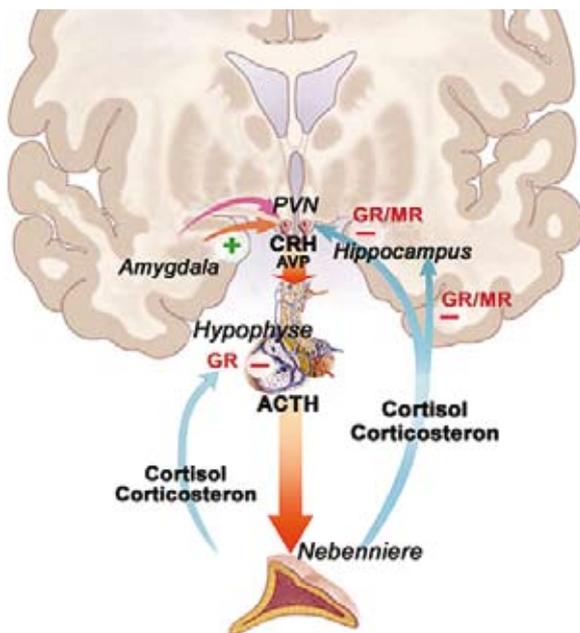




MOLEKULARE STRESSPHYSIOLOGIE

# Wie man Mäusen die Angst nimmt: vom Zusammenhang zwischen Stress und Depression

IN LOSER FOLGE STELLT „AKADEMIE AKTUELL“ DIE PREISTRÄGER DES VERGAN- GENEN JAHRES VOR. FÜR IHRE LEISTUNGEN BEI DER ERFORSCHUNG DEPRESSIVER ERKRANKUNGEN ERHIELT MARIANNE MÜLLER DEN ROBERT SAUER-PREIS.



VON MARIANNE MÜLLER

**Abb. 1: Regulation des Stresshormonsystems (Hypothalamus-Hypophysen-Nebennierenrinden-System) unter physiologischen Bedingungen.**

**D**epressive Erkrankungen sind häufig. Eine im ehemaligen West-Deutschland an einer repräsentativen Bevölkerungsstichprobe durchgeführte Studie ergab, dass 9 % der Bevölkerung im Laufe ihres Lebens an schwerer Depression erkranken, bei einem mittleren Erkrankungsalter von 30 Jahren. Frauen erkranken 1,5- bis 3-mal häufiger als Männer.

Depressive Erkrankungen weisen eine familiäre Belastung auf. Übereinstimmend zeugen die Ergebnisse der vor allem in den letzten zwei Jahrzehnten durchgeführten Familien-, Zwillings- und Adoptionsstudien von einer familiären Häufung affektiver Erkrankungen und legen somit die Annahme einer genetischen Prädisposition nahe. Angehörige ersten Grades von depressiven Patienten weisen ein ca. 2,5-fach höheres Krankheitsrisiko für eine affektive Störung auf als das entsprechende Kontrollkollektiv aus der Allgemeinbevölkerung.

Für den Betroffenen ist die Depression gekennzeichnet durch eine anhaltende traurige Verstimmung, einhergehend mit einem Verlust von Freudfähigkeit, Antrieb und Interesse, ferner durch einen Verlust der Konzentrations- und allgemeinen Leistungsfähigkeit. Daneben treten charakteristische vegetative Symptome auf, wie z. B. Schlafstörungen, Appetit- und Gewichtsverlust, sowie auch eine gedankliche Einengung auf die subjektiv als ausweglos empfundene Situation, bis hin zum Auftreten von Todesgedanken und konkreten Suizidabsichten. Nicht selten endet diese typischerweise phasenhaft verlaufende Erkrankung tödlich: Bei Menschen bis zu einem

Lebensalter von 40 Jahren stellt der Tod durch depressionsbedingten Suizid nach dem Unfalltod die zweithäufigste Todesursache dar. Depressive Erkrankungen sind dementsprechend sozioökonomisch und gesundheitspolitisch von hoher Relevanz. Erkrankungen des zentralen Nervensystems nehmen in den Vereinigten Staaten und in Deutschland etwa 20 % der Gesamtkosten des Gesundheitssystems in Anspruch.

## Neurobiologische Grundlagen depressiver Erkrankungen: Focus Stresshormonsystem

Jeder Angriff auf die Integrität eines Individuums – unerheblich, ob real oder fiktiv, ob physischer oder psychischer Natur – löst eine Stressreaktion aus. Bei dieser Reaktion werden eine Vielzahl von Mechanismen aktiviert, deren gemeinsames Ziel es letztlich ist, das Gleichgewicht wieder herzustellen und eine adäquate und stabilisierende Anpassung des Organismus an die sich stetig ändernden Umweltbedingungen zu ermöglichen. Solange eine stressvolle Episode nur von kurzer Dauer ist, kann sie aufgrund ihrer generellen Aktivierung und Mobilisation endogener Ressourcen als durchaus gewinnbringend und stimulierend



empfundener Stress hingegen wird nicht selten von einem zunehmenden Gefühl des Kontrollverlustes über die Situation begleitet; auf der endokrinen (hormonellen) Ebene kommt es zu einer pathologischen, dauerhaften Aktivierung des Stresshormonsystems (Hypothalamus-Hypophysen-Nebennierenrinden-System; englisch: hypothalamic-pituitary-adrenocortical system, HPA-System). In den letzten Jahren mehren sich die Hinweise darauf, dass es einen möglichen pathogenetischen Zusammenhang zwischen chronischem Stress und der Entstehung depressiver Erkrankungen im Sinne des „Stress-Diathese-Modells“ gibt.

Unter physiologischen Bedingungen ist das hypothalamische Hormon CRH (corticotropin releasing hormone) der wichtigste Stimulus für die Freisetzung von adrenocorticotropem Hormon (ACTH) aus der Hirnanhangdrüse (Hypophyse). ACTH bewirkt seinerseits, dass Glucocorticoidhormone aus der Nebennierenrinde freigesetzt werden (Cortisol beim Menschen, Corticosteron bei Mäusen und Ratten). Durch eine negative Rückkopplung hemmen Glucocorticoide die CRH-synthetisierenden Neurone im Gehirn (Hypothalamus, Nucleus paraventricularis, PVN), um ein unkontrolliertes Aufschaukeln der Stresshormonaktivierung zu verhindern (Abb. 1).

#### **Veränderungen des HPA-Systems bei depressiven Patienten: klinische Befunde**

Bereits in der Antike ging man entsprechend der Lehre der Humoralpathologie davon aus, dass ein Ungleichgewicht zwischen verschiedenen endogenen Substanzen und Körpersäften zur „Melancholie“ führen könne. Noch vor der Isolierung und Charakterisierung der ersten Nebennierenrindenhormone durch Alfred Butenandt in den

1930er Jahren beschrieb Harvey Cushing die Wechselwirkungen zwischen Hormonen und psychopathologischen Syndromen. Manfred Bleuler lieferte in seiner Monographie „Psychiatrische Endokrinologie“ 1954 eine erste umfassende Darstellung des bisherigen Kenntnisstandes über die verschiedenen hormonellen Regulationssysteme, ihre Störungen sowie ihre mögliche Bedeutung für die Entstehung psychiatrischer Erkrankungen.

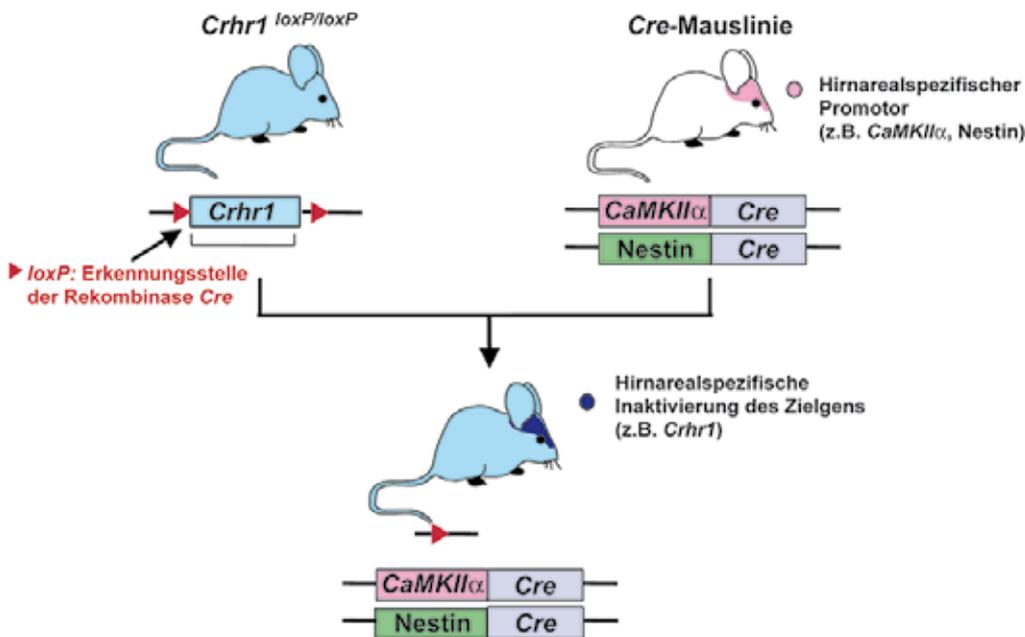
Mitte der 1960er Jahre wurde erstmals beobachtet, dass während der Erkrankungsphase einer schweren Depression signifikant erhöhte Cortisolkonzentrationen im Blut nachweisbar sind; ein Befund, der sich in engem zeitlichen Zusammenhang mit der klinischen Besserung wieder normalisiert. Seitdem sind zahlreiche, differenzierte Untersuchungen zu Veränderungen der neuroendokrinen Regulation bei Patienten mit Depression durchgeführt worden, die bestätigen konnten, dass Veränderungen in der Regulation des HPA-Systems zu den konsistentesten neurobiologischen Merkmalen affektiver Störungen zählen. Die Aktivität des HPA-Systems und die Wahrscheinlichkeit, an einer Depression zu erkranken, korrelieren. In speziellen Funktionsuntersuchungen (kombinierter Dexamethason-CRH-Test) lassen sich bei ca. 80 % der Patienten mit einer schweren Depression charakteristische neuroendokrine Veränderungen nachweisen. Ferner konnte gezeigt werden, dass verschiedene klinisch-therapeutisch wirksame antidepressive Therapieverfahren die Stresshormonregulation normalisieren.

#### **Tierexperimentelle Stressforschung: genetisch veränderte Mauslinien**

Der Forschungsbereich „Molekulare Stressphysiologie“ untersucht die Mechanismen der Stressregulation unter physiologischen und

pathophysiologischen Bedingungen; Letztere insbesondere im Hinblick auf ihre Bedeutung für die Entstehung und Aufrechterhaltung von depressiven Störungen und Angsterkrankungen. Die präklinischen, tierexperimentellen Projekte basieren auf der eingangs beschriebenen klinischen Beobachtung, dass eine Störung in der Regulation des Stresshormonsystems eine wesentliche, möglicherweise kausale Rolle für die Entstehung und Aufrechterhaltung dieser Erkrankungen und Symptome spielt. Genetisch bedingte Unterschiede in der Regulation und Modulation des HPA-Systems könnten hier einen entscheidenden Einfluss auf die individuelle Empfindlichkeit für stressassoziierte psychiatrische Störungen ausüben. Von Bedeutung ist in diesem Kontext, dass nur ein gewisser Prozentsatz von Personen, die einem relevanten Stressor ausgesetzt sind, im Verlauf eine psychiatrische Erkrankung entwickelt, während andere keinerlei Beeinträchtigung ihrer psychischen Gesundheit in Zusammenhang mit denselben Traumata erfahren.

Sog. transgene Mausmutanten, in denen die Funktion eines einzelnen Gens hochselektiv entweder dauerhaft und im gesamten Organismus („konventioneller knockout“) oder nur in speziellen Geweben oder Organregionen („konditionaler knockout“) ausgeschaltet ist, ermöglichen es, differenzierte in vivo-Modellen zur Überprüfung und weiteren Untersuchung der auf der Grundlage klinischer Befunde entstandenen Hypothesen zu etablieren. Dementsprechend lassen diese Untersuchungen gezielte Rückschlüsse darauf erwarten, inwieweit die selektive Manipulation einzelner Gene – bzw. bei der Übertragung auf die klinische Situation eine Veränderung in der Funktion eines Gens – das Verhalten der Tiere sowie auch die Empfindlichkeit, auf verschiedene



**Abb. 2: Schematische Darstellung der gehirnarealspezifischen Inaktivierung von CRHR1 (konditionale Mutagenese).**

Stressoren mit einer hormonellen Aktivierung zu reagieren, verändert oder beeinträchtigt. Die Parallele zu einer möglicherweise genetisch bedingten erhöhten Empfindlichkeit des Stresshormonsystems als einem wichtigen pathogenetischen Faktor für die Entstehung depressiver Erkrankungen liegt angesichts entsprechender klinischer Befunde nahe. Diese Befunde sind insbesondere für die Entwicklung neuer Therapiestrategien für die Behandlung depressiver Erkrankungen von unmittelbarer klinischer Relevanz.

Zur Generierung einer konditionalen Mauslinie werden zwei genetisch manipulierte Mauslinien benötigt: in der einen Mauslinie wird das Zielgen (in diesem Falle CRHR1) von zwei loxP-Sequenzen flankiert. LoxP-Sequenzen sind die spezifischen Erkennungsstellen für die Rekombinase Cre, welche durch Herausschneiden der loxP-Sequenzen und Re-Ligation eine selektive Ausschaltung des Zielgens herbeiführen kann. In einer zweiten Mauslinie wird die Rekombinase Cre unter die Kontrolle eines gewebsspezifischen Promotors (z. B. CaMKIIα oder Nestin) gebracht.

Aus der Verpaarung beider transgener Linien entstehen Mausmutanten, bei denen CRHR1, vermittelt durch die Cre-Rekombinase, postnatal regionenspezifisch (beispielsweise nur im Vorderhirn und im limbischen System) inaktiviert wird (Abb. 2).

Mit Hilfe einer gehirnarealspezifischen Inaktivierung des CRHR1, der Bindungsstelle für das Stresshormon CRH, konnte gezeigt werden, dass CRH – und seine über CRHR1 vermittelten Effekte – einen wesentlichen Einfluss auf das Angstverhalten von Mäusen ausübt: Tiere, bei denen der CRH Typ 1-Rezeptor selektiv in jenen Arealen des Gehirns, die wesentlich für die Modulation von Angstverhalten und Emotionalität verantwortlich sind (limbisches System), durch die genetische Manipulation ausgeschaltet wurde, sind in spezifischen Verhaltenstests signifikant weniger ängstlich als die entsprechenden Kontrollmäuse.

Unsere Befunde unterstützen die Hypothese, dass die pharmakologische Blockade von CRHR1 als eine erstmals in der Geschichte der Psychopharmakologie kausale, an

der Pathogenese der Erkrankung orientierte Therapiestrategie einen viel versprechenden Angriffspunkt zur Behandlung affektiver Störungen darstellen könnte. Zwar werden bereits eine Reihe verschiedener antidepressiver Medikamente mit Erfolg eingesetzt, doch einige relevante Nachteile, z. B. Nebenwirkungen und auch die typische Latenz von ca. drei Wochen, bis sich eine erste Besserung der Symptome einstellt, machen die Entwicklung neuer, rascher wirkender antidepressiver Substanzen zu einem sehr wünschenswerten Ziel.

**Tierexperimentelle Stressmodelle**

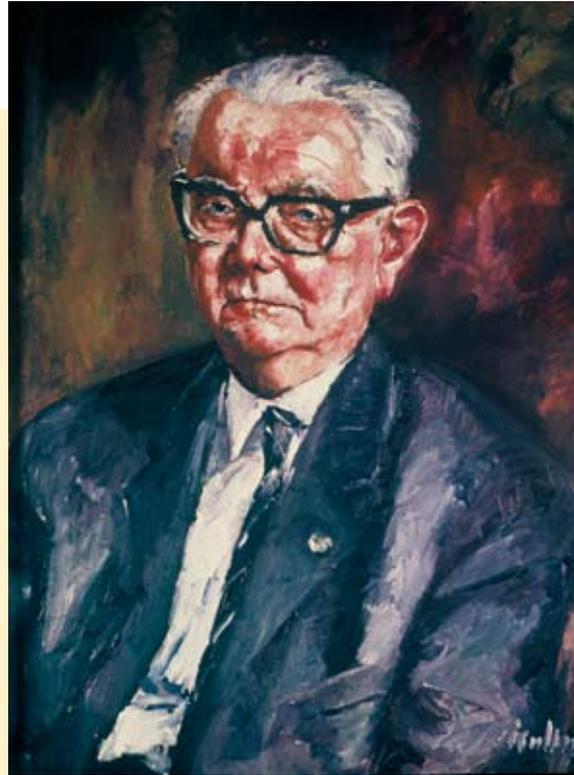
Neben genetisch veränderten Mauslinien sind für die Stressforschung tierexperimentelle Stressmodelle von großer Bedeutung. Im Kontext humaner stressassoziierter psychiatrischer Erkrankungen ist die Auswahl eines geeigneten Stressors relevant: Sozialer Stress scheint – im Gegensatz zu physischen Stressoren (beispielsweise Immobilisationsstress) –, deutlich geeigneter, um die humane Situation im Tiermodell abzubilden.

In einem neu etablierten Mausmodell für chronischen sozialen Stress werden männliche Mäuse beginnend in einem Alter von 28 Tagen (junges Erwachsenenalter) für die folgenden sieben Wochen einem sozialen Stress ausgesetzt: Sie werden in Gruppen von vier pro Käfig gehalten, und zweimal pro Woche wird nach dem Zufallsprinzip die Gruppenzusammensetzung geändert. Dadurch sind die Tiere dauerhaft einem Umfeld ausgesetzt, in dem sich keine stabile soziale Hierarchie ausbilden kann. Entsprechende Kontrollmäuse werden in Vierergruppen gehalten, ohne dass sich während des Experiments die Zusammensetzung ändert. Nach Beendigung der siebenwöchigen Stressphase werden die Tiere

### Robert Sauer-Preis der Bayerischen Akademie der Wissenschaften

Der Robert Sauer-Preis der Bayerischen Akademie der Wissenschaften wird alle zwei Jahre für herausragende Leistungen in der mathematisch-naturwissenschaftlichen Forschung verliehen, die nicht nur durch ihre theoretische Analyse überzeugen, sondern auch für die praktische Anwendung geeignet sind. Er beruht auf einer privaten Stiftung von Uta Bachmann-Morenz an der Bayerischen Akademie der Wissenschaften und ist mit 5.000 Euro dotiert. Der Preis trägt den Namen des Mathematikers Robert Sauer, seit 1950 o. Mitglied der Bayerischen Akademie der Wissenschaften und von 1965–1970 ihr Präsident. 1963 entstand auf seine Initiative die Kommission für Informatik, die das Leibniz-Rechenzentrum der Bayerischen Akademie der Wissenschaften betreibt. Erstmals wurde der Preis im Jahr 1998 verliehen, zum Andenken an den 100. Geburtstag von Robert Sauer.

ARCHIV



Robert Sauer (1898–1970), o. Professor für Mathematik an der Technischen Hochschule München und von 1965 bis 1970 Präsident der Bayerischen Akademie der Wissenschaften.

### Bisherige Preisträger des Robert Sauer-Preises

- 1998 Dr.-Ing. Rainer Callies für Forschungen auf dem Gebiet der Simulation optimaler Flugbahnen von Raumsonden
- 2000 Dr. Manfred Kaib für seine Forschungen an Termiten auf den Gebieten der experimentellen Ökophysiologie und Soziobiologie
- 2002 Dr. Petra Huhn für ihre Forschungen zur Lösung linearer Optimierungsprobleme
- 2004 Dr. med. Erika von Mutius für Forschungen über die Zunahme von Allergien bei Kindern, insbesondere von Asthma und Heuschnupfen
- 2006 PD Dr. med. Marianne Müller für ihre Untersuchung von Mechanismen der Stressregulation unter physiologischen und pathophysiologischen Bedingungen

einzelnen gehalten und können nun sofort bzw. nach verschiedenen langen Zeitpunkten bezüglich ihres Verhaltens und der Stresshormonregulation im Detail untersucht werden.

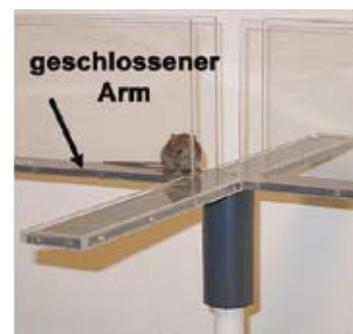
Wir sind insbesondere an den persistierenden, langfristigen Effekten einer derartigen chronischen Stressphase interessiert, da dies möglicherweise genau jene Effekte sind, welche – übertragen auf die klinische Situation – die individuelle Empfindlichkeit gegenüber negativen Lebensereignissen erhöhen und dazu führen können, dass sich eine klinisch manifeste Erkrankung entwickelt. Wir konnten in diesem Modell sogar bis 12 Monate

nach Beendigung der Stressphase persistierende Veränderungen in der Regulation des Stresshormonsystems nachweisen. Aktuelle Forschungsansätze widmen sich nun der Frage, welche genetischen bzw. auch epigenetischen Faktoren



diesen langfristigen Veränderungen zu Grunde liegen.

Die Autorin ist Oberärztin in der Klinik des Max-Planck-Instituts für Psychiatrie in München.



**Abb. 3 (links): Paradigma zur Untersuchung des Angstverhaltens: elevated plus-maze-Test. Das elevated plus-maze-Paradigma beruht auf dem natürlichen Vermeidungsverhalten von Mäusen gegenüber aversiven Stimuli, in diesem Fall gegenüber den ungeschützten offenen Armen. Das Tier exploriert offene und geschlossene Arme des Testsystems. Aus dem Verhältnis der Explorationszeiten für die geschlossenen und offenen Arme lässt sich das Angstverhalten einschätzen.**