, wobei zentrale, zumindest suprahypophysäre Veränderungen des HHN-Systems für diese "paradoxe" ACTH- und Cortisol-Antwort vermutet wurden (sogenannte CRH-*Overdrive*-Hypothese).

In der Folge wurden von mehreren Arbeitsgruppen Liquoruntersuchungen durchgeführt. Eine statistisch signifikant erhöhte, morgendliche CRH-Konzentration im Liquor depressiv Erkrankter wurde in mehreren Studien beschrieben (Nemeroff et al., 1984; Bissette et al., 1985; Banki et al., 1987) und als Beleg für die CRH-*Overdrive*-Hypothese gewertet. Eine spätere Studie derselben Arbeitsgruppe fand dann ebenfalls im Sinne der CRH-*Overdrive*-Hypothese bei Patienten, die sich suizidiert hatten eine verminderte Anzahl von CRH-Rezeptoren im frontalen Cortex im Vergleich zu Menschen, die Opfer eines Tötungsdeliktes geworden waren (Nemeroff et al., 1988; Arato et al., 1989, Roy et al., 1987). Allerdings fanden die Autoren in diesen Studien keine signifikanten morgendlichen Liquor-CRH-Konzentrationsunterschiede zwischen depressiv Erkrankten und Kontrollpersonen.

Es gibt nur wenige Studien bzgl. der Liquor-CRH-Konzentrationen bei anderen als depressiven Erkrankungen. Bei den wenigen vorliegenden Untersuchungen ergaben sich keine

Unterschiede in den CRH-Konzentrationen zwischen Patienten mit Schizophrenie, Manie oder Angststörungen im Vergleich zu Kontrollpersonen (Nemeroff, 1984; Banki, 1987). Allerdings wurde eine CRH-Konzentrationserhöhung bei Patienten mit einem depressiven Syndrom im Rahmen einer Demenz im Vergleich zu nicht depressiven Dementen gefunden (Nemeroff et al., 1992).

Mehrere Liquorstudien berichteten von erniedrigten AVP-Konzentrationen bei depressiv Erkrankten und erhöhten AVP-Konzentrationen bei manischen Patienten (Gold et al., 1978; Gold et al., 1983; Gold et al., 1988), während andere keine Unterschiede zwischen Patienten und Kontrollen fanden (Sörensen et al., 1985).

SOM wurden bei depressiv Erkrankten im Vergleich zu Kontrollpersonen signifikant erniedrigt im Liquor vorgefunden (Gerner et al., 1982; Rubinow et al., 1983; Agren et al., 1984), bei anorektischen und manischen Patienten zeigten sich erhöhte Konzentrationen (Gerner et al., 1982). Bissette und Mitarbeiter fanden nicht nur bei Depression, sondern auch bei Demenz und Schizophrenie signifikant erniedrigte SOM-Konzentrationen (Bissette et al., 1986), während eine spätere Arbeit der Nemeroff-Gruppe keine SOM-Konzentrationsunterschiede zwischen depressiv Erkrankten und Kontrollpersonen beschrieb (Nemeroff et al., 1992).

Insgesamt blieb aufgrund der Vorbefunde festzuhalten, daß die Ergebnisse zu Liquorkonzentrationen verschiedener Neuropeptidhormone bei Depression bezüglich AVP und SOM uneinheitlich waren, während die Ergebnisse der CRH-Liquoruntersuchungen vermuten ließen, daß bei der Depression eine zustandsabhängige Sekretionszunahme von CRH vorliegt, die als eine Ursache der pathologischen DST-, CRH- und DEX-CRH-Testergebnisse bei depressiv Erkrankten angenommen werden konnte und damit potentielle Markerqualität (*State-* oder *Residualmarker*) besaß.

Zur Untersuchung dieser Hypothese führten wir in einem Patienten- und Kontrollpersonenkollektiv zwei Liquorpunktionen kombiniert mit einem DEX/CRH-Test (zum Studienablauf siehe 2.2.1.2) vor und nach standardisierter antidepressiver Medikation durch.

#### **2.2.2.2 Methodik**

Die Lumbalpunktionen wurden jeweils morgens um 8.00 Uhr in Seitenlage der Untersuchten mit einer atraumatischen Spinalkanüle nach Sprotte der Firmen Hell und Pajunk durchgeführt. Ab 22.00 Uhr am Vorabend mußten die Untersuchten strikte Bettruhe einhalten, durften nicht essen und rauchen und nur bis zu 1 Liter Mineralwasser zu sich nehmen. Die Punktion wurde

zwischen LWK 3 und 4 durchgeführt; nach Punktion des Spinalkanals wurden ca 10 ml Liquor in vier aufeinanderfolgende 2 ml Plastikröhrchen abgetropft. Die Untersuchten mußten nach der Lumbalpunktion bis 12.00 Uhr im Bett liegenbleiben und wurden aufgefordert viel Flüssigkeit zu sich zu nehmen, um postpunktionellen Kopfschmerzen vorzubeugen. Die Neuropeptidkonzentrationen (CRH, AVP, SOM) in den Liquorproben wurden mittels Radioimmunoassays von Dr. Bissette (Dept. Of Psychiatry, University of North Carolina School of Medicine, Chapel Hill, NC 27599, USA) bestimmt. Die Methoden und Vorgehensweisen hierzu wurden ausführlich an anderer Stelle dargelegt (Vale et al., 1983; Bissette et al., 1986; Ysewin-van Brussel, 1985). Die Sensitivität dieser Radioimmunoassays war 0,5-2,5 pg/tube, die Wiederentdeckungsrate betrug 70-95%. Alle weiteren klinischen Definitionen, Cortisol- und ACTH-Bestimmungen und statistische Berechnungen verliefen analog zu den bereits oben beschriebenen Untersuchungen (2.2.1.2).

### **2.2.2.3 Ergebnisse und Diskussion**

37 depressive Patienten, 26 Frauen und 11 Männer, sowie 25 Kontrollpersonen (8 Frauen, 17 Männer) wurden vor Behandlungsbeginn lumbalpunktiert und die Liquorkonzentration von CRH, AVP und SOM bestimmt. Alle Patienten waren seit mindestens einer Woche medikamentenfrei. Die Patienten waren im Durchschnitt 47 Jahre (SD=17) und wiesen einen HDRS-Wert von 26 Punkten auf (SD=6). Die Kontrollpersonen waren mit 65 Jahren (SD=15) deutlich älter als die Patientengruppe ( $F_{1,60}=17$ ,  $p<0,0001$ ).

Eine multivariate Varianzanalyse erbrachte einen signifikanten Gruppenunterschied in Bezug auf die Liquorkonzentrationen von CRH, AVP und SOM ( $p<0,002$ ), die weitere Analyse der lokalen Effekte ergab, daß die depressiven Patienten statistisch signifikant niedrigere SOM-Liquorkonzentrationen aufwiesen (31,4 pg/mmol (SD=9,8) vs. 38,6 pg/mmol (SD=8,7);  $F_{1,60}=8,55$ ,  $p<0,005$ ), während die anderen Neuropeptidhormonkonzentrationen im Liquor nicht unterschiedlich zwischen den Gruppen waren (Depressive vs. Kontrollen; CRH 49,6 pg/mmol (SD=18,4) vs. 49,6 pg/mmol (SD=13,3), AVP 3,74 pg/mmol (SD=0,8) vs. 3,8 pg/mmol (SD=0,7).

Eine schrittweise multiple Regressionsanalyse für die depressiven Patienten mit Liquor-CRH als abhängiger Variable und allen anderen Parametern als unabhängigen Variablen ergab, daß der Liquor-SOM-Gehalt mit  $r=0,65$  den größten Anteil an der Varianz der Liquor-CRH-Konzentration aufwies ( $P<0,01$ ).

Parallel zur Eingangspunktion wurde ein DEX/CRH-Test durchgeführt mit der Intention mögliche

Zusammenhänge zwischen peripheren Testvariablen und zentralen Liquorkonzentrationen dazustellen. Eine MANOVA erbrachte einen signifikanten Gruppeneffekt zwischen den beiden Gruppen ( $p < 0,02$ ). Depressive Patienten hatten signifikant höhere Werte für basales (107 nmol/L (SD=104) vs. 43 nmol/L (SD=47);  $F_{1,60}=7,8$ ,  $p < 0,01$ ) und PEAK- (337 nmol/L (SD=225) vs. 216 nmol/L (SD=180);  $F_{1,60}=4,7$ ,  $p < 0,03$ ) Cortisol; auch die basalen ACTH-Konzentrationen (2,8 pmol/L (SD=1,5) vs. 1,7 pmol/L (SD=0,8);  $F_{1,60}=11,8$ ,  $p < 0,001$ ) waren signifikant höher bei Patienten. Es fanden sich bei der Eingangsuntersuchung allerdings keine signifikanten Korrelationen zwischen peripheren und zentralen Parametern des HHN-Systems.

Achtzehn Patienten wurden nach einer sechswöchigen Behandlung mit Amitriptylin 75 mg/Tag repunktiert. Das durchschnittliche Alter dieser Patienten war 48 Jahre (SD=15), der mittlere HDRS-Wert vor Behandlung war 27 Punkte (SD=6), der Wert nach Behandlung war 12 Punkte (SD=5). Auch 11/25 mit Amitriptylin behandelte Kontrollpersonen wurden repunktiert, deren mittleres Durchschnittsalter war 68 Jahre (SD=10).

Weder innerhalb der Gruppe der Patienten noch innerhalb der Gruppe der Kontrollpersonen unterschieden sich die Konzentrationen der Neuropeptide im Liquor vor und nach der sechswöchigen Amitriptylinbehandlung (siehe Tabelle 1)

Tab. 1: Konzentrationen (pg/ml) von CRH, AVP und SOM im Liquor von 18 depressiven Patienten und 11 Kontrollpersonen vor und nach einer sechswöchigen Behandlung mit Amitriptylin (AMI).

	<b>PATIENTEN</b>	<b>KONTROLLPERSONEN</b>
N	18	11
ALTER	48 (SD=15)	68 (SD=10)
HDRS vor AMI	27 (SD=6)	
HDRS nach AMI	12 (SD=8)	
CRH vor AMI	45,3 (SD=10,3)	44,4 (SD=12,7)
CRH nach AMI	45,2 (SD=12,4)	41,5 (SD=11,4)
AVP vor AMI	3,8 (SD=0,9)	4,0 (SD=0,6)
AVP nach AMI	3,8 (SD=0,5)	4,1 (SD=0,5)
SOM vor AMI	32,5 (SD=9,7)	35,8 (SD=7,5)
SOM nach AMI	33,9 (SD=9,8)	34,9 (SD=8,6)

Zehn der 18 Patienten wurden als Therapie-Responder und acht als Nonresponder definiert. Die Liquor-Neuropeptidkonzentrationen für AVP und SOM waren in beiden Gruppen vergleichbar während CRH vor Behandlung im Trend und nach Behandlung statistisch signifikant niedriger bei den Respondern war ( $p < 0,05$ ) (siehe Tabelle 2).

Tab. 2: Konzentrationen (pg/ml) von CRH, AVP und SOM im Liquor von 10 Respondern und 8 Nonrespondern vor und nach einer sechswöchigen Behandlung mit Amitriptylin (AMI).

	RESPONDER	NONRESPONDER
N	10	8
ALTER	54 (SD=24)	45 (SD=11)
HDRS vor AMI	24 (SD=6)	29 (SD=6)
HDRS nach AMI	6 (SD=4)	18 (SD=3)
CRH vor AMI (pg/ml)	45 (SD=13)	49 (SD=11)
CRH nach AMI (pg/ml)	39,4 (SD=8,3)	49,9 (SD=13,6)
AVP vor AMI (pg/ml)	4,1 (SD=0,6)	3,8 (SD=1,0)
AVP nach AMI (pg/ml)	3,9 (SD=0,5)	3,8 (SD=0,4)
SOM vor AMI (pg/ml)	32,3 (SD=7,8)	32,3 (SD=11)
SOM nach AMI (pg/ml)	34,3 (SD=9,8)	33,7 (SD=9,7)

Wichtig für die weitere Interpretation unserer Befunde war die Bedeutung von Alters- und Geschlechtseffekten, die wir auch schon bei unseren DEX/CRH-Untersuchungen gefunden hatten. Zur Berechnung möglicher Alterseffekte führten wir eine Kovarianzanalyse mit Alter als Covariate durch. Es zeigte sich, daß für Alter korrigiert tatsächlich keinerlei Unterschiede in den Neuropeptidliquorkonzentrationen zwischen Patienten und Kontrollpersonen bestanden. Auch die unterschiedlichen SOM-Konzentrationen zwischen Patienten und Kontrollpersonen vor medikamentöser Behandlung konnte durch eine altersassoziierte Zunahme der SOM-Liquorkonzentration erklärt werden.

Hinsichtlich des Geschlechtes zeigten sich folgende Effekte: bei der Punktion vor Behandlung ergab sich ein Geschlechtsunterschied dahingehend, daß die 26 Patientinnen im Vergleich zu den 11 Patienten eine im Trend höhere CRH-Liquorkonzentration aufwiesen (52,6 pmg/ml (SD=20) vs. 42,6 pgl/ml (SD=9,5)). Wurde eine Gesamtgruppe Patienten und Kontrollpersonen gebildet, zeigte sich ein statistisch signifikanter Unterschied (Frauen/Männer: 53,1 pg/ml

(SD=18,6) vs. 45,5 pg/ml (SD=11,7).

Korrelationen zwischen den Neuropeptidhormonkonzentrationen und den DEX/CRH-Parametern fanden wir innerhalb der Patientengruppe auch bei der zweiten Testung nicht. Im Gegensatz hierzu fand sich aber in der Gruppe der Kontrollpersonen eine positive Korrelation für den Änderungsbetrag von Liquor-CRH und DELTA-ACTH ( $r=0,6$ ;  $p<0,05$ ), d.h. abnehmende CRH-Liquor-Konzentrationen waren mit einer verminderten Freisetzung von ACTH nach CRH-Stimulation und zunehmende CRH-Konzentrationen mit einer erhöhten ACTH-Freisetzung assoziiert. Liquor-AVP- und -SOM-Konzentrationsänderungen vor und nach antidepressiver Behandlung zeigten keine Beziehung zu Veränderungen von DEX/CRH-Testvariablen.

*Zusammengefaßt ergab die Liquorstudie zum einen das überraschende Ergebnis, daß depressive Patienten und Kontrollpersonen einen ähnlichen Liquorkonzentrationsgehalt von CRH, AVP und SOM aufwiesen. Unterschiede zwischen Patienten und Kontrollpersonen ließen sich alle auf einen deutlichen Alters- und Geschlechtseffekt zurückführen. Es zeigte sich mit zunehmendem Lebensalter eine deutliche Zunahme der SOM-, nicht aber der AVP-Liquorkonzentrationen. Bei gesunden Kontrollpersonen, nicht aber bei depressiven Patienten, wurde zudem ein Trend für eine altersabhängige Zunahme der CRH-Liquorkonzentrationen gefunden. Es konnte auch gezeigt werden, daß das Antidepressivum Amitriptylin eine signifikante Abnahme der CRH-Liquorkonzentration bei Therapierespondern bewirkte.*

*Unsere Liquorergebnisse bedeuteten, daß die Zunahme/Änderung der Liquorkonzentrationen von CRH und SOM eher generelle Alterungsprozesse und nicht depressive Zustände reflektieren, da keines der beiden Neuropeptide mit dem Schweregrad der Depression variierte. Insofern sind CRH-Liquorkonzentrationen nicht als Marker für eine Depression zu charakterisieren. Die Tatsache, daß CRH-Liquorkonzentrationen bei depressiven Patienten durch Amitriptylin beeinflussbar waren, deutet allerdings auf eine kausale, noch zu definierende Beteiligung dieses Schlüsselhormons des HHN-Systems bei der Remission depressiver Symptomatik hin. Es gab durch die Ergebnisse unsere Kontrollpersonen starke Hinweise darauf, daß das HHN-System während einer Depression und im Rahmen eines normalen Alterungsprozesses Veränderungen in ähnlicher Ausrichtung durchläuft.*

### **2.3 Dopaminerge Aktivität und Alkoholabhängigkeit**

Die Bedeutung des dopaminergen Systems für Abhängigkeitserkrankungen, v.a. für die Alkoholabhängigkeit wurde bereits in den 80er Jahren aufgrund tierexperimenteller Befunde erkannt. Grundlegend für das Verständnis der Wechselwirkungen zwischen dem

Neurotransmitter Dopamin und der Entwicklung von Alkoholabhängigkeit vermittelte das Tiermodell des Alkohol-*Reinforcement*. Dieses besagt folgendes: das Charakteristikum von Sucht allgemein und in besonderem Maße der Alkoholabhängigkeit ist der Zwang, die suchterzeugende Substanz unter Kontrollverlust bezogen auf die Menge der Substanz einzunehmen. Dieser Zwang hängt von verstärkenden Effekten der Droge ab. Verstärkende Faktoren sind zum einen alle Effekte, die zur Spannungsreduktion führen, z.B. anxiolytische Effekte und euphorische Effekte. Es gibt aber auch verstärkende Effekte, die aus dem Prinzip der negativen Verstärkung, d.h. der Vermeidung negativer Effekte der Drogeneinnahme ableitbar sind. Ein Beispiel hierfür wäre die Einnahme von Drogen um körperliche Entzugssymptomatik zu vermeiden. Die ersten tierexperimentellen Untersuchungen zum *Drug-Seeking-Behaviour* und zu *Reinforcement*-Prozessen wurden mit Opiaten und Stimulantien durchgeführt (Koob et al., 1988). Untersuchungen mittels intravenöser Eigengabe dieser Substanzen trugen dazu bei, bestimmte Substrate zu identifizieren, die verstärkende Wirkungen dieser Substanzen vermittelten, und ließen vermuten, daß diese neuronalen Systeme Teil eines sogenannten Belohnungs (*Reward*)-Systems waren (Koob, 1992). Das mesolimbische dopaminerge System und seine Verbindungen in die Region des Nucleus accumbens wurde als anatomisches Substrat des Belohnungssystems identifiziert. Diese Region spielt auch für akute verstärkende Alkoholeffekte die entscheidende Rolle, was durch verschiedene Untersuchungen belegt wurde. Alkohol steigert dosisabhängig die Feuerungsrate dopaminerger Neurone der *Ventral Tegmental Area* (VTA) in vivo und in vitro, was bedeutet, daß akute Alkoholeinnahme das mesolimbische dopaminerge System aktiviert (Gessa et al., 1985). In Übereinstimmung mit diesen physiologischen Daten konnte auch gezeigt werden, daß geringe Dosen systemisch verabreichten Alkohols die calciumabhängige dopaminerge Freisetzung aus dem Nucleus accumbens steigert (Engel et al., 1992). Die dopaminerge Hypothese des Alkohol-*Reward* erhielt weitere Unterstützung durch Befunde, die belegten, daß Eigengabe von Alkohol bei Ratten die Dopaminfreisetzung in den Nucleus accumbens aktiviert und Dopamin dort direkt in die VTA-Region gelangt (Gatto et al., 1990; Weiss et al., 1993). Auch pharmakologische Manipulationen der dopaminergen Transmission mittels der Gabe von dopaminergen und antidopaminergen Substanzen bestätigten die übergeordnete Bedeutung des dopaminergen Systems für die Alkoholabhängigkeit (Samson et al., 1991; Weiss et al., 1990; Rassnick et al., 1993). Diese tierexperimentellen Befunde, die die Bedeutung des dopaminergen Systems für Sucht und Suchtentwicklung eindrucksvoll dokumentierten, wurden im weiteren Verlauf der Forschungsbemühungen weltweit bei Untersuchungen an alkoholabhängigen Patienten

bestätigt. Strategien hierfür waren Anfang der 90er Jahre neuroendokrine und seit Mitte der 90er Jahre molekularbiologische Untersuchungen. Neuroendokrine Untersuchungen ermöglichten es, das dopaminerge System alkoholabhängiger Patienten zu verschiedenen Intoxikationszeitpunkten zu untersuchen, z.B. während einer Intoxikation, während einer kurzfristigen und einer langfristigen Abstinenz, und ermöglichten damit Aussagen darüber, inwieweit der Nachweis des Schweregrades der dopaminergen Störung markertypisch für die Schwere der Alkoholerkrankung des Patienten ist. Die molekularbiologische Forschung intendierte demgegenüber dazu, bestimmte *Trait*-Marker der Alkoholabhängigkeit zu identifizieren und fokussierte entsprechend der dopaminergen Hypothese der Alkoholabhängigkeit auf die Untersuchung bestimmter Dopaminrezeptorpolymorphismen, in der Hoffnung, hierüber Hinweise auf Assoziationen zwischen anlagebedingten Veränderungen des dopaminergen Systems und der Schwere der Alkoholabhängigkeit zu erhalten. Diese Hypothese eines genetischen Einfluß auf die Alkoholabhängigkeit hatten zeitgleich mehrere Zwillings- und Adoptionsstudien zweifelsfrei nachgewiesen (Schukitt, 1992). Es bestand also Grund zu der Annahme, daß durch die Erforschung des dopaminergen Systems alkoholabhängiger Patienten und der daraus resultierenden Erkenntnisse drei bedeutende Elemente jeglicher Alkoholismusbehandlung, nämlich das eindeutige Identifizieren abhängiger Patienten, das Gewähren eines sicheren körperlichen Entzuges und die Entwicklung neuer auch pharmakologischer Strategien zum Erreichen langfristiger Abstinenz wesentlich profitieren könnten.

### **2.3.1 Neuroendokrine Abbildung zentralnervöser dopaminerges Transmission**

Dettling M, Heinz A, Dufeu P, Rommelspacher H, Gräf KJ, Schmidt LG: Dopaminergic responsivity in alcoholism: trait, state, or residual marker ? Am J Psychiatry. 152: 1317-1321, 1995

Heinz A, Dettling M, Kuhn S, Dufeu P, Gräf KJ, Kürten I, Rommelspacher H, Schmidt LG: Blunted growth hormone response is associated with early relapse in alcohol-dependent patients. Alcohol Clin Exp Res. 19: 62-65, 1995

Heinz A, Lichtenberg-Kraag B, Sallström-Baum S, Gräf KJ, Krüger F, Dettling M, Rommelspacher H: Evidence for prolonged recovery of dopaminergic transmission after detoxification in alcoholics with poor treatment outcome. J Neural Transm Gen. 102:149-157, 1995

Schmidt LG, Dettling M, Gräf KJ, Heinz A, Kuhn S, Podschus J, Rommelspacher H: Reduced dopaminergic function is related to severe dependence. Biol Psychiatry. 39: 193-198, 1996

Heinz A, Dufeu P, Kuhn S, Dettling M, Gräf KJ, Kürten I, Rommelspacher H, Schmidt LG: Psychopathological and behavioral correlates of reduced dopaminergic sensitivity in alcoholism. Arch Gen Psychiatry. 53: 1123-1128, 1996

Heinz A, Dufeu P, Kuhn S, Dettling, M., Podschus J, Gräf K, Rommelspacher H, Schmidt L.G.: Reduced dopaminergic sensitivity is associated with low levels of depression, but not craving, in alcohol-dependent patients with poor treatment outcome. *Alcoholism*. 32: 19-27, 1996

### **2.3.1.1 Einführung**

Das *human growth hormone* (HGH) wird in den eosinophilen Zellen des Hypophysenvorderlappens gebildet, gespeichert und sezerniert. Die HGH-Sekretion wird hauptsächlich durch hypothalamische Zellkörper, die *Releasinghormone* bzw. bestimmte Neurotransmitter in das hypophysäre, venöse Portalsystem sezernieren, reguliert. Die Neurotransmitter besitzen hierbei eine weitestgehend definierte Wirkung auf die HGH-Sekretion. Dopamin und Noradrenalin (über Alpha-Rezeptoren), sowie GABA erhöhen die HGH-Sekretion, während Noradrenalin (über Beta-Rezeptoren) die HGH-Sekretion inhibiert. Die Möglichkeit mittels der endokrinen HGH-Response auf definierte Substanzen Aufschluß über zentralnervöse Rezeptorsensitivitäten zu erhalten, wurde Anfang der 80er Jahre mit dem Alpha-Agonisten Clonidin aufgegriffen. Hierbei zeigte sich bei depressiven Patienten eine verminderte HGH-Antwort im Vergleich mit Kontrollpersonen (Matussek et al., 1980). In den folgenden Jahren wurde aber nicht nur die noradrenerge sondern auch die dopaminerge Regulation der HGH-Sekretion ein fester Bestandteil neuroendokriner Untersuchungen (Tabakoff et al., 1978, Muller et al., 1980).

Da Dopamin die HGH-Sekretion stimuliert und Dopaminrezeptoren sowohl in der (zentralen) Eminentia mediana als auch in der Hypophyse lokalisiert sind, versuchte man mittels der Gabe dopaminergischer Substanzen wie L-Dopa, Amphetamin, Bromocriptin und Apomorphin die HGH-Sekretion zu stimulieren, um hierüber Aufschluß über die dopaminerge Sensitivität zentraler Regionen zu erhalten. Der Apomorphin-induzierten HGH-Sekretion kam hierbei besondere Bedeutung zu, da sich viele klinische und tierexperimentelle Untersuchungen mit der Apomorphin-induzierten HGH-Sekretion befaßt hatten. Im Humanexperiment bindet Apomorphin an Dopaminrezeptoren im Gehirn, und zwar dosisabhängig sowohl prä- als auch postsynaptisch. Es besteht hierbei eine Präferenz für den postsynaptischen Dopamin D2-Rezeptor (Rommelspacher et al., 1992). Tierexperimentell steigert Apomorphin (bei Ratten und Affen) die HGH-Sekretion aber nicht, was die Übertragbarkeit tierexperimenteller Befunde bzgl. hypothalamischer-hypophysärer Dopaminfunktionen einschränkt. Bzgl. der Frage, ob tatsächlich ein zentraler dopaminergischer Zustand mittels der Apomorphin-induzierten HGH-Sekretion abgebildet wird ergaben sich aus den Untersuchungen mit humanen hypophysären Zellkulturen deutliche Hinweise: bei diesen Untersuchungen inhibierte Apomorphin die HGH-

Sekretion, was vermuten ließ, daß sich die Dopaminstimulierenden Apomorphineffekte nicht auf peripher-hypophysärer Ebene, sondern zentral-hypothalamisch vollziehen (Sylvälathi et al., 1988).

Gegenüber anderen Dopaminagonisten hat Apomorphin folgende, relative Vorteile: erstens, es kommt regelmäßig innerhalb 30-60 Minuten nach subcutaner Applikation von Apomorphin zu HGH-Spitzen. Zweitens, Apomorphin hat eine kurze Wirkdauer und drittes, Apomorphin besitzt eine vergleichsweise hohe dopaminerge Selektivität.

Aufgrund der dopaminergen Hypothesen zur Alkoholabhängigkeit wurde die Apomorphin-induzierte HGH-Sekretion auch bei alkoholabhängigen Patienten durchgeführt. Diese Hypothesen basierten wie beschrieben auf Veröffentlichungen der 80er Jahre, die zeigen, daß das mesolimbisch-mesocorticale dopaminerge System im Bereich der Alkohol- bzw. Drogenabhängigkeit eine übergeordnete Rolle spielt, und zwar im Sinne einer Stimulierung des dopaminergen Belohnungssystems durch Alkohol (Engel, 1987; Wise, 1988).

Tierexperimentelle Untersuchungen beschrieben eine Stimulierung zentraler dopaminergener Neurone durch akute Alkoholgabe, und daraus abgeleitet eine Down-Regulation der Dopamin D2-Rezeptoren (Gessa et al, 1985; Di Chiara et al., 1988).

Neuroendokrine Voruntersuchungen an Alkoholpatienten hatten Hinweise gegeben, daß sich dopaminerge Rezeptorfunktionen in Abhängigkeit des klinischen Schweregrades der auftretenden Abhängigkeitssymptomatik (Entzug, Abstinenz, Intoxikationsgrad) ändern können. So wurde Anfang der 80er Jahre eine erhöhte dopaminerge Responsivität im späten Entzug (Annunziato et al., 1983) und später eine Normalisierung dieser Erhöhung im weiteren Verlauf gefunden (Balldin et al., 1985). In der längerfristigen Abstinenz zeigte sich sowohl eine reduzierte als auch eine normale dopaminerge Responsivität (Balldin et al., 1992; Balldin et al., 1993). Diese Befunde sprachen zusammengefaßt dafür, die dopaminerge Responsivität Alkoholabhängiger auf die Verwendbarkeit als *State-* oder *Residualmarker* der Alkoholabhängigkeit mittels eines *Drug Challenge*-Paradigmas zu untersuchen.

Unsere Arbeitsgruppe verfolgte nun im wesentlichen die Frage, ob, wenn vorhanden, neuroendokrin darstellbare Veränderungen des dopaminergen Systems relevante Marker der Alkoholabhängigkeit sind.

### 2.3.1.2 Methodik

Potentielle Untersuchungsteilnehmer mit dem Wunsch nach einem stationären Alkoholentzug meldeten sich zunächst bei unserer Alkoholambulanz. Dort erfolgte ein ausgedehntes Interview (Composite International of Diseases (CID), Robins et al., 1988; Brief Psychiatry Rating Scale (BPRS)) bzgl. demographischer und psychiatrischer Daten. Wenn die Patienten die ICD-10-Kriterien der Alkoholabhängigkeit erfüllten, wurden sie in die Studie aufgenommen. Ausgeschlossen wurden Patienten, die andere Drogen wie Alkohol einnahmen und/oder metabolische, neuroendokrine oder neuropsychiatrische Erkrankungen aufwiesen. Ebenso nicht in die Untersuchung aufgenommen wurden Patienten, die einen *Body Mass Index* unter 20 oder über 30 kgKG/m<sup>2</sup> aufwiesen, und Patienten die bei Aufnahme nicht akut bzw. subakut (Alkoholeinnahme innerhalb der letzten 24 Stunden) intoxikiert waren. Dies erfolgte deshalb, weil aus tierexperimentellen Untersuchungen bekannt war, daß die Dopamin D2-Rezeptordichte bereits innerhalb von 5 Tagen nach der letzten Alkoholeinnahme ansteigt (Rommelspacher et al., 1992) und diese Patienten somit unter Umständen zu einer Verfälschung des tatsächlichen dopaminergen Status hätten beitragen können.

Alle Patienten durchliefen während ihres stationären Aufenthaltes folgendes Procedere: am Tag der stationären Aufnahme wurde der Grad der Alkoholintoxikation der Patienten klinisch und biochemisch überprüft. Danach wurden die Patienten auf unsere Entzugstation verbracht. Nach der ersten neuroendokrinen Testung getestet (Zeitpunkt der akuten Intoxikation) erfolgte im Bedarf bei auftretender Entzugssymptomatik die Gabe von Clomethiazol. Nach vollzogenem Entzug verblieben die Patienten für drei Wochen auf einer offenen Station, eine Woche nach Entzug wurde die zweite dopaminerge Stimulation durchgeführt (Zeitpunkt der kurzfristigen Abstinenz). Nach Entlassung aus der stationären Behandlung wurden die Patienten in eine externe Gesprächs- und Ambulanzgruppe unserer Klinik integriert, die sich einmal pro Woche traf. Während eines jeden Treffens erfolgte eine Blutentnahme für die Bestimmung des Blutalkohols als Hinweis für einen kurz zurückliegenden Rückfall bzw. des *carbohydrate deficient transferrine* (CDT) als Hinweis auf einen länger zurückliegenden Rückfall. Zudem wurden die Angehörigen der Patienten nach einem Rückfall der Patienten befragt. Nach drei Monaten erfolgte bei einem Teil der Patienten eine dritte dopaminerge Stimulation (Zeitpunkt der langfristigen Abstinenz). Nach insgesamt sechs Monaten endete die Betreuung durch unsere Alkoholambulanz.

Um Einschätzungen der Bedeutung der HGH-Antwort auf dopaminerge Stimulation als Marker

für die Alkoholabhängigkeit vornehmen zu können, teilten wir die gesamte Patientengruppe auf in Abstinente (dies waren Patienten, die innerhalb von 6 Monaten keinen Rückfall erlitten) und in Rückfälliger (dies waren Patienten, die innerhalb von drei Monaten bis zu dreimal einen Rückfall erlitten). Ein Rückfall wurde definiert als Einnahme von mindestens 50 g Alkohol (entspricht 1 Flasche Bier).

Entsprechend der von Cloninger beschriebenen Typen-Einteilung (siehe 2.3.2.1) wurden bei allen Patienten am Tag der ersten neuroendokrinen Testung und nach sechs Monaten der *Tridimensional personality Questionnaire* (TPQ) durchgeführt. Mittels dieses Interviews konnten die beiden Persönlichkeits-Traits *Novelty Seeking* und *Harm Avoidance* identifiziert werden.

Die Patienten füllten von Beginn bis Ende der sechsmonatigen Behandlung wöchentlich bzw. nach zwei Monaten vierzehntäglich Selbstrating-Fragebögen aus, namentlich die Self-Rating Anxiety-Skala (SAS; Zung et al., 1971) und die Self-Rating-Depression-Skala (SDS; Zung et al., 1965).

Patienten und Kontrollpersonen durchliefen folgendes Procedere bzgl. der neuroendokrinen Untersuchung: die Patienten kamen um 8.00 Uhr auf unsere Entgiftungsstation und es erfolgte eine Bestimmung des Alkoholspiegels im Serum. Danach bestand Bettruhe, bis um 14.30 Uhr das Legen einer Kanüle und eine 10 ml Blutentnahme zur Bestimmung der HGH-Baselinewerte erfolgte. Um 14.45 wurde Apomorphinhydrochloride (0,01 mg/kgKG) subcutan injiziert. Danach wurden in 30 Minuten Intervallen jeweils 5 ml Blut entnommen. Die Blutproben wurden innerhalb von drei Stunden zentrifugiert, das Serum bei -20 Grad Celsius eingelagert. Die Serum HGH-Konzentrationen wurden mit immunoradiometrischen Assays untersucht (Medgenix Diagnostics S.A., Fleurus, Belgien). Die untere Nachweisgrenze der Sensitivität betrug 0,5 ng/ml. Der Intraassay-Koeffizient betrug 6,5-14%, der Interassay-Koeffizient zwischen 7,8-18,3%.

Die Kontrollpersonen waren 10 alters- und geschlechtsangepaßte Probanden, die keine positive Familienanamnese oder aktuelle positive Eigenanamnese bzgl. Suchterkrankungen und/oder anderer psychiatrischer Erkrankungen aufwiesen. Die Kontrollpersonen wurden in nüchternem Zustand dopaminerg stimuliert.

Bei der Untersuchung mit drei Meßzeitpunkten wurden die Daten der neuroendokrinen Stimulation mittels einer ANOVA mit Meßwiederholung und faktoriellem Design mit Gruppen- (Responder, Nonresponder, Kontrollpersonen) und Zeitfaktor (insgesamt sechs Messungen;

zwei Baseline-Werte und vier Messungen nach Stimulation) durchgeführt. Im Falle signifikanter Interaktionen führten wir als post-hoc Test einen Scheffé-Test durch (Zeitpunkt: 60 Minuten nach Stimulation). Im Falle signifikanter globaler Effekte, wurden lokale Effekte mittels eines *student-t*-Testes bestimmt. Andere klinischen Variablen wurden mittels eines *chi-square* Testes verglichen.

Bei der Untersuchung mit zwei Meßzeitpunkten wurde aufgrund der höheren Ungleichverteilung der HGH-Werte ein anderes statistisches Verfahren ausgewählt und log-transformiert. Hierfür wurde die Netto-HGH-Antwort nach 60 Minuten ausgewählt. Diese Strategie wurde durch eine Berechnung der *area under the curve* (AUC) der HGH-Werte bestätigt. Alle Gruppenunterschiede in der HGH-Sekretion und in den verschiedenen klinischen Interviews wurden mittels einer ANOVA mit Meßwiederholung verglichen. Andere klinische Variable wurden mittels eines Student-t-Testes oder eines Mann-Whitney-U-Testes verglichen. Um eine Hypothese bzgl. der Korrelationen zwischen HGH-Sekretion, Alkoholeinnahme und Persönlichkeits-*Traits* zu generieren wurde eine multiple Testung durchgeführt.

### **2.3.1.3 Ergebnisse und Diskussion**

Die neuroendokrine Untersuchung unserer Alkoholpatienten wurde unter verschiedenen Gesichtspunkten durchgeführt. In einer ersten Untersuchung (Dettling et al., 1995) prüfte unsere Arbeitsgruppe ob die HGH-Antwort auf dopaminerge Stimulation möglicherweise die Qualitäten eines Residualmarkers aufweist. Dies war für weitere genetische Herangehensweisen eine bedeutsame Frage. Daran anschließend versuchten wir in einem zweiten Untersuchungsabschnitt, Korrelationen zwischen der Klinik der Alkoholabhängigkeit und den HGH-Befunden nachzuweisen (Schmidt et al., 1996). In einem letzten Untersuchungsabschnitt (Heinz et al., 1996) versuchten wir, unsere Befunde in einen generellen psychopathologischen und persönlichkeitsbezogenen Kontext zu stellen.

In der ersten Untersuchung implementierten wir, wie beschrieben, drei neuroendokrine Stimulationen und verglichen die HGH-Antworten mit dem therapeutischen *Outcome* der Patienten. In diese Untersuchung wurden insgesamt 21 alkoholabhängige Patienten (16 Männer, 5 Frauen) eingeschlossen. Das Durchschnittsalter der Patienten betrug 45 Jahre in einem Bereich zwischen 28 und 57 Jahre. Entsprechend unserer klinischen Kriterien konnten wir die HGH-Antwort von 16 Abstinenter (10 Männer, 3 Frauen) und 8 Rückfällern (sechs Frauen und zwei Männer) vergleichen. Unsere Kontrollgruppe bestand aus acht Männern und zwei Frauen mit einem Durchschnittsalter von 44 Jahren in einem Bereich von 28-57 Jahren.

Bei der ersten Testung (Tag 1, früher Entzug) zeigten sich signifikante Unterschiede zwischen den drei Gruppen ( $F=4,8$ ,  $p<0,01$ , Zeiteffekt  $F=3,9$ ,  $p<0,001$ ). Im post-hoc Test war der HGH-Antwort nach 60 Minuten bei Abstinentern (Scheffé  $F=4,7$ ) und Rückfällern (Scheffé  $F=9,2$ ) auf der einen und den Kontrollpersonen auf der anderen Seite signifikant geringer ( $F=9,8$ ,  $p<0,006$ ); zwischen Rückfällern und Abstinentern zeigte sich eine höhere HGH-Antwort der Abstinentern auf Trendniveau ( $F=3,3$ ,  $p<0,08$ ).

Bei der zweiten Testung (kurzfristige Abstinenz) waren die HGH-Antworten der Abstinentern im Gegensatz zur ersten Untersuchung nahezu identisch zu den HGH-Antworten der Kontrollpersonen ( $F=0,1$ ,  $p<0,09$ ), wohingegen die HGH-Antworten der Rückfällern wiederum auf signifikantem Niveau geringer ausfiel ( $F=4,5$ ,  $p<0,02$ ).

Auch bei der dritten Testung (langfristige Abstinenz) zeigte sich wiederum eine niedrigere HGH-Antwort der Rückfällern auf signifikantem Niveau, sowohl im Gruppeneffekt ( $F=5,1$ ,  $P<0,01$ ) als auch bei allen post-hoc Tests ( $F=8,1$ ,  $p<0,002$ ).

Es zeigten sich generell keinerlei alters-oder geschlechtsabhängige Effekte auf die HGH-Antwort zu allen drei Testzeitpunkten. Es zeigten sich bei der klinischen Beurteilung der Alkoholpatienten auch keinerlei Unterschiede in der täglichen Alkoholeinnahme, der klinischen Parameter der Abhängigkeit, der Stärke der Entzugssymptomatik oder sonstigen comorbiden Erkrankungen.

Das wesentliche und bedeutende Ergebnis dieser Untersuchung war, daß die HGH-Antwort der Rückfällern zu allen drei Meßzeitpunkten auf stabil statistisch signifikant niedrigem Niveau verblieb. Dies war nachgewiesenermaßen kein akuter Alkoholeffekt, da wir den letzten Alkoholrückfall dieser Patienten vor der dritten Testung überprüft hatten, dieser betrug durchschnittlich 10 Tage. Es zeigte sich also, daß Patienten mit einem schlechten therapeutischen *Outcome* (=Rückfälle) eine reduzierte dopaminerge Responsivität, unabhängig von akuter Alkoholeinnahme aufwiesen.

Wir interpretierten diesen konsistenten Befund als Ausdruck eines im Vergleich zu Abstinentern stärker derangierten dopaminergen Systems dieser prognostisch ungünstigeren Subgruppe von alkoholabhängigen Patienten. Dies belegten auch die Ergebnisse der zweiten Testung; hier hatten beide Patientengruppen 8 Tage vorher ihre letzte Alkoholeinnahme und die im weiteren Verlauf abstinenten Patienten waren bzgl. ihrer HGH-Antwort schon wieder auf einem mit den Kontrollpersonen vergleichbaren Niveau. Dies deutete darauf hin, daß das dopaminerge

System der prognostisch günstigeren Patientengruppe schnell dazu in der Lage war sich zu regenerieren, währenddessen bei den späteren Rückfällern eine Art biologische Narbe (HGH-Blunting) vorhanden war.

*Zusammengefaßt konnten wir in dieser Untersuchung also zeigen, daß alkoholabhängige Patienten mit einem chronisch derangierten dopaminergen System einen klinisch ungünstigeren Verlauf der Alkoholabhängigkeit aufweisen. Insofern definierten wir dieses sog. HGH-Blunting als einen Residualmarker der Alkoholabhängigkeit, der Patienten mit einem erhöhten Risiko für frühe Rückfälle charakterisiert.*

Im Rahmen des zweiten Untersuchungsabschnittes untersuchten wir, ob die HGH-Antwort nach dopaminergem Stimulation im Entzug (erster Test) und nach einer kurzfristigen Abstinenz von 8 Tagen (zweiter Test) mit klinischen Symptomen korreliert sind.

Wir untersuchten hierfür zunächst 49 alkoholabhängige Patienten, 42 Männer und 7 Frauen. Wir definierten 18 Abstinente und 31 Rückfäller entsprechend den vorbeschriebenen Kriterien. Es zeigten sich folgende demographische und klinische Variablen:

Tab. 3: Vergleich zwischen 18 Abstinenten und 31 Rückfällern bzgl. demographischer und klinischer Variablen

	ABSTINENTE	RÜCKFÄLLER
N	18	31
ALTER bei Studienbeginn	45 (SD=9)	44 (SD=8)
ALTER (vermehrtes Trinken)	31 (SD=9)	30 (SD=(8)
ALTER (erstes Craving)	34 (SD=10)	32 (SD=8)
ALTER (erster Kontrollverlust)	37 (SD=18)	33 (SD=8)
ANZAHL der ICD 10-Kriterien	6,0(SD=1,6)	6,4 (SD=1,2)
ANZAHL stationärer Aufenthalte	3,4 (SD=2,1)	4,9 (SD=2,3)
ALKOHOLKONSUM (g/Tag)	200,1 (SD=98,5)	242,7 (SD=154,1)
CDT (ng/ml)	20,4 (SD=16,8)	24,2 (SD=16,8)
GGT (U/L)	98,5 (SD=48,7)	135,8 (SD=64,5)
FETTLEBER (%)	68,7	63,3
CEREBRALE ATROPHIE (%)	62,5	68,9
ANZAHL ZIGARETTEN	26,1 (SD=24)	26,1 (SD=19.6)

Es bestanden keine statistisch signifikanten Unterschiede bzgl. dieser Variablen. Dennoch zeigten sich bei weiterer klinischer Evaluierung einige wenige Variablen, die es erlaubten zwischen Abstinente und Rückfällern zu differenzieren. Diese Variablen waren (siehe Tabelle 4):

Tab. 4: Klinische Variablen, die eine Differenzierung zwischen Abstinente (N=18) und Rückfällern (N=31) erlaubten

	ABSTINENTE	RÜCKFÄLLER	P
INTENSIVES Entzugssyndrom (%)	28,9	71,1	0,04
MORGENDLICHE Entzugssymptome (%)	66,7	96,7	0,003
Alkoholismus des VATERS (%)	12,5	34,5	0,04
KLEINHIRNATROPHIE (%)	6,7	34,5	0,04

Analog zu den beschriebenen Befunden des ersten Untersuchungsbeschnittes (drei neuroendokrine Tests) zeigten sich auch bei nur zwei neuroendokrinen Tests (im Entzug und nach kurzzeitiger Abstinenz) ein statistisch signifikanter Unterschied zwischen Abstinente und Rückfällern. Zu beiden Testzeitpunkten zeigten spätere Rückfällern signifikant reduzierte HGH-Antworten nach dopaminergem Stimulation (erster Test:  $F=12,4$ ,  $p<0,001$ ; zweiter Test:  $F=4,88$ ,  $p<0,03$ ).

Eine Diskriminationsanalyse ergab den höchsten Koeffizienten aller Variablen in einem prädiktiven Sinne für die HGH-Antwort (-0,59), gefolgt von paternalem Alkoholismus (0,49) und cerebellarer Atrophie (0,44). Die Ergebnisse dieser Untersuchung bestätigten unsere Hypothese einer Korrelation von biologischen Variablen und klinischen Symptomen bei der Alkoholabhängigkeit.

*Wir konnten zeigen, daß das HGH-Blunting der späteren Rückfällern ebenso wie eine positive Familienanamnese einen prognostisch ungünstigeren Verlauf der Alkoholabhängigkeit bzw. eine schwere Alkoholabhängigkeit widerspiegelt. Die Charakterisierung der HGH-Antwort als Marker der Alkoholabhängigkeit, der mindestens gleichbedeutend mit anderen klinischen Variablen zu werten war, wurde damit bestätigt.*

In einer weiteren Untersuchung innerhalb dieses Studienabschnittes konnten wir das bereits beschriebene derangiertere dopaminerge System der Rückfällern im Vergleich zu Abstinente auch durch zusätzliche Messungen von peripheren Dopaminkonzentrationen und G-Proteinen

(als Indikator für Dopamin D2-Rezeptor assoziierte Second-messenger-Mechanismen) im Blut belegen. Die Messungen bei 45 Alkoholpatienten zeigten eindeutig, daß die Regenerationszeit der dopaminergen Transmission nach Entzug bei Rückfällern wesentlich länger dauerte als bei Abstinente. Während die Abstinente schon einen Tag nach Entzug erhöhte periphere Dopamin- und G-Protein-Konzentrationen aufwies, was den Effekten eines Alkoholentzuges entspricht, zeigten spätere Rückfäller diese Veränderungen erst 8 Tage nach stationärem Entzug. In unserem dritten und letzten Untersuchungsabschnitt bzgl. der neuroendokrinen Untersuchungen alkoholabhängiger Patienten versuchten wir eine weitere Facette der dopaminergen Responsivität zu hinterfragen, nämlich ob eine reduzierte dopaminerge Responsivität möglicherweise mit psychopathologischen Symptomen wie Ängstlichkeit und Depression und/oder Persönlichkeits-Traits wie *Novelty Seeking* (nach Cloninger, siehe auch 2.3.2.1) korreliert ist. Diese Fragestellung war insofern interessant, als daß Cloninger für diesen Persönlichkeitstypus eine signifikante Korrelation mit der Responsivität dopaminerge Rezeptoren beschrieben hatte und andere Autoren eine reduzierte dopaminerge Transmission als potentielle Ursache von bei alkoholabhängigen Patienten häufig anzutreffende depressive Symptome und dysphorische Zustände bezeichneten (Cloninger et al., 1987; Rosetti et al., 1992). Zudem gab es Hinweise, daß depressive Zustände das Rückfallrisiko bei Alkoholabhängigkeit erhöhen (Aneshensel et al., 1983; Glenn et al., 1991). Das gesamte Studienkollektiv bestand aus 45 alkoholabhängigen Patienten und 19 Placebokontrollen. Entsprechend unseren Einteilungskriterien definierten wir 19 Abstinente (2 Frauen, 17 Männer) und 26 Rückfäller (3 Frauen, 23 Männer). Bei diesen Patienten zeigten sich bzgl. der HGH-Antwort und den Persönlichkeits-Traits aus dem TPQ folgende Ergebnisse (siehe Tabelle 5):

Tab. 5: HGH-Antwort und Persönlichkeits-Traits bei Abstinente (N=19) und Rückfällern (N=26) zu verschiedenen Untersuchungszeitpunkten

	ABSTINENTE	RÜCKFÄLLER	P
<b>HGH (ng/ml)</b>			
PEAK (60 MIN)-HGH TAG 1	8,6	0,7	<0,03
PEAK (60 MIN)-HGH TAG 8	9,6	7,7	NS
<b>TPQ (mean)</b>			
<u>Novelty Seeking</u>			
TAG 1	16,7 (SD=5,2)	17,2 (SD=5,9)	NS
MONAT 6	15,2 (SD=5,9)	14,0 (SD=4,3)	NS

<u>Harm Avoidance</u>			
TAG 1	18,0(SD=6,9)	14,9 (SD=8,0)	NS
MONAT 6	15,1 (SD=8,5)	9,3 (SD=3,0)	NS
<b>Reward Dependence</b>			
TAG 1	16,6 (SD=5,0)	18,0 (SD=4,4)	NS
MONAT 6	15,3 (SD=5,7)	10,0 (SD=5,0)	NS

Mit Ausnahme der HGH-Antwort auf dopaminerge Stimulation bei dem ersten Test konnten wir keine Unterschiede zwischen den Patientengruppen feststellen. Auch bzgl. der Selbstrating-Fragebögen für Depression und Angst konnten wir keinen Gruppeneffekt feststellen, es bestand allein ein signifikanter Zeiteffekt (Depression:  $F=4,24$ ,  $p<0,003$ ; Angst:  $F=2,62$ ,  $p<0,04$ ). Es zeigten sich keine signifikanten Korrelationen zwischen den untersuchten Parametern, insbesondere nicht zwischen *Novelty Seeking* und der dopaminergen Responsivität beim ersten Test ( $p<0,2$ ). *Wir fanden entgegen unserer Hypothese also keine Assoziationen zwischen der Hyposensitivität dopaminerger Rezeptoren einerseits und psychopathologischen Symptomen bzw. Persönlichkeits-Traits andererseits. Entgegen unseren Erwartungen zeigten spätere Rückfänger sogar geringere Angst- und Depressionswerte als Abstinente. Auch das Novelty Seeking zeigte keinerlei Korrelationen zur HGH-Antwort auf dopaminerge Stimulation. Die HGH-Sekretion zeigte nur Korrelationen zu einer anamnestisch evaluierten, langjährigen Alkoholeinnahme. Auch diese Untersuchung bestätigte also die übergeordnete Bedeutung der HGH-Antwort nach dopaminergem Stimulation als biologischen Marker der Alkoholabhängigkeit, zeigte aber auch, daß dieser Marker unabhängig von aktuellen psychopathologischen Zuständen zu sehen ist.*

### **2.3.2 Dopamin-Rezeptorpolymorphismen und Alkoholabhängigkeit**

Heinz A, Sander T, Harms H, Finckh U, Kuhn S, Dufeu P, Dettling M, Gräf KJ, Rolfs A, Rommelspacher H, Schmidt LG: Lack of allelic association of dopamine D1 and D2 (Taq IA) receptor gene polymorphisms with reduced dopaminergic sensitivity in alcoholism. *Alcohol Clin Exp Res.* 20: 1109-1113, 1996

Finckh U, Rommelspacher H, Kuhn S, Dufeu P, Otto G, Heinz A, Dettling M, Giraldo-Velasquez M, Pelz J, Gräf KJ, Harms H, Sander T, Schmidt LG, Rolfs A: Influence of the dopamine D2 receptor (DRD2) genotype on neuroadaptive effects of alcohol and the clinical outcome of alcoholism. *Pharmacogenetics.* 7 (4): 271-281, 1997

### 2.3.2.1 Einführung

Alkoholabhängigkeit ist eine polygenische Erkrankung. Dieses Charakteristikum verbindet sie mit den meisten anderen psychiatrischen Erkrankungen. Erstmals beschrieben Blum und Mitarbeiter 1990 eine signifikante Assoziation zwischen dem Taq1 A1 Allel des Dopamin D2-Rezeptorgens und der Alkoholabhängigkeit. Blum verglich in seiner Untersuchung Patienten, die am Alkoholismus oder an Alkohol-verwandten Erkrankungen verstorben waren mit Kontrollpersonen, die an einem Unfall und anderen, nicht mit Alkohol in Verbindung stehenden Erkrankungen verstorben waren. Es zeigte sich, daß 13/22 alkoholabhängige Patienten und 4/24 Kontrollpersonen Allelträger des Taq 1 Polymorphismus waren ( $p < 0,003$ ). Aufgrund der zeitgleich oder kurz zuvor beschriebenen tierexperimentellen Untersuchungen, die ebenfalls einen Zusammenhang zwischen dopaminergen Mechanismen und der Entwicklung zur Alkoholabhängigkeit bzw. einzelnen charakteristischen Symptomen der Alkoholabhängigkeit beschrieben hatten, erschien dieser Befund folgerichtig und logisch. Er beeinflusste viele Arbeitsgruppen ähnliche Untersuchungen durchzuführen, mit dem Ziel diese Assoziation zu replizieren und/oder andere klinisch relevante Dopamin-Rezeptorpolymorphismen zu identifizieren. Es zeigte sich aber im folgenden, daß der Taq A1-Befund von Blum in der Mehrzahl der folgenden Untersuchungen nicht repliziert werden konnte (Bolos et al. 1990; Comings et al., 1991; Gelernter et al., 1991; Goldman et al. 1992; Cook et al., 1993; Pato et al., 1994; Lawford et al., 1997). Daraufhin wurden die Gründe für diese scheinbare Nicht-Replizierbarkeit des Befundes diskutiert und man kam überein, daß die fundamentalen Unterschiede zwischen mono- und polygenischen Erkrankungen am wahrscheinlichsten für die kontroversen Befunde verantwortlich waren, und die in der Mehrzahl negativen Befunde bzgl. der Bedeutung des Dopamin D2-Rezeptorpolymorphismus für die Alkoholabhängigkeit eher ein Problem der Interpretation der Daten widerspiegelte. Betrachtet man nämlich die Charakteristika polygen vererbter Erkrankungen zeigt sich, daß deren Mutationen in der Regel Polymorphismen sind und in der Regel immer mehr als fünf Gene betreffen. Träger dieser Mutationen sind in der Bevölkerung relativ häufig (5-65%) und auch die Frequenz derart vererbter Erkrankungen ist in der Bevölkerung relativ häufig, was in einer überaus heterogenen Gesamtgruppe der Erkrankten resultiert. Die Varianz, die durch das mutierte Gen erklärt wird, ist mit 1-5% dementsprechend gering. Die Heterogenität der Gesamtgruppe der alkoholabhängigen Patienten stellt sicher das größte Problem der klinischen und molekularbiologischen Alkoholismusforschung dar, da es unmittelbare Auswirkungen auf die Interpretation positiver und negativer Befunde mit sich bringt. Das Problem besteht nicht nur

darin, daß es unterschiedliche klinische Schweregrade von Abhängigkeit gibt, sondern auch in der Existenz comorbider Erkrankungen wie z.B. der antisozialen Persönlichkeitsstörung und vieler anderer in der Klinik auftretenden Varianten von Persönlichkeitscharakteristika, die bei Alkoholabhängigen anzutreffen sind. Dieses Problem wurde mit der Zeit erkannt, und es wurden verschiedene Verfahren entwickelt, unterschiedliche Alkoholtypen zu identifizieren. Cloninger und Mitarbeiter identifizierten unterschiedliche Patientengruppen aufgrund von Persönlichkeitsvarianten der Patienten (Cloninger et al., 1987) und nahm hierbei Bezug auf deren exploratives Verhalten. Er nannte deren unterschiedliches Verhalten entweder *Novelty Seeking* (aktives, aggressives und unstetes Verhalten) oder *Harm Avoidance* (zurückhaltendes und vermeidendes Verhalten, siehe auch 2.3.1.2). Andere Autoren unterschieden verschiedene Patientengruppen innerhalb der Gesamtgruppe der Alkoholabhängigen mittels des klinischen Schweregrades der Erkrankung (Auftreten von Delirien, Lebererkrankungen), aufgrund der Familienanamnese und/oder aufgrund des Zeitpunktes des Krankheitsbeginns der Erkrankung (Neiswanger et al., 1995; Kono et al., 1997). Aufgrund unserer neuroendokrinen Untersuchungen und deren Interpretation als *State*- und *Residualmarker* der Alkoholabhängigkeit stand uns ein zusätzlicher, neuroendokriner Marker zur Verfügung, um die einzelnen Patienten zu charakterisieren. In Verbindung mit weiteren klinischen Charakteristika (z.B. Schwere der Entzugssymptomatik) untersuchten wir bei alkoholabhängigen Patienten Dopamin D1 und D2-Rezeptorgenpolymorphismen, in der Intention damit nachweisen zu können, daß diese Polymorphismen *Trait*-Marker der Alkoholabhängigkeit bzw. bestimmter Alkohol-Subtypen darstellen. Darüberhinaus wollten wir mit unserer Untersuchung potentielle Zusammenhänge zwischen unseren HGH-Ergebnissen und der genetischen Konstellation des Dopamin D1- und D2-Rezeptorgens nachweisen. Dies machte insofern Sinn, als daß bekannt war, daß die dopaminerg-induzierte HGH-Freisetzung von der Stimulation hypothalamischer dopaminergischer D1 und D2-Rezeptoren abhängt.

### **2.3.2.2 Methodik**

Die genomische DNA wurde aus venösem Blut extrahiert. Die diallelischen Polymorphismen des Dopamin D1- und Dopamin D2-Rezeptors waren bekannt; sie resultieren aus einer einzelnen Basenpaarsubstitution, die eine Veränderung der Restriktionsstelle für die Restriktionsenzyme Bsp1286I (D1-Rezeptor) und *Taq* 1 (D2-Rezeptor) verursachen. Diese veränderten Restriktionsstellen liegen im Falle des Dopamin D1-Rezeptorpolymorphismus auf dem D2-Allel, und im Falle des Dopamin D2-Rezeptorpolymorphismus auf dem A1-Allel. Die

Berechnungen der Allelfrequenzen und -prävalenzen wurden mit einem entsprechenden SAS Copmputerprogramm durchgeführt (SAS Institute, 1988). Vergleiche der Allelfrequenzen wurden zwischen Alkoholabhängigen und Kontrollen einerseits und zwischen Respondern und Nonrespondern andererseits durchgeführt. Alle weiteren klinischen Definitionen, neuroendokrinen Testungen und statistische Berechnungen verliefen analog zu den bereits oben beschriebenen Untersuchungen und Berechnungen (2.3.1.2).

### 2.3.2.3 Ergebnisse und Diskussion

In unserer ersten Untersuchung zur Frage möglicher Assoziationen zwischen dopaminergem Hyporesponsivität und Dopamin-Rezeptorpolymorphismen untersuchten wir bzgl. der Genotypisierung 97 alkoholabhängige Patienten (57 Männer, 40 Frauen) und verglichen deren Ergebnisse mit 113 nicht-alkoholabhängigen Kontrollpersonen (50 Männer, 63 Frauen). Für die neuroendokrine Untersuchung rekrutierten wir 67 Patienten, entsprechend unseren Kriterien wurden 30 Patienten als Abstinente und 37 Patienten als Rückfälliger charakterisiert. Es zeigte sich bei diesen Patienten wiederum eine statistisch signifikant erniedrigte HGH-Antwort nach dopaminergem Stimulation bei den Rückfälligen, die allerdings bei diesem Kollektiv im Gegensatz zu den vorbeschriebenen Untersuchungen nur bei der ersten Untersuchung bestand ( $F=14,79$ ,  $p<0,001$ ). Daraufhin teilten wir die Alkoholpatienten in verschiedene Genotypen der diallelischen Dopamin-Rezeptorpolymorphismen des Dopamin D1- und des Dopamin D2-Rezeptors und/oder in homo- und heterozygote Allelträger und Nichtträger des Polymorphismus ein. Es zeigten sich bei dieser Einteilung keine unterschiedlichen HGH-Antworten der unterschiedlichen Genotypen, weder bei der ersten noch bei der zweiten Untersuchung. Darüberhinaus zeigten sich auch keine Unterschiede bzgl. der Allelfrequenzen der untersuchten Mutationen zwischen alkoholabhängigen Patienten und den Kontrollpersonen (siehe Tabelle 6):

Tab. 6: HGH-Antwort und Persönlichkeits-Traits bei Abstinente (N=19) und Rückfälligen (N=26) zu verschiedenen Untersuchungszeitpunkten

	N	D1D1	D1D2	D2D2	P
<u>Dopamin 1 Rezeptor</u>					
Kontrollpersonen	101	42	42	17	
Alkoholabhängige	92	34	42	16	NS
Rückfälliger	37	14	18	5	NS
Abstinente	30	10	13	7	NS

		A1A1	A1A2	A2A2	
<u>Dopamin 2 Rezeptor</u>					
Kontrollpersonen	113	4	35	74	
Alkoholabhängige	97	3	31	63	NS
Rückfälliger	37	2	8	27	NS
Abstinente	29	2	10	17	NS

Konklusiv fanden wir in dieser Untersuchung keinen Anhalt dafür, daß die von uns mehrfach beschriebene dopaminerge Hyporesponsivität (*HGH-Blunting*), die die Qualität eines Residualmarkers der Alkoholabhängigkeit aufweist, auf genetischen Varianten des Dopamin D1 - und Dopamin D2-Rezeptorgens beruht. In der zweiten Untersuchung zu diesem Themenkomplex untersuchten wir einen neuen Polymorphismus des D2-Rezeptorgenlokus. Es handelte sich hierbei um einen AG-Substitutionspolymorphismus in der 3'-Region des Exon 8 (E8). Dieser Polymorphismus wurde bei 283 alkoholabhängigen Patienten und 146 ethnisch-gematchten Kontrollen genotypisiert. Bei insgesamt 102 dieser genotypisierten Patienten wurde die Apomorphin-induzierte HGH-Sekretion am Tag der Aufnahme und bei 31 Patienten zusätzlich nach drei Monaten durchgeführt. Wir fanden keine signifikanten Assoziationen zwischen dem AG-Substitutionspolymorphismus und der Alkoholabhängigkeit, beide Gruppen zeigten ähnliche Frequenzen ( $p < 0,35$ ; siehe Tabelle 7).

Tab. 7: Frequenzen des Dopamin D2-Rezeptor(GA-Substitutions)polymorphismus bei alkoholabhängigen Patienten (N=283) und Kontrollpersonen (N=146).

Exon 8	N	A/A	A/G	G/G	P
Kontrollpersonen	146	70	66	10	NS
Alkoholabhängige	283	133	114	36	NS

Es zeigten sich jedoch einige Assoziationen auf statistisch signifikantem Niveau zwischen dem Exon 8 A/A Genotyp und verschiedenen klinischen Parametern ( $p < 0,01$ ). Die Träger des Exon 8 A/A Genotyps zeigten erhöhte Depressions- und Angstwerte in SDS und SAS nach stationärem Entzug in der sechsmonatigen Follow-up-Phase ( $p < 0,000$ ), vermehrte Suizidversuche in der Anamnese ( $p < 0,02$ ), sowie im Trend stärkere Entzugssymptomatik ( $p < 0,07$ ), eine erhöhte Rückfallrate ( $p < 0,08$ ) und eine verminderte HGH-Sekretion nach dopaminergem Stimulation (1. Test:  $p < 0,03$ ; 2. Test:  $p < 0,09$ ). Eine Regressionsanalyse zeigte, daß der Dopamin D2-Rezeptor E8-Genotypus der einzige Faktor war, der die Schwere der

Entzugssymptomatik weiblicher Alkoholiker signifikant beeinflusste. Konklusiv schlossen wir aus diesen Daten, daß der untersuchte Dopamin D2-Rezeptorpolymorphismus zwar keine Assoziationen bzgl. der Erkrankung Alkoholabhängigkeit, wohl aber einen deutlichen Effekt bzgl. der Wirkung chronischer Alkoholeinnahme bzw. Effekte auf den klinischen Verlauf der Alkoholabhängigkeit aufweist.

*Insgesamt bestand zumindest für die untersuchten Polymorphismen keine erhöhte genetische Vulnerabilität bei alkoholabhängigen Patienten, es zeigten sich auch keine deutlichen Assoziationen zwischen den Polymorphismen und den neuroendokrinen Befunden. Es gibt zwar noch andere bekannte Mutationen der beiden Dopaminrezeptoren, diese wurden aber bisher noch nicht in Zusammenhang mit der Alkoholabhängigkeit untersucht bzw. beschrieben. Zusammengefaßt konnte aufgrund dieser Untersuchung zum einen also nahezu ausgeschlossen werden, daß die untersuchten Dopamin-Rezeptorpolymorphismen eine übergeordnete Bedeutung bei der Vermittlung der Vulnerabilität von Alkoholabhängigkeit und daß die HGH-Befunde die Qualität von Trait-Markern der Alkoholabhängigkeit bzw. eine genetische Basis besitzen.*

#### **2.4 Pharmakogenetik bei unerwünschten Arzneimittelnebenwirkungen**

Durch in den 90er Jahren entwickelte neue, molekulargenetische Techniken wie PCR und RFLP wurde es möglich, individuelle erbliche Faktoren bzw. *Trait*-Marker am Patienten zu bestimmen, die auf die Wirkstärke eines Medikamentes und sein Nebenwirkungsspektrum Einfluß nehmen. Hierbei handelt es sich in erster Linie um die nichtinvasive Erfassung erblicher Unterschiede im Arzneimittelmetabolismus. Auch das Ausmaß einer Enzyminduktion kann erblich bedingt unterschiedlich groß sein. Diese genetisch begründeten Polymorphismen definierter Enzyme, die im Stoffwechsel von Arzneimitteln eine Rolle spielen, erfordern bei der Dosierung ganz besondere Beachtung. Auch genetische Polymorphismen bei den Rezeptoren tragen erheblich zu der interindividuellen Varianz der Wirksamkeit von Pharmaka bei. Selbst weniger spezifische erbliche Unterschiede, wie z.B. im HLA-System sind wichtig für Verträglichkeit und Wirksamkeit bestimmter Medikamente beim einzelnen Individuum.

Bei den Arzneimittel-Nebenwirkungen unterscheiden wir die dosisabhängigen von denen, die nicht durch relative Überdosierung erklärbar sind. Während viele der dosisabhängigen Nebenwirkungen durch genetische Varianten in der Elimination der Wirksubstanzen oder durch ungewöhnliche Rezeptorempfindlichkeit erklärt werden können, müssen für die sogenannten idiosynkratischen Nebenwirkungen Besonderheiten bei der metabolischen Toxifizierung oder

immunologische Besonderheiten untersucht werden.

#### **2.4.1 Idiosyncratic Drug Reactions am Beispiel der Clozapin-induzierten Agranulocytose**

Dettling M, Müller-Oerlinghausen B, Rolfs A: Pathomechanisms of clozapine-induced agranulocytosis-impact of genetic determinants. *Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology*. 355: 4, suppl., 1997

Dettling M, Müller-Oerlinghausen B, Britsch P: Clozapine treatment of HIV-associated psychosis: Too much bone marrow toxicity ? *Pharmacopsychiatry*. 31: 156-157, 1997

Dettling M, Cascorbi I, Roots I, Müller-Oerlinghausen B: Genetic determinants of clozapine-induced agranulocytosis-recent results of HLA-subtyping in a non-Jewish Caucasian sample. *Arch Gen Psychiatry*. In press, 2000

Dettling M, Sachse C, Müller-Oerlinghausen B, Roots I, Brockmöller J, Rolfs A, Cascorbi I: Lack of association between clozapine-induced agranulocytosis and hereditary polymorphisms of drug metabolizing enzymes myeloperoxidase and cytochrome P450 2D6. *Pharmacopsychiatry*. In press, 2000

Dettling M, Schaub RT, Müller-Oerlinghausen B, Roots I, Cascorbi I: Further evidence of human-leukocyte antigen-encoded susceptibility to clozapine-induced agranulocytosis independent of ancestry. Submitted, 2000

##### **2.4.1.1 Einführung**

Trotz vielfältiger Bemühungen in den letzten 25 Jahren konnte die Ätiologie Arzneimittel-induzierter Agranulocytosen mit Ausnahme einiger weniger Einzelsubstanzen nicht zufriedenstellend geklärt werden. Dies gilt insbesondere für die Ätiopathogenese Psychopharmaka-induzierter Agranulocytosen. Ein Hauptproblem bei der Erforschung mancher Arzneimittel-induzierter Agranulocytosen ist das Fehlen dieser Reaktion im Tiermodell. Dies bedeutet, daß diese gefährliche Nebenwirkung zumeist erst in klinischen Untersuchungen der Phase IV evident wird und dann entweder zu einer völligen Rücknahme des Medikamentes vom Markt oder zu einer sehr eingeschränkten Verwendung dieser Medikamente führt, was unter Umständen wie im Falle des Clozapin gravierende Nachteile für die Patienten mit sich bringt. Das völlig überraschend gehäufte Auftreten dieser Nebenwirkung führte Mitte der 70er Jahre dazu, daß dieses klinisch aufgrund seines ansonsten günstigen Wirkungs- und Nebenwirkungsprofils ausserordentlich suffiziente Medikament wegen der Unvorhersehbarkeit des Auftretens der Agranulocytose und der hohen Letalität dieser Nebenwirkung seitdem nur unter restriktiven Maßnahmen (Medikament der 2. bzw. 3. Wahl, regelmäßige Blutbildkontrollen, Richtlinien zur kontrollierten Anwendung) angewendet werden darf (Helmchen, 1989; Ichikawa, 1991). Die Clozapin-induzierte Agranulocytose gilt heute als das psychopharmakologisch bedeutsamste Beispiel einer *Idiosyncratic Drug Reaction*. Eine solche Arzneimittelnebenwirkung

ist allgemein definiert als eine nicht vorhersehbare und im allgemeinen lebensbedrohende medikamentöse Nebenwirkung, die selten (ca. 10% aller Nebenwirkungen) und nicht-dosisabhängig auftritt (Goldstein et al, 1984). Weitere allgemeine Charakteristika dieser Nebenwirkung sind eine Verzögerung zwischen Medikamentenexposition und -toxizität, die bei Reexposition entfällt, ein fehlendes Tiermodell (siehe oben) und eine periphere Eosinophilie (Pohl et al., 1988; Park et al., 1988). Bei manchen Arzneimitteln sind spezifische Organe betroffen. All diese Kriterien werden durch den klinischen Verlauf der Clozapin-induzierten Agranulocytose, die mit einer Inzidenz von ca.1% auftritt (Alvir et al., 1993) und deren Zielzellen Vorstufen neutrophiler Granulocyten sind, erfüllt.

Übereinstimmend wurden in den letzten Jahren drei mögliche ätiopathogenetische Mechanismen favorisiert (Claas, 1989). Entsprechend einer toxischen, einer immunologischen und einer genetischen Hypothese wurden für Clozapin vereinzelt Befunde bzgl. erhöhter toxischer Metabolitenkonzentrationen, des Auftretens von Antikörpern im Serum und bestimmter HLA-Assoziationen bei Agranulocytosepatienten beschrieben (Bondesson et al., 1988; Lieberman et al., 1990; Gerson et al., 1992). Problematisch war aber zum einen die Tatsache, daß die wenigsten Befunde repliziert wurden; zum anderen waren aufgrund der niedrigen Inzidenz die Fallzahlen zu niedrig, um weitergehende Aussagen über mögliche determinierende Faktoren einer Agranulocytose zu treffen. Als mögliche Erklärung für die häufige Nicht-Replizierbarkeit der Befunde wurde auch diskutiert, daß die jeweiligen Hypothesen nicht abgrenzbar voneinander sind, wobei aber aufgrund des klinischen Verlaufes der Clozapin-induzierten Agranulocytose, der alle Kriterien einer *Idiosyncratic Drug Reaction* erfüllt, sehr wahrscheinlich von einer genetischen Komponente ausgegangen werden mußte. Es erschien aber durchaus vorstellbar, daß z.B. zunächst primär genetische und toxische und im weiteren Verlauf des Geschehens immunologische Mechanismen miteinander zu der Entstehung Medikamenten-induzierten Agranulocytosen beitragen.

Die Pharmakogenetik stellte somit mit ihren mannigfaltigen molekulargenetischen Verfahren aufgrund des fehlenden Tiermodells mancher Medikamenten-induzierter Agranulocytosen eine der wenigen und damit unverzichtbaren Möglichkeiten dar, determinierende ätiopathogenetische Faktoren für die Auslösung einer Medikamenten-induzierten Agranulocytose vor Exposition mit einem potentiell knochenmarksschädigendem Medikament zu bestimmen.

Der erste potentielle Mechanismus mit dem sich unsere pharmakogenetische Studie zur

Clozapin-induzierten Agranulocytose befaßte, beinhaltete Untersuchungen zu dem neutrophilen Oxidationssystem Myeloperoxidase. In Kenntnis der Fähigkeit von Leukocyten immunologische Mechanismen zu initiieren, erschien es uns sinnvoll zu untersuchen, inwieweit die Fähigkeiten von Leukocyten, Arzneimittel zu metabolisieren für die Entwicklung von Arzneimittel-induzierten Nebenwirkungen wie der Agranulocytose ätiopathogenetisch bedeutsam sein könnten (Utrecht, 1989). Im Falle der Myeloperoxidase sollte untersucht werden, inwieweit eine durch Polymorphismen veränderte Oxidation im Rahmen der Clozapinmetabolisierung ursächlich für die Clozapin-induzierte Agranulocytose verantwortlich sein könnte.

Die zugrundeliegenden Hypothesen werden aufgrund ihrer Komplexität etwas ausführlicher dargestellt: (patho)physiologischer Hintergrund für die Untersuchung der Myeloperoxidase waren folgende bekannte Abläufe: eine Hauptfunktion von neutrophilen Granulocyten ist die Phagozytose (Aufnahme und Zerstörung) von infektiösem Material (Klebanoff et al., 1978) mittels antimikrobieller Stoffe, z.B. der Myeloperoxidase (MPO; Weiss, 1989). Die Kombination von Myeloperoxidase mit Hydrogenperoxid ist für die Synthese von "Compound 1", einem sehr starken Oxidans verantwortlich (Harrison et al., 1980). Das Hydrogenperoxid wird hierbei von dem zweiten bedeutenden neutrophilen Oxidationssystem, der NADPH-Oxidase generiert, diese wandelt Sauerstoff zu Superoxid um. In einer Reihe weiterer chemischer Reaktionen entsteht schließlich Hypochlorsäure, eine sehr stark bakterizide Substanz. In einer ruhenden Zelle ist die MPO in Granuolen gespeichert und die NADPH-Oxidase inaktiv, wird die Zelle jedoch aktiviert wird Myeloperoxidase freigesetzt und die NADPH-Oxidase aktiviert. Die Aktivierung der Zelle kann hierbei über vielerlei Mechanismen induziert werden, entweder über eine Infektion, oder über andere Immunisierungsvorgänge (Sandborg, 1988). Im allgemeinen geht man davon aus, daß ein aktivierter neutrophiler Leukocyt ausreichend Hypochlorsäure generiert um in weniger als einer Sekunde 150 Bakterien zu vernichten.

Entscheidend für unsere Untersuchung war nun der gut belegte Befund, daß Hypochlorsäure und "Compound 1" mit Arzneimitteln reagieren. Die Arzneimittel mit denen die beiden Oxidantien ausgeprägt reagieren sind diejenigen, die nennenswerte oxidierbare funktionelle Gruppen enthalten (Utrecht et al., 1991; Kettle et al., 1991). Hierbei entstehen reaktive Metaboliten. Auch für die MPO ist bekannt, daß dieses Enzym an der Metabolisierung vieler Arzneimittel beteiligt ist bzw. in der Lage ist freie Arzneimittelradikale zu generieren (Utrecht, 1995). Es ist gut belegt, daß einzelne Medikamente, z.B. Phenylbutazon, Temoxicam und Chlorpromazin inhibierend auf die Aktivität der MPO wirken können (Kettle et al., 1991), parallel aber auch durch diese metabolisiert werden (Ichihara et al., 1995).

Ein sehr interessanter Nebenbefund bzgl. der Frage der möglichen Richtung der Aktivitätsänderung bei MPO-Polymorphismen im Rahmen von Arzneimittel-induzierten Agranulozytosen und indirekt auf die Sinnhaftigkeit unserer Hypothesen hinweisend war der Nachweis, daß bei Patienten mit der sehr seltenen angeborenen MPO-Defizienz (Kaplow, 1986) sozusagen kompensatorisch eine Eosinophilie auftritt (Lanza et al., 1987), nach Ansicht einiger Autoren ein Hinweis auf alternative Mechanismen zur Generierung eines funktionstüchtigen MPO-H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-Systems. Eine Eosinophilie ist klinisch nämlich oftmals einer beginnenden Clozapin-induzierten Neutropenie bzw. Agranulozytose vorgeschaltet und wird von manchen Autoren als prädiktiv für diese Arzneimittel-Nebenwirkung angesehen (Hummer et al., 1996).

Bereits zu Studienbeginn war bekannt, daß die 5'-Region des MPO-Gens den MPO-Promotor und andere die MPO-Expression regulierende Elemente enthält (Morishita et al., 1986; Hashinaka et al., 1988; Chang et al., 1990). Mehrere Befunde bei Untersuchungen an speziellen HL-60-Zellen (die MPO exprimieren) hatten dies bestätigt und die relevanten Bereiche lokalisiert (Weill et al., 1988; Jorgensen et al., 1991; Chang et al., 1991; Lübbert et al., 1991; Hashinaka et al., 1992). Eine 594-bp MPO-DNA-Sequenz (bp-583-+11) schien für die Promotoraktivität von übergeordneter Bedeutung zu sein, und zeigte Übereinstimmung in 19 Basen mit zwei anderen Enzymen, der Elastase und dem *human granulocyte colony-stimulating factor*, die ebenfalls durch Granulozyten exprimiert werden (Austin et al., 1995).

Die Kenntnis der für die MPO-Promotoraktivität relevanten Bereiche ermöglichte es zum einen, diese als Marker zu nutzen, und zum anderen, auch andere Faktoren zu identifizieren, die für die Regulierung der MPO-Promotoraktivität von Bedeutung sind (Austin et al., 1996). Polymorphismen der MPO-Promotorregion wurden bisher nur für die akute myelotische Leukämie und das Bronchial-Carzinom untersucht (London et al., 1997). Diese Untersuchung basierte ätiopathogenetisch darauf, daß die MPO in der Lage ist, im Zigarettenrauch das karzinogene Benzpyren und karzinogene aromatische Amine zu aktivieren und karzinogene freie Radikale zu generieren. Eine bereits 1993 vorbeschriebene G/A Basensubstitution bewirkte eine reduzierte Transkription des MPO-Promotors, und infolgedessen hypostasierten die Autoren, daß das Auftreten dieses Polymorphismus eine Art Schutzfunktion darstellt.

Aufgrund der vielfältigen und gut belegten Kombination zwischen Clozapin- und MPO-Wechselwirkungen, der bekannten Tatsache einer Generierung reaktiver Metabolite durch MPO und der Lokalisation dieses Enzymsystems in den Zielzellen der Clozapin-induzierten Agranulozytose, erschien uns die Untersuchung des beschriebenen MPO-Polymorphismus als

potentieller *Trait*-Marker der Clozapin-induzierten Agranulocytose vielversprechend.

Ein zweiter möglicher Pathomechanismus im Rahmen der Entwicklung einer Clozapin-induzierten Agranulocytose betraf die hepatischen Cytochrom P (CYP) 450-Isoenzyme. Fischer und Mitarbeiter untersuchten die Beteiligung von CYP450 2D6 am Clozapin-Stoffwechsel anhand menschlicher Leber-Mikrosomen und in rekombinanten Zellen, die spezifisch CYP 450 2D6 exprimieren (Fischer et al., 1992). Sie konnten zeigen, daß Clozapin am aktiven Zentrum von CYP 450 2D6 bindet und aktiv von diesem metabolisiert wird. Die rekombinanten Zellen produzierten zahlreiche Clozapinmetaboliten, was bedeuten konnte, daß CYP 450 2D6-Polymorphismen für die Variabilität der Clozapinmetabolisierung und möglicherweise auch für passager erhöhte knochenmarkstoxische Metabolitenkonzentrationen verantwortlich waren (Gonzalez et al., 1992).

Während die Untersuchungen zur MPO und den CYP 450-Isoenzymen potentielle Interaktionen zwischen Genetik und "pathologischer" Metabolisierung darstellen sollten, wurde bei den parallel durchgeführten immunogenetischen Untersuchungen auf die Beziehung Genetik und Immunsystem fokussiert, die für einige Arzneimittel-Nebenwirkungen gut bekannt ist (dritter potentieller Mechanismus).

Das HLA-(*human leukocyte antigen*) System ist ein Teil des MHC (*major histocompatibility complex*). Der MHC befindet sich auf dem kurzen Arm des Chromosom 6. Die HLA-Gene werden in zwei Gruppen unterteilt: Klasse II-Gene (HLA -DP, -DZ, -DO, -DX, -DQ und -DR) und Klasse I-Gene (HLA- B,-C,-A). Diese Gene sind wesentlich an der Autoimmunität beteiligt (Shackelford et al.,1982). Die Coinzidenz von Chlorpromazin-induzierten Autoantikörpern mit dem HLA-B44 Phänotyp (Canoso et al.,1982), die erhöhte Inzidenz des Hydralazin-assoziierten systemischen Lupus erythematodes mit dem HLA-DR4 Phänotyp (Batchelor et al., 1980) und die Assoziation von D-Penicillamin-induzierter Nephropathie und dem HLA-B8 und DR3 Phänotyp (Wolley et al., 1980) sind gut belegte und häufig replizierte pharmakogenetische Befunde.

Seit Anfang der 90er Jahre gab es auch Hinweise auf eine Assoziation bestimmter HLA-Subtypen mit der Clozapin-induzierten Agranulocytose. So zeigten erstmals US-amerikanische Untersuchungen einen Zusammenhang zwischen jüdisch-ethnischem Hintergrund (Aschkenazy-Juden) und der Entwicklung einer Agranulocytose unter Clozapinmedikation (Liebermann et al., 1990). Im Gegensatz zu einer Inzidenz von 0.6 und 2% in früheren Studien fand Lieberman unter den Patienten mit jüdischer Abstammung eine Inzidenz von 20% (6 von

30 Patienten). Daraufhin wurde von sechs Agranulocytosepatienten eine HLA-Typisierung durchgeführt. Der Haplotyp HLA-B38, DR4,DQw3 wurde bei fünf von sechs Patienten gefunden. Da dieser Haplotyp häufig in dieser Population gefunden wird, wurden die Ergebnisse mit einer Kontrollgruppe gleichen ethnischen Hintergrundes verglichen. Hier wurde dieser Haplotyp nur bei 2 von 17 Patienten gefunden.

Zwei und fünf Jahre später veröffentlichte dieselbe Arbeitsgruppe weitere Fälle von Agranulocytosen, zwei der Betroffenen waren wiederum jüdischer Abstammung und vier nicht-jüdischer Abstammung. Erneut zeigte sich unter den jüdischen Patienten die beschriebene HLA-Konstellation. Zudem wurde beschrieben, daß der Haplotyp HLA-DR\*02, DQB1\*0502 and DQA1\*0102 unter nicht-jüdischen kaukasischen Betroffenen signifikant häufiger auftrat. (Yunis et al., 1992 und 1995). Die bis dato veröffentlichten positiven Assoziationen widersprachen aber den Daten von Claas und Mitarbeitern für nicht-jüdische kaukasische Betroffene. Nach Durchführung einer HLA-A,-B,-C,-DR und -DQ Typisierung stellten diese Autoren bei den untersuchten Patienten keine signifikanten Assoziationen von bestimmten HLA-Subtypen und dem Auftreten einer Clozapin-induzierten Agranulocytose fest (Claas et al., 1992).

Jedoch fanden sich in der Claas'schen Untersuchung einige Mängel: so wurden keine ausreichenden Angaben zum Studiendesign gegeben, keine klinische Charakterisierung der Patienten durchgeführt und weder beschrieben, woher die Blutproben der retrospektiv untersuchten Patienten kamen, noch wie diese gelagert wurden. Eine Übersichtstabelle (Tabelle 8) faßt die vorbeschriebenen Befunde und die Anzahl der untersuchten Patienten zusammen (Allelträger/Gesamtzahl der untersuchten Patienten):

Tab. 8: Übersichtstabelle der vorbeschriebenen HLA-Haplotypen bei jüdischen und kaukasischen Patienten mit Clozapin-induzierter Agranulocytose

Ethnizität	jüdisch	jüdisch	kaukasisch	kaukasisch	kaukasisch
HLA B38/39	5/6	7/7		22/103	
HLA DR4	5/6	7/7			
HLA DQw3	5/6	7/7			
HLA DR2			4/4		13/21
HLA DQw1			4/4	81/103	13/21
HLA DQB1*0201					
<u>Autor</u>	Lieberman, 1990	Yunis, 1992	Yunis, 1992	Claas, 1992	Yunis, 1995

Ethnizität	jüdisch	kaukasisch	jüdisch	jüdisch
HLA B38/39	9/10	1/3		8/11
HLA DR4	9/10	1/3		4/11
HLA DQw3	9/10	1/3		
HLA DR2		2/3		2/11
HLA DQw1		2/3		
HLA DQB1*0201			12/18	
<u>Autor</u>	Yunis, 1995	Theodoropoulou, 1997	Amar, 1998	Valevski, 1998

Basierend auf den in der Einleitung beschriebenen Grundlagen war es Ziel der Untersuchung mittels HLA-Subtypisierung, MPO- und CYP 450 2D6-Polymorphismus-Bestimmungen betroffener Patienten einen potentiellen *Trait*-Marker bzw. eine Genkonstellation nachzuweisen, die bestimmte Patienten-Subpopulationen als Risikogruppen für die Entstehung einer Clozapin-induzierten Agranulocytose definieren.

#### 2.4.1.2 Methodik

Die Rekrutierung der Patienten erfolgte unter enger Kooperation mit der Arzneimittelkommission der deutschen Ärzteschaft in Köln. Dieser werden im Rahmen des von ihr betriebenen Spontanerfassungssystems seit Jahren von Klinikärzten und niedergelassenen Ärzten auf freiwilliger Basis im Zusammenhang mit Arzneimitteln auftretende Nebenwirkungen gemeldet. Über ein Anschreiben wurden die meldenden Kollegen über das Projekt informiert und um Mithilfe gebeten. Bei allen Patienten erfolgte eine schriftliche Aufklärung und Einverständniserklärung. Die Daten über die abgelaufenen Agranulocytosen und über die Diagnosen der Patienten wurden aus dem Meldeformular der Arzneimittelkommission und den Arztbriefen der Patienten (DSM-III-R Diagnosen) übernommen. Die Einteilung bzw. Bewertung der Blutbildnebenwirkung erfolgte nach folgenden Kriterien: als Patienten galten schizophrene Patienten, paranoider Typ, mit einer Anzahl neutrophiler Granulocyten von <500/nl unter solitärer Clozapinmedikation; als Kontrollpersonen galten schizophrene Patienten, ebenfalls paranoider Typ, die mindestens seit zwei Jahren solitär Clozapin eingenommen hatten, ohne eine Leukopenie oder Agranulocytose zu entwickeln. Patienten und Kontrollpersonen wurde jeweils 30 ml venöses Blut entnommen. Der A-645G\*-Polymorphismus in der 5'-Region des MPO-Gens wurde mittels PCR/RFLP-Verfahren nachgewiesen. Nach Amplifikation eines 350 bp-

Fragmentes, wurde dieses bei 37°C inkubiert und durch das Auftreten einer neuen kleineren Bande zwischen dem Wildtyp G-Allel und der A-Mutante mittels Agarose-Gelelektrophorese unterschieden. Als interne Kontrolle eines stattgefundenen Verdauens diente der Nachweis der konstitutionellen Restriktionstelle bei -40 nt. Darüber hinaus wurde die Korrektheit der Genotypisierung ausgewählter Proben mittels DNA-Sequenzierung geprüft und gleichzeitig nach weiteren Mutationen gesucht. CYP 450 2D6 wurde mittels PCR auf die Allele \*3, \*4, \*5, \*6, \*8, and \*14 untersucht, diese Allele sind verantwortlich für den Status der Betroffenen als langsamer, schneller und ultraschneller Metabolisierer. HLA-A, -B, -C, DRB und DQB-Allele von Patienten und Kontrollpersonen wurden mittels PCR-Verfahren identifiziert. Die DNA wurde mittels eines standardisierten Chloroform/Phenol-Extraktes aus venösen Leukocyten isoliert. Die Sequenzen der variablen und damit charakterisierenden Genregionen waren aus der Literatur bekannt. Aufgrund der Bekanntheit der beschriebenen HLA-Loci gelang es ohne Schwierigkeiten PCR-generierte Amplifikate herzustellen und diese zu spezifizieren. HLA B wurde mittels eines SSP-PCR Kits der Firma Protrans, Ketsch, Deutschland und DQB mittels eines INNO-LiPA rSSO-Kits der Firma Medipro, Ketsch, Deutschland genotypisiert. Die Allelfrequenzen aller untersuchten Allele bei Betroffenen und Kontrollpersonen wurden durch  $\chi^2$ -Test bzw. Fisher's Test verglichen. Regressionsanalysen wurden unter Berücksichtigung ungleicher Alters- und Geschlechtsverteilung der untersuchten Personen durchgeführt. Alle statistischen Analysen wurden mit einem SPSS 7.5-Programmes durchgeführt. Ein p-Wert < 0,05 wurde als statistisch signifikant akzeptiert.

#### **2.4.1.3 Ergebnisse und Diskussion**

Wir untersuchten zunächst diejenigen HLA-Haplotypen (HLA-B, DRB und DQB), bei denen in den insgesamt wenigen Vorbefunden eine Assoziation zur Clozapin-induzierten Agranulocytose beschrieben worden war. Es handelte sich hierbei im einzelnen um die Haplotypen HLA-B38, DRB1\*0402, DRB4\*0101, DQB1\*0201 und DQB1\*00302 bei jüdischen Patienten und die Haplotypen HLA-DR\*02, DRB1\*1601, DRB5\*02 und DQB1\*0502 bei nicht-jüdischen kaukasischen Patienten. Bei letzteren war zudem die Anwesenheit des Haplotypen B35 als protektiv für die Clozapin-induzierte Agranulocytose beschrieben worden. Es gelang uns für diese Untersuchung 30 Patienten mit einer Clozapin-induzierten Agranulocytose zu identifizieren und von diesen Blut zu erhalten. Alle Betroffenen waren weiße, deutsche Kaukasier aus dem ganzen Bundesgebiet, alle hatten die Diagnose einer paranoiden Schizophrenie und die Agranulocytose unter solitärer Clozapin-Medikation entwickelt. Dieses

Kollektiv an Agranulocytosepatienten zählt trotz der scheinbar geringen Zahl zu dem zweitgrößten weltweit beschriebenen. Das Kontrollkollektiv rekrutierten wir aus schizophrenen Patienten der psychiatrischen Poliklinik und der Katamnese der Psychiatrischen Klinik der FU Berlin. Die insgesamt 77 Kontrollpersonen hatten alle zum Zeitpunkt der Blutentnahme mindestens zwei Jahre lang solitär Clozapin eingenommen ohne Blutbildveränderungen entwickelt zu haben. Die Gruppe der Patienten bestand aus 17 Frauen mit einem Durchschnittsalter von 44,5 Jahren (SD=8) und 13 Männern mit einem Durchschnittsalter von 49,8 Jahren (SD=9). Wir fanden folgende HLA-Subtypen bei Patienten und Kontrollpersonen vor (siehe Tabelle 9):

Tab. 9: HLA-Subtypisierungen bei 30 Clozapin-Agranulocytosepatienten und 77 Kontrollpersonen

HLA	Cases		Controls		Odds Ratio	95%-C.L	P
	N	%	N	%			
B35	5	17,2	14	18,2	0,94	0,31 – 2,89	NS
B38	5	17,2	9	11,7	1,57	0,48 – 5,16	NS
DQB1*0201	13	43,3	20	25,6	2,22	0,92 – 5,36	0,07
DQB1*03	16	53,3	43	55,1	0,93	0,40 – 2,17	NS
DQB1*0302	5	16,7	12	15,4	1,10	0,35 – 3,44	NS
DQB1*0502	5	16,7	1	1,3	15,4	1,72 - 138	0,006
DRB1*0402	3	10,0	2	2,6	4,22	0,67 – 26,6	NS
DRB1*1601	3	10,0	3	3,8	2,78	0,53 – 14,6	NS
DRB4	11	36,7	35	44,9	0,71	0,30 – 1,69	NS
DRB5*02	3	10,0	0	0,0			0,02

*Zusammengefaßt fanden wir folgende Ergebnisse: erstens, es zeigte sich ein Trend für ein gehäuftes Auftreten von HLA-DQB\*0201 bei den nichtjüdischen kaukasischen Patienten ( $p < 0,07$ ). Zweitens, es bestätigten sich die Vorbefunde von Yunis und Mitarbeitern bezüglich eines gehäuften Auftretens von DQB\*0502 und DRB5\*02 bei nicht-jüdischen kaukasischen Patienten. Drittens, es fanden sich keine signifikanten Unterschiede zwischen Patienten und Kontrollpersonen für die Haplotypen HLA-B38, HLA-B35, HLA-DQB\*03, HLA-DQB\*05, HLA-DRB1\*0402, HLA-DRB1\*1601 und sämtliche HLA-DRB4-Haplotypen.*

Der Trend für eine erhöhte Frequenz des Haplotyps HLA-DQB\*0201 bei nicht-jüdischen

kaukasischen Patienten war insofern interessant, als daß bis dato vergeblich nach einem gemeinsamen genetischen Marker bei nicht-jüdischen und jüdischen kaukasischen Patienten im HLA-System gesucht wurde und "nur" Varianten der sogenannten *Heat-Shock*-Proteine, die wie das HLA-System in der MHC-Region lokalisiert sind, als mögliche gemeinsame Marker für eine Clozapin-induzierte Agranulocytose in beiden ethnischen Gruppen charakterisiert worden waren (Corzo et al., 1995). Amar und Mitarbeiter beschrieben nun aber interessanterweise 1998 diesen Haplotyp HLA-DQB\*0201 als gehäuft bei Askenazy-Patienten mit einer Clozapin-induzierten Agranulocytose auftretend (Amar et al., 1998), was in Kombination mit unserem Befund bei kaukasischen Patienten vielversprechend im Sinne einer Identifizierung gemeinsamer Marker dieser beiden ethnischen Gruppen erscheint. Als einschränkend für unseren Befund muß sicher die geringe Fallzahl der Patienten gewertet werden. Dennoch waren durch unsere Untersuchung erste Hinweise auf genetische Marker, die für verschiedene ethnische Gruppierungen existieren gegeben. Auch die anderen Positiv- und v.a. Negativbefunde unserer Untersuchung waren von Bedeutung. Während die Positivbefunde in der Zukunft in einem größeren Kollektiv zu bestätigen sind, deuteten die Negativbefunde eindeutig darauf hin, daß bis dato für kaukasische und jüdische Patienten beschriebene HLA-Haplotypen für nicht-jüdische Kaukasier keine übergeordnete Bedeutung hatten, und daß möglicherweise andere HLA-Klasse I (z.B. HLA-C) und -Klasse II Antigene in ihrer Bedeutung bisher unterschätzt wurden. Weitere potentielle genetische Marker wurden auch im Rahmen unserer Polymorphismus-Untersuchungen bzgl. der am Clozapin-Metabolismus beteiligten Enzymsysteme MPO und CYP 450 2D6 untersucht, um hiermit Patienten definieren zu können, die eine erhöhte Vulnerabilität für diese Nebenwirkung aufweisen. Im Rahmen dieser Untersuchung wurden 31 Patienten und 77 Kontrollpersonen genotypisiert. Die Gruppe der Patienten bestand aus 17 Frauen mit einem Durchschnittsalter von 44,5 Jahren (SD=8) und 14 Männern mit einem Durchschnittsalter von 41,1 Jahren (SD=8). Das Ergebnis unserer Untersuchung zeigte, daß die Frequenzen der möglichen Genotypen der MPO und des CYP 450 2D6 gleichverteilt waren (siehe Tabelle 10):

Tab. 10: MPO- und CYP2D6-Genotypen bei 31 Clozapin-Agranulocytosepatienten und 77 Kontrollpersonen

	Cases		Controls	
	N	%	N	%
MPO <sup>-463</sup> G/G	19	61,3	49	63,6
MPO <sup>-463</sup> G/A	10	32,3	27	35,1
MPO <sup>-463</sup> A/A	2	6,5	1	1,3
Ein aktives CYP2D6-Gen	8	25,8	22	28,6
Zwei aktive CYP2D6-Gene	21	67,6	48	62,3
Drei aktive CYP2D6-Gene	1	3,2	3	3,9
Kein aktives CYP2D6-Gen	1	3,2	4	5,2
Total	31	100,0	77	100,0

Eine Regressionsanalyse erbrachte unter Berücksichtigung von Alter und Geschlecht ein relatives Risiko für eine Clozapin-induzierte Agranulocytose von 1,21 (0,46–3,21;  $p=0,70$ ) für G<sup>463</sup>A-(Mutations)-Träger. Auch die Frequenzen der 2D6 Genotypen waren vergleichbar zwischen Patienten und Kontrollpersonen. Zwar bestand für CYP 450 2D6-Mutationsträger ein relatives Risiko von 9,98 (0,56-178), dies war aber nicht statistisch signifikant ( $p=0,12$ ). Wir fanden keine statistisch signifikant unterschiedlichen Frequenzen des MPO-Genotyps ( $p=0,34$ ; Tab. 10) bzw. der daraus resultierenden Enzymaktivität (Odds Ratio= 1,11; siehe Tabelle 11).

Tab. 11: MPO- und CYP 450 2D6 Aktivität bei 31 Clozapin-Agranulocytosepatienten

	Cases		Controls		Odds Ratio	95%-C.L.	P
	N	%	N	%			
MPO							
High active	19	61,3	49	63,6	1,00		
Low active	12	38,7	28	36,4	1,11	0,47-2,60	0,82
CYP 450 2D6							
Active	30	96,8	73	94,8	1,64	0,18-15,3	0,55
Inactive	1	3,2	4	5,2	1,00		

Die Kombinationsanalyse von MPO-und CYP 450 2D6-Mutationsträgern ergab auch keinen Hinweis für eine Interaktion der beiden Polymorphismen (*MPO*: relatives Risiko=1,29 (0,48-3,51; p=0,61; *CYP 450 2D6*: 10,4 (0,59-186; p=0,11 ).

*Wir fanden somit keine überzeugenden Hinweise dafür, daß ein oder beide Enzymsysteme bzw. Polymorphismen dieser Enzyme im Sinne eines Trait-Markers an der Entwicklung der Clozapin-induzierten Agranulocytose beteiligt sind.*

Einschränkend müssen aber folgende Hinweise berücksichtigt werden: erstens, der untersuchte MPO-Polymorphismus G<sup>-463</sup>A führt zu einer erniedrigten Enzymexpression. Diese ist für die Arzneimittelnebenwirkung Clozapin-Agranulocytose nicht unbedingt anzunehmen. Es wäre nach Vorbefunden eher zu erwarten, daß bei der Entwicklung dieser Agranulocytose eine gesteigerte Oxidation von Clozapin und dadurch eine potentiell stärkere Generierung von toxischen Metaboliten und/oder Radikalen vorliegt. Entsprechende Polymorphismen wurden aber (noch) nicht beschrieben. Zweitens, gleiches gilt letztendlich auch für die CYP 450-Bestimmungen. Das Isoenzym 2D6 ist nach neueren Erkenntnissen nur nachgeordnet an der Metabolisierung von Clozapin beteiligt (Spina et al., 1998). Die quantitativ hauptsächlich beteiligten CYP 450-Enzyme sind 1A2 und/oder 3A4 (Eiermann et al., 1997). Polymorphismen dieser Enzyme mit möglicherweise klinischer Relevanz wurden aber erst kürzlich entdeckt (Sachse et al., 1999), so daß wir unser Kollektiv diesbezüglich nochmals untersuchen werden. Gleichwohl erschien es vorab sinnvoll, auch die wenn nur geringe quantitative Beteiligung des 2D6 und potentiell daraus resultierende Konsequenzen für die Entwicklung einer Clozapin-induzierten Agranulocytose auszuschließen, was wir mit der vorliegenden Untersuchung getan haben.

## **2.4.2 Andere Arzneimittel-induzierte Agranulocytosen**

Dettling M, Cascorbi I, Hellweg R, Deicke U, Weise L, Müller-Oerlinghausen B: Genetic determinants of drug-induced agranulocytosis-potential risk of olanzapine? *Pharmacopsychiatry*. 32: 110-112,1999

### **2.4.2.1 Einführung**

Da die für die Clozapin-induzierte Agranulocytose hypostasierten Mechanismen auch bei anderen Arzneimittel-induzierten Blutbildveränderungen diskutiert, und zudem viele andere bekannte und häufig angewandte Psychopharmaka nachgewiesenermaßen durch das neutrophile Oxidationssystem MPO metabolisiert werden, erschien es sinnvoll, unsere im Rahmen der Clozapin-induzierten Agranulocytose erworbenen Kenntnisse zu erweitern. Dies

wurde von unsere Arbeitsgruppe auch explizit als Ziel der Bemühungen der nächsten Jahre deklariert und wird vom BMBF in einem Folgeantrag seit 1999 finanziell unterstützt.

Sollte ein Nachweis ätiopathogenetisch relevanter MPO- und auch NADPH-Polymorphismen bzw. HLA-Haplotypen bei Arzneimittel-induzierten Agranulocytosen im Sinne der Charakterisierung eines *Trait*-Markers gelingen, wäre dies als ein wichtiger Zwischenschritt anzusehen, den komplexen Ablauf dieser lebensbedrohlichen und nicht-vorhersehbaren Arzneimittelnebenwirkung pathophysiologisch besser zu verstehen. Darüberhinaus ergäben sich bei Nachweis eines genetischen Markers für die Entwicklung einer Agranulocytose weitere wesentliche Vorteile sowohl für die körperliche Unversehrtheit der Patienten als auch die Kostenträger im Gesundheitswesen. Die Sinnhaftigkeit und Notwendigkeit, die bis 1998 verfolgte Fokussierung auf Clozapin zugunsten anderer Psychopharmaka und anderer Arzneimittel generell aufzugeben, ergibt sich auch aus der Darstellung einer Recherche, die die Arzneimittelkommission der deutschen Ärzteschaft unlängst durchgeführt hat. Im Zeitraum der letzten sechs Jahre (1993-1998) wurden insgesamt 676 Agranulocytose-Verdachtsfälle unter Arzneimittel gemeldet (persönliche Mitteilung; Dr. Tiaden, AkdÄ, Köln). Hierunter befinden sich neben Psychopharmaka auch z.B. Antibiotika und verschiedene Herzmedikamente. Im einzelnen handelt es sich u.a. um Arzneimittel wie Thioridazin, Trevilor, Olanzapin, Moclobemid / Penicillinamid, Roxithromycin, Clindamycin, Tetracyclin / Beta-Acetyldigoxin, Bisoprolol (Einfach- oder Zweifachnennungen)

Aus diesen inhaltlichen Gründen begannen wir unsere erweiterten pharmakogenetischen Untersuchungen zunächst bei Patienten, die unter dem Neuroleptikum Olanzapin eine deutliche Verringerung der Leukocytenzahlen entwickelt hatten. Unser Interesse an Olanzapin-induzierten Blutbildveränderungen begründete sich darin, daß Olanzapin dem Clozapin strukturell verwandt ist und es diesbezüglich möglich schien, daß ähnliche Mechanismen wie die für Clozapin hypostasierten an der möglichen Entwicklung einer Olanzapin-induzierten Blutbildveränderung verantwortlich sein könnten. Zwar wurden in präklinischen Studien mit Ausnahme asymptomatischer Transaminasenerhöhungen keine bedrohlichen Arzneimittelnebenwirkungen und insbesondere keine tierexperimentellen Hinweise auf ein erhöhtes Agranulocytoserisiko beschrieben (Nemeroff et al., 1997); in Anbetracht eines hypostasierten *Idiosyncatic Drug Reaction*-Modells auch bei der Olanzapin-induzierten Agranulocytose, schien dies aber kein ausreichend valider Beleg dafür, daß diese Nebenwirkung beim Menschen nicht auftreten kann. Und auch die historische Erfahrung mit der Clozapin-induzierten Agranulocytose zeigte, daß mitunter Jahre vergehen können, bei Clozapin

immerhin sieben Jahre zwischen Markteinführung und ersten Veröffentlichungen über erhöhtes Agranulocytoserisiko, bis schwere Nebenwirkungen verschiedener Arzneimittel klinisch apparent werden. Der Arzneimittelkommission der deutschen Ärzteschaft waren bei Studienbeginn 34 Verdachtsmeldungen bzgl. Veränderungen des weißen Blutbildes unter Olanzapin gemeldet (Stand 11/98) worden, darunter 18 Patienten mit Leukopenien und ein Patient mit einer Agranulocytose. Wir recherchierten die im Rahmen des Spontanerfassungssystems der Arzneimittelkommission registrierten Daten um einen möglichen Zusammenhang zwischen Olanzapinmedikation und Blutbildveränderung zu belegen. Es zeigte sich, daß dieser Zusammenhang in einem überwiegenden Teil der Verdachtsmeldungen nicht eindeutig zu belegen war, es aber dennoch mindestens zwei Fälle gab, bei denen ein Zusammenhang hochwahrscheinlich war. Diese Patienten wurden von uns rekrutiert und deren Blut einer HLA-Typisierung zugeführt.

#### **2.4.2.2 Methodik**

Analog zu unseren Untersuchungen zur Clozapin-induzierten Agranulocytose wurden HLA-A, -B, -C, DRB und DQB Allele mittels PCR-Verfahren identifiziert. Die DNA wurde mittels eines standardisierten Chloroform/Phenol-Extraktes aus venösen Leukocyten isoliert. Die Sequenzen der variablen und damit charakterisierenden Genregionen waren bekannt. Aufgrund dieser Bekanntheit der beschriebenen HLA-Loci gelang es ohne Schwierigkeiten PCR-generierte Amplifikate herzustellen und diese zu spezifizieren. Ebenso analog zur Clozapin-Untersuchung erfolgte Identifizierung, schriftliche Aufklärung und Einwilligung der Patienten und die statistische Bearbeitung der Ergebnisse.

#### **2.4.2.3 Ergebnisse und Diskussion**

Wir konnten zwei Patienten identifizieren, deren Blutbildveränderungen im Sinne einer Leukopenie/Agranulocytose mit hoher Wahrscheinlichkeit auf die Einnahme von Olanzapin zurückzuführen war. Diese hohe Wahrscheinlichkeit des Zusammenhangs zwischen Blutbildveränderung und Olanzapinexposition ergab sich aus der Anamnese der Medikamentenexposition der Patienten, deshalb wird diese ausführlich dargestellt.

Die erste Patientin war 24 Jahre alt und Kaukasierin. Sie hatte erstmals eine Episode einer paranoiden Schizophrenie erlitten, und bis zu ihrer stationären Aufnahme niemals Neuroleptika eingenommen. Zunächst hatte die Patientin das Neuroleptikum Perazin erhalten, von dem keine erhöhten Inzidenzen von Agranulocytosen bekannt sind. Während einer elfwöchigen Therapie

unter Perazin zeigten sich gegenüber dem Blutbild bei Aufnahme keine wesentlichen Veränderungen (4300 Leukocyten bei einer Neutrophilenzahl von 1700/nl). Aufgrund einer Elektrolytentgleisung der Patientin (Hyponatriaemie) wurde die neuroleptische Medikation umgesetzt, zunächst auf Flupentixol. Hierunter war der Blutbildstatus der Patientin unauffällig (5500 Leukocyten/nl; 2100 neutrophile Granulocyten/nl). Sie entwickelte jedoch starke extrapyramidal-motorische Nebenwirkungen, so daß sie erneut auf ein anderes Neuroleptikum umgesetzt werden mußte. Die Patientin erhielt Risperidon und im weiteren Verlauf Pimozid. Es zeigten sich zwar ebenfalls keine Veränderungen des Blutbildes, aber auch keine adäquate antipsychotische Wirkung, so daß die Patientin dann Olanzapin in aufsteigender Dosierung bis 15 mg/die erhielt. Nach nur fünf Tagen entwickelte die Patienten einen starken Abfall ihrer Leukocyten- (4000/nl) und insbesondere (neutrophilen) Granulocytenanzahl (auf 1040/nl). Dies entsprach einer Neutropenie. Nach sofortigem Absetzen der Olanzapinmedikation regenerierte sich der Blutbildstatus der Patientin binnen einer Woche (5500/nl Leukocyten, 2310 neutrophile Granulocyten/nl).

Wir definierten dieses Geschehen als eine mit hoher Wahrscheinlichkeit durch Olanzapin induzierte Neutropenie, da die Patientin zum Zeitpunkt des Geschehens nur dieses Medikament erhalten hatte. Zudem zeigte sich in diesem Kasus, daß Olanzapin im Vergleich zu allen anderen bei der Patientin eingesetzten Neuroleptika die höchste myelotoxische Potenz aufzuweisen schien. Auch der rasante Abfall und die zügige Regeneration des Blutbildes nach Absetzen entspricht dem Verlauf klassischer Neuroleptika-induzierter Agranulocytosen.

Die zweite Patientin war 27 Jahre und ebenfalls Kaukasierin. Bei ihr bestand seit mehreren Jahren die Diagnose einer paranoiden Schizophrenie. Die Patientin wurde bereits vier Monate mit Olanzapin behandelt, ohne daß sich irgendwelche Veränderungen des weißen Blutbildes gezeigt hatten. Nach vier Monaten solitärer Medikation mit Olanzapin, hatte die Patientin ein leichtgradiges depressives Querschnittssyndrom entwickelt und wurde zusätzlich mit 75 mg Amitriptylin/die behandelt. Fünf Wochen nach Beginn dieser Comedikation zeigte die Patientin innerhalb einer Woche einen dramatischen Rückgang ihrer Leukocytenzahl (2700/nl) und neutrophilen Granulocytenzahl (405/nl). Der letztere Differential-Blutbildbefund entsprach damit einer Agranulocytose. Nach Absetzen beider Medikamente erholte sich das weiße Blutbild innerhalb weniger Tage.

Trotz der Comedikation werteten wir dieses Geschehen als eine mit hoher Wahrscheinlichkeit durch Olanzapin induzierte Agranulocytose, da Amitriptylin-induzierte Blutbildveränderungen

noch wesentlich seltener als bei Neuroleptika auftreten (Inman et al., 1988) und der zeitliche Verlauf der Agranulocytose wiederum typisch für Neuroleptika-induzierte Blutbildveränderungen war. Auch bei kontroverser Diskussion unserer Argumentation bzgl. des Amitriptylin schien aber zumindest durch diesen Fall eindeutig dokumentiert, daß Olanzapin durchaus knochenmarkstoxisches Potential entwickeln konnte. Diese Potenz war möglicherweise durch Hinzunahme eines weiteren Psychopharmakons, bei diesem Kasus durch Hinzunahme von Amitriptylin, verstärkt worden.

Die HLA-Typisierung beider Patienten ergab für Patient 1 den Haplotyp HLA-A2, B7, Cw07, DRB1\*0101/\*1501, DRB5\*0101, DPB \*0501/\*1001 und DQB \*0501/\*0601 und für Patient 2 A2/24, B62, Cw03, DRB1\*0401/\*1301, DRB3\*0202, DRB4\*0101, DPB 0401/0401 und DQB \*0302/\*0602.

Beide Haplotypen sind bisher noch nicht gehäuft bei Agranulocytosepatienten beschrieben worden, was aber aufgrund der Anzahl von nur zwei Fällen nicht überbewertet werden sollte und weiterer Untersuchungen bedarf.

Diese Untersuchung intendierte zum einen, im Sinne eines Screenings erste Untersuchungen zur Identifizierung von Trait-Markern (z.B. HLA-Haplotyp) einer Arzneimittelnebenwirkung (Olanzapin-induzierte Neutropenie bzw. Agranulocytose) durchzuführen. Zum anderen begannen wir mit dieser Untersuchung eine genetisch-orientierte Datensammlung auch für Olanzapin-induzierte Blutbildveränderungen aufzubauen, im Sinne einer Erweiterung unserer ursprünglichen Untersuchungen zur Clozapin-induzierten Agranulocytose. Dies erschien aufgrund der historischen Erfahrung mit der Clozapin-induzierten Agranulocytose und der relativen strukturellen Ähnlichkeit beider Substanzen sinnvoll.

### **2.4.3 Untersuchungen zum Metabolismus von Arzneimitteln**

Sachse C, Ruschen S, Dettling M, Schley J, Bauer S, Müller-Oerlinghausen B, Roots I, Brockmüller J: Flavin monooxygenase (FMO3) polymorphism in a caucasian population: allele frequencies, mutation linkage and functional effects on clozapine and caffeine metabolism. *Clinical Pharmacology and Therapeutics*. 66: 431-438, 1999

Dettling M, Sachse C, Brockmüller J, Schley J, Müller-Oerlinghausen B, Pickersgill I, Rolfs A, Schaub R, Schmid J : Longterm therapeutic drug monitoring of clozapine and metabolites in psychiatric in- and outpatients. *Psychopharmacology*. In press, 2000

#### **2.4.3.1 Einführung**

Um mögliche Interaktionen zwischen dem Metabolismus eines Arzneimittels und seinen Wirkungen bzw. Nebenwirkungen identifizieren zu können, ist es notwendig, sich Klarheit über

die an dem Metabolismus der untersuchten Substanz beteiligten Enzymsysteme zu verschaffen. Wenn die beteiligten Enzymsysteme identifiziert sind, kann man in einem weiteren Schritt überprüfen, inwieweit das Auftreten bestimmter Nebenwirkungen mit nachgewiesenen Mutationen dieser Enzymsysteme assoziiert ist. Gelingt dieser Nachweis, wäre es möglich vor einer Therapie mit einem Arzneimittel potentielle Risikopatienten (Träger von Mutationen) zu identifizieren, was einer Charakterisierung dieser Mutationen als *Trait*-Marker in Bezug auf die entsprechende Nebenwirkung entspräche.

Entgegen einer weitverbreiteten Meinung ist das Wissen um die Enzymsysteme, die verschiedene Arzneimittel metabolisieren, eher gering. So gibt es nur wenige Arzneimittel, deren Metabolisierungswege eindeutig geklärt sind. Pharmakogenetische und pharmakokinetische Untersuchungen tragen hier entscheidend dazu bei, diesen wichtigen Bereich der Psychopharmakologie zu erforschen.

Die Metabolisierung von Clozapin ist ein Beispiel für eine noch weitgehend ungeklärte pharmakokinetische Mechanismen. Bei Beginn unserer pharmakokinetischen Untersuchung zum Clozapin waren folgende Befunde bekannt: erstens, die Serumkonzentrationen von Clozapin weisen eine hohe interindividuelle und geringe intraindividuelle Unterschiede auf; es besteht eine lineare Dosis/Konzentrations-Abhängigkeit (Cooper et al., 1996). Aufgrund dieser Eigenschaften wurde seit den 80er Jahren für Clozapin bei Vorliegen bestimmter Kriterien ein sog. Therapeutisches *Drugmonitoring* (TDM) empfohlen. Diese Kriterien waren Complianceprobleme und/oder fehlende therapeutische Wirkung, das Auftreten von Nebenwirkungen und Behandlung mit zusätzlichen Psychopharmaka. Kontrovers wurde diskutiert, ob für Clozapin eine sogenannte Schwellenkonzentration, d.h. ob eine Konzentration bei der die Rate der Clozapinresponder ansteigt, existiert. Einige, v.a. US-amerikanische Studien bejahten dies, und definierten diese Konzentration bei 350-420 ng/ml (Perry et al, 1991; Hasegawa et al., 1993; Potkin et al., 1994; Miller et al., 1994; Kronig et al., 1995). Einige europäische Untersuchungen konnten bei ihren Patienten keinen derartigen Zusammenhang beschreiben, und wiesen zudem darauf hin, daß auch bei den Patienten der US-amerikanischen Studien eine hohe Rate der Responder (20-50%) mit niedrigeren Serumkonzentrationen respondierten. Resultat dieser kontroversen Diskussionen war, daß die Überprüfung einer Schwellenkonzentration als Beleg für Response oder Nonresponse unter Clozapin nicht als Indikation für ein TDM implementiert wurde. Zweitens, es war auch bekannt, daß die Höhe der Clozapin-Serumkonzentrationen von individuellen klinischen Variablen wie Alter, Geschlecht, Körpergewicht, Rauchverhalten, aber auch der Aktivität der Cytochrom P450-

Isoenzyme abhängen. Einige Befunde bedurften allerdings der Überprüfung, wie z.B. der Effekt des Rauchens auf die Serumkonzentration von Clozapin. Um den Einfluß von Serumkonzentrationen und deren metabolischer Mechanismen auf die Clozapinresponse zu bestimmen, führte unsere Arbeitsgruppe ein zehnwöchiges Clozapin TDM mit der Bestimmung von Clozapin und seinen Hauptmetaboliten, Norclozapin und Clozapin-N-Oxid, sowie eine parallele Evaluierung demographischer, klinischer und psychiatrischer Daten durch. Analog zu unseren Cytochrom P450 (CYP) 2D6-Untersuchungen bei Patienten mit einer Clozapin-induzierten Agranulocytose führten wir bei unseren TDM-Patienten auch 2D6-Genotypisierungen durch, um dessen Beteiligung am Abbau von Clozapin zu belegen.

Ebenso wie die Cytochrom P450-Isoenzyme zeigt auch die Flavin-enthaltene Monooxygenase 3 (FMO3) eine ausgeprägte funktionale und molekulargenetische Variabilität; bisher sind sechs Polymorphismen bekannt, die für einen Aminosäureaustausch codieren: M<sub>66</sub>I, P<sub>153</sub>L, E<sub>158</sub>K, V<sub>257</sub>M, E<sub>305</sub>X und E<sub>308</sub>G (Dolphin et al., 1997; Treacy et al., 1998). Es wurde für Koffein, Trimethylamin und Methimazol nachgewiesen, daß FMO3-Polymorphismen für veränderte Funktionen im Bereich der N- und S-Oxidation von Arzneimitteln verantwortlich sind. Diese Befunde schienen aufgrund des bekannten Metabolisierungsweges von Clozapin interessant, und in vitro-Untersuchungen zeigten, daß FMO3 die primäre Oxidation von Clozapin zu Clozapin-N-Oxid katalysiert (Tugnait et al., 1997; Fang et al., 1998).

Um Aufschlüsse über die Frequenz von FMO3-Polymorphismen und deren mögliche Beteiligung am Clozapin- und am Koffeinmetabolismus zu erhalten, untersuchten wir zunächst mit Clozapin behandelte schizophrene Patienten und gesunde Kontrollpersonen.

#### **2.4.3.2 Methodik**

Einschlußkriterien für unsere pharmakokinetische Untersuchung waren die Diagnose einer paranoiden Schizophrenie nach DSM-III-R Kriterien, Alter zwischen 18-60 Jahren, vorherige neuroleptische Behandlung der Patienten mit zwei klassischen Neuroleptika ohne relevante klinische Besserung und/oder Auftreten schwerer extrapyramidalmotorischer Nebenwirkungen, und das Fehlen klinisch relevanter internistischer und/oder neurologischer Erkrankungen. Retrospektiv bewertet wurden nur Patienten, die solitär mit Clozapin behandelt wurden. Nach einer klinischen Eingangsuntersuchung wurden die Patienten mit Clozapin in aufsteigender Dosierung behandelt. Die Einstiegsdosis war 25 mg/Tag, die Aufdosierung erfolgte in 25-50 mg Schritten jeden 3.-4.Tag und die Dosis wurde auf 2-3 Einnahmezeiten aufgeteilt. Die Serumkonzentrationen wurden wöchentlich jeden Morgen 12 Stunden nach der letzten

Clozapineinnahme abgenommen. Patienten, die nach 10 Wochen im Vergleich zur Eingangsuntersuchung eine mehr als 20% Reduktion ihrer BPRS-Werte aufwiesen, wurden als Responder definiert. Patienten, die pro Tag mehr als 10 Zigaretten rauchten, wurden als Raucher definiert. Die Serumkonzentrationen von Clozapin, Norclozapin und Clozapin-N-Oxid wurden analog zu einem von Weigmann und Hiemke beschriebenen Verfahren bestimmt (Weigmann et al., 1992). Die geringste messbare Konzentration für alle drei Metaboliten war 3-4 ng/ml Serum. Die Varianzkoeffizienten lagen zwischen 3-7%. Die *recovery rate* betrug 90% für Clozapin, 80% für Norclozapin und 72% für Clozapin-N-Oxid. Die Gruppen (Responder/Nonresponder; Raucher/Nichtraucher etc.) wurden mittels t-Test oder einer ANOVA verglichen, Korrelationen wurden mit einer linearen Regression untersucht. In unserer Untersuchung zu den FMO3-Polymorphismen wurde für die Lokalisierung der bekannten FMO3-Polymorphismen P<sub>153</sub>L und E<sub>158</sub>G der PCR-RFLP-Test von Dolphin (Dolphin et al., 1997) durchgeführt, für die restlichen 4 Mutationen wurden spezifische PCR-RFLP-Mechanismen etabliert (*artificially created restrictions side strategy*; ACRS-PCR). Alle anderen Genotypisierungsuntersuchungen (DNA-Extraktion etc.) entsprechen den bereits beschriebenen Untersuchungsmethoden. Einzelnen ausgewählten Patienten wurde analog zu unserer Kinetikuntersuchung über einen zehnwöchigen Zeitraum Blut für die Bestimmung von Clozapin und seinen Hauptmetaboliten entnommen.

Die gesunden Kontrollpersonen erhielten zusätzlich zur Bestimmung der FMO3-Polymorphismen noch eine Phänotypisierungsuntersuchung, um die metabolische Kapazität der Kontrollpersonen bzgl. des Koffeinabbaus zu testen. Die Kontrollpersonen erhielten eine einmalige Dosis von 100 mg Koffein (Koffeinum purum, Berlin-Chemie); unmittelbar im Anschluß daran wurden über 5 Stunden die Urinkonzentrationen von Koffein, Paraxanthin (CYP 1A2-katalysiert) und Theophyllin bzw. Theobromin (FMO3-katalysiert) via HPLC gemessen (Grant et al., 1984). Signifikante Unterschiede bzgl. der Allelfrequenzen der FMO3-Mutationen wurden mittels eines two-tailed Fisher's Test (Systat 7.0 software, SPSS Inc.) untersucht.

#### **2.4.3.3 Ergebnisse und Diskussion**

34 Patienten beendeten die zehnwöchige Studie zum Clozapin-TDM; eine Patientin entwickelte eine Neutropenie nach insgesamt 4 Wochen Clozapinmedikation und mußte deshalb die Studie abbrechen. In Abhängigkeit der Responsekriterien konnten wir 21 Patienten als Responder (8 Frauen, 13 Männer) und 13 Patienten als Nonresponder (8 Frauen und fünf Männer) definieren. Raucher (N=25) und Nichtraucher (N=9) waren in beiden Gruppen annähernd gleichverteilt. Es

zeigten sich folgende klinische Variablen und Serumkonzentrationen bei Respondern und Nonrespondern (siehe Tabelle 12):

Tab. 12: Klinische Daten und Serumkonzentrationen von Clozapin, Norclozapin und Clozapin-N-Oxid bei Respondern (N=21) und Nonrespondern (N=13); \*p<0,05

	RESPONDER	NONRESPONDER
N	21	13
ALTER	31,5(SD=10,2)	37,4 (SD=10,5)
BMI ( kg/m2 )	25,4 (SD=1,9)	25,0 (SD=2,7)
BPRS	49,8 (SD=15.1)	42,6 (SD=12,6)
mean daily clozapine dose (mg)	320 (SD=221,2)	313 (SD=204,3)
Clozapinkonzentration (ng/ml)	210,7 (SD=175)	269,2 (SD=179,7)
Norclozapinkonzentration (ng/ml)	147,4 /SD=127,7)	190,5 (SD=135,3)
Clozapin-N-Oxid-Konz. (ng/ml)	39,6 (SD=28,4)	69,1 (SD=64,7)
Clozapinkonzentration dosis-korrigiert(ng/ml/mg)	0,6 (SD=0,3) *	1,0 (SD=0,6)
Norclozapin/Clozapin Ratio	0,8 (SD=0,3)	0,7 (SD=0,2)
Clozapin-N-Oxid/Clozapin Ratio	0,3 (SD=0,1)	0,4 (SD=0,6)

Teilten wir die Gesamtgruppe in Raucher und Nichtraucher auf, zeigten sich für einzelne Serumkonzentrationen folgende Ergebnisse:

Tab. 13: Serumkonzentrationen von Clozapin, Norclozapin und Clozapin-N-Oxid bei Rauchern (N=25) und Nichtrauchern (N=9); \*p<0,001. CV=intraindividuelle Varianz der Serumkonzentrationen, alle Werte dosiskorrigiert

	RAUCHER	NICHTRAUCHER
N	25	9
CV der Metaboliten (ng/ml/mg)	0,3 (SD=0,1) *	0,4 (SD=0,2)
Clozapinkonzentration (ng/ml/mg)	0,6 (SD=0,2) *	1,1 (SD=0,2)
Norclozapin/Clozapin Ratio	0,8 (SD=0,3)	0,6 (SD=0,2)
Clozapin-N-Oxid/Clozapin Ratio	0,3 (SD=0,4)	0,2 (SD=0,1)

Der CYP2D6-Genotypus hatte keinen Einfluß auf die absoluten Clozapinkonzentrationen ( $F=0,5$ ;  $p<0,7$ ), auf die dosiskorrigierten Clozapinkonzentrationen ( $F=1,3$ ;  $p<0,3$ ) und den Behandlungserfolg ( $\chi^2=2,3$ ,  $p=0,52$ ).

Zusammenfassend fanden wir also zwei klinisch relevante Ergebnisse in unserer Untersuchung: erstens, Responder und Nonresponder unterschieden sich mit Ausnahme der dosis-korrigierten Clozapinkonzentrationen nicht in ihren Clozapin- bzw. Metabolitenserumkonzentrationen und den entsprechenden Ratios. Wir fanden auch keine Hinweise für eine Schwellenkonzentration für Clozapin-Response. Zweitens, das Rauchverhalten war die einzige klinische Variable, die signifikant auf die Serumkonzentration von Clozapin und seinen Metaboliten einwirkte.

Aufgrund der Tatsache, daß wir im Rahmen unseres Clozapin-TDM zwischen Respondern und Non-Respondern keinerlei Unterschiede in den nativen Serumkonzentrationen von Clozapin und seinen beiden Hauptmetaboliten und auch nicht in deren metabolischer Ratio gefunden hatten, wurden Vorbefunde bestätigt, die ein kontinuierliches TDM über die vorbeschriebenen Indikationen hinaus als nicht notwendig erachten. Die signifikanten Unterschiede zwischen Respondern und Nonrespondern bzgl. ihrer dosiskorrigierten Clozapinkonzentration interpretierten wir als Indiz dafür, daß die Responder eine höhere Clozapinclearance im Vergleich zu Nonrespondern aufwiesen.

Die Clozapinclearance aber ist zu großen Teilen von der Aktivität der Cytochrom P 450-Isoenzyme abhängig. Diese wiederum ist von vielerlei Faktoren wie Inhibierung und Induktion durch andere Medikamente und allelischen CYP 450-Varianten eines Individuums abhängig. Eine Beziehung zwischen CYP2D6-Genotypus und nativen Clozapinkonzentrationen konnte in dieser Untersuchung wie in anderen auch (Dahl et al., 1994) aber nicht gefunden werden. Eine solche Assoziation zeigte sich, wie wir erstmalig beschreiben konnten, auch nicht bei dosiskorrigierten Clozapinkonzentrationen. All dies zusammengenommen, deutet also vieles daraufhin, daß es zwar eine unterschiedliche Response auf Clozapin in Abhängigkeit der Clozapinclearance gibt, die Clozapinclearance aber nicht mit dem 2D6-Status der Individuen zusammenhängt.

Unsere Untersuchung ergab also Hinweise auf die Relevanz anderer Isoenzyme des CYP-450-Systems für die Response auf Clozapin, z.B. 1A2 und 3A4, denen eine starke Beteiligung an der Metabolisierung von Clozapin zugeschrieben wird (Eiermann et al., 1997).

Wir konnten auch keine Clozapin-Schwellenkonzentration für die Response unter Clozapin

feststellen. Wir bildeten in Abhängigkeit der Clozapin-Serumkonzentrationen zwei Responsegruppen: Response bei niedrigen Konzentrationen (<350 ng/ml, N=26 (17 Responder und 9 Nonresponder)) und Response bei hohen Konzentrationen (>350 ng/ml, N=8 (4 Responder und 4 Nonresponder)). Die Verteilung von Respondern und Nonrespondern in diesen beiden Gruppen deutete daraufhin, daß es keine Beziehung zwischen der Höhe der nativen Clozapin-Serumkonzentration und einer Response unter Clozapin zu geben schien. In der Patientengruppe mit niedrigen Konzentrationen (unter 350 ng/ml) zeigte sich eine Responserate von 65%. Dies entspricht durchaus den üblichen Responseraten auch höher dosierter Untersuchungen und deutete daraufhin, daß auch mit wesentlich niedrigeren Serumkonzentrationen als 350-420 ng/ml eine ausreichende klinische Responserate erreicht wird.

Rauchen stellte sich in unsere Untersuchung als die einzige klinische Variable dar, die deutlich signifikant auf die Serumkonzentrationen von Clozapin und seinen Metaboliten einwirkte. Da Raucher in unserem Kollektiv signifikant höhere Dosen erhielten (392+192 mg vs. 110+87 mg,  $F=17,7$ ,  $p<0,0002$ ) berechneten wir die dosiskorrigierten Werte und fanden signifikante Unterschiede: Nichtraucher wiesen einen signifikant höheren Konzentrations/Dosis-Quotienten auf. Dieser Befund bestätigte Vorbefunde, die einen signifikanten Effekt von Rauchen auf die Serumkonzentration von Clozapin im Sinne einer Reduktion feststellten (Haring et al., 1994; Centorrino et al., 1994). Eine wahrscheinliche Erklärung hierfür ist die maximale Induktion des wesentlich am Clozapinmetabolismus beteiligten hepatischen Isoenzym CYP 1A2 bei Rauchern.

*Zusammengefaßt zeigten unsere Ergebnisse des Clozapin-TDM eine CYP-2D6 Genotyp-unabhängig unterschiedliche Clozapin-clearance von Clozapin-Respondern und Nonrespondern. Möglicherweise sind hierfür andere Cyp 450-Isoenzyme verantwortlich. Es konnten keine weiteren klinisch relevanten Parameter ermittelt werden, die es erlauben zwischen Respondern und Nonrespondern zu differenzieren. Das Rauchverhalten der einzelnen Individuen hatte im Gegensatz zum 2D6-Genotypus einen großen Einfluß auf den Clozapinmetabolismus.*

In unserer in vivo-Untersuchung zum FMO3-Polymorphismus verglichen wir bei ausgewählten Patienten den FMO3-Genotypus und die Serumkonzentrationen der Patienten über den Zeitraum von zehn Wochen. Weder die Mutation K158 noch die Mutationen M257 und G308 hatten Effekte auf die Metabolitenkonzentration von Clozapin und/oder Koffein. Die Clozapin-N-Oxid Ratio erwies sich aufgrund der hohen Stabilität der Serumkonzentrationsmessungen aller

Metaboliten als guter Marker der intraindividuellen enzymatischen Aktivität, die beschriebenen Mutationen hatten hierauf aber keinen funktionalen Effekt (Kruskall-Wallis, n.s.).

*Zusammengefaßt ergab diese Untersuchung zu der Beteiligung von FMO3-Polymorphismen und deren Anteil am Clozapinmetabolismus keinen positiven Befund, der auf eine übergeordnete Bedeutung dieses Enzymsystems bei der Generierung des Clozapin-N-Oxids hinwies. Beide hier beschriebene Untersuchungen konnten insgesamt also keine wesentlich neuen bzw. eindeutig gesicherten Erkenntnisse zum Metabolismus von Clozapin liefern und bedürfen einiger Anschlußuntersuchungen.*

### **3. PERSPEKTIVEN DES FORSCHUNGSGEBIETES**

Um die Perspektiven der in dieser Habilitationsschrift beschriebenen Untersuchungsmethoden differenziert diskutieren zu können, möchte ich vorab nochmals kurz den Stand der Forschung und die Ergebnisse der einzelnen Untersuchungen zusammenfassen, um anschließend die Perspektiven der Markerforschung in dem jeweiligen Forschungsgebiet dazustellen.

Die Ätiologie der Depression ist bis heute ungeklärt, weder genetische noch andere Konzepte wie die Noradrenalinmangel-Hypothese haben zu letztendlich überzeugenden Ätiologiemodellen geführt. So wird auch heute noch die Diagnose einer Depression letztendlich allein aufgrund vorliegender psychopathologischer Querschnittssymptomatik diagnostiziert, und ätiologisch multifaktorielles Geschehen angenommen. Dies bedeutet, daß für die Auslösung einer Depression sowohl genetische Vulnerabilität als auch lebensgeschichtliche Ereignisse eine überragende Rolle spielen. Die Fehlregulation des HHN-Systems unterliegt vermutlich denselben Faktoren, was für die Bewertung der mitunter verwirrenden und sich widersprechenden DEX/CRH-Testergebnisse wichtig ist.

Die vorgestellten Arbeiten zum HHN-System haben gezeigt, daß eine überstimulierte Glucocorticoidregulation unabhängig von der dargestellten Ebene generell ein Phänomen bei verschiedenen psychiatrischen Erkrankungen wie Depression, Manie und Schizophrenie ist, aber auch nosologieunabhängig als Alterserscheinung auftritt.

In Abhängigkeit der Ebene des HHN-Systems kann man aber insbesondere die stabilen Ergebnisse der DEX/CRH-Untersuchungen durchaus als *State*- wenn nicht Residualmarker für affektive Erkrankungen charakterisieren, bei der Depression noch deutlicher ausgeprägt als bei der Manie. Mittels des DEX/CRH-Testes konnten bei zahlreichen Patienten im Rahmen eines DST nicht identifizierte HHN-Veränderungen aufgezeigt werden, was die hohe Spezifität des

DEX/CRH-Testes für die Identifizierung neuroendokriner Narben innerhalb des HHN-Systems widerspiegelt. Die Markerspezifität unserer DEX/CRH-Ergebnisse für die Depression ist im Vergleich zur Spezifität anderer potentieller Marker der Depression als relativ hoch einzuschätzen. Im einzelnen zeigten unsere klinischen Untersuchungen zum HHN-System folgende Ergebnisse: erstens, wir konnten zeigen, daß psychiatrische Patienten mit den Diagnosen Depression, Manie und Schizophrenie, in unterschiedlichem Ausmaß, nicht nur einen höheren Prozentsatz von DST-Nonsuppression zeigten, sondern auch eine statistisch signifikant erhöhte Stimulierbarkeit von Cortisol und einen statistischen Trend zur vermehrten ACTH-Freisetzung im Rahmen des DEX/CRH-Testes. Zweitens, in einer Therapiestudie mit Amitriptylin zeigte sich eindeutig eine zeitlich frühere Normalisierung der DEX/CRH-Befunde nach einer Woche im Vergleich zur Verbesserung der psychopathologischen Querschnittssymptomatik nach drei Wochen. Effekte des tricyclischen Antidepressivums auf die DEX/CRH-Befunde der gesunden Kontrollpersonen zeigten sich nicht. Drittens, während die DST-Ergebnisse eher krankheitsunabhängige Zustände des HHN-Systems reflektierten, bildete der DEX/CRH-Test eher "endogene" Narben im Bereich dieses Systems wider. Viertens, unsere Liquorstudie lieferte keine überzeugenden Belege für die CRH-*Overdrive*-Hypothese. Wir konnten keine signifikanten Unterschiede bzgl. des CRH-Liquorgehaltes von depressiven Patienten und Kontrollpersonen feststellen. Fünftens, wir konnten zeigen, daß die Variablen Alter und Geschlecht nach der Variablen Diagnose die wesentlichsten Einflußfaktoren bzgl. der Ergebnisse im DEX/CRH-Test darstellten.

Konklusiv bedeuteten unsere Ergebnisse, daß die durch den DEX/CRH-Test darstellbaren HHN-Systemveränderungen besonders bei der Depression stabil und ausgeprägt, und als *State*-Marker bzw. Residualmarker zu charakterisieren bzw. definieren waren. Die durch antidepressive Medikation induzierte Normalisierung der HHN-Regulationstörungen ging der psychopathologischen Verbesserung der Patienten voraus.

Neben anderen Untersuchungen des HHN-Systems insbesondere auf tierexperimenteller Ebene führten unsere klinischen Untersuchungen via neuroendokriner Funktions bzw. Stimulationstests in letzter Konsequenz zur Entwicklung neuer pharmakologischer Substanzklassen, die möglicherweise eine Alternative zur bisherigen medikamentösen Behandlungsformen der Depression darstellen. Ungeachtet der Frage, inwieweit die DEX/CRH-Befunde als *State*-Marker bzw. Residualmarker zu bewerten sind, zeigte v.a. unsere Untersuchung der Effekte antidepressiver Standardmedikation auf das HHN-System, die eine generelle medikamentöse Beeinflussbarkeit des Systems durch klassische Antidepressiva

belegten, daß die Markerforschung in diesem Bereich wichtige Beiträge liefern kann (Holsboer, 1999).

Diese neue potentiell antidepressiv wirksame Substanzklasse sind die CRH-Rezeptorantagonisten. Der Nachweis deren antidepressiver Wirksamkeit steht zwar noch aus, derzeit und in nächster Zukunft werden aber viele psychiatrische Zentren placebokontrollierte Untersuchungen durchführen. Indikationen für diese neue Substanzklasse scheinen aber nicht nur Depressionen, sondern auch Angsterkrankungen und Alkoholentzugssymptome zu sein, auch eine Indikation zur Rückfallprophylaxe bei Alkoholabhängigen scheint, basierend auf nachgewiesenen spezifischen HHN-Regulationsstörungen dieser Patienten zu bestehen (Timpl et al., 1998). Theoretisch ebenso vielversprechend sind auch andere Substanzen aus dem Bereich der das HHN-System beeinflussenden Medikamente: Steroid-Synthese-Inhibitoren, Glucocorticoid-Rezeptor-Antagonisten, Dexamethason-Substitution, sowie eine Kombination klassischer Antidepressiva mit Glucocorticoid-Rezeptor-Antagonisten (Murphy et al., 1991).

Die neuroendokrine Markerforschung im Bereich des HHN-Systems, die sich seit ca. 15-20 Jahren intensiv um ein Verständnis dieses komplexen Themas bemühte, erwies sich also als hochbedeutender Bestandteil eines *from bed to bench and back*-Zuganges an psychiatrische Erkrankungen. Analog zu den anderen Bereichen der Markerforschung über die in dieser Habilitationsschrift berichtet wurde, bestehen für den Forschungsbereich der neuroendokrinen Marker also durchaus vielversprechende und erfreuliche Zukunftsperspektiven, die darin bestehen, bei vorhandener klinischer Relevanz der neuroendokrinen Marker, dieses Wissen in spezifische neue medikamentöse Behandlungsstrategien umzusetzen.

Unsere neuroendokrinen Befunde zur Alkoholabhängigkeit zeigten aber, daß diese erfreuliche Perspektive trotz intensivster Bemühungen nicht immer am Ende eines solchen Prozesses besteht. In unseren Alkoholismusuntersuchungen zeigten sich eindeutig die Grenzen der Markerforschung.

Diese Grenzen bestehen erstens, in der Abhängigkeit dieses Forschungsbereiches von der Homo- bzw. Heterogenität der untersuchten Erkrankung, zweitens, in den Möglichkeiten eines medikamentösen Zuganges an eine heterogene Erkrankung und drittens, in der Auswahl des untersuchten Systems vor Untersuchungsbeginn.

Unsere Untersuchungen an alkoholabhängigen Patienten dienten ja nicht nur der Darstellung derer zentralen dopaminergen Neurotransmission, sondern auch der potentiellen Möglichkeit

hierüber Hinweise auf Sinnhaftigkeit des Einsatzes von (dopaminergen und/oder antidopaminergen) *Anticraving*-Substanzen, also rückfallverhütenden Substanzen zu erhalten. Dies gelang im Rahmen unserer Apomorphin-Untersuchungen nicht. Bei genauerer Betrachtung unserer Ergebnisse zeigten sich die Gründe hierfür aber sehr deutlich.

Unsere Untersuchungen bzgl. der dopaminergen Neurotransmission alkoholabhängiger Patienten zeigten zusammenfassend folgende Ergebnisse: Erstens, alkoholabhängige Patienten mit einem chronisch derangierten dopaminergen System, abgebildet durch reduzierte Responsivität der Dopamin D2-Rezeptoren nach Apomorphin-induzierter HGH-Sekretion, wiesen einen klinisch ungünstigeren Verlauf der Alkoholabhängigkeit auf. Das HGH-*Blunting* dieser Patienten war als Residualmarker zu werten, und in seiner klinischen Relevanz durchaus mit Variablen wie positiver Familienanamnese zu vergleichen. Zweitens, wir fanden keinen Hinweis darauf, daß das HGH-*Blunting* mit Persönlichkeitscharakteristika oder psychopathologischer Symptomatik assoziiert ist. Dies bedeutete, daß das dopaminerge System bzw. dessen Schädigungsgrad allein ein Abbild der Schwere der Alkoholabhängigkeit ist, und aller Wahrscheinlichkeit nach keine übergeordnete Bedeutung als Angriffspunkt für *Anticraving*-Substanzen besitzt. Drittens, wir fanden keine Hinweise darauf, daß das HGH-*Blunting* einer Subgruppe von alkoholabhängigen Patienten die Qualitätskriterien eines *Trait*-Markers besitzt.

Ohne Zweifel erwies sich die Apomorphin-induzierte HGH-Sekretion als klinisch unproblematisch durchzuführende Untersuchung mit spezifischem Aussagewert. Unsere Ergebnisse des HGH-*Blunting* wurden auch von anderen Arbeitsgruppen mehrfach bestätigt (Wiesbeck et al., 1998). Aber es deutete sich aufgrund der fehlenden Assoziation typischer Persönlichkeitscharakteristika mit den HGH-Befunden an, daß das dopaminerge System beeinflussende Medikamente nicht per se rückfallsprophylaktische (= *Anticraving*-) Effekte besitzen. Dies wurde später durch unsere klinischen Untersuchungen mit Lisurid, einem D2-agonistisch, D1-antagonistisch und serotonerg wirkenden Medikament bestaetigt. In diesen Untersuchungen sollten die *Anticraving*-Effekte des Lisurid untersucht werden. Während erste Ergebnisse der Lisurid/Placebo Studie unserer Forschergruppe noch hoffnungsvoll interpretiert wurden (Schmidt et a., 1994), zeigte sich beim Brechen des Codes, daß das Lisurid keinerlei *Anticraving* -Effekte besaß (nicht veröffentlicht).

Die fehlende *Anticraving*-Potenz dopaminergere Substanzen war insofern überraschend, als daß die überzeugenden tierexperimentellen Untersuchungen zum dopaminergen Belohnungssystem

durchaus Anlaß gaben, durch medikamentöse Interventionen auf dieses System suffizient einwirken zu können. Aber nicht nur Lisurid, sondern auch andere dopaminerg wirkende Substanzen zeigten keinerlei Effekte auf die Rückfallsfrequenz alkoholabhängiger Patienten. Ähnliches zeigte sich im übrigen auch bei rein serotonerg wirkenden Substanzen (George et al., 1992; Wiesbeck et al., 1999).

Die fehlenden Effekte dopaminerger Substanzen auf das *Craving* der Patienten ließen Rückschlüsse darauf zu, daß entweder die dopaminerge Responsivität der Rezeptoren aufgrund der irreversiblen Schädigung nicht mehr zu beeinflussen war, zumindest nicht bei physiologischer Dosierung des Lisurid, die gabaerge Kontrolle der HGH-Sekretion bedeutender war als bei Studienbeginn angenommen (Vescovi et al., 1998), oder das dopaminerge System zwar eine Rolle bei der Entwicklung zur (stoffgebundenen) chronischen Alkoholabhängigkeit spielt, für die psychologisch motivierten Verhaltensweisen, die einem Rückfall vorangehen aber ohne übergeordnete Bedeutung ist.

Während die meisten Untersuchungen von potentiellen Anticraving- Substanzen in den letzten 10 Jahren wenig erfolgsversprechende Ergebnisse lieferten, zeigten Studien mit Acamprosat, einem Calcium-Acetylhomotaurin, gute rückfallsprophylaktische Effekte (Saß et al., 1996).

Die genauen Wirkmechanismen dieser Substanz, insbesondere ihre Effekte im zentralen Nervensystem sind jedoch noch nicht eindeutig geklärt. Eine Untersuchung von Berton und Mitarbeiter lieferte erstmals deutliche Hinweise, daß die gute rückfallsprophylaktische Potenz des Acamprosat nicht nur via glutamerger Interaktionen (über NMDA(N-methyl-D-aspartat)-Rezeptoren) sondern auch über gabaerge Systeme vermittelt wird (Berton et al., 1998).

Basierend auf diesen neuen Erkenntnissen erscheinen die negativen Ergebnisse der dopaminergen Anticraving-Substanzen in einem neuen Licht. Analog zu Vescovi und Mitarbeiter könnte man hypostasieren, daß das dopaminerge System in seiner Bedeutung als Zielstruktur zur Verhinderung von Rückfällen auf Verhaltensebene in der zentralnervösen Hierarchie der Systeme nur basale Bedeutung hat, vielmehr gezielte Interaktionen mit dem GABAergen System als partiellem Regulator dopaminerger Transmission hier deutlich erfolgsversprechender sind. Die Suche nach geeigneten Anticraving-Substanzen wird in den nächsten Jahren sicher weiterhin im Fokus der wissenschaftlichen Bemühungen stehen, und es bleibt abzuwarten ob und zu welchem Anteil dopaminerg wirksame Substanzen noch eine Rolle spielen werden (Spanagel et al., 1997).

Zusammengefaßt bedeutet dies, daß auch die eindeutige Identifizierung und Charakterisierung eines krankheits- bzw. krankheitsstadienspezifischen Markers nicht bedeutet, daß dies zwangsläufig eine klinische Relevanz im Sinne einer neuen, medikamentösen Strategie und/oder günstige Effekte auf den klinischen Verlauf einer Erkrankung haben muß. Zumal wenn die zugrundeliegende bzw. untersuchte Erkrankung die Alkoholabhängigkeit ist, die im Vergleich zu allen deren psychiatrischen Erkrankungen eine erstaunliche Polygenie aufweist.

Erfreuerlicherweise stellen unsere pharmakogenetischen Arbeiten zur Clozapin-induzierten Agranulocytose, analog zu den neuroendokrinen Arbeiten zum HHN-System-dort allerdings mit anderen Perspektiven, aber wiederum ein eher vielversprechenderes Beispiel für Markerforschung in einem Forschungsbereich mit günstigen und relevanten Zukunftsperspektiven dar.

Die Zusammenarbeit zwischen Psychiatern und Klinischen Pharmakologen hat sich in den letzten 10 Jahren nicht zuletzt aufgrund der revolutionären Entwicklungen im Bereich der Molekularbiologie intensiv verstärkt. Dies betrifft insbesondere den Bereich der Psychopharmakologie zu, und hier v.a. den Bereich der Psychopharmaka-Nebenwirkungen und - Interaktionen. Hier wurde in den letzten Jahren die Suche nach klinisch relevanten *Trait*-Markern zunehmend intensiviert. Ohne allzu optimistische Bewertungen vornehmen zu wollen, ist zu erwarten, daß durch die Kooperation beider Fachdisziplinen deren Bedeutung für eine suffiziente Psychopharmakotherapie in den nächsten Jahren nicht nur für den Bereich der Pharmakogenetik, sondern auch für Fragen der Pharmakokinetik eher weiter zunehmen wird.

Um die Zukunftsperspektiven, die klinische Relevanz und die Konsequenzen wissenschaftlich seriöser Markerforschung mittels pharmakogenetischer Strategien näher darstellen zu können, werden zunächst die relevanten Ergebnisse unserer Untersuchung zur Clozapin-induzierten Agranulocytose nochmals zusammengefaßt: erstens, wir fanden keine Hinweise darauf, daß die am Clozapinmatabolismus bzw. der Generierung reaktiver Clozapinmetaboliten beteiligten Enzymsysteme CYP 350 2D6 und Myeloperoxidase bzgl der untersuchten Mutationen an der Entwicklung einer Clozapin-induzierten Agranulocytose beteiligt sind. Dies gilt im Falle der Myeloperoxidase aber nur für die untersuchte G463A-Basensubstitution. Zweitens, wir fanden annähernd signifikante Assoziationen des HLA-DQB1\*0201 mit der Clozapin-induzierten Agranulocytose. Dies könnte ein Hinweis darauf sein, daß dieser HLA-Haplotyp einen gemeinsamen genetischen Marker verschiedener ethnischer Gruppen für die Clozapin-induzierte Agranulocytose darstellt. Drittens (nicht Bestandteil dieser Habilitationsschrift),

hochsignifikante Assoziationen einzelner HLA-Haplotypen mit der Clozapin-induzierten Agranulocytose fanden wir für folgende Haplotypen: Cw7<sup>heterozygot</sup> ( $p < 0.02$ ), Cw7<sup>homozygot</sup> ( $p < 0.03$ ), Cw7<sup>homo- und heterozygot</sup> ( $p < 0.02$ ), DQB1\*0502 ( $p < 0.04$ ), DRB1\*0101 ( $p < 0.03$ ) und DRB3\*0202 ( $p < 0.02$ ). Ungeachtet aller, auch statistischen Unwägbarkeiten bei der Einschätzung der klinischen Relevanz HLA-assoziiertes Arzneimittelnebenwirkungen zeigen dieser Ergebnisse eine recht wahrscheinliche Beteiligung immunogenetischer Mechanismen bei dieser *Idiosyncratic Drug Reaction*. Während unsere neuroendokrinen Arbeiten zur Identifizierung von relevanten *State*- bzw. *Residual*markern innerhalb des HHN-Systems depressiver Patienten beitragen und damit letztendlich die Entwicklung neuer medikamentöser Behandlungsstrategien der Depression maßgeblich beeinflussen, werden durch unsere pharmakogenetischen Untersuchungen potentielle *Trait*-Marker der Clozapin-induzierten Agranulocytose charakterisiert. Diese Charakterisierung von Risikopatienten hat, neben einer Risikominderung für den einzelnen Patienten auch bedeutende und weitreichende Konsequenzen im gesundheitsökonomischen Bereich.

Diese Konsequenzen ergeben sich bei Betrachten des klinischen Wirkprofils des Clozapin und bei Betrachten der restriktiven Behandlungsmodalitäten bei Clozapinmedikation (u.a. regelmäßige Blutbildkontrollen, schriftliche Einverständniserklärung von Patient und Arzt, sofortiges Absetzen bei Erreichen auch nur verdächtiger Neutrophilenwerte).

Das Wirkprofil des Clozapin wird von erfahrenen Klinikern als außerordentlich günstig eingeschätzt. Insbesondere die Kombination von guter antipsychotischer Potenz mit nahezu völligem Fehlen extrapyramidalmotorischer Nebenwirkungen wie z.B. Spätdyskinesien ist hierfür verantwortlich. Diese Kombination macht Clozapin potentiell zu einem Neuroleptikum der 1. Wahl, käme es nicht zu dem bekannten, nicht vorhersehbaren und lebensbedrohenden Auftreten von Agranulocytosen in vergleichsweise hoher Inzidenz.

Fehlen von extrapyramidalmotorischen Nebenwirkung führt nachvollziehbar und durch klinische Erfahrung bestätigt zu einer wesentlich erhöhten Compliance schizophrener Patienten, und hier insbesondere bei den Patienten, die erstmals aufgrund psychotischer Symptomatik neuroleptisch behandelt werden müssen. Ein vermehrter Einsatz von Clozapin als Erstmedikation, ganz entgegen der derzeitigen Praxis des Einsatzes eines klassischen Neuroleptikums (mit klassischen Wirkungen und Nebenwirkungen) würde mit sehr hoher Wahrscheinlichkeit dazu führen, daß weniger Erkrankte ihre neuroleptische Medikation wegen der schwer erträglicher Nebenwirkungen ohne Wissen und Einverständnis der behandelnden

Ärzte absetzten. Damit würde sicher auch das dann wegen des Absetzen der Neuroleptika hohe Risiko einer Reexacerbation psychotischer Symptomatik und folgendem erneuten Krankenhausaufenthalt reduziert werden können.

Die maßgebliche Konsequenz eines Screenings auf potentielle *Trait*-Marker der Clozapin-induzierten Agranulocytose wäre also die Möglichkeit vor Beginn einer Clozapinbehandlung potentielle Risikopatienten zu identifizieren und auszuschliessen. Somit könnten wesentlich mehr potentiell von Clozapin als Erstmedikation profitierende schizophrene Patienten auf Clozapin eingestellt, und damit eine entscheidene Bedingung für eine höhere Patientencompliance, nämlich relative Nebenwirkungsarmut der krankheitsbedingt indizierten Neuroleptika geschaffen werden. Positiv für eine Complianceerhöhung würde sich sicher auch eine bei Charakterisierung von *Trait*-Markern der Clozapin-induzierten Agranulocytose mögliche Lockerung der restriktiven Verschreibungs- und Behandlungsmodalitäten von Clozapin auswirken. All diese unmittelbaren klinischen Konsequenzen eines Markerscreenings bzgl. der Clozapin-induzierten Agranulocytosen vor Behandlung mit Clozapin hätten langfristig bedeutende Folgen im gesundheitsökonomischen Bereich; sie führten zu weniger und kürzeren Krankenhausaufenthalten der Patienten und damit zu massiven Einsparungsmöglichkeiten des Gesundheitssystems bei dieser Patientengruppe. Diese Kosten sind immens, pars pro toto seien zwei epidemiologische Untersuchungen erwähnt. Salize und Mitarbeiter beschrieben den Langzeitverlauf der Versorgungskosten von schizophrenen Patienten in verschiedenen psychiatrischen Einrichtungen (psychiatrische Krankenhäuser, Nervenärzte, berufsrehabilitative Einrichtungen bzw. Maßnahmen) in einer Vergleichsuntersuchung (Salize et al., 1999). Während im Jahre 1979/80 jährliche Durchschnittskosten von 37.000,- DM pro Patient im Krankenhaus anfielen (Häfner et al., 1982), ergaben sich 1994/95 Kosten in Höhe von 65.000,- DM pro Patient. Diese Kosten lagen um 28,5% höher als bei Anlegen der allgemeinen Preissteigerungsrate über einen Zeitraum von 15 Jahren zu erwarten gewesen wäre. Während diese Daten unabhängig von der Wahl des verordneten Medikamentes der schizophrenen Patienten erhoben wurden, gaben Meltzer und Mitarbeiter in einer Untersuchung spezifische Daten für den Fall eines vermehrten Einsatzes von Clozapin in den USA an. Die Autoren konnten zweifelsfrei darlegen, daß die Behandlungskosten pro Patient und Jahr bei einem häufigeren Einsatz von Clozapin um 22% im Vergleich zu den Behandlungskosten der Therapie mit klassischen Neuroleptika reduziert werden (Meltzer et al., 1993). Diese 22%ige Reduzierung entsprach einer Kostensenkung um umgerechnet 35.000,- DM pro Patient und Jahr bei insgesamt höheren Gesamtbehandlungskosten in den USA im Vergleich zu Deutschland. Als

hauptsächlich verantwortlich für die reduzierten Behandlungskosten erwies sich die deutlich reduzierte Frequenz von Rehospitalisierungen. Diese Daten belegen eindeutig, daß die Identifizierung von Risikopatienten z.B. einer Clozapin-induzierten Agranulocytose über die Identifizierung eines *Trait*-Markers für die individuelle Risikominderung des Patienten hinaus, weitgehende Konsequenzen für die Psychiatrie und deren entsprechenden Interventionsmöglichkeiten hat. Eine engmaschige Kooperation zwischen Klinik und Klinischer Pharmakologie im Bereich medikamentöser Nebenwirkungen kann in den nächsten Jahren zunehmend ein hochmodernes und -effektives Instrumentarium für eine suffiziente und kostengünstige Psychopharmakotherapie werden, und darüberhinaus den Verlauf und die Prognose psychischer Erkrankungen äußerst positiv beeinflussen.

Wie diese Habilitationsschrift aufzeigt, ist die klinische Relevanz der Identifizierung von *State*-, *Trait* -und Residualmarkern für die biologische Psychiatrie in mehreren Bereichen wie neue medikamentöse Strategien, individuelle Risikominderung, klinische Verlaufsprognose und Behandlungskosten gegeben. Sollte die Strategie der Markerforschung auch in den nächsten Jahren wissenschaftlich seriös weiterverfolgt werden, ist in mehreren Bereichen weiter von einem nicht unerheblichen Benefit für die biologische Psychiatrie und die psychiatrischen Patienten auszugehen.

#### 4. LITERATURVERZEICHNIS

- Agren H, Lundquist G: Low levels of somatostatin in human CSF make depressive episodes. *Psychoneuroendocrinology*. 9: 233-248, 1984
- Alvir, J.M.J.: Clozapine-induced agranulocytosis. Incidence and risk factors in the United States. *Engl J Med*. 329: 162-167, 1993
- Amar A, Segman R, Shtrussberg S, Sherman L, Safirman C, Lerer B, Brautbar C. An association between clozapine-induced agranulocytosis in schizophrenics and HLA-DQB1\*0201. *Intern J Neuropsychopharmacol*. 1: 41-44, 1998
- Arana GW, Baldessarini RJ: Clinical use of the dexamethasone suppression test in psychiatry. In: Meltzer HY (ed) *Psychopharmacology: The third Generation of Progress*. New York: Raven Press, 609-615, 1987
- Arato M, Banki CM, Bissette G, Nemeroff, CB: Elevated CSF CRF in suicide victims. *Biol Psychiatry*. 25: 355-359, 1989
- Arbiser JL, Morton CC, Bruns GAP, Majzoub JA: Human corticotropin-releasing hormone gene is located on the long arm of chromosome 8. *Cytogenet Cell Genet*. 47: 113-117, 1988
- Arranz MJ, Munro J, Sham P, Kirov G, Murray RM, Collier DA, Kerwin RW: Meta-analysis of studies on genetic variation in 5-HT<sub>2A</sub> receptors and clozapine response. *Schizophr Res*. 32: 93-99, 1998
- Arthur H, Dahl ML, Siwers B, Sjoqvist F: Polymorphic drug metabolism in schizophrenic patients with tardive dyskinesia. *J Clin Psychopharmacol*. 15: 211-216, 1995
- Asnis GM, Eisenberg J, Lemus CZ, Halbreich U: Dexamethasone suppression test in schizophrenia. *Neuropsychobiology*. 15: 109-113, 1986
- Austin GE, Zhao WG, Zhang W, Austin ED, Finley HW, Murtagh JJ Jr.: Identification and characterization of the human myeloperoxidase promotor. *Leukemia*. 9: 848-857, 1995
- Austin GE, Chan WC, Zhao W, Racine M: Myeloperoxidase gene expression in normal granulopoiesis and acute leukemias. *Leuk Lymphom* 15: 209-226, 1996
- Axelrod J, Reisine D: Stress-hormones: their interaction and regulation. *Science*. 224: 452-459, 1984

- Balldin J, Alling G, Gottfries CG, Linstedt G, Langström G: Changes in dopamine receptor sensitivity in humans after heavy ethanol intake. *Psychopharmacology (Berl)*. 86: 142-146, 1989
- Balldin J, Berggren UC, Lindstedt G: Neuroendocrine evidence for reduced dopamine receptor sensitivity in alcoholism. *Alcohol Clin Exp Res* 16: 71-74. 1991
- Balldin J, Berggren U, Lindstedt G, Sundkler A: Further neuroendocrine evidence for reduced D2 dopamine receptor function in alcoholism. *Drug Alcohol Depend*. 32: 159-162, 1993
- Banki CM, Bissette G, Arato M, O'Connor L, Nemeroff MS, Nemeroff CB: CSF corticotropin-releasing factor-like immunoreactivity in depression and schizophrenia. *Am J Psychiatry*. 144: 7-11, 1987
- Batchelor JR, Welsh KI, Mansilla TR, Dollery CT, Hughes GRV, Bernstein R: Hydralazine-induced lupus erythematosus: influence of HLA-DR and sex on susceptibility. *Lancet*. 1:1107-1109, 1980
- Bech P, Rafaelsen OJ, Kramp P, Bolwig TG: The mania rating scale: Scale construction and inter-observer agreement. *Neuropharmacology*. 17:430-431, 1978
- Berton F, Francesconi WG, Madamba SG, Zieglgansberger W, Siggins GR: Acamprosate enhances N-methyl-D-aspartate receptor-mediated neurotransmission but inhibits presynaptic GABA(B) receptors in nucleus accumbens neurons. *Alcohol Clin Exp Res*. 22: 183-91, 1998
- Bissette G, Spielman F, Stanley M, Banki CM, Fink M, Tröskman-Bendz L, Golden RN, Arato M, Nemeroff CB: Further studies of corticotropin-releasing factor-like immunoreactivity in CSF of patients with affective disorders. *Soc Neurosci Abstr*. 11, 133, 1985
- Bissette G, Walleus H, Widerlov E, Karlsson I, Eklundt K, Loosen PT, Nemeroff CB: Reductions of cerebrospinal fluid concentrations of somatostatin-like immunoreactivity (SRIF-LI) in dementia, major depression and schizophrenia. In : Abstracts of the 14th. Annual Meeting of the Society of Biological Psychiatry. p177, (Abstr. 135) 1986
- Bissette G, Widerlov E, Walleus H, Karlsson I, Eklund K, Forsman A, Nemeroff CB: Alterations in cerebrospinal fluid concentrations of somatostatin-like immunoreactivity in neuropsychiatric disorders. *Arch Gen Psychiatry*. 43: 1148-1154, 1986

- Bleuler M: Untersuchungen aus dem Grenzgebiet zwischen Psychopathologie und Endokrinologie. Arch Psychiat Nervenkr. 180: 271-528, 1948
- Blum K, Noble E, Sheridan PJ, Montgomery A, Ritchie T, Jadadeeswaran P, Nogami H, Briggs AH, Cohn JB: Allelic association of humane dopamine D2 receptor gene in alcoholism. JAMA. 263: 2055-2059, 1990
- Bolos AM, Dean M, Lucas-Derse S, Ramsburg M, Brown GL, Goldman D: Population and pedigree studies reveal a lack of association between the dopamine D2 receptor gene and alcoholism. JAMA. 263: 3156-3160, 1990
- Bondesson, U., Lindström, L.H.: Determination of clozapine and its N-demethylated metabolite in plasma by use of gas-chromatography-mass-spectrometry with single ion detection. Psychopharmacology. 95: 472-475, 1988
- Brown M, Fisher L, Spiess J, Rivier C, Rivier J, Vale W: Corticotropin-releasing factor: actions on the sympathetic nervous system and metabolism. Endocrinology. 111: 928-931, 1982
- Buchsbaum MS, Haier RJ: Psychopathology: biological approaches. Ann Rev Psychol. 34: 310-430, 1983
- Carroll BJ: Neuroendocrine function in mania. In: Shopsin B (ed) Manic Illness. New York: Raven Press, 163-176, 1979
- Carroll BJ, Feinberg M, Greden JF, Tarika J, Alcala AA, Haskett RF, McJames N, Kronfol Z, Lohr N, Steiner M, deVigne JP, Young E: A specific laboratory test for the diagnosis of melancholia. Arch Gen Psychiatry. 38: 15-22, 1981
- Chang KS, Trujillo JM, Pugh WC, Freireich EJ, Stass SA: Developmental and differential regulation of human MPO gene in leukemic cells. Leukemia. 4: 497-501, 1990
- Chang KS, Zhao S, Wang Y, Lu J, Trujillo JM, Stass SA, Freireich EJ: Downregulation of myeloperoxidase gene associated with specific nucleosome hypersensitive site during TPA-induced differentiation of HL-60. Leukemia. 5: 205-209, 1991
- Cholerton S, Daly A, Idle J: The role of individual human cytochromes P450 in drug metabolism and clinical response. Trend Pharmacol Sci. 13: 434-439, 1992
- Ciraulo DA, Shader RI: Fluoxetine drug-drug interactions. I. Antidepressants and antipsychotics.

- J Clin Psychopharmacol. 10: 48-50, 1990
- Claas FHJ: Drug-induced agranulocytosis: review of possible mechanisms, and prospects for clozapine studies. Psychopharmacology (Berl). 99: S113-S117, 1989
- Claas, FHJ: Drug-induced agranulocytosis: review of possible mechanisms, and prospects for clozapine studies. Psychopharmacology. 99: S 113-117, 1989
- Clarke JB, Maggs JL, Kitteringham NR, Park BK: Immunogenicity of amodiaquine in the rat. Int Arch Allergy Appl Immunol. 91: 335-342, 1990
- Cloninger CR: Neurogenetic adaptive mechanisms in alcoholism. Science 236: 410-416, 1987
- Comings DE, Comings BG, Muhleman D, Dietz G, Shahbarami B, Tast D, Knell E, Kocsis P, Baumgarten R, Kovacs BW, Levy DL, Smith M, Kane JM, Lieberman JA, Klein DN, MacMurray J, Tosk J, Sverd J, Gysin R, Flanagan S: The dopamine D2 receptor locus as a modifying gene in neuropsychiatric disorders. JAMA. 266: 1793-1800, 1991
- Cook CCH, Brett P, Curtis D, Holmes D, Gurling MHD: Linkage analysis confirms a genetic effect at the D2 dopamine receptor locus in heavy drinking and alcoholism. Psychiatr Genet. 3: 130, 1993
- Cookson JC, Silverstone T, Williams S, Besser GM: Plasma cortisol levels in mania: Associated clinical ratings and changes during treatment with haloperidol Br J Psychiatry. 146: 498-502, 1985
- Cornfield J: A method of estimating comparative rates from clinical data: application to cancer of the lung, breast and cervix. J Int Canc Inst. 11: 1269-1275, 1951
- Corzo D, Yunis JJ, Salazar M, Lieberman JA, Howard A, Awdeh Z, Alper CA, Yunis EJ: The major histocompatibility complex region marked by HSP 70-1 und HSP 70-2 variants is associated with clozapine-induced agranulocytosis in two different ethnic groups. Blood. 86: 3835-3840, 1995
- Coutts RT: Polymorphisms in the metabolism of drugs, including antidepressant drugs: Comments of phenotyping. J Psychiatry Neurosci. 19: 30-44, 1994
- Cribb AE, Miller M, Tesoro A, Speilberg A: Peroxidase-dependent oxidation of sulfonamides by monocytes and neutrophils from humans and dogs. Mol Pharmacol. 38, 744-751, 1990

- Delay J, Deniker P: 38 cas de psychoses traités par la cure prolongée et coninué de 4568 R.P. Ann Med Psychol. 110: 363, 1952
- Dewan MJ, Pandurangi AK, Boucher ML, Levy BF, Major LF: Abnormal dexamethasone suppression test results in chronic schizophrenic patients. Am J Psychiatry. 139: 1501-1503, 1982
- DiChiara G, Imperato A.: Drugs abused by humans preferentially increase synaptic dopamine concentrations in the mesolimbic system of freely moving rats by ethanol. Proc Natl Acad Sci USA. 85:970-977, 1991
- Eiermann B, Engel G, Johansson I, Zanger UM, Bertilsson L: The involvement of CYP 1A2 and CYP 3A4 in the metabolism of clozapine. Br J Clin Pharmacol. 44:439-446, 1997
- Engel JA, Enerback C, Fahlke C, Hulthe P, Hard E, Johannessen K, Svensson L, Söderpalm B: Serotonergic and dopaminergic involvement in ethanol intake. In: Naranjo CA, Sellars EM: Novel Pharmacological Interventions for Alcoholism, Springer Inc., New York, pp 68-82, 1992
- Feldmann S: Neural pathways mediating adrenocortical responses. Fed Proc. 44: 169-172, 1985
- Fischer V, Vogels V, Maurer G, Thynes RE: The antipsychotic clozapine is metabolized by the polymorphic human microsomal and recombinant cytochrome P450 2D6. J Pharm Exp Ther. 260: 1355-1360, 1992
- Florio T, Ventra C, Postiglione A, Schettini G: Age-related alterations of somatostatin gene expression in different rat brain areas. Brain Res. 557: 64-68, 1991
- Furst, S.M., Uetrecht, J.P.: Carbamazepine metabolism to a reactive intermediate by the myeloperoxidase system of activated neutrophils. Biochemical Pharmacol, 45: 1267-1275, 1993
- Furutani Y, Morimoto Y, Shibahara S, Noda M, Takahashi H, Hirose T, Asai M, Inayama S, Hayashida H, Miyata T, Numa S: Cloning and sequence analysis of cDNA for ovine corticotropin-releasing factor precursor. Nature. 301: 537-540, 1983
- Gatto GJ, Murphy JM, McBride WJ, Lumeng L, Li TK: Intracranial self-administration of ethanol into the ventral tegmental area of alcohol-preferring rats. Alcohol Clin Exp Res. 14: 291,

1990

- Gelernter J, O'Malley SO, Risch N, Kranzler HJ, Krystal J, Merikangas K, Kennedy JL, Kidd KK: No association between an allele at the D2-dopamine receptor gene (DRD2) and alcoholism. *JAMA*. 266: 1801-1807, 1991
- George DT, Lindquist T, Rawlings RR, Eckardt MJ, Moss H, Mathis C, Martin PR, Linnoila M: Pharmacologic maintenance of abstinence in patients with alcoholism: no efficacy of 5-hydroxytryptophan or levodopa. *Clin Pharmacol Ther*. 52: 553-560, 1992
- Gerner RH, Yamada T: Altered neuropeptide concentrations in cerebrospinal fluid of psychiatric patients. *Biol Psychiatry*. 238: 298-302, 1982
- Gershon ES: Genetic vulnerability in psychiatric epidemiology. In *Risk Factor Research in the Major Mental Disorders. Proceedings of a Conference, April 3-4, ADAMHA, Washington DC, 1980*
- Gerson STL, Meltzer H: Mechanisms of clozapine-induced agranulocytosis. *Drug Safety*. 7, Suppl. 1: 17-25, 1992
- Gessa GL, Muntoni F, Collu M, Vargiu L, Mereu G: Low doses of ethanol activate dopaminergic neurons in the ventral tegmentum area. *Brain Res*. 348: 201-203, 1993
- Gibbons JL: Cortisol secretion in depressive illness. *Arch Gen Psychiatry*. 10: 572-575, 1964
- Gold PW, Goodwin FK: Vasopressin in affective illness. *Lancet* 1233-1235, 1978
- Gold PW, Robertson GL, Ballenger GC: Neurohypophyseal function in affective illness. *Psychopharmacological Bull*. 19: 426-431, 1983
- Gold PW, Chrousos G, Kellner C, Post R, Roy A, Augerios P, Schulte H, Oldfield E, Loriaux DL: Psychiatric implications of basic and clinical studies with corticotropin-releasing factor. *Am J Psychiatry*. 141: 619-627, 1984
- Gold PW, Goodwin FK, Chrousos GP: Clinical and biochemical manifestations of depression: Relation to the neurobiology of stress (II). *N Engl J Med*. 319: 413-420, 1988
- Goldman D, Dean M, Brown GL, Bolos AN, Tokola R, Virkunen M, Linnoila M: D2 dopamine receptor genotype and cerebral spinal fluid homovanillic acid, 5-hydroxyindoleacetic acid and 3-methoxy-4-hydroxyphenylglycol in alcoholics in Finland and the United States.

- Acta Psychiatr Scand. 86: 351-357, 1992
- Goldstein AR, Patterson R: J. Allergy Clin. Immunol., 74: 643, 1984
- Gonzalez FJ: Human cytochromes P450: problems and prospects. TIPS 13: 346-352, 1995
- Guillemin R, Rosenberg B: Humoral hypothalamic control of anterior pituitary: a study with combined tissue cultures. Endocrinology. 57: 599-607, 1955
- Häfner H, an der Heiden W: Evaluation gemeindenaher Versorgung psychisch Kranker. Ergebnisse von 4 Jahren wissenschaftlicher Begleitung der Aufbauphase des Mannheimer Modells. Arch Psychiatr Nervenkr 232: 71-95, 1982
- Hamilton M: A rating scale for depression. J Neurol Neurosurg Psychiatry. 23: 56-62, 1960
- Harris GW: Neural control of the pituitary gland. Physiol Rev. 28: 139-179, 1948
- Harrison J, Araiso T, Palcic M, Dunford H: Compound I of myeloperoxidase. Biochem Biophys Res Commun. 94: 34-40, 1980
- Hashinaka K, Nishio C, Hur SJ, Sakiyama F, Tsunasawa S, Yamada M: Multiple species of myeloperoxidase mRNAs produced by alternative splicing and differential polyadenylation. Biochemistry. 27: 5906-5914, 1988
- Hashinaka K, Yamada M: Undermethylation and Dnase 1 hypersensitivity of myeloperoxidase gene in HL-60 cells before and after differentiation. Arch Biochem Biophys. 293: 40-45, 1992
- Helmchen H: Clinical experience with clozapine in Germany. Psychopharmacology. 99: S 80-83, 1989
- Holsboer F, Mueller OA, Doerr HG, Sippell WG, Stalla GK, Gerken A, Steiger A, Boll E, Benkert O: ACTH and multiteroid responses to corticotropin-releasing factor in depressive illness: relationship to multiteroid responses after ACTH-stimulation and dexamethasone suppression. Psychoneuroendocrinology. 9: 147-160, 1984
- Holsboer F, von Bardeleben U, Gerken A, Stalla GK, Müller OA: Blunted corticotropin and normal cortisol response to human corticotropin-releasing factor (h-CRF) in depression. N Engl J Med. 311: 1127, 1984
- Holsboer F, von Bardeleben U, Buller R, Heuser I, Steiger A: Stimulation response to

- corticotropin-releasing hormone (CRH) in patients with depression, alcoholism and panic disorder. *Horm Metab Res.* 16: 80-88, 1987
- Holsboer F, Spengler D, Heuser I: The role of corticotropin-releasing hormone in the pathogenesis of Cushing's disease, anorexia nervosa, alcoholism, affective disorders and dementia. *Prog Brain Res.* 93: 385-417, 1992
- Holsboer F: The rationale for corticotropin-releasing-hormone receptor (CRH-R) antagonists to treat depression and anxiety. *J Psychiatric Res.* 33: 181-214, 1999
- Holsboer-Trachsler E, Stohler R, Hatzinger M: Repeated administration of the combined dexamethasone/hCRH stimulation test during treatment of depression. *Psychiatry Res.* 38: 32-38, 1991
- Hummer M, Kurz M, Barnas C, Saria A, Fleischhacker W.: Clozapine induced transient white blood count disorders. *J Clin Psychiatry.* 55:10, 1994
- Hummer M, Sperner-Unterweger B, Kemmler G, Falk M, Kurz M, Oberbauer H, Fleischhacker WW: Does eosinophilia predict clozapine induced neutropenia? *Psychopharmacology.* 124: 201-204, 1996
- Ichihara S, Tomisawa H, Fukazawa H, Tateishi M, Joly R, Heintz R: Involvement of leukocyte peroxidases in the metabolism of tenoxicam. *Biochem Pharmacol.* 34: 1337-1338, 1985
- Ichikawa J: Clinical observations of the effect of antipsychotic drugs. Second Leponex Scientific Update Meeting. Florence, 1991
- Inman WH: Blood disorders and suicide in patients taking mianserin or amitriptyline. *Lancet.* 2: 90-92, 1988
- Iwahashi K: CYP 2D6 genotype and possible susceptibility to the neuroleptic malignant syndrome. *Biol Psychiatry.* 36: 780-782, 1994
- Janowski DS, El-Yousef MK, Davis JM, Sekerke HJ: A cholinergic-adrenergic hypothesis of mania and depression. *Lancet.* 632-635, 1972
- Janssen PAJ: Vergleichende pharmakologische Daten über sechs neue basische 4'-Fluorobutyrophen-Derivate. Haloperidol, Haloanison, Triperidol, Methylperidid, Haloperidid und Dipiperon. 1. Und 2. Mitteilung. *Arzneimittelforschung.* 11: 819-824, 932-938, 1961

- Jorgensen KF, Antoun GR, Zipf TF: Chromatin structural analysis of the 5' end and continuous flanking region of the myeloperoxidase gene. *Blood*. 77: 159-164, 1991
- Kalin NH, Shelton SE, Barksdale CM: Behavioural and physiological effects of CRH administered to infant primates undergoing maternal separation. *Neuropsychopharmacology*. 2: 97-104, 1989
- Kaplow LS: The relationship of myeloperoxidase activity to neutrophil maturity and other hematologic indicators of infection. *Blood Cells Mol Dis*. 12: 153-156, 1986
- Keller SE, Weiss JM, Schleifer SJ, Miller NE, Stein M: Suppression of immunity by stress: effect of a graded series of stressors on lymphocyte stimulation in the rat. *Science*. 213: 1397-1400, 1981
- Keller-Wood ME, Dallmann MF: Corticosteroid inhibition of ACTH secretion. *Endocr Rev*. 5: 1-24, 1984
- Kennedy SH, Tighe S, Mc Vey G, Crown GM: Melatonin and cortisol switches during mania, depression, and euthymia in drug-free bipolar patient. *J Nerv Ment Dis*. 177: 300-303, 1989
- Kettle AJ, Winterbourn CC: Mechanisms of inhibition of myeloperoxidase by anti-inflammatory drugs. *Biochem Pharmacol*. 41: 1485-1492, 1991
- Klebanoff SJ, Clark RA: *The Neutrophil: Function and Clinical Disorders*, Elsevier/North-Holland, Amsterdam, 1978
- Kline NS: Use of rauwolfia serpentina benth in neuropsychiatric conditions. *Ann NY Acad Sci*. 59:107, 1954
- Kono Y, Yoneda H, Sakai T, Nonomura Y, Inayama Y, Koh J, Sakai J, Inada Y, Imamichi H, Asaba H: Association between early onset alcoholism and the dopamine D2 receptor gene. *Am J Med Genet*. 74: 179-182, 1997
- Koob GF, Bloom FE: Corticotropin-releasing factor and behaviour. *Fed Proc* 44: 259-263, 1985
- Koob GF and Bloom FE: Cellular and molecular mechanisms of drug dependence. *Science*. 242: 715-723, 1988
- Koob GF: Drugs of abuse: Anatomy, pharmacology, and function of of reward pathways. *Trends*

- Pharmacol Sci. 13: 177-184, 1992
- Kuhn R: Über die Behandlung depressiver Zustände mit einem Iminibenzyl-Derivat (G 22355)  
Schweiz Med Wochenschr. 87: 1135-1140, 1957
- Kupfermann I: Hypothalamus and limbic system: peptidergic neurons, homeostasis, and emotional behaviour. In: Kandel ER, Scharz JH, Jessel TM (eds) Principles of neuroscience, 3. Auflage Elsevier, New York, Amsterdam, London, Tokyo 735-749, 1991
- Laborit H, Huguenard P: L'hibernation artificielle par moyens pharmacodynamiques et physiques. Presse Med. 59: 1329, 1951
- Laignel-Lavastine M: The Internal Secretion and the Nervous System. Nerval and mental Publishing Co, New York, 1919
- Lanza F, Fietta A, Spisani S, Castoldi GL, Traniello S: Does a relationship exist between neutrophil myeloperoxidase deficiency and the occurrence of neoplasms? J Clin Lab Immun. 22: 175-180, 1987
- Lawford Br, Young RM, Rowell JA, Gibson JN, Feeney GFX, Ritchie TL, Sydulko K, Noble EP: Association of the D2 dopamine receptor A1 allele with alcoholism: Medical severity of alcoholism and type of controls. Biol Psychiatry. 41:386-393, 1991
- Levin ML: The occurrence of lung cancer in man. Acta Un Int.Cancr. 19: 531-541, 1953
- Lieberman JA, Yunis J, Egea E, Canoso RT, Kane JM, Yunis E.: HLA-B38, DR4, DQw3 and clozapine-induced agranulocytosis in jewish patients with schizophrenia. Arch Gen Psychiatry. 47:945-948, 1990
- Lieberman J, Yunis J, Egea E, Canoso RT, Kane JM, Yunis E: HLA-B38, DR 4, DQw3 and clozapine-induced agranulocytosis in jewish patients with schizophrenia. Arch Gen Psych. 47: 945-948, 1990
- Linkowski P, Mendlewicz J, Leclercq R, Brasseur M, Hubain P, Goldstein J, Copinschi G, vanCauter E: The 24-hour profile of adrenocorticotropin and cortisol in major depressive illness. J Clin Endocrinol Metab. 61: 429-438, 1985
- Llerena A, Herraiz AG, Cobaleda J, Johansson I, Dahl ML: Debrisoquin and mephenytoin hydroxylation phenotypes and CYP 2D6 genotype in patients treated with neuroleptic and antidepressant agents. Clin Pharmacol Ther. 54: 606-611, 1993

- London SJ, Lehmann TA, Taylor JA: Myeloperoxidase genetic polymorphism and lung cancer risk. *Cancer Research*. 57: 5001-5003, 1997
- Loomer HP, Saunders IC, Kline NS: A clinical and pharmacodynamic evaluation of iproniazid as a psychic energizer. *Psychiatr Res Publ Am Psychiatr Assoc*. 8: 129, 1957
- Love BB, Biller J, Gent M: Adverse haematological effects of ticlopidine. Prevention, recognition, and management. *Drug Safety*. 19: 89-98, 1998
- Lübbert M, Miller CW, Koeffler HP: Changes of DNA methylation and chromatin structure in the human myeloperoxidase gene during myeloid differentiation. *Blood*. 78: 345-356, 1991
- Mandl DL, Garrison MW, Palpant SD: Agranulocytosis induced by vancomycin or ticarcillin/clavulanate. *Ann Pharmacother*. 31: 1321-1324, 1997
- Matussek N, Ackenheil M, Hippus H, Muller F, Schroder HAT, Schultes H, Wasilewski B: Effect of clonidine on growth hormone release in psychiatric patients and controls. *Psychiatry Res*. 2: 25-36, 1980
- Meltzer HY, Goode DJ, Fang VS: The effect of psychotropic drugs on endocrine function. I. Neuroleptics, precursors and agonists. In *Psychopharmacology: A Generation of Progress* (eds: Lipton MA, Di Mascio A and Killam KF) New York, Raven Press. 1978
- Meltzer HY, Busch D, Fang VS: Hormones, dopamine receptors and schizophrenia. *Psychoneuroendocrinol*. 4: 17-36, 1981
- Meltzer HY, Lowy MT: The serotonin hypothesis of depression. In Meltzer HY (ed.) *Psychopharmacology: The third generation of progress*. Raven Press, New York, 1987
- Meltzer HY, Cola BA, Lynne Way L, Thompson PA, Bastani B, Davies MA, Snitz B: Cost effectiveness of clozapine in neuroleptic-resistant schizophrenia. *Am J Psychiatry*. 150: 1630-1638, 1993
- Morishita K, Tsuchiya M, Asano S, Kagiro Y, Nagata S: Chromosomal gene structure of human myeloperoxidase and regulation of its expression by granulocyte colony-stimulating factor. *J Biol Chem*. 262: 15208-15213, 1986
- Mortimer O, Persson K, Ladona MG, Spalding D, Zanger UM, Meyer UA, Rane A: Polymorphic formation of morphine from codeine in poor and extensive metabolizers of dextrometorphan: Relationship to the presence of immunoidentified cytochrome P 450

- 2D1. Clin Pharmacol Ther. 47: 27-35, 1990
- Muller P, Britton RS, Seeman P: The effects of long term ethanol on brain receptors for dopamine, acetylcholine, serotonin and noradrenaline. Eur J Pharmacol. 65:31-37, 1980
- Murphy BEP, Conneely OM: Neuroendocrine regulation of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis by the nr1 77 subfamily of nuclear receptors. Mol Endocrinol. 11: 39-47, 1997
- Neiswanger K, Hill SY, Kaplan BB: Association and linkage studies of the Taq 1 A allele of the dopamine D2 receptor gene in samples of female and male alcoholics. Am J Med Genet. 60: 267-271, 1995
- Nemeroff CB, Widerlöv E, Bissette G, Walleus H, Karlsson I, Eklund K, Kilts CS, Loosen PT, Vale W: Elevated concentrations of CSF corticotropin-releasing factor-like immunoreactivity in depressed patients. Science. 226: 1342-1344, 1984
- Nemeroff CB, Bissette G; Akil H, Fink M: Neuropeptide concentrations in the cerebrospinal fluid of depressed patients treated with ECT. Br J Psychiatry 158: 59-63, 1992
- Nemeroff CB.: Dosing the antipsychotic olanzapine. J Clin Psychiatry. 10:45-9, 1997
- Overall JE, Gorham DR: The Brief Psychiatry Rating Scale. Psychol Rep. 10: 799-812, 1962
- Park BK, Coleman JW: The immunologic basis of adverse drug reactions. A report on a symposium held in Liverpool on 6<sup>th</sup> April 1988. Br J Clin Pharmacol. 26: 491, 1988
- Pato CN, Macciardi F, Pato MT, Verga M, Kennedy JL: Review of the putative association of D2 receptor and alcoholism: A meta-analysis. Am J Med Genet. 48: 78-82, 1994
- Plotsky PM, Otto S, Sutton S: Neurotransmitter modulation of corticotropin releasing factor secretion into the hypophysial-portal circulation. Life Sci. 41: 91-115, 1987
- Pohl LR, Satoh H, Christ DD, Kenna JG: The immunologic and metabolic basis of drug hypersensitivities. Ann Rev Pharmacol Toxicol. 28: 367-387, 1988
- Polednak A: Racial and ethnic differences in disease: New York: Oxford University Press, 1992
- Rassnick S, Pulvirenti L, Koob GF: SDZ-205, 152, a novel dopamine receptor agonist, reduces oral ethanol self-administration in rats. Alcohol. 10: 127-132, 1993
- Reichlin S: Somatostatin in the nervous system. In Schmitt F.O.; Bird, S.J.; Bloom, F.E.:

- Molecular Genetic Neuroscience. New York: Raven Press, pp 359-372, 1982
- Reichlin S: Somatostatin. *N. Engl J Med.* 309: 1495-1501, 1983
- Renwick JH: Elucidation of gene order. In *Recent Advances in Human Genetics* (Edited by Penrose LS) Little&Brown, Boston, 1961
- Rezek M, Havlicek V, Hughes KR, Friesen H: Behavioral and motor excitation and inhibition induced by the administration of small and large doses of somatostatin into the amygdala. *Neuropharmacology.* 16: 157-162, 1977
- Roberts DCS, Bloom FE: Adrenal steroid-induced changes in beta-adrenergic receptor binding in rat hippocampus. *Eur J Pharmacol.* 74: 37-41, 1981
- Rolandi E, Barreca T: Neuropharmacological influences on hypothalamic-pituitary secretion. In: Shah NS, Donald AG (eds): *Psychoneuroendocrine dysfunction.* Plenum Press, New York 41-71, 1984
- Rommelspacher H, Raeder C, Kaulen P, Brüning G: Adaptive changes of Dopamine-D2-receptors in rat brain following ethanol withdrawal: a quantitative autoradiographic investigation. *Alcohol.* 9:355-362, 1992
- Rothpearl AB, Mohs RC, Davis KL: Statistical power in biological psychiatry. *Psychiat Res.* 5: 257-266, 1981
- Rotrosen J, Angrist B, Gershon S, Paquin J, Branchey L, Oleshansky M, Halpern F, Sachar EJ: Neuroendocrine effects of apomorphine: characterization of response patterns and application to schizophrenia research. *Brit J Psychiat.* 135: 444-456, 1978
- Roy MB, Pickar D, Doran A, Wolkowitz O, Gallucci W, Chrousos G, Gold P: The corticotropin-releasing hormone stimulation test in chronic schizophrenia. *Am J Psychiatry.* 143: 1393-1397, 1986
- Roy A, Pickar D, Paul S, Doran A, Chrousos GP, Gold PW: CSF Corticotropin-releasing hormone in depressed patients and normal control subjects. *Am J Psychiatry.* 144: 641-645, 1987
- Rubinow DR, Gold PW, Post RM, Ballender JC, Cowdry R, Bollinger J, Reichlin S: CSF somatostatin in affective illness. *Arch Gen Psychiatry.* 40: 409-412, 1983

- Sachse C, Brockmöller J, Bauer S, Roots I.: Functional significance of a C/A polymorphism in intron 1 of the cytochrome P450 1A2 (CYP1A2) gene tested with caffeine. *Br J Clin Pharmacol.* 47:445-449, 1999
- Saffran M, Schally AV, Benfey BG: Stimulation of the release of corticotropin from the adenohypophysis by a neurohypophysial factor. *Endocrinology.* 57: 439-444, 1955
- Salize HJ, Rössler W: Steigen die Versorgungskosten von Patienten mit Schizophrenie überproportional? *Nervenarzt* 70: 817-822, 1999
- Samson HH, Tolliver GA, Haraguchi M, Kalivas PW: Effects of d-amphetamine injected into the nucleus accumbens on ethanol reinforced behavior. *Brain Res Bull.* 27: 267-271, 1991
- Sandborg RR, Smolen JE: Early biochemical events in leukocyte activation. *Lab Invest.* 59: 300-320, 1988
- Sass H, Soyka M, Mann K, Zieglgänsberger W: Relapse prevention by acamprosate. Results from a placebo-controlled study on alcohol dependence. *Arch Gen Psychiatry.* 53: 673-80, 1996
- Scharrer E, Scharrer B: Hormones produced by neurosecretory cells. *Recent Prog Horm Res.* 10:183-232, 1954
- Scharrer E, Scharrer B: Secretory cells within the hypothalamus. In: *The Hypothalamus*, Fulton JF (Ed) Vol. 20, 170-194, 1939
- Schettini G, Florio T, Magri G, Grimaldi M, Meucci O, Landolfi E, Marino A: Somatostatin and SMS 201-995 reverse the impairment of cognitive functions induced by cysteamine depletion of brain somatostatin. *Eur J Pharmacol.* 35: 355-357, 1988
- Schildkraut JJ: The catecholamine hypothesis of affective disorders: a review of supporting evidence. *Am J Psychiatry.* 122: 509-522, 1965
- Schmidt LG, Dufeu P, Kuhn S, Rommelspacher H: Relapse prevention in alcoholics with an anticraving drug treatment: first results of the Berlin Study. *Pharmacopsychiatry.* 1: 21-3, 1994
- Schuckit MA, Gold E, Risch C: Plasma cortisol levels following ethanol in sons of alcoholics and controls. *Arch Gen Psychiatry.* 44: 942-945, 1987

- Schukitt MA: Advances in understanding the vulnerability to alcoholism. In: O'Brien CP and Jaffe JH (eds): Addictive States, Raven Press, Ltd. New York, pp 93-108, 1992
- Seligman MEP, Maier SF: Failure to escape traumatic shock. *J Exp Psychol* 74: 1-9, 1976
- Sellers EM, Otton SV, Tyndale RF: Pharmacogenetics of CYP 2D6: Implications for substance abuse and other disorders. Abstracts of Panels and Posters p69. Presented at the 33 rd Annual meeting of the American College of Neuropharmacology, December, 1995
- Shackelford DA, Kaufman JF, Korman AJ, Strominger JL.: HLA-antigens: structure, separation of subpopulations, gene cloning and function. *Immunol Rev.* 66:133-87, 1982
- Shibahara S, Morimoto Y, Furutani Y, Notohe M, Takahashi H, Shimizu S, Horikawa S, Numa S: Isolation and sequence analysis of the human corticotropin releasing factor precursor gene. *EMBO J.* 2: 775-759, 1983
- Sirinathsinghij DJS, Nikolarakis KE, Herz A: Corticotropin-releasing factor stimulates the release of methionine-enkephalin and dynorphin from the neostriatum and globus pallidus of the rat: in vitro and in vivo studies. *Brain Res.* 490: 267-291, 1989
- Sörensen KV, Christensen SE, Dupont E, Hansen, AP, Pedersen E, Orskov H: Low somatostatin content in cerebrospinal fluid in multiple sclerosis. *Acta Neurol Scand.* 61: 186-191, 1980
- Spanagel R, Zieglgänsberger W: Anti-craving compounds for ethanol: new pharmacological tools to study addictive processes. *Trends Pharmacol Sci.* 18:54-9, 1997
- Spina E, Avenoso A, Facciola G, Fabrazzo M, Monteleone P, Maj M, Perucca E, Caputi AP: Effect of fluoxetine on the plasma concentrations of clozapine and its major metabolites with schizophrenia. *Int Clin Psychopharmacol.* 13:141-145, 1998
- Stalla GK, Hartwimmer J, von Werder K, Müller OA: Ovine(o) and human(h) corticotropin-releasing factor (CRF) in man: CRF-stimulation and CRF-immunoreactivity. *Acta Endocrinol. (KBH)* 106: 289-297, 1984
- Strausbaugh H, Irwin M: Central corticotropin-releasing hormone reduces cellular immunity. *Brain Behav Immun* 6: 11-17, 1992
- Russel RW: Drugs as tools for research in neuropsychobiology: a historical perspective. *Neuropsychobiol.* 18: 134-143, 1987

- Sylväläthi EKG, Hietala J, Räyttä M, Gränroos J.: Decrease in the number of rat brain dopamine and muscarine receptors after chronic ethanol intake. *Pharmacol Toxicol.* 62: 210-212, 1988
- Snyder SH: Catecholamines in the brain as mediators of amphetamine psychosis. *Arch Gen Psychiatry.* 27: 169-178, 1972
- Tabakoff B, Hoffmann PL, Ritzmann RF: Dopamine receptor function after chronic ingestion of alcohol. *Life Sci.* 23:643-648, 1978
- Timpl P, Spanagel R, Sillaber I, Krese A, Reul JM, Stalla GK, Blanquet V, Steckler T, Holsboer F, Wurst W: Impaired stress response and reduced anxiety in mice lacking a functional corticotropin-releasing hormone receptor 1. *Nature Genet.* 19: 162-166, 1998
- Torpy DJ, Grice JE, Hockings GI, Walters MM, Crosbie GV, Jackson RV: Alprazolam attenuates vasopressin-stimulated adrenocorticotropin and cortisol release: Evidence for synergy between vasopressin and corticotropin-releasing hormone in humans. *J Clin Endocrinol Metab.* 79: 140-144, 1994
- Tucker GT, Lennard MS, Ellis SW, Woods HF, Cho AK, Lin LY, Hiratsuka A, Schmitz DA, Chu TY: The demethylation of methylenedioxymethamphetamine ("ecstasy") by debrisoquine hydroxylase (CYP2D6) *Biochem Pharmacol* 47: 1151-1156, 1995
- Utrecht JP, Zahid N, Shaer NH, Biggar WD: Metabolism of dapsone to a hydroxylamine by human neutrophils and mononuclear cells. *J Pharmacol Exp Ther.* 245: 274-279, 1988
- Utrecht JP, Zahid N: N-chlorination of phenytoin by myeloperoxidase to a reactive metabolite. *Chem Res Toxicol.* 1: 148-151, 1988
- Utrecht JP: Idiosyncratic drug reactions: possible role of reactive metabolites generated by leukocytes. *Pharm Res.* 6: 265-273, 1989
- Utrecht JP, Zahid N: N-Chlorination and oxidation of procainamide by myeloperoxidase: Toxicological implications. *Chem Res Toxicol.* 4: 218-222, 1991
- Utrecht JP: Myeloperoxidase as a generator of drug free radicals. *Biochem Soc Symp.* 61: 163-170, 1995
- Usdin E, Hanin I: Biological markers in psychiatry and neurology. Oxford, Pergamon Press, 1982

- Vale W , Spiess J, Rivier C, Rivier J: Characterization of a 41-residue hypothalamic peptide that stimulates secretion of corticotropin and beta-endorphin. *Science*. 213: 1394-1397, 1981
- Vale W, Vaughan J, Yamamoto G, Bruhn T, Douglas C, Dalton D, Rivier C, Rivier J: Assay of corticotropin releasing factor. *Methods Enzymol*. 103: 565-577, 1983
- Vecsei L, Schwarzberg H, Telegdy G: The effect of somatostatin on the self-stimulation of rats. *Neuroendocrinology Lett*. 4: 37-40, 1983
- Vecsei L, Kiraly CS, Bollok I, Nagy A, Varga J, Penke B, Telegdy G: Comparative studies with somatostatin and cysteamine in different behavioral tests on rats. *Pharmacol Biochem Behav*. 21: 833-837, 1984
- Vescovi PP, Volpi R, Coiro V: Alcoholism abolishes the gamma-aminobutyric acid (GABA)ergic control of GH secretion in humans. *Alcohol*. 16: 325-328, 1998
- Vlahov V, Bacracheva N, Tontcheya D, Naumova E, Mavrzdieva M, Illieva P, Michailova A: Genetic factors and risk of agranulocytosis from metamizol. *Pharmacogenetics*. 6: 67-72, 1996
- Von Bardeleben U, Stalla GK, Müller OA, Holsboer F: Blunting of ACTH-Response to h-CRH in depressed patients is avoided by metapyrone treatment. *Biol Psychiatry*. 24: 782-786, 1988
- Von Bardeleben U, Heuser I, Holsboer F: Dose-dependant suppression of CRH releasable ACTH by dexamethasone in normal controls. *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci*. 1992
- Waldhauser L, Uetrecht JP: Oxidation of propylthiouracil to reactive metabolites by activated neutrophils: Implications for agranulocytosis. *Drug Metab Dispos*. 19: 354-359, 1991
- Weil SC, Rosner GL, Reid MS, Chisholm RL, Lemons RS, Swanson MS, Carrino JJ, Diaz MO, LeBeau MM: Translocation and rearrangement of myeloperoxidase gene in acute promyelocytic leukemia. *Science*. 240: 790-792, 1988
- Weiss SJ: Tissue destruction by neutrophils. *N Engl J Med*. 320: 365-376, 1989
- Weiss F, Mitchiner M, Bloom FE, Koob GF: Free-choice responding for ethanol versus water in alcohol-preferring and unselected Wistar rats is differentially altered by naloxone, bromocriptine and methysergide. *Psychopharmacology*. 101: 178-186, 1990

- Weiss F, Lorang MT, Bloom FE, Koob GF: Ethanol self-administration stimulates dopamine release in the rat nucleus accumbens: genetic and motivational determinants. *J Pharmacol Exp Ther.* 1993
- Wiesbeck GA, Mueller T, Wodarz N, Davids E, Kraus T, Thome J, Weijers HG, Boening J: Growth hormone response to placebo, apomorphine and growth hormone releasing hormone in abstinent alcoholics and control subjects. *Drug Alcohol Depend.* 52: 53-56, 1998
- Wiesbeck GA, Weijers HG, Chick J, Naranjo CA, Boening J: Ritanserin in relapse prevention in abstinent alcoholics: results from a placebo-controlled double-blind international multicenter trial. *Alcohol Clin Exp Res.* 23: 230-235, 1999
- Whalley LJ, Christie JE; Blackwood DHR, Bennie J, Dick H, Blackburn IM, Fink G: Disturbed endocrine function in the psychoses I: Disordered homeostasis or disease process? *Br J Psychiatry.* 155: 455-461, 1989
- Whybrow TC, Horwitz T: Psychological disturbances associated with endocrine disease and hormone therapy. In: Sachar EJ(ed.) *Hormones, behaviour and psychopathology.* Raven Press, New York 15-44, 1976
- Wittchen HU, Zaudig M, Schramm E, Spengler P, Mombour W, Klug J, Horn R: SKID, Strukturiertes Klinisches Interview für DSM-III-R. Beltz Test, Weinheim 1990
- Wolley PH, Griffin J, Panayi GS, Batchelor JR.: HLA-DR antigens and toxic reaction to sodium aurothiomalite and D-penicillinamine in patients with rheumatoid arthritis. *N Engl J Med.* 303:300-302, 1980
- Ysewin-van Brussel KARN, de Leenheer AP: Development and evaluation of a radioimmunosassay for arg8 vasopressin, after extraction with sep-pak C18. *Clin Chem.* 31: 861-863, 1985
- Yunis JJ, Lieberman JA, Yunis EJ.: Major histocompatibility complex associations with clozapine-induced agranulocytosis. *Drug Safety.* 1:7-9, 1992
- Yunis JJ, Corzo D, Salazar M, Lieberman JA, Howard A, Yunis EJ.: HLA associations in clozapine-induced agranulocytosis. *s.* 86: 1177-83, 1995

## 5. ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

ACTH	Adrenocorticotrophes Hormon
APA	American Psychiatric Association
AUC	Area under the curve
AVP	Arginin-Vasopressin
BMI	Body-Mass-Index
BPRS	Brief Psychiatric Rating Scale
CDT	Carbohydrate deficient transferrine
CIDI	Composite international of diseases
CRH	Corticotropin releasing hormone
CYP 450	Cytochrome P450
DEX/CRH	Dexamethason/Cortiotropin releasing hormone
DNA	Desoxyribonucleinsäure
DST	Dexamethason-Suppressions-Test
EEG	Elektroenzephalogramm
EKG	Elektrokardiogramm
FMO3	Flavin-enthaltende Monooxygenase 3
GABA	Gammaaminobuttersäure
GHRH	Growth hormone releasing hormone
HDRS	Hamilton depression rating scale
HGH	Human growth hormone
HHN-System	Hypothalamisch-hypophysäres Nebennierenrindensystem
HLA	Human leukocyte antigen
HVL	Hypophysenvorderlappen
ICD	International classification of diseases
LWK	Lendenwirbelkörper
MHC	Major histocompatibility complex
MPO	Myeloperoxidase
MRS	Mania rating scale
NADPH-Oxidase	Nicotinamid-Adenin-Dinukleotid-Phosphatoxidase

PCR	Polymerasekettenreaktion
PVN	Nucleus paraventricularis
RFLP	Restriktionsfragment-Längenpolymorphismus
SAS	Self-rating anxiety scale
SDS	Self-rating depression scale
SKID	Strukturiertes Klinisches Interview Depression
SOM	Somatostatin
TDM	Therapeutic drug monitoring
TPQ	Tridimensional Personality Questionnaire
TRH	Thyreotropin releasing hormone
VTA	Ventral tegmental area
ZNS	Zentrales Nervensystem