Aus der Klinik für Psychiatrie und Psychotherapie
(Prof. Dr. med. J. Wiltfang)
im Zentrum Psychosoziale Medizin
der Medizinischen Fakultät der Universität Göttingen

**Stereologische Untersuchung des posterioren
Hippocampus bei bipolarer Störung**

INAUGURAL-DISSERTATION
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizinischen Fakultät der
Georg-August-Universität zu Göttingen

vorgelegt von
Steffen Strocka

aus
Fritzlar

Göttingen 2015

Dekan: Prof. Dr. rer. nat. H. K. Kroemer

1. Berichterstatter/in: Prof. Dr. med. A. Schmitt
2. Berichterstatter/in: Prof. Dr. med. E. Irle
3. Berichterstatter/in: Prof. Dr. med. dent. R. Mausberg

Tag der mündlichen Prüfung: 18.05.2015

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung	1
1.1	<i>Theoretische Grundlagen der bipolaren Störung.....</i>	<i>1</i>
1.1.1	Allgemeines	1
1.2	<i>Epidemiologie und Prävalenz.....</i>	<i>1</i>
1.3	<i>Komorbidität der bipolaren Störung</i>	<i>2</i>
1.4	<i>Klassifikation und Diagnostik</i>	<i>3</i>
1.4.1	Symptome der Depression.....	3
1.4.2	Symptome der Manie	4
1.5	<i>Bipolare Störung und kognitive Defizite</i>	<i>5</i>
1.6	<i>Therapie.....</i>	<i>6</i>
1.7	<i>Ätiologie und Pathogenese.....</i>	<i>7</i>
1.7.1	Genetik	7
1.7.2	Neurobiologie	8
1.7.3	Neuroanatomie.....	9
1.8	<i>Die Rolle des Hippocampus in der Ätiologie und Pathogenese.....</i>	<i>9</i>
1.8.1	Anatomie und Funktion des Hippocampus.....	10
1.8.2	Neuroradiologische Befunde.....	11
1.8.3	Funktionelle Bildgebung	12
1.8.4	Post-Mortem-Studien	13
1.9	<i>Fragestellung der vorliegenden Arbeit.....</i>	<i>14</i>
2	Material und Methoden	16
2.1	<i>Untersuchte Gehirne</i>	<i>16</i>
2.2	<i>Herstellung der histologischen Präparate</i>	<i>19</i>
2.3	<i>Grundlagen der Stereologie</i>	<i>20</i>
2.3.1	Stereologischer Messplatz	21
2.3.2	Volumenbestimmung nach dem Cavalieri-Prinzip.....	22
2.3.3	Bestimmung der Gesamtzellzahlen mit dem „Optical fractionator“	23
2.3.4	Bestimmung des Zellvolumens mit dem „Isotropic-Nucleator“	26
2.3.5	Reproduzierbarkeit der Ergebnisse	27
2.3.6	Statistische Analyse	27
3	Ergebnisse.....	30
3.1.1	Gesamtneurone	30
3.1.2	Oligodendrozyten.....	33
3.1.3	Astrozyten	34
3.1.4	Korrelation Demographische Daten.....	34
3.1.5	Korrelation PMI	34

3.1.6	Korrelation Medikamente.....	34
3.1.7	Korrelation Alter	35
4	Diskussion	41
4.1	Validität der stereologischen Ergebnisse	41
4.2	Neurone und synaptische Plastizität.....	42
4.3	Oligodendrozyten	44
4.4	Astrozyten	45
4.5	Volumen.....	45
4.6	Post-Mortem-Intervalle	46
4.7	Konfundierende Variablen der vorliegenden Arbeit.....	47
4.8	Schlussfolgerung.....	48
5	Zusammenfassung	49
6	Literaturverzeichnis.....	51
7	Abbildungsverzeichnis	63
8	Tabellenverzeichnis.....	64

Abkürzungsverzeichnis

Abb.	Abbildung
BDNF	brain-derived-neurotropic factor
CA	Cornu ammonis
CE	coefficient of error
COMT	catechol-O-methyltransferase
DAOA	D-amino acid oxidase activator
DISC 1	disrupted in schizophrenia 1
DSM-IV	Diagnostic and Statistical Manual, 4th revision
1-H-MRS	Protonen-Magnet-Resonanz-Spektroskopie
fMRT	funktionelle Magnet-Resonanz-Tomographie
5HT _{1A}	5-Hydroxytryptamin _{1A}
5HT ₂	5-Hydroxytryptamin ₂
5-HTT	serotonin transporter
GABA	Gammaaminobuttersäure
GA-43	43 kDa growth-associated protein
GWAS	Genomweite Assoziationsstudien
ICC	intraclass correlation coefficient
mg	Milligramm
NAA	N-Acetylaspartat
n.Chr.	nach Christus
NRG1	neuregulin 1
Nr.	Nummer
PMI	Post-Mortem-Intervall
PPARD	peroxisome proliferations-activated receptor delta
ROI	region of interest
SLC6A4	solute carrier family 6
SNAP-25	synaptosomal-associated protein 25
sog.	Sogenannt
SRS	systematic random sampling
Tab.	Tabelle

WHO	World Health Organization
z.B.	zum Beispiel
z.T.	zum Teil

1 Einleitung

1.1 Theoretische Grundlagen der bipolaren Störung

1.1.1 Allgemeines

Die bipolare Störung gehört zu der Gruppe der affektiven Störungen. Diese haben eine Veränderung der Affektivität als Hauptsymptom gemeinsam. Die bipolare Störung ist durch ein Alternieren von depressiven und (hypo-)manischen Episoden mit Intervallen ausgeglichener und normaler Stimmungslage gekennzeichnet und grenzt sich so von der unipolaren Störung ab. Zur Diagnosestellung der bipolaren Störung müssen dabei, neben der Veränderung des Affektes, weitere Symptome aus dem kognitiven, behavioralen und physiologischen Bereich vorliegen.

Der Begriff der Manie wurde dabei erstmals im 1. Jahrhundert nach Christus von dem griechischen Arzt Aretäus von Kappadokien (81-138 n.Chr.) beschrieben. Dass es sich bei der unipolaren und bipolaren affektiven Erkrankung um zwei unterschiedliche Krankheitsbilder handelt, entgegengesetzt zu der von Kraepelin (1856-1926) postulierten These, stellte sich dabei erst unter dem Einfluss Karl Leonhards (1904-1988) heraus und ist bis heute gültig. Diese Unterscheidung ist dabei vor allem von klinischer Relevanz, da an bipolarer Störung erkrankte Patienten einer modifizierten psychopharmakologischen Therapie bedürfen.

1.2 Epidemiologie und Prävalenz

Bipolare Störungen sind mit einer von Geschlecht, Kulturkreis und ethnischer Zugehörigkeit unabhängigen Lebenszeitprävalenz von 1-5% weitaus seltener als unipolare Depressionen (Baldessarini 2002). Da die bipolare Störung bei Auftreten einer depressiven Phase jedoch nicht von einer unipolaren Depression abzugrenzen ist, leiden viele Patienten, bei denen eine unipolare Depression (sog. „falsch-unipolare-Störung“) diagnostiziert wurde, tatsächlich an einer bipolaren Störung.

Goldberg et al. (2001) konnten zeigen, dass innerhalb von 15 Jahren bei 27% der Patienten, bei denen eine unipolare Depression diagnostiziert wurde, eine hypomanische Episode und bei weiteren 19% eine manische Episode auftritt. Man

muss daher davon ausgehen, dass die Zahl bipolar Erkrankter höher ist als bislang angenommen. Im Gegensatz zur unipolaren Depression, bei der die Prävalenz für Frauen signifikant erhöht ist (Wittchen et al. 2000), kommt die bipolare Störung bei Frauen und Männern etwa gleich häufig vor. Eine Ausnahme bildet hier nur das *rapid cycling*, eine Sonderform der bipolaren Störung (4 Phasen einer Depression, Manie oder Hypomanie innerhalb eines Jahres), die Frauen doppelt so häufig betrifft wie Männer. Weiterhin fällt die relativ enge Spanne der Prävalenzrate bipolarer Störungen im Vergleich zur unipolaren Depression auf (zwischen 1,5% in Taiwan und 19% Beirut) (Walden und Grunze 2009). Die Erstmanifestation liegt zwischen dem 15. und 30. Lebensjahr, im Mittel im 21. Lebensjahr und somit niedriger als bei der unipolaren Depression, bei der das Erstmanifestationsalter im Mittel bei 27 liegt (Weissman et al. 1988). Aufgrund der hohen Rezidivrate, die zwei Mal so hoch ist wie bei unipolarer Depression (Angst et al. 2003) und einer deutlich erhöhten Mortalität durch Suizid, Unfälle und kardiovaskuläre Erkrankungen, haben die bipolaren Störungen eine hohe medizinische und sozioökonomische Bedeutung. Sie gehören laut WHO-Report zu den 10 Erkrankungen, die weltweit am häufigsten zu andauernder Behinderung führen (Lopez und Murray 1998). Eine Untersuchung aus dem amerikanischen Gesundheitssystem stellt die bipolare Störung bei den durch psychiatrische Erkrankungen entstehenden Kosten sogar noch vor die unipolare Depression (Berghöfer 2004). Alleine in Deutschland verursacht die bipolare Störung jährlich Kosten von 5,8 Milliarden Euro (Runge und Grunze 2004).

1.3 Komorbidität der bipolaren Störung

Die Komorbidität mit anderen Erkrankungen ist bei der bipolaren Störung keine Seltenheit.

Besonders häufig treten hierbei Angsterkrankungen und Substanzmittelmissbrauch auf. McElroy et al. (2001) konnten zeigen, dass bei jugendlichen Patienten besonders häufig ein Aufmerksamkeits-Defizit-Hyperaktivitätssyndrom (ADHS) als Begleiterkrankung auftritt, welches wiederum die Diagnosestellung der bipolaren Störung erschwert.

1.4 Klassifikation und Diagnostik

Die bipolare Störung lässt sich nach den DSM-IV-Kriterien der American Psychiatric Association (1994) wie folgt einteilen:

- *Bipolar-I-Störung*: manische Episode, die von mindestens einer depressiven Episode gefolgt wird
- *Bipolar-II-Störung*: depressive Episode, die von mindestens einer hypomanischen Episode gefolgt wird
- *Zyklothyme Störung*: zahlreiche Episoden leichtgradiger Depression und leicht gehobener Stimmung über mindestens zwei Jahre
- *Nicht näher bezeichnete Störungen*: diese weisen keine der oben genannten Charakteristika auf

1.4.1 Symptome der Depression

Tabelle 1: Kriterien für eine Episode einer Major Depression nach DMS-IV (Saß et al. 1996)

<p>A. Mindestens fünf der folgenden Symptome bestehen während derselben Zwei-Wochen-Periode und stellen eine Änderung gegenüber der vorher bestehenden Leistungsfähigkeit dar; mindestens eines der Symptome ist entweder (1) depressive Verstimmung oder (2) Verlust an Interesse oder Freude. Auszuschließen sind Symptome, die eindeutig durch einen medizinischen Krankheitsfaktor, stimmungsinkongruenten Wahn oder Halluzinationen bedingt sind.</p> <p>(1) Depressive Verstimmung an fast allen Tagen, für die meiste Zeit des Tages, vom Betroffenen selbst berichtet (z.B. fühlt sich traurig und leer) oder von anderen beobachtet (z.B. erscheint den Tränen nahe). Beachte: Kann bei Kindern und Jugendlichen auch reizbare Stimmung sein.</p> <p>(2) Deutlich vermindertes Interesse oder Freude an allen oder fast allen Aktivitäten, an fast allen Tagen, für die meiste Zeit des Tages (entweder nach subjektivem Ermessen oder von anderen beobachtet).</p> <p>(3) Deutlicher Gewichtsverlust ohne Diät; oder Gewichtszunahme (mehr als 5% des Körpergewichts in einem Monat); oder verminderter oder gesteigerter Appetit an fast allen Tagen. Beachte: Bei Kindern ist das Ausbleiben der zu erwartenden Gewichtszunahme zu berücksichtigen.</p> <p>(4) Schlaflosigkeit oder vermehrter Schlaf an fast allen Tagen</p>
--

- (5) Psychomotorische Unruhe oder Verlangsamung an fast allen Tagen (durch andere beobachtbar, nicht nur das subjektive Gefühl von Rastlosigkeit oder Verlangsamung).
 - (6) Müdigkeit oder Energieverlust an fast allen Tagen
 - (7) Gefühle von Wertlosigkeit oder übermäßige oder unangemessene Schuldgefühle (die auch wahnhaftes Ausmaß annehmen können) an fast allen Tagen (nicht nur Selbstvorwürfe oder Schuldgefühle wegen des Krankseins).
 - (8) Verminderte Fähigkeit zu denken oder sich zu konzentrieren oder verringerte Entscheidungsfähigkeit an fast allen Tagen (entweder nach subjektivem Ermessen oder von anderen beobachtet).
 - (9) Wiederkehrende Gedanken an den Tod (nicht nur Angst vor dem Sterben), wiederkehrende Suizidvorstellungen ohne genauen Plan, tatsächlicher Suizidversuch oder genaue Planung eines Suizids.
- B. Die Symptome erfüllen nicht die Kriterien einer gemischten Episode.
- C. Die Symptome verursachen in klinisch bedeutsamer Weise Leiden oder Beeinträchtigungen in sozialen, beruflichen oder anderen wichtigen Funktionsbereichen.
- D. Die Symptome gehen nicht auf die direkte körperliche Wirkung einer Substanz (z.B. Droge, Medikament) oder eines medizinischen Krankheitsfaktors (z.B. Hypothyreose) zurück.
- E. Die Symptome können nicht besser durch einfache Trauer erklärt werden, d.h. nach dem Verlust geliebter Person dauern die Symptome länger als zwei Monate an oder sie sind durch deutliche Funktionsbeeinträchtigungen, krankhafte Wertlosigkeitsvorstellungen, Suizidgedanken, psychotische Symptome oder psychomotorische Verlangsamung charakterisiert.

1.4.2 Symptome der Manie

Tabelle 2: Kriterien für eine manische Episode nach DSM-IV (Saß et al. 1996)

- Eine mindestens einwöchige (bei Hospitalisierung auch kürzere), abgegrenzte Periode mit abnorm und anhaltend gehobener, expansiver oder reizbarer Stimmung.
- A. Während der Periode der Stimmungsveränderung bestehen mindestens drei (nur bei reizbarer Verstimmung mindestens vier) der folgenden Symptome in einem deutlichen Ausmaß:
- (1) Übersteigertes Selbstwertgefühl oder Größenideen

- (2) Vermindertes Schlafbedürfnis (z.B. fühlt sich nach 3 Stunden Schlaf schon ausgeruht)
- (3) Vermehrte Gesprächigkeit oder Rededrang
- (4) Ideenflucht oder subjektives Gefühl des Gedankenrasens
- (5) Erhöhte Ablenkbarkeit (Aufmerksamkeit wird zu leicht auf irrelevante äußere Reize gelenkt)
- (6) Gesteigerte Betriebsamkeit (im sozialen, beruflichen, schulischen oder sexuellen Bereich) oder psychomotorische Unruhe
- (7) Übermäßige Beschäftigung mit angenehmen Aktivitäten, die mit hoher Wahrscheinlichkeit unangenehme Konsequenzen nach sich ziehen (z.B. ungezügelter Einkauf, sexuelle Eskapaden, törichte geschäftliche Investitionen)
 - Die Symptome erfüllen nicht die Kriterien einer gemischten Episode
 - Die affektive Störung ist schwer genug, um eine deutliche Beeinträchtigung der beruflichen Leistungsfähigkeit oder der üblichen sozialen Aktivitäten oder Beziehungen zu verursachen oder eine Hospitalisierung zur Abwendung einer Selbst- oder Fremdgefährdung erforderlich zu machen oder es sind psychotische Symptome vorhanden.

Die Symptome gehen nicht auf die direkte körperliche Wirkung einer Substanz (z.B. Droge, Medikament, sonstige Behandlungen) oder eines medizinischen Krankheitsfaktors (z.B. Hyperthyreose) zurück.

1.5 Bipolare Störung und kognitive Defizite

Kognitive Defizite sind bei an bipolarer Störung erkrankten Patienten ein häufiges Symptom (Sachs et al. 2007). Hierzu gehören neben den Gedächtnisfunktionen, dem verbalen Lernen, der Flexibilität und Problemlösefähigkeit vor allem auch die Bereiche Konzentration und Daueraufmerksamkeit (Hsiao et al. 2009, Bora et al. 2009). Diese Beeinträchtigungen können dabei unabhängig von den Krankheitsphasen nachgewiesen werden (Martinez-Aran et al. 2004) und korrelieren sowohl mit der Schwere des Krankheitsverlaufs, dem Alter der Patienten als auch dem Alter bei Erstmanifestation (Goldberg und Garino 2009, Schouws et al. 2009). Im Vergleich mit gesunden Kontrollen sind die kognitiven Defizite dabei deutlich stärker, im Vergleich mit an Schizophrenie erkrankten Patienten jedoch deutlich geringer ausgeprägt (Palsson et al. 2013).

Dies ist von erheblicher Konsequenz, da Patienten mit bipolarer Störung in der Folge signifikante Einbußen in den Bereichen Familie, zwischenmenschliche Beziehungen und Arbeit erleiden (Sanchez-Moreno et al. 2009) und somit ein schlechteres soziales Outcome aufweisen (Mur et al. 2009).

1.6 Therapie

In der Behandlung der bipolaren Störung unterscheidet man zwischen unterschiedlichen Stadien. Dies sind zum einen die Phase der akuten Krankheitsepisode, in deren Anschluss die Stabilisierungsphase nach Abklingen der Akutsymptomatik fällt (Erhaltungstherapie) und die Intervallbehandlung (Phasenprophylaxe) (Kupfer 1991). Die Behandlungsstrategien der einzelnen Phasen bauen dabei aufeinander auf oder überlappen sich und müssen auf jeden Patienten individuell eingestellt werden, um die Risiken gegenüber dem Nutzen abzuwägen.

Die meisten Autoren empfehlen, an eine erfolgreiche Akuttherapie eine Erhaltungstherapie über mindestens sechs Monate anzuschließen, um ein Rezidiv in die aktuelle Krankheitsphase zu verhindern. Im Schnitt erhalten Patienten mit bipolaren Störungen ca. 4 Psychopharmaka gleichzeitig. Dabei handelt es sich meist um eine Mischung aus Stimmungsstabilisierern, Antidepressiva, Antipsychotika und Tranquilizern (Grunze und Dargel 2010). Daneben bestehen auch alternative ad-on-Ansätze, z.B. Augmentation mit Schilddrüsenhormonen sowie Substitution mit Ω -3-Fettsäuren oder N-Acetyl-Cystein (Grunze et al. 2010).

Allerdings sind die Patienten trotz kontinuierlicher Therapie die Hälfte der Zeit symptomatisch. In dieser symptomatischen Zeit dominieren die depressiven Phasen mit einem Anteil von 2/3 deutlich (Judd et al. 2002).

Da die gängigen Therapieoptionen in der Literatur bereits ausgiebig diskutiert wurden, wird an dieser Stelle auf eine genauere Darstellung verzichtet.

1.7 Ätiologie und Pathogenese

Die genauen Ursachen für die Entstehung der bipolaren Störung sind bis heute nicht vollständig bekannt. Nach derzeitigem Kenntnisstand geht man davon aus, dass es sich um ein Zusammenspiel mehrerer Faktoren handelt. Sowohl genetische als auch neurobiologische und psychosoziale Komponenten scheinen für sich und in ihrer Interaktion für die multifaktorielle Ätiopathogenese verantwortlich zu sein.

Im Folgenden sollen daher kurz die aktuell wesentlichsten Fakten dargestellt werden, bevor im Anschluss genauer auf die Rolle des Hippocampus in der Entstehung der bipolaren Störung eingegangen wird.

1.7.1 Genetik

Der Einfluss genetischer Faktoren in der Ätiologie der bipolaren Störung wird durch die im Hinblick auf geographische und kulturelle Unterschiede stabile Prävalenzrate unterstrichen (siehe Kapitel Epidemiologie und Prävalenz). Bedeutung haben dabei in der klinischen Forschung vor allem Familien-, Zwillings- und Adoptionsstudien, auf molekularer Ebene Kopplungs- und Assoziationsstudien.

So findet sich ein gegenüber der Allgemeinbevölkerung ca. 7-fach erhöhtes Erkrankungsrisiko für Verwandte 1. Grades bipolar Erkrankter (Craddock et al. 1995). Darüber hinaus konnte gezeigt werden, dass eineiige Zwillinge viermal häufiger an einer bipolaren Störung erkranken als zweieiige Zwillinge. Die Konkordanz beträgt 62% (Bertelsen et al. 1977). Das Erkrankungsrisiko ist somit bei einem eineiigen Zwilling eines Erkrankten um 60-fach höher als in der Allgemeinbevölkerung. Mit 31% ist auch das Erkrankungsrisiko biologisch Angehöriger von adoptierten erkrankten Kindern höher als bei deren Adoptivangehörigen (12%), was ebenfalls die Bedeutung genetischer Faktoren unterstreicht (Wender et al. 1986).

Als gesichert gilt heute, dass es sich um eine komplexe polygene Vererbung handelt und nicht ein kausales Gen verantwortlich gemacht werden kann. Es finden sich Kandidatenregionen auf den Chromosomen 1, 4, 6, 10, 12, 13, 18, 21, 22 und X (McQueen et al. 2005).

In Einzelstudien sowie Metaanalysen konnte dabei ein Zusammenhang zwischen der bipolaren Störung und folgenden Genen aufgezeigt werden: *brain-derived*

neurotrophic factor (BDNF), *D-amino acid oxidase activator* (DAOA, G72), *disrupted in schizophrenia 1* (DISC1), *solute carrier family 6* (SLC6A4), *tryptophan hydroxylase 2* (TPH2), *catechol-O-methyltransferase* (COMT), *serotonin transporter* (5-HTT), *peroxisome proliferator-activated receptor delta* (PPARD) oder *neuregulin 1* (NRG1) (Schmitt et al. 2014, Barnett und Smoller 2009).

Genomweite Assoziationsstudien (GWAS), die seit etwa 2007 die bipolare Störung erforschen, zeigen bis heute wenig reproduzierbare Ergebnisse. In größeren Kohorten bestätigt scheint jedoch die Bedeutung der Gene CACNA1C und ANK3. Ersteres codiert die Untereinheit eines Kalziumkanals, ANK codiert das Ankyrin-G-Protein, das an der Regulation eines spannungsabhängigen Natriumkanals beteiligt ist (Barnett und Smoller 2009). Untermuert werden diese Ergebnisse durch Untersuchungen an Mäusegehirnen, bei denen die Exprimierung der beiden Gene unter Lithiumtherapie herabgesetzt ist (McQuillin et al. 2007). Zukünftige Studien zum Verständnis der Funktion und Regulation dieser Gene und zur Ableitung sich möglicherweise hieraus ergebender Therapieoptionen sind jedoch notwendig.

1.7.2 Neurobiologie

Die Bedeutung neurochemischer Veränderungen in der Ätiologie der bipolaren Störung geht auf die aus dem Jahre 1960 stammende Aminhypothese zurück, die einen Mangel von Serotonin und Nordadrenalin in depressiven Phasen und eine Erhöhung der biogenen Amine in der Manie beschreibt. Unterstützt wird diese These vor allem durch Rückschlüsse aus der pharmakologischen Therapie. Daneben spielen nach heutigem Kenntnisstand auch Störungen im Dopamin- und GABA-System sowie der cholinergen Neurotransmission eine Rolle. Eine Reduktion der Serotoninrezeptoren 5HT_{1A} und 5HT₂, die man bei unipolarer Depression präfrontal und im Hippokampus finden konnte, bestätigte sich bei der bipolaren Störung nicht. Allerdings zeigen sich veränderte Bindungsaffinitäten am Serotonintransporter (Dean et al. 2003) und eine erhöhte Dichte des GABA_A-Rezeptors im Hippokampus (Dean et al. 2005). Die Überaktivität der Hypothalamus-Hypophysen-Nebennierenrinden-Achse bei bipolar Erkrankten stellt ebenfalls einen schon oft in der Vergangenheit replizierten Fund dar (Holsboer 2000), wobei diese wiederum für die Verminderung des neurotrophen Faktors BDNF (*brain derived neurotrophic factor*) mitverantwortlich

scheint (Kawashima et al. 2010). Diese ist zwar unter antidepressiver Therapie refraktär (Chen et al. 2001), jedoch - unter anderem - ein Grund für die Störung in der neuronalen Plastizität.

1.7.3 Neuroanatomie

Die Fortschritte in der Bildgebung erlauben eine immer detaillierter werdende Darstellung der neuroanatomischen Verhältnisse sowie eventueller Pathologien. Im Bereich der bipolaren Störung konnten daher in den letzten Jahren einige neue Erkenntnisse dazugewonnen werden.

Zu bestätigen scheint sich dabei eine Zunahme des Amygdalavolumens sowie der Seitenventrikel (Altshuler et al. 2000, Arnone et al. 2009). Adler et al. (2007) fanden darüber hinaus bei Patienten während der ersten Episode einer bipolaren Störung eine Volumenzunahme des linken Thalamus und des Kleinhirns beidseits. Ebenso konnten sie zeigen, dass die Dichte und das Volumen der grauen Substanz in Teilen des Gyrus cinguli zunehmen. Daneben zeigt sich auch im Striatum eine Volumenzunahme bei Patienten mit bipolarer Störung (Strakowski et al. 1999).

Volumenabnahmen finden sich dagegen innerhalb des präfrontalen Kortex (Drevets et al. 1997, Sax et al. 1999). Diese Befunde stehen in Übereinstimmung mit den Ergebnissen von Rajkowska (Rajkowska et al. 2001), die eine verminderte Dichte der Gliazellen innerhalb des präfrontalen Kortex nachweisen konnten.

Da in den wenigsten Studien bipolar Erkrankte mit Erkrankten anderer affektiver Störungen verglichen wurden, bleibt jedoch offen, ob es sich hierbei um spezifische und nur für die bipolare Störung charakterisierende Befunde handelt.

1.8 Die Rolle des Hippocampus in der Ätiologie und Pathogenese

Über den Einfluss des Hippocampus auf die Entstehung neuropsychiatrischer Erkrankungen wurde in der Vergangenheit bereits berichtet (Heckers und Konradi 2002, Sala et al. 2004, Schmitt et al. 2009). Seiner Rolle in Bezug auf die bipolare Störung wurde dagegen lange Zeit wenig Beachtung geschenkt.

Als Teil des limbischen Systems spielt er jedoch eine entscheidende Rolle in der Regulation der Stimmung und der Gedächtnisbildung (Lavenex und Amaral 2000) und insbesondere in der Hemmung der Stressantwort (McEwen und Magarinos 2001) und der Regulation des Affektes (Phillips et al. 2003).

Um die Funktionsweise des Hippocampus und seine Rolle in der Entstehung der bipolaren Störung zu verstehen, muss man sich zunächst die Anatomie und die Verschaltung innerhalb des limbischen Systems vergegenwärtigen.

1.8.1 Anatomie und Funktion des Hippocampus

Als Teil des mittleren Bogens des limbischen Systems befindet sich der Hippocampus im mittleren Temporallappen unterhalb der choroidalen Fissur und des Temporalhorns. Rostral befindet sich das Corpus amygdaloideum. Mit dem Fornix zieht er unterhalb des Balkens in einem Bogen zu den Corpora mamillaria. Er ist Bestandteil einer der ältesten Hirnstrukturen, dem Archikortex. Der Hippocampus an sich besteht aus 6 Strukturen und wird daher oft auch als Hippocampus-Formation bezeichnet. Zu diesen Strukturen zählt zum einen der Gyrus dentatus, das Cornu ammonis (CA), das wiederum in vier Subregionen unterteilt wird (CA1-4), das Subiculum, das Prä- und Parasubiculum sowie der entorhinale Kortex. Zytoarchitektonisch zeigt der Hippocampus eine sechsfache Schichtung, bestehend aus, von innen nach außen, Alveus, Stratum oriens, Stratum pyramidale, Stratum radiatum, Stratum lucidum und Stratum lacunosum-moleculare.

Durch seine Verschaltung innerhalb des limbischen Systems aber auch mit dem Hypothalamus ist der Hippocampus nicht nur an viszeralen, endokrinen und emotionalen Abläufen beteiligt, sondern auch an Lern- und Gedächtnisprozessen. Die Untersuchung der funktionellen Unterteilung des Hippocampus ist dabei seit Jahren Gegenstand der Forschung. Auf Grundlage der afferenten und efferenten Verbindungen wird dabei eine Einteilung in drei funktionelle Untereinheiten vorgeschlagen (Fanselow und Dong 2010):

1. Dorsaler Anteil, der eine wichtige Rolle in der Verarbeitung von kognitiven Prozessen (z.B. Gedächtnis und Lernen) spielt.

2. Intermediärer Anteil, der sowohl eine trennende als auch eine überlappende Funktion der dorsal und ventral angrenzenden Teile übernimmt und
3. Ventraler Anteil, der an der Verarbeitung von Affekten, Emotionen und Stress beteiligt ist.

1.8.2 Neuroradiologische Befunde

Die Suche nach einem hirnmorphologischen Korrelat innerhalb des Hippocampus hat in den letzten Jahren zu einigen Kontroversen geführt. Die Mehrheit der Studien mit angemessener Probandenzahl und validierten Untersuchungstechniken konnte keinen Unterschied des Hippocampusvolumens zwischen Patienten mit bipolarer Störung und gesunden Kontrollen feststellen (Strakowski et al. 1999, Altshuler et al. 2000, Hauser et al. 2000, Strakowski et al. 2002, Brambilla et al. 2003, Adler et al. 2005, Dickstein et al. 2005, Adler et al. 2007, Scherk et al. 2008a).

Indem er 48 bipolare Patienten mit 47 gesunden Kontrollen verglich, zeigten Swayze et al. (1992) dagegen, dass der rechte Hippocampus, insbesondere bei Männern mit bipolarer Störung, signifikant kleiner ist als bei den gesunden Kontrollen. Die Autoren weisen jedoch daraufhin, dass es sich hierbei möglicherweise um einen Fehler 1. Art handelt.

Strasser et al. (2005) verglichen in einer weiteren Studie 23 psychotische Patienten mit bipolarer Störung mit 15 nichtpsychotischen Patienten, 33 schizophrene Patienten und 44 gesunden Kontrollen, um die Möglichkeit einer hirnmorphologischen Veränderung in lediglich einer Subgruppe der Patienten zu untersuchen. Es zeigte sich jedoch lediglich ein leichter Trend zum Volumenverlust des linken Hippocampus bei den nichtpsychotischen Patienten im Vergleich zu der Kontrollgruppe.

Um auch den Einfluss des Alters mit in Betracht zu ziehen, untersuchten Blumberg et al. (2003) in einer Studie 36 Patienten, von denen 14 Heranwachsende und 22 Erwachsene waren, mit 56 Kontrollen. Unter diesen waren wiederum 23 Heranwachsende und 33 Erwachsene. Die Altersgruppen zusammennehmend fand sich bei den Patienten ein bilateraler Volumenverlust von 5,3%, der allerdings nicht signifikant war. Im Vergleich der jugendlichen Patienten mit den gleichaltrigen Kontrollpersonen zeigte sich jedoch, im Gegensatz zu den Erwachsenen, ein

signifikanter Volumenverlust des Hippocampus. Dieses Ergebnis wird von Frazier et al. (2005) noch einmal bestätigt. Dieser zeigte darüberhinaus, dass der Volumenverlust hauptsächlich das weibliche Geschlecht betrifft. Offen bleibt allerdings, ob alleine das Alter bei Erkrankungsbeginn ausschlaggebend ist oder ob es sich bei den jungen Patienten nicht etwa auch um eine Sonderform der bipolaren Störung handelt.

Beyer et al. (2004) konnten in diesem Zusammenhang zeigen, dass bei Patienten, die alle 50 Jahre oder älter waren, der linke Hippocampus signifikant vergrößert ist. Dieses Ergebnis, welches im Kontrast zu den vorherigen Studien steht, könnte jedoch laut Aussage der Autoren durch die Medikamenteneinnahme der Patienten zu erklären sein, da Antidepressiva, atypische Antipsychotika und Stimmungsstabilisierer zu einem Volumenwachstum des Hippocampus führen können (Chen et al. 2001, Kodama et al. 2004, Malberg und Schechter 2005, Yucel et al. 2007, Foland et al. 2008, Yucel et al. 2008, Boldrini et al. 2009).

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass in den meisten Studien keine strukturellen Unterschiede im Hippocampus festgestellt wurden. Dies jedoch möglicherweise bedingt dadurch, dass Unterschiede durch die Einnahme von Medikamenten, unterschiedliche Subgruppen der bipolaren Störung und durch das unterschiedliche Erstmanifestationsalter verschleiert werden.

1.8.3 Funktionelle Bildgebung

Da die Tatsache, dass fehlende anatomischen Veränderungen nicht zwangsläufig damit einhergehen müssen, dass auch die Funktion keine Pathologien aufweist, gewinnt die funktionelle Bildgebung bei der Ursachenforschung der bipolaren Störung immer mehr an Bedeutung.

So zeigten Migliorelli et al. (1993), dass sowohl während manischer als auch während depressiver Episoden, der Blutfluss im limbischen und paralimbischen System vermindert ist. Ebenso konnte gezeigt werden, dass der Glucoseverbrauch im rechten, mittleren Temporallappen und im Bereich des Parahippocampus in depressiven Phasen vermindert ist (Dunn et al. 2002).

Untersuchungen mittels funktioneller Magnet-Resonanz-Tomographie (*fMRT*) lassen ebenfalls den Schluss ziehen, dass der Hippocampus bei Patienten mit bipolarer

Störung an der Pathologie des Affektes beteiligt ist. So führt z.B. die Präsentation von angstvoll oder glücklich besetzten Gesichtern zu einer Verringerung der Aktivität der rechten Hippocampus- und Parahippocampusregion, während traurig besetzte Gesichter zu einer stärkeren Aktivierung des linken Hippocampus führen. Die Amplitude der Hippocampusaktivität korreliert dabei positiv mit dem Schweregrad der Depression (Lawrence et al. 2004).

Eine weitere Form der funktionellen Bildgebung stellt die Protonen-Magnet-Resonanz-Spektroskopie (1-H-MRS) da, mit deren Hilfe verschiedene Metabolite im Gehirn gemessen werden können. Hierbei konnte bei Patienten mit bipolarer Störung eine signifikant geringere Konzentration des N-Acetylaspartat sowohl im rechten als auch im linken Hippocampus nachgewiesen werden (Bertolino et al. 2003, Deicken et al. 2003). N-Acetylaspartat gilt dabei als Marker für die neuronale Funktion. Atmaca et al. (2006) konnten darüber hinaus bei unbehandelten Patienten zeigen, dass diese Ergebnisse bereits während der ersten Episode der Erkrankung auftreten und sich nicht erst im Verlauf entwickeln. In den umliegenden Strukturen des Thalamus und des Putamens finden sich dagegen keine Veränderungen der N-Acetylaspartatkonzentration gegenüber gesunden Kontrollpersonen (Scherk et al. 2008b).

Eine verringerte Konzentration von Kreatin und Phosphokreatin lässt ausserdem auf eine Störung im Energiehaushalt schließen (Deicken et al. 2003).

Es lässt sich zusammenfassend sagen, dass sich die funktionellen Pathologien, im Gegensatz zu den strukturellen, wesentlich klarer darstellen.

1.8.4 Post-Mortem-Studien

In Anbetracht dessen, dass die strukturelle Bildgebung einer gewissen Auflösungsgrenze unterliegt und keine einheitlichen Ergebnisse zeigen konnte, erlauben Post-Mortem-Untersuchungen, in Ergänzung hierzu, eine Betrachtung auf zellulärer und molekularer Ebene.

Hierbei scheint sich im präfrontalen Kortex eine verringerte Anzahl und Dichte der Gliazellen bei Patienten mit bipolarer Störung abzuzeichnen (Rajkowska et al. 2001, Uranova et al. 2004) sowie eine verringerte Zellgröße der Gliazellen im temporalen Kortex (Brauch et al. 2006). Für den vorderen Teil des Gyrus cinguli dagegen zeigt

sich eine um 63% erhöhte Anzahl an Neuronen bei einer um 16% geringeren Zellgröße (Chana et al. 2003).

Für den Hippocampus konnten bisherige Post-Mortem-Studien für die Subregion CA2 eine verminderte Dichte und Größe der nichtpyramidalen Neurone zeigen, mit einem ähnlichen Trend auch in der Subregion CA3 (Benes et al. 1998). Diese Befunde werden durch Knable et al. (2004) gestützt, die eine Verringerung der Dichte paravalbuminpositiver Neurone in CA2 nachweisen konnten. Ebenso scheint die Dichte der neuronalen Dendriten, als Zeichen für eine Störung der neuronalen Plastizität, im Subiculum vermindert zu sein (Rosoklija et al. 2000), als auch die Größe der Pyramidenzellen in der Subregion CA1. Hier konnten Liu et al. (2007) eine Reduktion der Zellgröße um 12% gegenüber der gesunden Kontrollgruppe nachweisen. Störungen der synaptischen Plastizität finden sich daneben in mehreren weiteren Studien.

So konnten Eastwood und Harrison (2000) zeigen, dass die präsynaptischen Proteine Complexin I und Complexin II, die vor allem in inhibitorischen und exzitatorischen Neuronen gebildet werden, im Bereich CA4, dem Subiculum und parahippocampalen Subregionen vermindert sind. Weitere Hinweise für eine Störung in der synaptischen Plastizität liefern die Verringerungen des Proteins Synapsin (Vawter et al. 2002), des SNAP-25 Proteins (*Synaptosomal-associated protein 25*) (Fatemi et al. 2001), des GA-43 Proteins (*43 kDa growth-associated protein*) (Tian et al. 2007) sowie der, für das postsynaptische Protein Spinophilin codierenden, mRNA (Law et al. 2004).

Zusammenfassend lassen diese Studien auf strukturelle oder funktionelle Pathologien der neuronalen Dendriten und Synapsen schließen.

Inwiefern die oben beschriebenen Befunde Ausdruck einer erhöhten Vulnerabilität für die Entstehung einer bipolaren Störung sind oder erst als Folge der Erkrankung auftreten bleibt jedoch weiterhin unklar.

1.9 Fragestellung der vorliegenden Arbeit

Zur Ätiologie der unipolaren Störung gibt es, wie oben aufgezeigt, bis zum heutigen Zeitpunkt noch immer viele unterschiedliche Erklärungsansätze, die für sich allein gestellt die Ursachen der bipolaren Störung allerdings nicht vollständig erklären

können. Als gesichert kann jedoch angenommen werden, dass der Hippocampus, als Teil des limbischen Systems, an der Entstehung der bipolaren Störung beteiligt ist. Unser Ziel war es daher, mittels eines stereologischen Ansatzes, der im Gegensatz zu vorangegangenen Dichteuntersuchungen unabhängig von Schrumpfungsprozessen des Gewebes durch Färbung und Fixation ist, morphologische Veränderungen im Bereich des menschlichen Hippocampus zu finden, die möglicherweise ursächlich für die Entstehung der bipolaren Störung oder als Folge dieser auftreten.

In der vorliegenden Arbeit wurden daher das Volumen des Hippocampus, die Gesamtzellzahlen der Neurone, der Oligodendrozyten und der Astrozyten sowie das Zellvolumen der Neurone und Oligodendrozyten anhand von stereologischen Untersuchungen an Gehirnschnitten von bipolaren Patienten und gesunden Menschen untersucht und unter folgenden Fragestellungen verglichen:

1. Zeigen sich Unterschiede bezüglich des Hippocampusvolumens zwischen bipolar Erkrankten und Gesunden?
2. Gibt es Unterschiede zwischen den Gesamtzellzahlen und der Zelldichte?
3. Unterscheiden sich die einzelnen Zellvolumina zwischen Patienten mit bipolarer Störung und gesunden Kontrollen?

2 Material und Methoden

2.1 Untersuchte Gehirne

Für die Datenerhebung wurden histologische Gehirnschnitte aus der Magdeburger Sammlung verwendet. Dabei wurden 8 Post-Mortem-Gehirne (rechte und linke Hemisphäre) von männlichen und weiblichen Patienten mit bipolarer Depression untersucht (Alter zwischen 39 und 69 Jahren, durchschnittliches Alter $56,38 \pm 11,14$ Jahre, 4 männliche, 4 weibliche, mittleres Intervall zwischen Tod und Autopsie $36,5 \pm 24,88$ Stunden). 10 Post-Mortem-Gehirne (ebenfalls beide Hemisphären) von altersentsprechenden, männlichen und weiblichen, Personen ohne psychische Erkrankung wurden als Kontrollen herangezogen (Alter zwischen 33 und 64 Jahren, durchschnittliches Alter $50,2 \pm 10,06$ Jahre, 5 männliche, 5 weibliche, mittleres Intervall zwischen Tod und Autopsie $39,9 \pm 22,59$ Stunden). In Tabelle 3 sind die klinischen Diagnosen, Todesursachen und das jeweilige Intervall zwischen Todeszeitpunkt und Autopsie noch einmal zusammengefasst (Post-Mortem-Intervall). Alle Patienten erfüllten die diagnostischen Kriterien des DSM-IV (Diagnostic Statistical Manual, 4th revision) für bipolare Depressionen, das ein international anerkanntes Klassifikationssystem darstellt. Die Diagnosen wurden dabei von zwei erfahrenen Psychiatern gestellt. Ebenso wurden bei den Kontrollpersonen neuropsychologische Erkrankungen ausgeschlossen. Darüber hinaus wurden zur Diagnosesicherung, neben der Durchsicht der Krankenakten, strukturierte Interviews mit einem in die Behandlung involvierten Arzt sowie mit mindestens einer Person, die vor dem Tode regelmäßigen Kontakt hatte, geführt. Als Ausschlusskriterien für die Patienten galten Alkohol- oder Drogensucht sowie andere psychiatrische Erkrankungen. Für die Kontrollgruppe galten als Ausschlusskriterien neuropsychiatrische Erkrankungen, Alkohol- oder Drogensucht, Demenz, neurologische Erkrankungen, Traumata und chronisch terminale Erkrankungen. Hierfür wurde unter anderem eine toxikologische Blut- und Urinuntersuchung durchgeführt. Des Weiteren wurden sowohl die Gehirne der Patienten als auch der Kontrollpersonen auf makroskopische und mikroskopische Neuropathologien hin untersucht, um Erkrankungen wie Morbus Alzheimer, Morbus Parkinson, Tumoren, Blutungen oder Infektionen auszuschließen.

Die Medikation der Patienten mit bipolarer Depression in den letzten 90 Tagen vor dem Tode wurde den Krankenakten entnommen und ist in Tabelle 4 zusammengefasst. Die angegebenen Equivalentdosen wurden dabei entsprechend der Literatur berechnet (Busto et al. 1986, Perry und Alexander 1986, Rey et al. 1989, Bollini et al. 1999).

Die Studie erfolgte in Übereinstimmung mit der Ethikkommission der Universität Magdeburg, wobei gemäß den Richtlinien die Autopsien erst nach Zustimmung eines Verwandten durchgeführt wurden.

Tabelle 3: Untersuchungskollektiv

Nr.	G	S	Alter	DSM-IV	PMI [Std.]	Todesursache
N3	C	M	56		24	akute Pankreatitis
N10	C	M	50		24	akuter Myokardinfarkt
N19	C	F	33		72	Koronarthrombose
N20	C	M	64		35	rupturiertes Aortenaneurysma
N21	C	F	52		48	Ovarialkarzinom
N22	C	F	47		26	Niereninsuffizienz
N23	C	M	38		19	Akute Herzinsuffizienz
N27	C	F	50		72	rupturiertes Aortenaneurysma
N29	C	M	47		24	Koronarthrombose
N34	C	F	64		24	Peritonitis
D10	P	F	46	296.54	4	Suizid durch Tabletten
D12	P	M	69	296.54	24	Bronchopneumonie
D19	P	F	62	296.54	72	Lungenembolie
D20	P	M	69	296.54	48	Lungenembolie
D22	P	M	47	296.53	24	Suizid durch Erstechen und Verbluten
D24	P	F	60	296.54	24	Bronchopneumonie
D25	P	M	39	296.54	24	Lungenembolie
D29	P	F	59	296.54	72	Suizid durch Tabletten

G = Gruppe, S = Geschlecht, C = Kontrolle, P = Patient, PMI= Post-Mortem-Intervall

Tabelle 4: Medikamente in den letzten 90 Tagen vor dem Tod (durchschnittliche Tagesdosis in mg)

Patientennr.	Antidepressiva (Amitriptylinequivalente)	Neuroleptika (Chlorpromazinequivalente)	Benzodiazepine (Diazepamequivalente)	Lithium
D10	133	327	3,3	558
D12	0	0	6,8	0
D19	0	110	17,6	0
D20	0	221	0,8	740
D22	93	117	3,9	0
D24	52	109	17,6	0
D25	17	501	0	0
D29	112	140	10	0

2.2 Herstellung der histologischen Präparate

Zur Herstellung der histologischen Präparate wurden die Gehirne zunächst im Ganzen gleichmäßig über 7 Monate in 10%iger phosphatgepufferter Paraformaldehydlösung fixiert (pH 7,0, T 15-20°C). Im Anschluss wurden die Frontal- und Okzipitallappen mittels koronarer Schnitte vom Mittelhirn getrennt und zwar vor dem Genu des Corpus callosum und hinter dem Splenium. Die so erhaltenen Abschnitte enthielten beide Hemisphären. Die vorderen und mittleren Blöcke, die den vollständigen Hippocampus enthielten, wurden in Paraffin eingebettet. Mit Hilfe eines Polycut S Leica Mikrotoms wurde anschließend eine koronare Schnittserie hergestellt mit einer Schnittdicke von 20 µm. Hierauf folgte eine Dehydratation mittels aufsteigender Ethanolreihe auf gelatinebeschichteten Objektträgern. Jeder 50. Schnitt (Abstand zwischen den Schnitten 1 mm) wurde mit Nissl (*cresyl violet*) und Myelin (*luxol fast-blue*) gefärbt. Abschließend wurde die aktuelle Schnittdicke durch Fokussierung der Ober- und Unterfläche durch ein Lichtmikroskop mit 1000facher Vergrößerung kontrolliert, indem die Koordinaten der z-Axen der unteren von den Koordinaten der oberen Fläche subtrahiert wurden (Danos et al. 2002). Die mittlere Schnittdicke betrug nach der histologischen Aufarbeitung $18,9 \pm 1,2\mu\text{m}$, so dass der Distanz zwischen jedem fünfzigsten Schnitt ein Wert von 1 Millimeter zugeordnet werden konnte (Bogerts et al. 1990).

Abbildung 1: Fotografie eines fertigen Hirnschnittes

2.3 Grundlagen der Stereologie

In der vorliegenden Arbeit wurden die Volumina der untersuchten Hippocampi sowie die Gesamtzellzahl und das durchschnittliche Zellvolumen mit Hilfe des stereologischen Verfahrens untersucht. Hierfür wurde das Programm „Stereo Investigator 7“ (MicroBrightField, Inc. USA) verwendet, wobei die Bestimmung der Zellzahlen mit dem *Optical Fractionator* und die Bestimmung der Zellvolumina mit dem *Isotropic Nucleator* erfolgte.

Als „Design Based Stereology“ bezeichnet man eine statistische Methode, bei der dreidimensionale Eigenschaften, wie z.B. Volumen, Dichte oder Zellzahl, auf Grundlage von zweidimensionalen histologischen Schnitten, ermittelt werden können und zwar unabhängig von der Größe, der Form oder der räumlichen Verteilung der zu untersuchenden Struktur (West 2002).

Die Ergebnisse gelten dabei als vergleichsweise unbiased und präzise, d.h. sie sind bei der Quantifizierung von histologischen Strukturen in einem Gewebsschnitt, statistisch unbeeinflusst und unverzerrt durch systematische Fehler (West 1999). Voraussetzung hierfür ist das sogenannte *systematic random sampling* (Schmitz und Hof 2005), eine unbefangene und effiziente Prozedur der Stichprobenerhebung. Hierbei wird in einem zufälligen Auswahlprozess eine geringe Anzahl gleichmäßig verteilter Schnitte aus einer vollständigen Schnittsequenz festgelegt. Die Distanz zwischen den einzelnen Schnitten ist dabei systematisch, die Entscheidung, mit welchem Schnitt begonnen wird, dagegen zufällig. Im vorliegenden Fall betrug die Distanz zwischen den einzelnen Stichproben 1 mm, da jeder fünfzigste Schnitt mit einer jeweiligen Schnittdicke von 20 µm ausgewählt wurde.

Die im Folgenden beschriebenen stereologischen Untersuchungen erfolgten alle unter Blindbedingungen. Dem Untersucher war also bis zur endgültigen Auswertung nicht bekannt, zu welcher Gruppe die Gehirne gehörten.

2.3.1 Stereologischer Messplatz

Abbildung 2 Stereologischer Messplatz

Alle Auswertungen wurden an einem stereologischen Messplatz unter Verwendung des standardisierten C.A.S.T.-Grid-Systems („Computer Assisted Stereological Toolbox“; Olympus, Albertslund, Dänemark) (s. Abb. 2) durchgeführt. Dieser besteht aus den folgenden Komponenten:

1. Modifiziertes Lichtmikroskop (Typ BX 51, Olympus, Tokyo, Japan)
2. Revolver mit folgenden Objektiven (alle Olympus, Tokyo, Japan):
 - UPlanApo 1,5x
 - UPlanApo 10x
 - UPlanApo 50x /Oil Iris
 - UPlanApo 100x /Oil Iris
3. Motorgetriebener Objektträgertisch mit Steuereinheit
4. CCD Color-Kamera
5. Personal-Computer (mit Frame-Grabber-Karte)

2.3.2 Volumenbestimmung nach dem Cavalieri-Prinzip

Grundlage für die Volumenbestimmung bildet die oben erwähnte SRS-Serie, die für die vorliegende Arbeit aus jedem fünfzigsten Schnitt der Gesamtserie bestand. Die sogenannte *slice sampling fraction* (West et al. 1991), die später für die Berechnung der Gesamtzellzahl erforderlich ist, betrug folglich 1/50. Aus dieser SRS-Serie wurden wiederum alle Gehirnschnitte ausgewählt, die sich vom Corpus geniculatum laterale bis zum Splenium des Corpus callosum erstreckten. Damit wurde ein repräsentativer Querschnitt durch den posterioren Hippocampus ausgezählt. Im Weiteren wurde der posteriore Hippocampus in folgende Unterregionen eingeteilt (s. Abb. 3), die getrennt voneinander untersucht wurden: CA (Cornu ammonis) 1, 2-3, 4 und Subiculum. In Übereinstimmung mit der Literatur (Ellison-Wright et al. 2008) wurden die Regionen CA2 und CA3 zusammengelegt, da eine Unterscheidung anhand histologischer Kriterien unter dem Lichtmikroskop bei diesen kleinen Regionen schwierig ist. Zu beachten ist in diesem Zusammenhang, dass die anatomische Abgrenzung der Regionen CA3 und CA4 eine anerkannte Methode ist, den Hippocampus einzuteilen (Lopes da Silva et al. 1990), die jedoch ohne funktionelle Konsequenz ist, da die Neurone aus CA4 den polymorphen Layer des Gyrus dentatus bilden (Amaral et al. 2007).

Die einzelnen Unterregionen wurden bei 2 x 1600facher Vergrößerung unter dem Lichtmikroskop abgegrenzt, indem sie mit dem Mauszeiger nachgezeichnet wurden. Das System speichert dabei die x- und y-Koordinaten und berechnet auf Basis des eingegebenen Vergrößerungsfaktors die Fläche der vom Benutzer definierten *region of interest* (ROI). Anschließend wurde aus der Summe der gemessenen Projektionsflächen aller Schnitte in der untersuchten SRS-Serie mit der Formel

$$V = \left(\sum_{i=1}^m A_i \right) \cdot t \cdot s$$

(m: Anzahl der Schnitte in der untersuchten SRS-Serie; t: mittlere tatsächliche Schnittdicke; s: Intervall der SRS-Serie [50, da jeder fünfzigste Schnitt untersucht wurde])

das Volumen berechnet.

Abbildung 3: Fotografie eines 20 µm dicken Koronarschnittes.

2.3.3 Bestimmung der Gesamtzellzahlen mit dem „Optical fractionator“

Bei der mikroskopischen Untersuchung wurde zwischen Neuronen, Oligodendrozyten und Astrozyten unterschieden. Die Differenzierung erfolgte aufgrund histologischer und morphologischer Kriterien. Neurone zeigten viel Zytoplasma, eine weniger ausgeprägte Kernmembran, einen deutlich sichtbaren Nucleolus in einem blassen Kern und eine weniger heterogene Verteilung des Chromatins im Kern. Die Oligodendrozyten wurden durch das Fehlen der zytoplasmatischen Färbung, der intensiven Färbung des im Kern verteilten Chromatins und dem Fehlen eines Nucleolus identifiziert (van Kooten et al. 2008). Die Astrozyten waren weniger dicht gefärbt und zeigten einen klaren Zytoplasmarand (Hof et al. 2003, Stark et al. 2004). Zur Bestimmung der Gesamtzellzahlen diente die im vorherigen Schritt erläuterte Markierung der einzelnen Regionen als Grundlage. Im nächsten Schritt wurde die markierte Fläche durch ein Zählgitter (*counting grid*), mit zufälligem Beginn, überlagert und das Programm bestimmte automatisch die Anzahl und Lage der dreidimensionalen Zählrahmen, der sogenannten *counting frames* (Gundersen et al. 1988). *Counting frames* (s. Abb 4) bestehen dabei aus zwei *exclusion lines* und

zwei *inclusion lines*. Um eine fehlerfreie Bestimmung der Zellzahlen zu garantieren, wurden bestimmte Zählregeln, die *counting rules* festgelegt und eingehalten.

Nach diesen Regeln wurde auf dem Monitor gezählt:

1. Objekte wurden nicht gezählt, wenn sie eine oder beide „*exclusion lines*“ innerhalb oder außerhalb des Rahmens geschnitten haben oder berührten.
2. Objekte wurden gezählt, wenn sie eine oder beide „*inclusion lines*“ geschnitten haben oder berührten oder innerhalb der Fläche des Zählrahmens lagen ohne eine Linie zu schneiden (Sterio 1984)
3. Es wurden alle Objekte gezählt, die beim Durchfahren des Zählrahmens in der z-Achse bis zu einer Tiefe von 20µm in den Fokus kamen und keine Ausschlusskriterien innerhalb der x- und y-Achse erfüllten (West et al. 1991).

Das Programm wechselte während des Zählvorgangs automatisch von einem zum nächsten *counting frame*. Die Auswahl des Startpunktes für die Zählung unterliegt dabei, wie oben bereits erwähnt, dem Zufall. Tabelle 5 fasst noch einmal die wichtigsten stereologischen Details zusammen.

Abbildung 4: Zählrahmen. Die Zellen mit einem grünen Haken dürfen gezählt werden, die mit einem roten Kreuz nicht. Grüne Linien = *inclusion lines*, rote Linien = *exclusion lines*.

Tabelle 5: Details der stereologischen Messungen

	CA1	CA2/3	CA4	Subiculum
Objektiv	50x	50x	50x	50x
B (μm^2)	900	900	900	900
H (μm)	20	20	20	20
D (μm)	170 x 340	455 x 170	430 x 290	1050 x 400
ΣCS	150	150	200	400
$\text{CE}_{(\text{Neurone})}$	0,044	0,038	0,044	0,026
$\text{CE}_{(\text{Oligodendrozyten})}$	0,037	0,032	0,028	0,025
$\text{CE}_{(\text{Astrozyten})}$	0,082	0,071	0,076	0,045
L	3	3	3	3

Objektiv: verwendete Vergrößerung; B und H: Fläche und Höhe des „Counting Frames“;

D: Distanz zwischen den „Counting Frames“ in x- und y-Richtung; ΣCS : durchschnittlich verwendete Anzahl an Counting Frames pro Hemisphäre; CE: Coefficient of error; L: Anzahl der Linien, die zur Volumenbestimmung mittels des Nucleator verwendet wurden

Für jede Hemisphäre und jede einzelne Region des posterioren Hippocampus konnte so unter Verwendung folgender Formel (Schmitz und Hof, 2005) eine Gesamtzellzahl ermittelt werden.

$$N = Q \times 1/\text{ssf} \times 1/\text{asf} \times 1/\text{hsf}$$

N = tatsächliche Anzahl an Neuronen

Q = innerhalb der Software gezählte Zellen

asf = *sampling grid area (XY) / counting frame area (XY)*

ssf = 50 (jeder 50. Schnitt)

hsf = *number weighted mean section thickness / dissector height (Z)*

Die Faktoren 1/asf und 1/hsf werden dabei vom Programm automatisch in das Ergebnis eingerechnet. Das von der Software ausgegebene Produkt wird anschließend noch mit dem Faktor 50 korrigiert, um der oben erwähnten ssf gerecht zu werden.

Durch Addition der Ergebnisse, der untersuchten Schnitte, ergibt sich dann die Gesamtzellzahl der einzelnen Region.

$$N_{\text{gesamt}} = N_{\text{Schnitt1}} + N_{\text{Schnitt2}} + N_{\text{Schnitt3}} + \dots$$

2.3.4 Bestimmung des Zellvolumens mit dem „Isotropic-Nucleator“

Mit Hilfe des Nucleators (Gundersen 1988) wurde das Volumen der einzelnen Zellen ermittelt. In der vorliegenden Arbeit wurde sich darauf beschränkt, die Volumina der Oligodendrozyten und der Neurone zu bestimmen. Die im Folgenden erläuterten Arbeitsschritte erfolgten dabei während der oben beschriebenen Zellzahlbestimmung mittels des *optical fractionators*. Es wurden nur die Volumina der Zellen bestimmt, die auch nach den oben erwähnten Zählregeln gezählt wurden. Voraussetzung für die Verwendung des Nucleators ist, dass jeder Zelle ein eindeutiger Referenzpunkt zugeordnet werden kann. Dies ist in den meisten Fällen der Zellkern oder der Nucleolus. Aufgrund des deutlich abgrenzbaren Nucleolus, wurde dieser bei den Neuronen als Referenzpunkt gewählt. Bei den Oligodendrozyten wurden dagegen, bei fehlendem Nucleolus, der Zellkern markiert. Der Nucleator projiziert dabei eine vorgegebene Anzahl an Geraden, in diesem Falle drei, durch die Zelle. Die Geraden stehen in einem Winkel von 120° zueinander. Anschließend wurden die Schnittpunkte des Zellrandes mit der Geraden markiert. Auf Grundlage des bekannten Vergrößerungsfaktors erfolgt dann eine automatische Volumenberechnung der einzelnen Zelle sowie nach Abschluss des Zählvorganges eine Bestimmung des mittleren Zellvolumens innerhalb der ROI. Die normalerweise für die Anwendung des Nucleators erforderlichen *isotropic uniform random* – oder *vertical uniform random* – *sections* (Baddeley und Gundersen 1986) sind, wie im Mäusehippocampus gezeigt werden konnte, aufgrund der räumlichen Zellanordnung, nicht erforderlich, da sich bei der Verwendung normaler Koronarschnitte die gleichen Ergebnisse wie bei Verwendung der *isotropic uniform random* – *sections* ergaben (Schmitz et al. 1999).

2.3.5 Reproduzierbarkeit der Ergebnisse

Durch wiederholte Messungen von 10 Regionen unterschiedlicher Patienten und gesunden Kontrollen, die wiederum verblindet bezüglich Diagnose und demographischer Daten erfolgten, konnte eine Intra – Rater – Reliabilität berechnet werden. Der intraclass correlation coefficient (ICC) betrug dabei 0,996 für Neurone, 0,998 für Oligodendrozyten, 0,979 für Astrozyten und 0,999 für das Strukturvolumen. Unzureichende Werte ergaben sich für die berechneten Zellvolumina mit 0,477 für Oligodendrozyten und 0,802 für Neurone.

2.3.6 Statistische Analyse

Mittels einfaktorieller Varianzanalyse wurden die Mittelwerte für Alter und PMI zwischen den beiden untersuchten Gruppen verglichen. Ob zwischen den Patienten mit bipolarer Störung und den gesunden Kontrollen eine signifikante Geschlechtsungleichverteilung bestand, wurde dabei mit dem Chi²-Test auf Unabhängigkeit überprüft. Zwischen Alter, Post-Mortem-Intervall und den abhängigen Variablen wurde jeweils eine bivariate Produkt-Moment-Korrelation nach Pearson berechnet. Die abhängigen Variablen waren,

die Zellzahlen (Astrozyten, Oligodendrozyten, Gesamtneurone),

die Zelldichten (Astrozyten, Oligodendrozyten, Gesamtneurone) sowie das Strukturvolumen (mm³)

Getrennt für die Variablenblöcke Astrozytenanzahl, Oligodendrozytenanzahl, Gesamtneuronenanzahl und Strukturvolumen erfolgte eine multivariate Kovarianzanalyse (MANCOVA) mit

Zwischensubjektfaktoren: Diagnose, Geschlecht,

Innersubjektfaktoren: Seite, Region

Kovariate: Alter

Da sich zwischen Post-Mortem-Intervall und den abhängigen Variablen keine signifikanten Korrelationen ergaben, wurde das PMI bei den Hauptanalysen nicht als Kovariate einbezogen.

Der Zusammenhang zwischen Krankheitsdauer, Medikation und den abhängigen Variablen wurde mit Spearman-Korrelationen untersucht.

Unterschiede wurden bei $p < 0.05$ als signifikant angesehen. Die Berechnungen wurden mit dem Programm SPSS (Version 20 für Windows, SPSS, Chicago, IL, USA) durchgeführt.

Aufgrund der unzureichenden Intra – Rater – Reliabilität wurden die bestimmten Zellvolumina nicht in die statische Analyse mit einbezogen.

Abbildung 5: Repräsentative Bilder des posterioren Anteils des Hippocampus einer Kontrollperson und eines bipolaren Patienten.

3 Ergebnisse

Aus Gründen der Übersichtlichkeit sind im Folgenden lediglich die signifikanten Ergebnisse dargestellt bzw. die Resultate, bei denen sich ein Trend zeigte

3.1.1 Gesamtneurone

Für den Faktor Diagnose ergab sich aus dem multivariaten Test ein signifikanter Effekt ($p=0.018$, df 1,12, F 7,3). Aus den nachfolgenden univariaten Tests erhält man signifikant erhöhte Zellzahlen bei bipolaren Patienten vs. Kontrollen in CA1 ($p=0.029$, df 1,12, F 6,1; I : +69%, r : +25%) und im Subiculum ($p=0.019$, df 1,12, F 7,1; I : +18%, r : +41%) und einen Trend in CA4 ($p=0.063$, df 1,12, F 4,1; I : +27%, r : +27%). Aus dem multivariaten Test ergibt sich ein signifikanter Einfluss des Faktors Region (Zellzahlen am größten im Subiculum) sowie eine signifikante Interaktion Region x Diagnose ($p=0.001$, df 3,1, F 6,87; Differenzen bipolare Patienten vs. Kontrollen am größten in CA1, am kleinsten in CA2/3).

Abbildung 6: Neuronenzahl in CA1

Abbildung 7: Neuronendichte in CA4

Abbildung 8: Neuronenzahl im Subiculum

Abbildung 9: Neuronendichte im Subiculum

Legende: Die Balken stellen jeweils die Mittelwerte in den beiden Gruppen dar. Als Fehlerbalken ist die Standardabweichung aufgetragen. Balken für die Kontrollgruppen erscheinen blau, für die bipolaren Patienten grün. Auf der y - Achse sind jeweils die absoluten Zellzahlen [in 10^5] bzw. die Dichte pro [$\text{mm}/10^3$] angegeben. Die signifikanten Befunde sind mit * gekennzeichnet.

3.1.2 Oligodendrozyten

Für den Faktor Diagnose ergab sich aus dem multivariaten Test eine Trend ($p=0.062$, df 1,12, F 4,2). Aus den nachfolgenden univariaten Tests erhält man in CA1 signifikant erhöhte Zellzahlen bei bipolaren Patienten vs. Kontrollen ($p=0,043$, df 1,12, F 5; I : 49%, r : 31%) und ein Trend im Subiculum ($p=0.081$, df 1,2, F 3,58, I : +30%, r : +38%) zu erhöhten Zellzahlen bei bipolaren Patienten. Aus dem multivariaten Test ergab sich ein signifikanter Einfluss des Faktors Region ($p=0.003$, df 3,1, F 5,62, Zellzahlen im Subiculum am größten) sowie signifikante Interaktionen Region x Diagnose ($p=0.033$, df 3,1, F 3,23, Differenzen bipolare Patienten vs. Kontrollen am größten in CA1). Es ergaben sich keine signikanten Seitenergebnisse.

Abbildung 10: Oligodendrozytenzahl in CA1

Legende: Die Balken stellen jeweils die Mittelwerte in den beiden Gruppen dar. Als Fehlerbalken ist die Standardabweichung aufgetragen. Balken für die Kontrollgruppen erscheinen blau, für die bipolaren Patienten grün. Auf der y - Achse sind jeweils die absoluten Zellzahlen [in 10^5] bzw. die Dichte pro $[mm/10]^3$ angegeben. Die signifikanten Befunde sind mit * gekennzeichnet.

3.1.3 Astrozyten

Aus der MANCOVA ergab sich kein signifikanter Diagnoseeffekt. Es ergab sich aber ein signifikanter Alterseinfluss ($p < 0.05$), der sich bei dem nachfolgenden univariaten Test für das Subiculum widerspiegelte. Aus dem multivariaten Test ergaben sich keine Signifikanzen für den Faktor Region. Es ergaben sich aber signifikante Haupteffekte des Faktors Seite ($p = 0.012$, df 1,12, F 8,4). Nachfolgende univariate Tests zeigten signifikante Ergebnisse im Subiculum ($p = 0.013$, df 1,12, F 8,2, li. > re.).

3.1.4 Korrelation Demographische Daten

Es ergaben sich keine signifikanten Alters- oder Post-Mortem-Intervall-Unterschiede zwischen den beiden Gruppen. Es ergaben sich keine signifikanten Geschlechtsverteilungsdifferenzen zwischen den Gruppen.

3.1.5 Korrelation PMI

Sowohl bei den Kontrollen als auch bei den bipolaren Patienten ergaben sich keine signifikanten Korrelationen zwischen Post-Mortem-Intervall und den abhängigen Variablen.

3.1.6 Korrelation Medikamente

Signifikant positive Korrelationen ergaben sich zwischen der Dosis in Amitriptylinäquivalenten und der Oligodendrozytenanzahl im Subiculum links sowie der Oligodendrozytenanzahl in CA2/3 rechts, zwischen Dosis in Diazepamäquivalenten und dem Strukturvolumen CA4 links und Dosis in Lithiumäquivalenten und der Oligodendrozytenanzahl im Subiculum rechts.

3.1.7 Korrelation Alter

Signifikant negative Korrelationen ergaben sich bei den bipolaren Patienten zwischen Alter und Gesamtneuronenzahl in CA1 und CA4 rechts sowie zwischen Alter und Strukturvolumen in CA4 rechts. Bei den gesunden Kontrollen ergaben sich signifikant positive Korrelationen zwischen Alter und den Astrozytenzahlen bzw. Alter und der Astrozytendichte in CA1, CA2/3 und im Subiculum.

Abbildung 11: Korrelation Neuronenzahl und Alter in CA1

Abbildung 12: Korrelation Neuronenzahl und Alter in CA4

Abbildung 13: Korrelation Neuronendichte und Alter in CA2/3 rechts

Abbildung 14: Korrelation Neuronendichte und Alter in CA2/3 links

Abbildung 15: Korrelation Strukturvolumen und Alter in CA4 rechts

Abbildung 16: Korrelation Astrozytenzahl und Alter in CA1 rechts

Abbildung 17: Korrelation Astrozytendichte und Alter in CA1 rechts

Abbildung 18: Korrelation Astrozytenzahl und Alter in CA2/3 rechts

Abbildung 19: Korrelation Astrozytendichte und Alter in CA2/3 rechts

Abbildung 20: Korrelation Astrozytenzahl und Alter im Subiculum rechts

Abbildung. 21: Korrelation Astrozytendichte und Alter im Subiculum rechts

Legende: Streudiagramme Alter (in Jahren) x abhängige Variable (Zellzahlen, Zelldichten). Wenn sich für eine Gruppe (Kontrollen, bipolare Patienten, gesamt) eine signifikant von Null verschiedene Produkt-Moment-Korrelation nach Pearson ergab, ist für die Gruppe jeweils die Regressionsgerade mit 95% - Konfidenzintervall geplottet. Außerdem sind dann Korrelation (r) und p - Wert angegeben.

4 Diskussion

Ein Vergleich der Zellpathologien zwischen bipolarer Störung und neurodegenerativen Erkrankungen in Post-Mortem-Studien zeigt, dass es sich bei der bipolaren Störung nicht um eine klassische neurodegenerative Erkrankung mit Ausbildung einer Astrogliose, sondern vielmehr um eine Erkrankung mit Beeinträchtigung der neuronalen Plastizität handelt (Rajkowska 2002). Neuronale Plastizität beschreibt dabei die adaptiven Veränderungen des neuronalen Netzwerkes auf systemischer, zellulärer und molekularer Ebene. Die Erkenntnis, dass sich das neuronale Netzwerk kontinuierlich in Reorganisation und Modifikation befindet, hat dabei die ehemals vorherrschende Hypothese, dass das adulte Nervensystem von Säugetieren keine regenerativen Fähigkeiten besitzt abgelöst. In Abhängigkeit von der Art der Veränderungen wird die neuronale Plastizität in einzelne Subtypen gegliedert. Unter struktureller Plastizität versteht man dabei morphologische Veränderungen von Neuronen wie axonale und dendritische Reorganisation oder Neurogenese. Veränderungen der Stärke der synaptischen Übertragung und Veränderungen der synaptischen Kontaktfläche bzw. einen Auf-, Ab- oder Umbau von Synapsen bezeichnet man als synaptische Plastizität.

Eine erhöhte Zellzahl bzw. Dichte in einzelnen Subregionen des posterioren Hippocampus bei Patienten mit bipolarer Störung bei gleichzeitig fehlendem Nachweis einer Zunahme des Strukturvolumens könnte daher als Störung der neuronalen Plastizität, z.B. in Form einer Reduktion von Dendriten und Synapsen, gedeutet werden. Dies wird im Folgenden anhand der einzelnen Ergebnisse diskutiert.

4.1 Validität der stereologischen Ergebnisse

Auf die Validität der in der vorliegenden Arbeit erhobenen Daten soll hier nicht speziell eingegangen werden, da über die Güte der angewandten stereologischen Messmethoden in der Literatur bereits umfassend diskutiert wurde (Schmitz 1998,

Schmitz und Hof 2000, Schmitz und Hof 2005) und die CE - Werte sowie die Intra – Rater – Reliabilität unserer Ergebnisse die Güte der erhobenen Daten bestätigen.

4.2 Neurone und synaptische Plastizität

In der vorliegenden Arbeit konnte eine erhöhte Zellzahl von Neuronen im posterioren Anteil des Hippocampus in der Subregion CA1 und im Subiculum bei gleichbleibendem Volumen bei bipolaren Patienten nachgewiesen werden.

Eine verminderte Dichte und Größe nichtpyramidaler Neurone in der Subregion CA2/3 (Benes et al 1998) sowie eine Verringerung der Dichte paravalbuminpositiver Neurone in CA2 (Knable et al. 2004) konnten wir dagegen nicht bestätigen. Ein Grund hierfür kann darin liegen, dass in der vorliegenden Arbeit keine Differenzierung zwischen Pyramidenzellen und Interneuronen erfolgte, da diese aufgrund zum Teil überlappender morphologischer Charakteristika in den Nissl – gefärbten Präparaten nicht sicher voneinander unterschieden werden können. Im Einklang mit vorhergehenden Studien konnten wir jedoch eine Abnahme der Neuronenanzahl in den Subregionen CA1 und CA4 in Abhängigkeit vom Alter aufzeigen, auch wenn diese z.T. nur sehr gering ausfällt (Pakkenberg et al. 2003). Einen Zusammenhang zwischen der Anzahl von Neuronen und dem Geschlecht, wie es z.B. im posterioren Anteil des Hippocampus bei an Schizophrenie erkrankten Patienten nachgewiesen werden konnte (Schmitt et al. 2009), fanden wir dagegen nicht.

In Ergänzung zu unseren Ergebnissen konnte eine erhöhte Anzahl von Neuronen in anderen Abschnitten des Gehirns, z.B. dem vorderen Teil des Gyrus cinguli, bei Patienten mit bipolarer Störung bereits im Vorfeld aufgezeigt werden (Chana et al. 2003), ebenso wie sich eine verminderte Dichte der neuronalen Dendriten im Subiculum zeigte (Rosoklija et al. 2000). Die fehlende Volumenzunahme des posterioren Hippocampus in der vorliegenden Arbeit - trotz erhöhter Zellzahl - ist daher hinweisend auf eine Reduktion des Neuropils mit dichter liegenden Zellverbänden.

Passend hierzu ist ein ebenfalls schon oft in der Vergangenheit replizierter Fund der Überaktivität der Hypothalamus-Hypophysen-Nebennierenrinden-Achse bei bipolar Erkrankten (Holsboer 2000), der wiederum für die Verminderung des neurotrophen

Faktors BDNF (*brain-derived-neurotrophic-factor*) mitverantwortlich scheint (Kawashima et al.). BDNF ist ein ca. 27kDA großes Polypeptid und gehört zur Familie der Neurotrophine. Es wird von Neuronen exprimiert, wobei die Expression im Hippocampus und im zerebralen Kortex als Hinweis auf eine wichtige Funktion in diesen Arealen besonders stark ist (Hofer et al. 1990). Neben der Rettung von Neuronen vor dem natürlichen Zelltod (Apoptose) (Lewin und Barde 1996) und den Effekten auf das Neuritenwachstum und die Differenzierung von Neuronen (Lindsay et al. 1985) zeigt sich vor allem eine wesentliche Rolle von BDNF in der synaptischen Plastizität. Neben kurzfristigen Effekten wie einer erhöhten Wahrscheinlichkeit der Neurotransmitterausschüttung nach BDNF – Applikation (Lessmann et al. 1994) finden sich auf langfristiger Ebene Veränderungen an Synapsen, z.B. in Form einer Zunahme von Dornfortsätzen der Dendriten (Muller et al. 2000).

Eine Reduktion der BDNF – Exprimierung im Hippocampus von Patienten mit bipolarer Störung konnte dabei schon durch Thompson (Thompson Ray et al. 2011) und Dunham (Dunham et al. 2009) evaluiert werden, wobei diese unter antidepressiver Therapie refraktär (Chen et al. 2001) ist, was auch ein Volumenwachstum des Hippocampus unter Einnahme von Antidepressiva, atypischen Antipsychotika und Stimmungsstabilisierern (Chen et al. 2001, Kodama et al. 2004, Malberg und Schechter 2005, Yucel et al. 2007, Foland et al. 2008, Yucel et al. 2008, Boldrini et al. 2009) erklären könnte.

Die Theorie einer Störung der neuronalen Plastizität unterstützend, konnten Eastwood und Harrison (2000) zeigen, dass die präsynaptischen Proteine Complexin I und Complexin II, die vor allem in inhibitorischen und exzitatorischen Neuronen gebildet werden, in CA4, dem Subiculum und parahippocampalen Subregionen vermindert sind. Weitere Hinweise für eine Störung in der synaptischen Plastizität liefern die Verringerungen des Proteins Synapsin (Vawter et al. 2002), des SNAP-25 Proteins (Synaptosomal – associated protein 25) (Fatemi et al. 2001), des GA – 43 Proteins (43 kDa growth – associated protein (Tian et al. 2007) sowie der, für das postsynaptische Protein Spinophilin codierenden, mRNA (Law et al. 2004).

Eine reduzierte Anzahl von NMDA – Rezeptoren im Hippocampus bei Patienten mit bipolarer Störung (Scarr et al. 2003) passt hier ebenfalls ins Bild, da das glutamaterge System eine bedeutende Rolle spielt, weil für eine regelrechte

synaptische Funktion Glutamat sowie der hemmende Neurotransmitter GABA im funktionellen Gleichgewicht miteinander stehen müssen (Lipton und Kater 1989).

Ergebnisse der funktionellen Bildgebung, die einen erniedrigten NAA – Spiegel (N – Acetylaspartat) im Hippocampus bei bipolarer Störung nachweisen konnten (Reynolds und Reynolds , Bertolino et al. 2003, Deicken et al. 2003), erscheinen in diesem Zusammenhang ebenfalls interessant. NAA ist z.B. an der neuronalen Proteinsynthese, der Myelinbildung und dem Metabolismus von Neurotransmittern beteiligt und gilt als hochsensitives Maß für den Bestand morphologisch und funktionell intakter Neurone und damit als Marker für neuronale Funktion und synaptische Plastizität (Ross und Michaelis 1994, Vion-Dury et al. 1994, Ross und Bluml 1996).

4.3 Oligodendrozyten

Wir konnten in unserer Studie eine erhöhte Zellzahl von Oligodendrozyten im posterioren Anteil des Hippocampus in der Subregion CA1 und ein Trend im Subiculum bei bipolaren Patienten nachweisen. Die zunehmende Oligodendrozytenanzahl bei fehlendem Nachweis einer Volumenzunahme des posterioren Hippocampus weist darauf hin, dass auch bei den Oligodendrozyten, korrespondierend zu den Neuronen, eine Störung der interzellulären Konnektivität, z.B. in Form einer Neuropildegeneration, vorliegt. Eine Reduktion des Neuropils im Hippocampus erscheint dabei jedoch nicht spezifisch für die bipolare Störung, sondern wird auch bei Patienten mit Depression gefunden (Stockmeier et al. 2004).

Keine Veränderung der Gliazelldichte bei bipolaren Patienten beschreibt dagegen Cotter (Cotter D 2001) im anterioren cingulären Kortex, wohingegen eine Reduktion der Gliazelldichte für den dorsolateralen präfrontalen Kortex beschrieben wird (Rajkowska et al. 2001). Einschränkung sei hier jedoch erwähnt, dass aus der Zelldichte nicht auf die Zellzahl geschlossen werden kann, da z.B. auch eine Schrumpfung des Gewebes durch Fixation und Färbemethoden zu einer Veränderung der Zelldichte führen kann.

Eine Reduktion von Gliazellen bei bipolaren Patienten im subgenualen präfrontalen Kortex bei unveränderter Zellzahl im somatosensorischen Kortex wird daneben ebenso beschrieben (Ongur et al. 1998). Allerdings muss auch hier erwähnt

werden, dass, wie auch in den oben genannte Studien, keine Differenzierung der Gliazellen hinsichtlich Oligodendroglia, Astroglia oder Mikroglia erfolgte, so dass ein Vergleich mit unserer Arbeit nicht möglich ist. Ebenso kann aufgrund dieser Arbeiten nicht automatisch auf Zellveränderungen in anderen Hirnregionen geschlossen werden.

Es bedarf weiterer Arbeiten, um das vor allem regional uneinheitliche Bild von Gliazellveränderungen im Rahmen einer bipolaren Störung zu untersuchen, insbesondere unter Berücksichtigung einer Differenzierung der Gliazellen.

4.4 Astrozyten

Wir fanden einen Effekt des Alters auf die Anzahl und Dichte der Astrozyten in einzelnen Subregionen, jedoch keinen Zusammenhang zwischen Diagnose und Astrozytenzahl. Diese Ergebnisse sind analog zu vorausgegangen tierexperimentellen Studien an Gehirnen von Mäusen (Mouton et al. 2002) sowie in Übereinstimmung mit einer vorangegangenen stereologischen Arbeit, die ebenfalls einen positiven Zusammenhang zwischen Alter und Anzahl bzw. Alter und Dichte der Astrozyten im posterioren Anteil des Hippocampus bei schizophrenen Patienten und gesunden Kontrollen zeigen konnte (Schmitt et al. 2009). Eine fehlende Astrozytose sowie einen positiven altersabhängigen Effekt auf die Astrozytendichte beschreiben auch Damadzic et al. (2001), die den entorhinalen Kortex bei Patienten mit Schizophrenie, Depression und bipolarer Störung untersuchten. Unsere Ergebnisse ansteigender Zellzahl und Dichte von Astrozyten im alternden Gehirn bei Patienten mit bipolarer Störung und gesunden Kontrollen kann daher als interne Validitätskontrolle für die Ergebnisse der stereologischen Untersuchung angesehen werden. Ein Einfluss der Astrozyten auf die Pathogenese der bipolaren Störung ist jedoch auf funktioneller Ebene möglich.

4.5 Volumen

In der vorliegenden Arbeit konnte keine Volumenänderung des posterioren Hippocampus bei bipolaren Patienten nachgewiesen werden. Diese Ergebnisse sind

in Übereinstimmung mit der Mehrheit der Studien mit angemessener Probandenzahl und validierten Untersuchungstechniken, die ebenso keinen Unterschied des Hippocampusvolumens zwischen Patienten mit bipolarer Störung und gesunden Kontrollen nachweisen konnten (Strakowski et al. 1999, Altshuler et al. 2000, Hauser et al. 2000, Strakowski et al. 2002, Brambilla et al. 2003, Adler et al. 2005, Dickstein et al. 2005, Adler et al. 2007, Scherk et al. 2008a).

Die von uns gefundenen Zellzahlveränderungen der Oligodendrozyten und Neurone bei fehlendem Nachweis einer Volumenänderung des posterioren Hippocampus weisen dabei neben der bereits oben diskutierten Störung der synaptischen Plastizität möglicherweise auch auf eine Volumenreduktion der Zellen hin. Eine Volumenreduktion der Oligodendrozyten (Brauch et al. 2006) sowie der Pyramidenzellen in der Subregion CA1 bei bipolarer Störung wurde dabei schon durch vorhergehende Studien gefunden (Liu et al. 2007). Die Ergebnisse hierzu sind insgesamt jedoch uneinheitlich, da ebenso eine Hypertrophie der Gliazellen im dorsolateralen präfrontalen Kortex berichtet wird (Rajkowska et al. 2001). Da die von uns durchgeführte Bestimmung des Zellvolumens aufgrund einer unzureichenden Intra – Rater – Reliabilität von der Auswertung ausgeschlossen wurde, ist ein näherer Vergleich zu den genannten Studien nicht möglich.

4.6 Post-Mortem-Intervalle

Das PostMortem-Intervall, das sich aus der Zeitspanne zwischen Versterben und Gewebeasservierung eines Individuums definiert, betrug für bipolare Patienten $36,5 \pm 24,88$ und für die Kontrollgruppe $39,9 \pm 22,59$ Stunden und war somit nicht signifikant unterschiedlich. Ein Einfluss auf die untersuchten Variablen konnte nicht festgestellt werden.

4.7 Konfundierende Variablen der vorliegenden Arbeit

Neben der geringen Fallzahl stellt eine der Hauptlimitationen dieser Arbeit die lediglich partielle Auswertung des Hippocampus dar, da lediglich der posteriore Teil untersucht wurde. Zudem erfolgte die Definierung des untersuchten Bereiches des posterioren Hippocampus unter Verwendung von externen Landmarken (Corpus geniculatum laterale und Splenium des Corpus callosum). Unregelmäßigkeiten im Schnittwinkel oder Volumenunterschiede können daher zu leicht differierenden Ergebnissen führen, zumal die bipolare Störung mit einer Volumenreduktion des Corpus callosum korreliert (Brambilla et al. 2003).

Eine weitere Limitation unserer Ergebnisse stellt die medikamentöse Therapie unseres Patientenkollektivs mit Antidepressiva, typischen Neuroleptika und Lithium dar, da hierdurch sowohl das Strukturvolumen als auch die Zellpopulationen beeinflusst sein könnten. Dafür spricht, dass unsere Ergebnisse einen positiven Einfluss von Amitriptylin auf die Anzahl von Oligodendrozyten im Subiculum (links) und in der Subregion CA2/3 (rechts) sowie zwischen Lithium und der Oligodendrozytenanzahl im Subiculum aufzeigen. In Übereinstimmung mit unseren Ergebnissen konnte in vitro ein positiver Einfluss antidepressiver Medikamente, unter anderem Amitriptylin, auf den Metabolismus von Gliazellen nachgewiesen werden (Bal-Klara 1989). Ebenso wie sich im Tierexperiment eine vermehrte Oligodendrozytenproliferation unter Lithium zeigte (Azim und Butt 2011).

Auch eine Erhöhung der neuronalen Dichte durch Behandlung mit Antipsychotika (Konopaske et al. 2007) sowie eine erhöhte Stammzellproliferation im Gyrus dentatus des Hippocampus infolge einer Behandlung mit atypischen Neuroleptika wird berichtet (Halim et al. 2004, Kodama et al. 2004). Diese Region haben wir in der vorliegenden Studie jedoch nicht untersucht.

Eine positive Korrelation der medikamentösen Therapie auf Neurone bzw. Oligodendrozyten in der Subregion CA1 und im Subiculum rechts konnten wir nicht feststellen, dennoch ist ein medikamentöser Effekt auf die von uns gefundenen Ergebnisse erhöhter Oligodendrozyten- und Neuronenzahlen in der Subregion CA1 bzw. CA1 und dem Subiculum nicht sicher ausschließen. Weitere tierexperimentelle stereologische Studien, die den medikamentösen Einfluss auf die Zellpopulationen in den einzelnen Subregionen des posterioren Hippocampus untersuchen, erscheinen notwendig.

4.8 Schlussfolgerung

Zusammenfassend zeigen die Ergebnisse unserer Arbeit eine erhöhte Anzahl von Oligodendrozyten in der Subregion CA1 und eine erhöhte Neuronenanzahl in den Subregionen CA1 und im Subiculum bei fehlendem Nachweis einer Volumenzunahme. Diese Ergebnisse stützen, wie auch in früheren Arbeiten über die Pathologien des Hippocampus bei Patienten mit bipolarer Störung aufgezeigt, die These einer Störung der synaptischen Plastizität.

Weitere Studien unter Einbeziehung des gesamten Hippocampus erscheinen notwendig, um unsere Ergebnisse in größeren Stichproben zu replizieren, insbesondere unter dem Aspekt der funktionellen Unterteilung des Hippocampus und der Rolle des ventralen Anteils im Rahmen der Affektverarbeitung (Fanselow und Dong 2010). Zudem sollte aus unserer Sicht eine Zelldifferenzierung mittels immunhistochemischer Ansätze erfolgen, um die Zellen nicht nur nach morphologischen Kriterien zu unterscheiden. Der Nachteil dieser Methode liegt jedoch in der bisher fehlenden seriellen Anfertigung der Präparate und somit einer fehlenden Möglichkeit der stereologischen Auswertung. Ebenso sollte in tierexperimentellen Arbeiten der Einfluss der medikamentösen Therapie auf die Zellpopulationen in den einzelnen Subregionen detaillierter erforscht werden.

5 Zusammenfassung

Die bipolare Störung als Teil der Gruppe der affektiven Störungen gehört mit der unipolaren Störung zu den häufigsten psychischen Erkrankungen nach den Substanzabhängigkeits- und Angsterkrankungen. Aufgrund der in epidemiologischen Studien nachgewiesenen ansteigenden Inzidenz der Erkrankung, der hohen Rezidivrate sowie der Begleiterkrankungen hat die bipolare Störung eine hohe medizinische und sozioökonomische Bedeutung.

Die pathophysiologischen Grundlagen der Erkrankung sind nach wie vor nicht vollständig verstanden und weiterhin Gegenstand der aktuellen Forschung. Der Bedeutung des Hippocampus als Teil des limbischen Systems wurde dabei lange Zeit wenig Beachtung geschenkt. Vorangegangene Studien belegen jedoch zweifelsfrei einen Zusammenhang mit Veränderungen des Hippocampus, der eine wichtige Rolle sowohl in der Gedächtnisbildung als auch der Affektverarbeitung spielt, und der bipolaren Störung.

Ziel der vorliegenden Arbeit - die nach unserer Kenntnis die erste stereologische Auswertung des posterioren Hippocampus bei Patienten mit bipolarer Erkrankung darstellt - war daher, ein mögliches Korrelat auf zellulärer Ebene in den Subregionen CA1 bis CA4 und im Subiculum zu finden. Hierfür wurden Gehirnschnitte aus der Magdeburger Sammlung von insgesamt 10 Kontrollen und 8 Patienten mit bipolarer Störung mittels einer validierten stereologischen Methode ausgewertet. Bestimmt wurden dabei neben dem Strukturvolumen sowohl die Zellzahl, die Zelldichte als auch das Zellvolumen, wobei letzteres aufgrund einer unzureichenden Intra-Rater-Reliabilität aus der statistischen Auswertung genommen wurde. Die von uns durchgeführte Post-Mortem-Studie zeigte dabei eine erhöhte Zellzahl und Zelldichte von Neuronen und Oligodendroglia in einzelnen Subregionen des posterioren Hippocampus bei an bipolarer Störung erkrankten Patienten. In Zusammenhang mit dem gleichbleibenden Volumen der von uns untersuchten Regionen lassen unsere Ergebnisse daher auf eine Störung der neuronalen Plastizität schließen, die bereits anhand von Genexpressionsstudien beschrieben wurde. Die Beobachtung unterstreicht erneut die Bedeutung des Hippocampus in der Ätiopathogenese der bipolaren Störung und impliziert weitergehende Forschungen auf dieser Ebene,

insbesondere - in Anbetracht der funktionellen Unterteilung des Hippocampus und der Rolle des anterioren Anteils an der Affektverarbeitung - unter Einbeziehung des gesamten Hippocampus.

6 Literaturverzeichnis

- Adler CM, Levine AD, DelBello MP, Strakowski SM (2005): Changes in gray matter volume in patients with bipolar disorder. *Biol Psychiatry* 58, 151-157
- Adler CM, DelBello MP, Jarvis K, Levine A, Adams J, Strakowski SM (2007): Voxel-based study of structural changes in first-episode patients with bipolar disorder. *Biol Psychiatry* 61, 776-781
- Altshuler LL, Bartzokis G, Grieder T, Curran J, Jimenez T, Leight K, Wilkins J, Gerner R, Mintz J (2000): An MRI study of temporal lobe structures in men with bipolar disorder or schizophrenia. *Biol Psychiatry* 48, 147-162
- Amaral DG, Scharfman HE, Lavenex P (2007): The dentate gyrus: fundamental neuroanatomical organization (dentate gyrus for dummies). *Prog Brain Res* 163, 3-22
- Angst J, Gamma A, Sellaro R, Lavori PW, Zhang H (2003): Recurrence of bipolar disorders and major depression. A life-long perspective. *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci* 253, 236-240
- Arnone D, Cavanagh J, Gerber D, Lawrie SM, Ebmeier KP, McIntosh AM (2009): Magnetic resonance imaging studies in bipolar disorder and schizophrenia: meta-analysis. *Br J Psychiatry* 195, 194-201
- Atmaca M, Yildirim H, Ozdemir H, Poyraz AK, Tezcan E, Ogur E (2006): Hippocampal 1H MRS in first-episode bipolar I patients. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 30, 1235-1239
- Azim K, Butt AM (2011): GSK3beta negatively regulates oligodendrocyte differentiation and myelination in vivo *Glia*. 59, 540-553
- Baddeley AJ, Gundersen HJ, Cruz-Orive LM (1986): Estimation of surface area from vertical sections. *J Microsc* 142, 259-276
- Baldessarini RJ (2002): Treatment research in bipolar disorder: issues and recommendations. *CNS Drugs* 16, 721-729
- Bal-Klara A (1989): Effects of some antidepressant drugs on the activity of glial cell enzymes in culture. *Eur J Pharmacol* 161, 231-235

- Barnett JH, Smoller JW (2009): The genetics of bipolar disorder. *Neuroscience* 164, 331-343
- Benes FM, Kwok EW, Vincent SL, Todtenkopf MS (1998): A reduction of nonpyramidal cells in sector CA2 of schizophrenics and manic depressives. *Biol Psychiatry* 44, 88-97
- Berghöfer A (2004): Hohe Kosten bipolarer Störungen durch konsequente Behandlung senken. *Arzneiverordnung in der Praxis* 31, 51-52
- Bertelsen A, Harvald B, Hauge M (1977): A Danish twin study of manic-depressive disorders. *Br J Psychiatry* 130, 330-351
- Bertolino A, Frye M, Callicott JH, Mattay VS, Rakow R, Shelton-Repella J, Post R, Weinberger DR (2003): Neuronal pathology in the hippocampal area of patients with bipolar disorder: a study with proton magnetic resonance spectroscopic imaging. *Biol Psychiatry* 53, 906-913
- Beyer JL, Kuchibhatla M, Payne ME, Moo-Young M, Cassidy F, Macfall J, Krishnan KR (2004): Hippocampal volume measurement in older adults with bipolar disorder. *Am J Geriatr Psychiatry* 12, 613-620
- Blumberg HP, Kaufman J, Martin A, Whiteman R, Zhang JH, Gore JC, Charney DS, Krystal JH, Peterson BS (2003): Amygdala and hippocampal volumes in adolescents and adults with bipolar disorder. *Arch Gen Psychiatry* 60, 1201-1208
- Bogerts B, Falkai P, Huperts M, Greve B, Ernst S, Tapernon-Franz U, Heinzmann U (1990): Post-mortem volume measurements of limbic system and basal ganglia structures in chronic schizophrenics. Initial results from a new brain collection *Schizophr Res.* 3, 295-301
- Boldrini M, Underwood MD, Hen R, Rosoklija GB, Dwork AJ, John Mann J, Arango V (2009): Antidepressants increase neural progenitor cells in the human hippocampus. *Neuropsychopharmacology* 34, 2376-2389
- Bollini P, Pampallona S, Tibaldi G, Kupelnick B, Munizza C (1999): Effectiveness of antidepressants. Meta-analysis of dose-effect relationships in randomised clinical trials. *Br J Psychiatry* 174, 297-303
- Bora E, Yucel M, Pantelis C (2010): Cognitive impairment in schizophrenia and affective psychoses: implications for DSM-V criteria and beyond. *Schizophr Bull* 36, 36-42

- Brambilla P, Harenski K, Nicoletti M, Sassi RB, Mallinger AG, Frank E, Kupfer DJ, Keshavan MS, Soares JC (2003): MRI investigation of temporal lobe structures in bipolar patients. *J Psychiatr Res* 37, 287-295
- Brauch RA, Adnan El-Masri M, Parker JC, Jr., El-Mallakh RS (2006): Glial cell number and neuron/glial cell ratios in postmortem brains of bipolar individuals. *J Affect Disord* 91, 87-90
- Busto U, Sellers EM, Naranjo CA, Cappell H, Sanchez-Craig M, Sykora K (1986): Withdrawal reaction after long-term therapeutic use of benzodiazepines. *N Engl J Med* 315, 854-859
- Chana G, Landau S, Beasley C, Everall IP, Cotter D (2003): Two-dimensional assessment of cytoarchitecture in the anterior cingulate cortex in major depressive disorder, bipolar disorder, and schizophrenia: evidence for decreased neuronal somal size and increased neuronal density. *Biol Psychiatry* 53, 1086-1098
- Chen B, Dowlatshahi D, MacQueen GM, Wang JF, Young LT (2001): Increased hippocampal BDNF immunoreactivity in subjects treated with antidepressant medication. *Biol Psychiatry* 50, 260-265
- Cotter D, Mackay D, Landau S, Kerwin R, Everall I (2001): Reduced glial cell density and neuronal size in the anterior cingulate cortex in major depressive disorder. *Arch Gen Psychiatry* 58, 545-553
- Craddock N, Khodel V, Van Eerdewegh P, Reich T (1995): Mathematical limits of multilocus models: the genetic transmission of bipolar disorder. *Am J Hum Genet* 57, 690-702
- Damadzić R, Bigelow LB, Krimer LS, Goldenson DA, Saunders RC, Kleinman JE, Herman MM (2001): A quantitative immunohistochemical study of astrocytes in the entorhinal cortex in schizophrenia, bipolar disorder and major depression: absence of significant astrogliosis. *Brain Res Bull* 55, 611-618
- Danos P, Baumann B, Bernstein HG, Stauch R, Krell D, Falkai P, Bogerts B (2002): The ventral lateral posterior nucleus of the thalamus in schizophrenia: a post-mortem study. *Psychiatry Res* 114, 1-9

- Dean B, Scarr E, Pavey G, Copolov D (2003): Studies on serotonergic markers in the human hippocampus: changes in subjects with bipolar disorder. *J Affect Disord* 75, 65-69
- Dean B, Scarr E, McLeod M (2005): Changes in hippocampal GABAA receptor subunit composition in bipolar 1 disorder. *Brain Res Mol Brain Res* 138, 145-155
- Deicken RF, Pegues MP, Anzalone S, Feiwell R, Soher B (2003): Lower concentration of hippocampal N-acetylaspartate in familial bipolar I disorder. *Am J Psychiatry* 160, 873-882
- Dickstein DP, Milham MP, Nugent AC, Drevets WC, Charney DS, Pine DS, Leibenluft E (2005): Frontotemporal alterations in pediatric bipolar disorder: results of a voxel-based morphometry study. *Arch Gen Psychiatry* 62, 734-741
- Drevets WC, Price JL, Simpson JR, Jr., Todd RD, Reich T, Vannier M, Raichle ME (1997): Subgenual prefrontal cortex abnormalities in mood disorders. *Nature* 386, 824-827
- Dunham JS, Deakin JF, Miyajima F, Payton A, Toro CT (2009): Expression of hippocampal brain-derived neurotrophic factor and its receptors in Stanley consortium brains. *J Psychiatr Res* 43, 1175-1184
- Dunn RT, Kimbrell TA, Ketter TA, Frye MA, Willis MW, Luckenbaugh DA, Post RM (2002): Principal components of the Beck Depression Inventory and regional cerebral metabolism in unipolar and bipolar depression. *Biol Psychiatry* 51, 387-399
- Eastwood SL, Harrison PJ (2000): Hippocampal synaptic pathology in schizophrenia, bipolar disorder and major depression: a study of complexin mRNAs. *Mol Psychiatry* 5, 425-432
- Ellison-Wright I, Glahn DC, Laird AR, Thelen SM, Bullmore E (2008): The anatomy of first-episode and chronic schizophrenia: an anatomical likelihood estimation meta-analysis. *Am J Psychiatry* 165, 1015-1023
- Fanselow MS, Dong HW (2010): Are the dorsal and ventral hippocampus functionally distinct structures? *Neuron* 65, 7-19
- Fatemi SH, Earle JA, Strydom JM, Lee S, Sedgewick J (2001): Altered levels of the synaptosomal associated protein SNAP-25 in hippocampus of subjects with mood disorders and schizophrenia. *Neuroreport* 12, 3257-3262

- Foland LC, Altshuler LL, Sugar CA, Lee AD, Leow AD, Townsend J, Narr KL, Asuncion DM, Toga AW, Thompson PM (2008): Increased volume of the amygdala and hippocampus in bipolar patients treated with lithium. *Neuroreport* 19, 221-224
- Frazier JA, Chiu S, Breeze JL, Makris N, Lange N, Kennedy DN, Herbert MR, Bent EK, Koneru VK, Dieterich ME (2005): Structural brain magnetic resonance imaging of limbic and thalamic volumes in pediatric bipolar disorder. *Am J Psychiatry* 162, 1256-1265
- Goldberg JF, Garno JL (2009): Age at onset of bipolar disorder and risk for comorbid borderline personality disorder. *Bipolar Disord* 11, 205-208
- Goldberg JF, Harrow M, Whiteside JE (2001): Risk for bipolar illness in patients initially hospitalized for unipolar depression. *Am J Psychiatry* 158, 1265-1270
- Grunze H, Dargel S (2010): Acute and long-term treatment for bipolar depression. *Nervenarzt* 81, 539-548
- Grunze H, Vieta E, Goodwin GM, Bowden C, Licht RW, Moller HJ, Kasper S The World Federation of Societies of Biological Psychiatry (WFSBP) Guidelines for the Biological Treatment of Bipolar Disorders: Update 2010 on the treatment of acute bipolar depression. *World J Biol Psychiatry* 11, 81-109
- Gundersen HJ (1988): The nucleator. *J Microsc* 151, 3-21
- Gundersen HJ, Bagger P, Bendtsen TF, Evans SM, Korbo L, Marcussen N, Moller A, Nielsen K, Nyengaard JR, Pakkenberg B (1988): The new stereological tools: disector, fractionator, nucleator and point sampled intercepts and their use in pathological research and diagnosis. *APMIS* 96, 857-881
- Haack S, Pfennig A, Bauer M (2010): Bipolar depression. Epidemiology, etiopathogenesis, and course. *Nervenarzt* 81, 525-530
- Halim ND, Weickert CS, McClintock BW, Weinberger DR, Lipska BK (2004): Effects of chronic haloperidol and clozapine treatment on neurogenesis in the adult rat hippocampus. *Neuropsychopharmacology* 29, 1063-1069
- Hauser P, Matochik J, Altshuler LL, Denicoff KD, Conrad A, Li X, Post RM (2000): MRI-based measurements of temporal lobe and ventricular structures in patients with bipolar I and bipolar II disorders. *J Affect Disord* 60, 25-32
- Heckers S, Konradi C (2002): Hippocampal neurons in schizophrenia. *J Neural Transm* 109, 891-905

- Hof PR, Haroutunian V, Friedrich VL, Jr., Byne W, Buitron C, Perl DP, Davis KL (2003): Loss and altered spatial distribution of oligodendrocytes in the superior frontal gyrus in schizophrenia. *Biol Psychiatry* 53, 1075-1085
- Hofer M, Pagliusi SR, Hohn A, Leibrock J, Barde YA (1990): Regional distribution of brain-derived neurotrophic factor mRNA in the adult mouse brain. *EMBO J* 9, 2459-2464
- Holsboer F (2000): The corticosteroid receptor hypothesis of depression. *Neuropsychopharmacology* 23, 477-501
- Hsiao YL, Wu YS, Wu JY, Hsu MH, Chen HC, Lee SY, Lee IH, Yeh TL, Yang YK, Ko HC (2009): Neuropsychological functions in patients with bipolar I and bipolar II disorder. *Bipolar Disord* 11, 547-554
- Judd LL, Akiskal HS, Schettler PJ, Endicott J, Maser J, Solomon DA, Leon AC, Rice JA, Keller MB (2002): The long-term natural history of the weekly symptomatic status of bipolar I disorder. *Arch Gen Psychiatry* 59, 530-537
- Kawashima H, Numakawa T, Kumamaru E, Adachi N, Mizuno H, Ninomiya M, Kunugi H, Hashido K (2010): Glucocorticoid attenuates brain-derived neurotrophic factor-dependent upregulation of glutamate receptors via the suppression of microRNA-132 expression. *Neuroscience* 165, 1301-1311
- Knable MB, Barci BM, Webster MJ, Meador-Woodruff J, Torrey EF (2004): Molecular abnormalities of the hippocampus in severe psychiatric illness: postmortem findings from the Stanley Neuropathology Consortium. *Mol Psychiatry* 9, 609-620, 544
- Kodama M, Fujioka T, Duman RS (2004): Chronic olanzapine or fluoxetine administration increases cell proliferation in hippocampus and prefrontal cortex of adult rat. *Biol Psychiatry* 56, 570-580
- Konopaske GT, Dorph-Petersen KA, Pierri JN, Wu Q, Sampson AR, Lewis DA (2007): Effect of chronic exposure to antipsychotic medication on cell numbers in the parietal cortex of macaque monkeys. *Neuropsychopharmacology* 32, 1216-1223
- Kupfer DJ (1991): Long-term treatment of depression. *J Clin Psychiatry* 52 Suppl, 28-34
- Lavenex P, Amaral DG (2000): Hippocampal-neocortical interaction: a hierarchy of associativity. *Hippocampus* 10, 420-430

- Law AJ, Weickert CS, Hyde TM, Kleinman JE, Harrison PJ (2004): Reduced spinophilin but not microtubule-associated protein 2 expression in the hippocampal formation in schizophrenia and mood disorders: molecular evidence for a pathology of dendritic spines. *Am J Psychiatry* 161, 1848-1855
- Lawrence NS, Williams AM, Surguladze S, Giampietro V, Brammer MJ, Andrew C, Frangou S, Ecker C, Phillips ML (2004): Subcortical and ventral prefrontal cortical neural responses to facial expressions distinguish patients with bipolar disorder and major depression. *Biol Psychiatry* 55, 578-587
- Lessmann V, Gottmann K, Heumann R (1994): BDNF and NT-4/5 enhance glutamatergic synaptic transmission in cultured hippocampal neurones. *Neuroreport* 6, 21-25
- Lewin GR, Barde YA (1996): Physiology of the neurotrophins. *Annu Rev Neurosci* 19, 289-317
- Lindsay RM, Thoenen H, Barde YA (1985): Placode and neural crest-derived sensory neurons are responsive at early developmental stages to brain-derived neurotrophic factor. *Dev Biol* 112, 319-328
- Lipton SA, Kater SB (1989): Neurotransmitter regulation of neuronal outgrowth, plasticity and survival. *Trends Neurosci* 12, 265-270
- Liu L, Schulz SC, Lee S, Reutiman TJ, Fatemi SH (2007): Hippocampal CA1 pyramidal cell size is reduced in bipolar disorder. *Cell Mol Neurobiol* 27, 351-358
- Lopes da Silva FH, Witter MP, Boeijinga PH, Lohman AH (1990): Anatomic organization and physiology of the limbic cortex. *Physiol Rev* 70, 453-511
- Lopez AD, Murray CC (1998): The global burden of disease, 1990-2020. *Nat Med* 4, 1241-1243
- Malberg JE, Schechter LE (2005): Increasing hippocampal neurogenesis: a novel mechanism for antidepressant drugs. *Curr Pharm Des* 11, 145-155
- Martinez-Aran A, Vieta E, Reinares M, Colom F, Torrent C, Sanchez-Moreno J, Benabarre A, Goikolea JM, Comes M, Salamero M (2004): Cognitive function across manic or hypomanic, depressed, and euthymic states in bipolar disorder. *Am J Psychiatry* 161, 262-270
- McElroy SL, Altshuler LL, Suppes T, Keck PE, Jr., Frye MA, Denicoff KD, Nolen WA, Kupka RW, Leverich GS, Rochussen JR (2001): Axis I psychiatric comorbidity

- and its relationship to historical illness variables in 288 patients with bipolar disorder. *Am J Psychiatry* 158, 420-426
- McEwen BS, Magarinos AM (2001): Stress and hippocampal plasticity: implications for the pathophysiology of affective disorders. *Hum Psychopharmacol* 16, S7-S19
- McQueen MB, Devlin B, Faraone SV, Nimgaonkar VL, Sklar P, Smoller JW, Abou Jamra R, Albus M, Bacanu SA, Baron M (2005): Combined analysis from eleven linkage studies of bipolar disorder provides strong evidence of susceptibility loci on chromosomes 6q and 8q. *Am J Hum Genet* 77, 582-595
- McQuillin A, Rizig M, Gurling HM (2007): A microarray gene expression study of the molecular pharmacology of lithium carbonate on mouse brain mRNA to understand the neurobiology of mood stabilization and treatment of bipolar affective disorder. *Pharmacogenet Genomics* 17, 605-617
- Migliorelli R, Starkstein SE, Teson A, de Quiros G, Vazquez S, Leiguarda R, Robinson RG (1993): SPECT findings in patients with primary mania. *J Neuropsychiatry Clin Neurosci* 5, 379-383
- Mouton PR, Long JM, Lei DL, Howard V, Jucker M, Calhoun ME, Ingram DK (2002): Age and gender effects on microglia and astrocyte numbers in brains of mice. *Brain Res* 956, 30-35
- Muller D, Toni N, Buchs PA (2000): Spine changes associated with long-term potentiation. *Hippocampus* 10, 596-604
- Mur M, Portella MJ, Martinez-Aran A, Pifarre J, Vieta E (2009): Influence of clinical and neuropsychological variables on the psychosocial and occupational outcome of remitted bipolar patients. *Psychopathology* 42, 148-156
- Ongur D, Drevets WC, Price JL (1998): Glial reduction in the subgenual prefrontal cortex in mood disorders. *Proc Natl Acad Sci U S A* 95, 13290-13295
- Pakkenberg B, Pelvig D, Marner L, Bundgaard MJ, Gundersen HJ, Nyengaard JR, Regeur L (2003): Aging and the human neocortex. *Exp Gerontol* 38, 95-99
- Palsson E, Figueras C, Johansson AG, Ekman CJ, Hultman B, Ostlind J, Landen M (2013): Neurocognitive function in bipolar disorder: a comparison between bipolar I and II disorder and matched controls. *BMC Psychiatry* 13, 165
- Perry PJ, Alexander B (1986): Sedative/hypnotic dependence: patient stabilization, tolerance testing, and withdrawal. *Drug Intell Clin Pharm* 20, 532-537

- Phillips ML, Drevets WC, Rauch SL, Lane R (2003): Neurobiology of emotion perception I: The neural basis of normal emotion perception. *Biol Psychiatry* 54, 504-514
- Rajkowska G, Halaris A, Selemon LD (2001): Reductions in neuronal and glial density characterize the dorsolateral prefrontal cortex in bipolar disorder. *Biol Psychiatry* 49, 741-752
- Rajkowska G (2002): Cell pathology in bipolar disorder. *Bipolar Disord* 4, 105-116
- Rey MJ, Schulz P, Costa C, Dick P, Tissot R (1989): Guidelines for the dosage of neuroleptics. I: Chlorpromazine equivalents of orally administered neuroleptics. *Int Clin Psychopharmacol* 4, 95-104
- Reynolds LM, Reynolds (2011): GP Differential regional N-acetylaspartate deficits in postmortem brain in schizophrenia, bipolar disorder and major depressive disorder. *J Psychiatr Res* 45, 54-59
- Rosoklija G, Toomayan G, Ellis SP, Keilp J, Mann JJ, Latov N, Hays AP, Dwork AJ (2000): Structural abnormalities of subicular dendrites in subjects with schizophrenia and mood disorders: preliminary findings. *Arch Gen Psychiatry* 57, 349-356
- Ross B, Michaelis T (1994): Clinical applications of magnetic resonance spectroscopy. *Magn Reson Q* 10, 191-247
- Ross BD, Bluml S (1996): New aspects of brain physiology. *NMR Biomed* 9, 279-296
- Runge C, Grunze H (2004): Annual costs of bipolar disorders in Germany. *Nervenarzt* 75, 896-903
- Sachs G, Schaffer M, Winklbaur B (2007): Cognitive deficits in bipolar disorder. *Neuropsychiatr* 21, 93-101
- Sala M, Perez J, Soloff P, Ucelli di Nemi S, Caverzasi E, Soares JC, Brambilla P (2004): Stress and hippocampal abnormalities in psychiatric disorders. *Eur Neuropsychopharmacol* 14, 393-405
- Sanchez-Moreno J, Martinez-Aran A, Tabares-Seisdedos R, Torrent C, Vieta E, Ayuso-Mateos JL (2009): Functioning and disability in bipolar disorder: an extensive review. *Psychother Psychosom* 78, 285-297
- Saß H, Wittchen H-U, Zaudig M: Diagnostisches und statistisches Manual psychischer Störungen DSM-IV . Hogrefe, Göttingen u.a. 1996

- Sax KW, Strakowski SM, Zimmerman ME, DelBello MP, Keck PE, Jr., Hawkins JM (1999): Frontosubcortical neuroanatomy and the continuous performance test in mania. *Am J Psychiatry* 156, 139-141
- Scarr E, Pavey G, Sundram S, MacKinnon A, Dean B (2003): Decreased hippocampal NMDA, but not kainate or AMPA receptors in bipolar disorder. *Bipolar Disord* 5, 257-264
- Scherk H, Kemmer C, Usher J, Reith W, Falkai P, Gruber O (2008a): No change to grey and white matter volumes in bipolar I disorder patients. *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci* 258, 345-349
- Scherk H, Backens M, Schneider-Axmann T, Kemmer C, Usher J, Reith W, Falkai P, Gruber O (2008b): Neurochemical pathology in hippocampus in euthymic patients with bipolar I disorder. *Acta Psychiatr Scand* 117, 283-288
- Schmitt A, Steyskal C, Bernstein HG, Schneider-Axmann T, Parlapani E, Schaeffer EL, Gattaz WF, Bogerts B, Schmitz C, Falkai P (2009): Stereologic investigation of the posterior part of the hippocampus in schizophrenia. *Acta Neuropathol* 117, 395-407
- Schmitt A, Malchow B, Keeser D, Falkai P, Hasan A (2014): [Neurobiology of schizophrenia : New findings from the structure to the molecules.]. *Nervenarzt*
- Schmitz C (1998): Variation of fractionator estimates and its prediction. *Anat Embryol (Berl)* 198, 371-397
- Schmitz C, Hof PR (2000): Recommendations for straightforward and rigorous methods of counting neurons based on a computer simulation approach. *J Chem Neuroanat* 20, 93-114
- Schmitz C, Hof PR (2005): Design-based stereology in neuroscience. *Neuroscience* 130, 813-831
- Schmitz C, Schuster D, Niessen P, Korr H (1999): No difference between estimated mean nuclear volumes of various types of neurons in the mouse brain obtained on either isotropic uniform random sections or conventional frontal or sagittal sections. *J Neurosci Methods* 88, 71-824
- Schouws SN, Comijs HC, Stek ML, Dekker J, Oostervink F, Naarding P, van der Velde I, Beekman AT (2009): Cognitive impairment in early and late bipolar disorder. *Am J Geriatr Psychiatry* 17, 508-515

- Stark AK, Uylings HB, Sanz-Arigita E, Pakkenberg B (2004): Glial cell loss in the anterior cingulate cortex, a subregion of the prefrontal cortex, in subjects with schizophrenia. *Am J Psychiatry* 161, 882-888
- Sterio DC (1984): The unbiased estimation of number and sizes of arbitrary particles using the disector. *J Microsc* 134, 127-136
- Stockmeier CA, Mahajan GJ, Konick LC, Overholser JC, Jurjus GJ, Meltzer HY, Uylings HB, Friedman L, Rajkowska G (2004): Cellular changes in the postmortem hippocampus in major depression. *Biol Psychiatry* 56, 640-650
- Strakowski SM, DelBello MP, Sax KW, Zimmerman ME, Shear PK, Hawkins JM, Larson ER (1999): Brain magnetic resonance imaging of structural abnormalities in bipolar disorder. *Arch Gen Psychiatry* 56, 254-260
- Strakowski SM, DelBello MP, Zimmerman ME, Getz GE, Mills NP, Ret J, Shear P, Adler CM (2002): Ventricular and periventricular structural volumes in first-versus multiple-episode bipolar disorder. *Am J Psychiatry* 159, 1841-1847
- Strasser HC, Lilyestrom J, Ashby ER, Honeycutt NA, Schretlen DJ, Pulver AE, Hopkins RO, Depaulo JR, Potash JB, Schweizer B (2005): Hippocampal and ventricular volumes in psychotic and nonpsychotic bipolar patients compared with schizophrenia patients and community control subjects: a pilot study. *Biol Psychiatry* 57, 633-639
- Swayze VW, 2nd, Andreasen NC, Alliger RJ, Yuh WT, Ehrhardt JC (1992): Subcortical and temporal structures in affective disorder and schizophrenia: a magnetic resonance imaging study. *Biol Psychiatry* 31, 221-240
- Thompson Ray M, Weickert CS, Wyatt E, Webster MJ (2011): Decreased BDNF, trkB-TK+ and GAD67 mRNA expression in the hippocampus of individuals with schizophrenia and mood disorders. *J Psychiatry Neurosci* 36, 195-203
- Tian SY, Wang JF, Bezchlibnyk YB, Young LT (2007): Immunoreactivity of 43 kDa growth-associated protein is decreased in post mortem hippocampus of bipolar disorder and schizophrenia. *Neurosci Lett* 411, 123-127
- Uranova NA, Vostrikov VM, Orlovskaya DD, Rachmanova VI (2004): Oligodendroglial density in the prefrontal cortex in schizophrenia and mood disorders: a study from the Stanley Neuropathology Consortium. *Schizophr Res* 67, 269-275

- van Kooten IA, Palmen SJ, von Cappeln P, Steinbusch HW, Korr H, Heinsen H, Hof PR, van Engeland H, Schmitz C (2008): Neurons in the fusiform gyrus are fewer and smaller in autism. *Brain* 131, 987-999
- Vawter MP, Thatcher L, Usen N, Hyde TM, Kleinman JE, Freed WJ (2002): Reduction of synapsin in the hippocampus of patients with bipolar disorder and schizophrenia. *Mol Psychiatry* 7, 571-578
- Vion-Dury J, Meyerhoff DJ, Cozzone PJ, Weiner MW (1994): What might be the impact on neurology of the analysis of brain metabolism by in vivo magnetic resonance spectroscopy? *J Neurol* 241, 354-371
- Walden J, Grunze H: Bipolare affektive Störungen. Thieme, Stuttgart: 2009
- Weissman MM, Leaf PJ, Tischler GL, Blazer DG, Karno M, Bruce ML, Florio LP (1988): Affective disorders in five United States communities. *Psychol Med.* 18, 141-153
- Wender PH, Kety SS, Rosenthal D, Schulsinger F, Ortmann J, Lunde I (1986): Psychiatric disorders in the biological and adoptive families of adopted individuals with affective disorders. *Arch Gen Psychiatry* 43, 923-929
- West MJ (1999): Stereological methods for estimating the total number of neurons and synapses: issues of precision and bias. *Trends Neurosci* 22, 51-61
- West MJ (2002): Design-based stereological methods for counting neurons. *Prog Brain Res.* 135, 43-51
- West MJ, Slomianka L, Gundersen HJ (1991): Unbiased stereological estimation of the total number of neurons in the subdivisions of the rat hippocampus using the optical fractionator. *Anat Rec* 231, 482-497
- Wittchen HU, Carter RM, Pfister H, Montgomery SA, Kessler RC (2000): Disabilities and quality of life in pure and comorbid generalized anxiety disorder and major depression in a national survey. *Int Clin Psychopharmacol* 15, 319-328
- Yucel K, McKinnon MC, Taylor VH, Macdonald K, Alda M, Young LT, MacQueen GM (2007): Bilateral hippocampal volume increases after long-term lithium treatment in patients with bipolar disorder: a longitudinal MRI study. *Psychopharmacology (Berl)* 195, 357-367
- Yucel K, Taylor VH, McKinnon MC, Macdonald K, Alda M, Young LT, MacQueen GM (2008): Bilateral hippocampal volume increase in patients with bipolar disorder and short-term lithium treatment. *Neuropsychopharmacology* 33, 361-367

7 **Abbildungsverzeichnis**

Abbildung 1: Fotografie eines fertigen Hirnschnittes.....	19
Abbildung 2: Stereologischer Messplatz.....	21
Abbildung 3: Fotografie eines 20 µm dicken Koronarschnittes.....	23
Abbildung 4: Zählrahmen.....	24
Abbildung 5: Repräsentative Bilder des posterioren Anteils des Hippocampus einer Kontrollperson und eines bipolaren Patienten.....	29
Abbildung 6: Neuronenzahl in CA1.....	31
Abbildung 7: Neuronendichte in CA4.....	31
Abbildung 8: Neuronenzahl im Subiculum.....	32
Abbildung 9: Neuronenzahl im Subiculum.....	32
Abbildung 10: Oligodendrozytenzahl in CA1.....	33
Abbildung 11: Korrelation Neuronenzahl und Alter in CA1.....	35
Abbildung 12: Korrelation Neuronenzahl und Alter in CA4.....	36
Abbildung 13: Korrelation Neuronendichte und Alter in CA2/3 rechts.....	36
Abbildung 14: Korrelation Neuronendichte und Alter in CA2/3 links.....	37
Abbildung 15: Korrelation Strukturvolumen und Alter in CA4 rechts.....	37
Abbildung 16: Korrelation Astrozytenzahl und Alter in CA1 rechts.....	38
Abbildung 17: Korrelation Astrozytendichte und Alter in CA1 rechts.....	38
Abbildung 18: Korrelation Astrozytenzahl und Alter in CA2/3 rechts.....	39
Abbildung 19: Korrelation Astrozytendichte und Alter in CA2/3 rechts.....	39
Abbildung 20: Korrelation Astrozytenzahl und Alter im Subiculum rechts.....	40
Abbildung 21: Korrelation Astrozytendichte und Alter im Subiculum rechts.....	40

8 Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Kriterien für eine Episode einer Major Depression nach DMS-IV.....	3
Tabelle 2: Kriterien für eine manische Episode nach DSM-IV.....	4
Tabelle 3: Untersuchungskollektiv.....	18
Tabelle 4: Medikamente in den letzten 90 Tagen vor dem Tod (durchschnittliche Tagesdosis in mg).....	18
Tabelle 5: Details der stereologischen Messungen.....	25

9 Danksagung

Frau Prof. Andrea Schmitt danke ich für die Überlassung des Themas dieser Arbeit und die ausgezeichneten Möglichkeiten, es zu bearbeiten. Ebenso danke ich ihr für ihre Hilfsbereitschaft und Geduld, die sie mir trotz ihrer Arbeit in Klinik und Forschung entgegenbrachte sowie die vielen wertvollen Hinweise, die zur Vollendung dieser Arbeit notwendig waren.

Herrn Thomas Schneider – Axmann danke ich für seine Hilfe bei der statistischen Auswertung.

Herrn Prof. Dr. Bernstein danke ich für die Überlassung der histologischen Präparate.