

## DIE AUSSCHIEDUNG DER CORTISOL-METABOLITEN BEI KRANKEN MIT ENDOGENER DEPRESSION MIT BERÜCKSICHTIGUNG DER TAGESSCHWANKUNG DER STEROIDMETABOLITEN

A. STANČÁKOVÁ\* und A. STANČÁK

Wissenschaftliches Laboratorium der Chirurgischen Klinik und Psychiatrische Klinik der Medizinischen Fakultät, Universität P. J. Šafárik

(Received 31 March 1970)

### SUMMARY

In 10 patients suffering from depressive illness the urinary excretion of cortisol metabolites was investigated with regard to diurnal variations and compared with that of 17 healthy subjects. The analysis showed that before treatment the depressive group already exhibited decreased values of free corticosteroids, extractable with chloroform. This decrease, which was found to occur predominantly in the fraction comprising cortisone, 11-deoxycortisol and most of the cortisol, became still more pronounced after treatment with Thioridazin. The conjugated Porter-Silber positive corticosteroids, consisting mainly of tetrahydrocortisol, allo-tetrahydrocortisol and tetrahydrocortisone, as well as the cortolones and cortols, were also lower in the depressive group before treatment, whereas no change was observed after treatment with Thioridazin. In the course of treatment a decline was noticed in the free polar corticosteroids, represented predominantly by 6 $\beta$ -hydroxy-cortisol. The diurnal elimination of cortisol metabolites was slower in the depressive patients than in the healthy subjects. The retardation in the excretion of 6 $\beta$ -hydroxy-cortisol was especially pronounced after treatment with Thioridazin. This observation was ascribed to a slowed metabolism of cortisol under influence of Thioridazin

### EINLEITUNG

DIE ERGEBNISSE, die aus dem Studium der Beziehungen der Emotionstörungen und der Nebennierenrindensekretion hervorgehen, sind nicht eindeutig. Es scheint, dass nur die gesteigerten Werte von 17-Hydroxy-Corticosteroiden im Plasma und eine erhöhte Ausscheidung der Harncorticosteroide, inklusive Aldosteron, ganz überzeugend bei Angstzuständen festzustellen waren [1-3]. Diese Befunde weisen auf die Tatsache hin, dass die psychische Emotionsbelastung, so wie alle anderen Stress-Formen, die Nebennierenrindensekretion beeinflusst. Die depressiven Erkrankungen, die durch ausgeprägte Änderungen der Emotionen charakterisiert sind und an die Möglichkeit eines Suicidiums grenzen, wurden in den letzten Jahren in ihren Beziehungen zu dem Cortisol-Plasmaspiegel sowie auch den ausgeschiedenen Cortisol-Metaboliten intensiv studiert, und das sowohl ohne, als auch unter einer antidepressiven Therapie. Es ergaben

\*Ing. Anna Stančáková CSc., Wissenschaftliches Laboratorium der Chirurgischen Klinik UPJŠ, Košice, Tschechoslowakei, Rastislavova 53.

sich vergleichbare Ergebnisse der  $17\alpha$ -OHCS\* im Plasma, die gegenüber den gesunden Personen normal oder erhöht sind [4–7]. Die diurnale Variation bleibt dabei erhalten [7, 8]. Die Werte der ausgeschiedenen  $17\alpha$ -OHCS vor der Therapie liegen höher; es scheint jedoch, dass sie den Normalbereich nicht überschreiten [9–12]. Sachar [13] wertete die möglichen Einflüsse aus, die zu unterschiedlichen Ergebnissen führen können. Er selbst fand in einer ausgedehnteren Analyse der Harncorticosteroide bei depressiven Erkrankungen eine normale Ausscheidung der  $17\alpha$ -OHCS und der 17-ketogenen Steroide; bei manchen Patienten waren die Werte im Verlauf der Krankheit sogar herabgesetzt und erhöhten sich nach der Besserung des Krankheitszustandes [14].

Wir bestimmten die wichtigsten Gruppen der Cortisol-Metaboliten, und zwar die mit Chloroform extrahierbaren freien Corticosteroide, die mit Aethylacetat extrahierbaren freien polaren Corticosteroide, enzymatisch hydrolysierte Tetrahydroderivative, Cortole und Cortolone, sowie auch die polaren Porter–Silber positiven Substanzen, die mit Aethylacetat nach der Hydrolyse extrahiert werden, im Urin der Patienten mit endogener Depression vor dem Beginn der Therapie als auch im Verlauf der antidepressiven Therapie. Alle Ergebnisse, auch die der Tagesschwankung der Cortisol-Metaboliten wurden mit Normalwerten gesunder Personen verglichen.

#### VERSUCHSPERSONEN UND METHODE

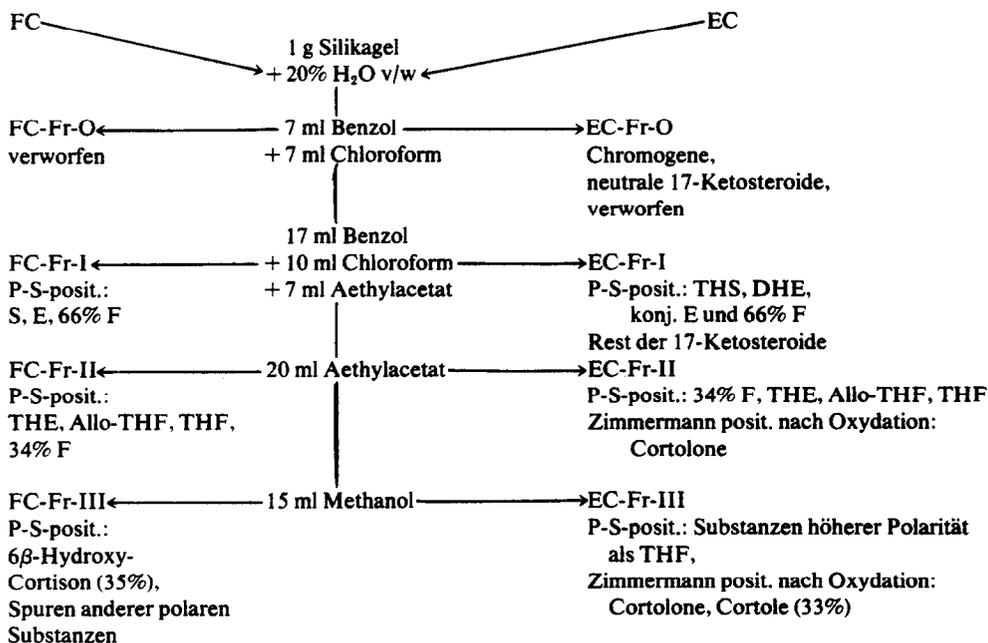
Die Patientengruppe bildeten 7 Männer und 3 Frauen im Alter von 33–60 Jahren mit der Diagnose eines endogenen neurotischen Syndroms. Sieben Versuchspersonen waren schon in früheren Jahren in der Psychiatrischen Klinik behandelt worden. Zwei der Patienten wiesen abwechselnd depressive und manische Phasen der Erkrankung auf. Die übrigen Patienten hatten nur depressive Phasen. Im Vordergrund des klinischen Zustandes standen: depressive Stimmung, vitale Verlangsamung, Arbeitsunfähigkeit, Schlafstörungen, innere Unruhe, Verlust von Appetit und Gewicht, Sinken der sexualen Aktivität und Selbstanschuldigung. In 5 Fällen erreichten die Persönlichkeitsänderungen den Grad einer Psychose, die anderen fünf waren an der Grenze zwischen einem neurotischen und einem psychotischen Zustand. Alle Patienten wurden mit Thioridazin SPOFA bei einer durchschnittlichen Dosis von 100 mg pro Tag behandelt. Bei dreien von ihnen wurde noch Amitriptylin in Kombination mit Thioridazin verabreicht. Der Kontrollharn wurde vor dem Beginn der Therapie gesammelt, die Analysen im Verlauf der Therapie wurden in der Zeit von 2–8 Wochen durchgeführt. Bei vier Patienten wurden im Verlauf der Therapie zwei Analysen durchgeführt, sodass die Anzahl dieser Analysen  $n = 14$  beträgt. Die Gruppe der Gesunden bildete 17 Personen, 9 Männer und 8 Frauen, im Alter von 23–48 Jahren.

Die Versuchspersonen sammelten den 24-Stundenharn in zwei Portionen, die erste von 6 Uhr früh bis 14 Uhr nachmittags (Portion A), die zweite von 14 bis 6 Uhr früh am nächsten Tag (Portion B). In der Harnportion A ist in jedem Falle der erste Morgenurin enthalten. Eventueller Nachturin wurde in die Harnportion B aufgenommen. Von beiden Portionen wurde  $\frac{1}{4}$  bis  $\frac{1}{2}$  des Volumens auf pH 1 eingestellt und mit Chloroform extrahiert. Dieser Extrakt enthält freie Corticosteroide (FC). Dann

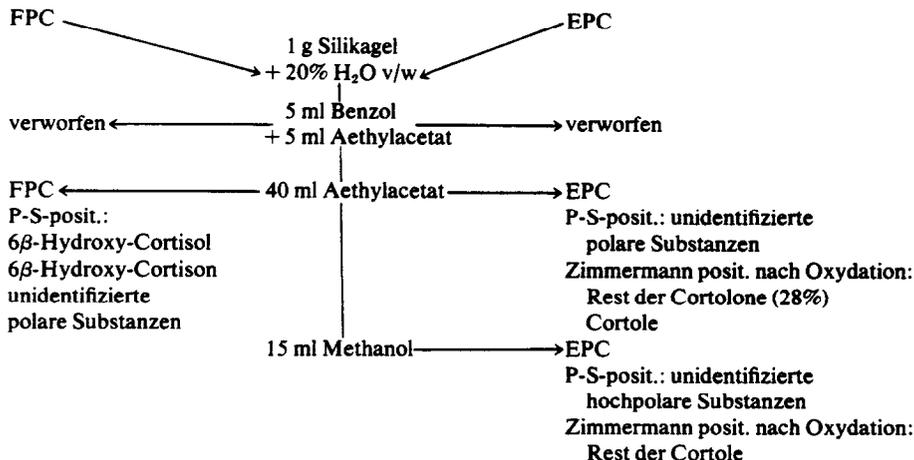
\*Cortisol(F):  $11\beta,17\alpha,21$ -Trihydroxy-4-pregnen-3,20-dion; Cortison (E):  $17\alpha,21$ -Dihydroxy-4-pregnen-3,11,20-trion; 11-Desoxycortisol (S):  $17\alpha,21$ -Dihydroxy-4-pregnen-3,20-dion;  $6\beta$ -Hydroxy-Cortisol:  $6\beta,11\beta,17\alpha,21$ -Tetrahydroxy-4-pregnen-3,20-dion;  $6\beta$ -Hydroxy-Cortison:  $6\beta,17\alpha,21$ -Trihydroxy-4-pregnen-3,11,20-trion; Dihydrocortison (DHE):  $17\alpha,21$ -Dihydroxypregnan-3,11,20-trion; Tetrahydrocortisol (THF):  $3\alpha,11\beta,17\alpha,21$ -Tetrahydroxy- $5\beta$ -pregnan-20-on; Tetrahydrocortison (THE):  $3\alpha,17\alpha,21$ -Trihydroxy- $5\beta$ -pregnan-11,20-dion; Allo-Tetrahydrocortisol (Allo-THF):  $3\alpha,11\beta,17\alpha,21$ -Tetrahydroxy- $5\alpha$ -pregnan-20-on; Tetrahydro-11-desoxycortisol (THS):  $3\alpha,17\alpha,21$ -Trihydroxy- $5\beta$ -pregnan-20-on; Cortole:  $5\beta$ -Pregnan- $3\alpha,11\beta,17\alpha,20\alpha,21$ -pentol (und sein 20 $\beta$ -Epimer); Cortolone:  $3\alpha,17\alpha,20\alpha,21$ -Tetrahydroxy- $5\beta$ -pregnan-11-on (und sein 20 $\beta$ -Epimer);  $11\beta$ -Hydroxy-aetiocholanolon:  $3\alpha,11\beta$ -Dihydroxyaetiocholan-17-on; 11-Ketoaetiocholanolon:  $3\alpha$ -Hydroxyaetiocholan-11,17-dion; C-17, 20, 21-Glykole: Cortole + Cortolone; P-Sposit.: Porter–Silber positive Corticosteroide;  $17\alpha$ -OHCS:  $17\alpha$ -Hydroxy-Corticosteroide; 17-KGS: 17-ketogene Corticosteroide.

wurde die Urinprobe mit Aethylacetat reextrahiert und dieser Extrakt wurde als freie polar Corticosteroide (FPC) bezeichnet. Die Harnprobe wurde schliesslich auf pH 4,5 eingestellt und mit  $\beta$ -Glucuronidase aus *Helix pomatia* 48 St. inkubiert. Bei Gesunden verwendeten wir 500 Einheiten pro ml Urin, bei den Patienten 1000 Einheiten mit Rücksicht auf eine mögliche Hemmung der Hydrolyse mit antidepressiven Pharmaka. Der Chloroformextrakt nach der enzymatischen Hydrolyse wurde als EC bezeichnet (enzymatisch hydrolysierte Corticosteroide). Nach Zugabe von 20% NaCl w/v wurde die Harnprobe wiederholt mit Aethylacetat extrahiert und damit der Extrakt der polaren Corticosteroidkonjugate (EPC) gewonnen. Alle Extrakte wurden an einer Silikagel-Säule gereinigt, wobei die Extrakte FC und EC gleichzeitig in drei Fraktionen aufgeteilt wurden. Der ausführliche Arbeitsvorgang wurde an anderer Stelle beschrieben (15) und wird an dieser Stelle nur schematisch dargestellt.

## Die Verteilung der Extrakte FC und EC



## Die Verteilung der Extrakte FPC und EPC



Die Verteilungskapazität der Silikagel-Säule und die quantitative Ausbeute einzelner P-S-posit. Corticosteroide wurde mithilfe von 50–200  $\mu\text{g}$  der angehörigen Testsubstanzen mittels 6–8 Säulen-chromatographien bestimmt. Die Fraktion FC-Fr-I eluiert die ganze Menge von 11-Desoxycortisol, Dihydrocortison und Cortison in durchschnittlichem Wiedergewinn von  $98.0 \pm 5.6\%$ . In dieser Fraktion wird auch  $66.0 \pm 2.8\%$  von Cortisol wiedergefunden. Der Cortisol-Rest ( $34.0 \pm 5.8\%$ ) wird in die Fraktion FC-Fr-II eluiert, die auch die ganze Menge von Tetrahydrocortisol, Allo-Tetrahydrocortisol und Tetrahydrocortison enthält. Die letzten drei Corticoide werden in dieser Fraktion in einer durchschnittlichen Ausbeute von  $99.0 \pm 1.3\%$  gewonnen. FC-Fr-III enthält ausser einer kleinen Menge unidentifizierter P-S-posit. Substanzen auch denjenigen Teil von  $6\beta$ -Hydroxy-Cortison, der mit Chloroform extrahiert wird. Bei Gebrauch von 40  $\mu\text{g}$  dieser Testsubstanz stellt die Chloroform-Extraktion  $35.0 \pm 1.6\%$  dar. Der weitere Teil von  $6\beta$ -Hydroxy-Cortison ( $66.0 \pm 1.6\%$ ) wird mit Aethylacetat extrahiert und in die FPC-Fraktion aus der Silikagel-Säule eluiert. Die Hauptsubstanz der Fraktion FPC bleibt jedoch  $6\beta$ -Hydroxy-Cortisol.

Vom Extrakt EC, der auf der Silikagel-Säule verteilt wird, enthält die verworfene Fraktion EC-Fr-O den ganzen Anteil der 11-Desoxy-17-Ketosteroide und 33% resp. 5% von 11-Keto-Aethiocholanolon resp. 11-Hydroxy-Aethiocholanolon. Das Übergewicht dieser Substanzen wird in die Fraktion EC-Fr-I eluiert. Diese Fraktion enthält ausser allen im A-Ring reduzierten Corticosteron-Metaboliten auch dieselben P-S-posit. Corticosteroide, die sich in der FC-Fr-I befinden, sowohl wie die ganze Menge von Tetrahydro-11-desoxycortisol. In der Fraktion EC-Fr-II befinden sich die P-S-posit. Corticosteroide in derselben Zusammensetzung, wie in der Fraktion FC-Fr-II, es kommt aber schon zur Elution der Cortolone, die in der Fraktion EC-Fr-III fortgesetzt wird. EC-Fr-III enthält weiter P-S-posit., unidentifizierte Substanzen, die in enger positiver Korrelation mit der EPC-Fraktion des Aethylacetat-Extraktes sind ( $r = +0.73$ ) und denjenigen Teil der Cortole, der mit Chloroform extrahiert wird und bei Anwendung von  $\beta$ -Cortol eine durchschnittliche Ausbeutung von  $32.7 \pm 1.0\%$  darstellt.

Die polaren konjugierten P-S-posit. Substanzen befinden sich in der Fraktion EPC, die noch  $28.0 \pm 1.2\%$  von Cortolonen und  $55.0 \pm 1.6\%$  von Cortolen einschliesst. Die Kontrollanalysen der C-17, 20, 21-Glykole wurden mithilfe  $\beta$ -Cortolon und  $\beta$ -Cortol durchgeführt. Der ganze Vorgang, die Extraktion von  $\text{H}_2\text{O}$  beim pH 4,5 + 20% NaCl w/v, die Säulenchromatographie, Oxydation mit Perjodsäure und Reextraktion mit Aether gab einen Wiedergewinn von 76–86% bei Anwendung von 100 und 500  $\mu\text{g}$  der angehörigen Testsubstanzen. Dieser Verlust wurde in die Werte der C-17, 20, 21-Glykole, die in der Tabelle I angegeben sind, nicht eingerechnet.

Ein Teil jeder Fraktion der freien Corticosteroide wurde quantitativ mittels der Porter-Silber Reaktion bestimmt, der zweite Teil in geeigneten Systemen mittels Papierchromatographie identifiziert. Von den Extrakten der konjugierten Corticosteroide wurde ein Teil der Fraktionen in der Form der Porter-Silber Chromogene, ein weiterer in der Form der C-17, 20, 21-Glykole nach Oxydation mit Perjodsäure bestimmt. Der Rest wurde der qualitativen Analyse unterworfen.

Die qualitative Papierchromatographie wurde mittels des chromatographischen Papiers Schleicher und Schuell 2043 B.mgl. in folgenden Systemen durchgeführt:

- A Bush B<sub>5</sub>-Benzol: Methanol: H<sub>2</sub>O (2: 1: 1)
- B Zykhlohexan: Benzol: Methanol: H<sub>2</sub>O (10: 10: 10: 5)
- C Benzol: n-Butanol: Methanol: H<sub>2</sub>O (10: 1: 3: 3)[16]
- D Toluol: tert.-Butanol: Methanol: H<sub>2</sub>O (15: 5: 3: 3)[17]
- E Toluol: Zykhlohexan (3: 2): 40% Ethylenglykol
- F Chloroform: Toluol (4: 1): 40% Ethylenglykol
- G Petroläther: Benzol: Methanol: H<sub>2</sub>O (66: 33: 80: 20)[16].

Die Fraktion FC-Fr-I wurde im System F, die Fraktion FC-Fr-II im System A verteilt. Da die Fraktion EC-Fr-I auch Corticosteron-Metaboliten enthält, wurde sie in zwei Systemen, B und F, getrennt. Die Fraktion EC-Fr-II wurde im System A chromatographiert. Die Verteilung der polaren Fraktionen FPC und EPC wurde in den Systemen C und D durchgeführt. Nach Oxydation von Cortolen und Cortolonen wurden die angehörigen 17-Ketosteroide im System E getrennt. Die Reaktion mit Tetrazolblau, die alkalische Fluoreszenz, die Zimmermann- und Porter-Silber Reaktionen wurden direkt am Papier angewandt. Parallel mit den analysierten Corticosteroiden wurden ausser  $6\beta$ -Hydroxy-Cortisol Testsubstanzen mitlaufend bestimmt.

Zu der Identifizierung von  $6\beta$ -Hydroxy-Cortisol wurden je 2–3 Fraktionen FPC im System C verteilt. Die Zone, die die maximale UV-Absorption verzeichnete und der Mobilität von  $6\beta$ -Hydroxy-Cortisol entsprach, wurde eluiert und im System D rechromatographiert. In diesem System kommt es zu einer guten Trennung von  $6\beta$ -Hydroxy-Cortisol und  $6\alpha$ -Hydroxy-Cortisol. Das Eluat der Zone,

die dem 6 $\beta$ -Hydroxy-Cortisol entspricht, wurde acetyliert und im System G chromatographiert. Nach Elution und Oxydation mit CrO<sub>3</sub> hatte das oxydierte Produkt im System G denselben R<sub>F</sub>-Wert, wie das Diacetat von 6 $\beta$ -Hydroxy-Cortison (U. S. P. Steroid Reference Substance). Die Steroid-derivate wurden in den Modifikationen von Bush[18] hergestellt. Für die differenzierte alkalische Fluoreszenzbestimmung der 6-oxydierten Cortisol-Metaboliten am Papier, sowie auch für das Spektrum in H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> wurde der Vorgang nach Kornel und Motohashi[19] angewandt.

### ERGEBNISSE

Tabelle 1 gibt die Gesamtwerte der freien Corticosteroide bei 17 gesunden Personen an. Ihre Ausscheidung betrug im Durchschnitt 348  $\pm$  141  $\mu$ g/24 St. Die Ausscheidung der freien Corticosteroide war bei den Patienten mit endogener Depression schon vor dem Beginn der Therapie wesentlich herabgesetzt mit einem Wert von 190  $\pm$  67  $\mu$ g/24 St. Nach 2–8 Wochen Therapie mit Thioridazin betrug die Ausscheidung der freien Corticosteroide nur 101  $\pm$  44  $\mu$ g/24 St. Dieser Wert ist deutlich herabgesetzt gegenüber den Werten bei Gesunden, sowie auch gegenüber den Kontrollwerten der Patienten vor Therapie. Die erniedrigten Werte der freien Corticosteroide in den Kontrollurinen der Patientengruppe betreffen hauptsächlich die "aktive" Fraktion FC-Fr-I, welche die ganze Menge von Cortison und 11-Desoxycortisol, sowie 66% Cortisol enthält (Tabelle 2). Diese Fraktion ist statistisch signifikant niedriger verglichen mit derselben Fraktion der Gesunden, während die Fraktionen FC-Fr-II und FC-Fr-III praktisch unverändert sind. Nach der Therapie kam es zu einer wesentlichen Verminderung aller drei Fraktionen.

Die Werte der ausgeschiedenen freien polaren Corticosteroide (Tabelle 1), die an erster Stelle durch 6 $\beta$ -Hydroxy-Cortisol vertreten sind, blieben im Kontrollharn der Patienten nur mässig erniedrigt. Im Verlauf der Chemotherapie kam

Tabelle 1. Die Ausscheidung einzelner Gruppen der Cortisol-Metaboliten in 24 St. ( $\pm$ S.D.) bei gesunden Personen, bei depressiven Patienten vor dem Beginn der Therapie und im Verlauf der Thioridazin-Verabreichung

Steroidgruppen	Gesunde n = 17	Depressive vor der Therapie n = 10	Depressive im Verlauf der Therapie n = 14
Freie Corticosteroide-FC $\mu$ g/24 St.	348 $\pm$ 141	190 <sup>†(1)</sup> $\pm$ 67	101 <sup>‡(1)</sup> $\pm$ 44 <sup>‡(2)</sup>
Freie polare Corticost.-FPC $\mu$ g/24 St.	423 $\pm$ 171	332 $\pm$ 128	263 <sup>*(1)</sup> $\pm$ 154
Konjugierte Corticost.-EC mg/24 St.	4,23 $\pm$ 1,01	2,33 <sup>*(1)</sup> $\pm$ 1,11	1,87 <sup>‡(1)</sup> $\pm$ 0,65
Konjugierte polare Corticost.-EPC mg/24 St.	1,16 $\pm$ 0,44	0,90 $\pm$ 0,68	1,08 $\pm$ 0,66
P-S-posit. Corticosteroide mg/24 St.	6,26 $\pm$ 1,57	3,76 <sup>‡(1)</sup> $\pm$ 1,09	3,35 <sup>‡(1)</sup> $\pm$ 0,95
C-17.20.21-Glykole mg/24 St.	4,86 $\pm$ 1,31	3,26 <sup>†(1)</sup> $\pm$ 1,64	3,30 <sup>‡(1)</sup> $\pm$ 1,02
P-S-posit. Corticosteroide + C-17.20.21-Glykole + mg/24 St.	11,12 $\pm$ 2,00	7,02 <sup>†(1)</sup> $\pm$ 2,15	6,65 <sup>‡(1)</sup> $\pm$ 1,95

<sup>‡</sup>p < 0.01 (1) gegenüber den Gesunden.

<sup>†</sup>p < 0.02 (2) gegenüber den Kontrollwerten vor der Therapie.

\*p < 0.05.

es zu einem signifikanten Absinken der Werte, wobei die Standardabweichung dieser Fraktion allerdings hoch lag.

Die gesamte Exkretion der enzymatisch gespaltenen Porter-Silber-positiven Substanzen (Tabelle 1) war schon in den Kontrollanalysen der Patientengruppe wesentlich geringer und fiel im Verlauf der Chemotherapie gegenüber den Gesunden noch eindrucksvoller ab. Kein grundsätzlicher Unterschied fand sich jedoch in der Gruppe der Patienten mit endogener Depression im Verlauf der Therapie gegenüber den Kontrollwerten. Bei Fraktionierung des Extraktes EC (Tabelle 2) betraf die Verminderung der konjugierten Corticosteroide vor allem die Fraktion EC-Fr-I. Diese Fraktion enthält Tetrahydro-11-desoxycortisol und Dihydrocortison, sowie enzymatisch freigesetztes Cortison und Cortisol. Im Verlauf der Therapie kam es innerhalb dieser Fraktion zu keiner wesentlichen Änderung.

Tabelle 2. Die Fraktionen der freien und konjugierten Corticosteroide, die mit Chloroform extrahiert werden, ausgedrückt in  $\mu\text{g}/24$  St. ( $\pm$  S.D.) bei Gesunden, bei depressiven Patienten vor dem Beginn der Therapie und im Verlauf der Thioridazin-Abgabe

Steroidfraktionen	Gesunde <i>n</i> = 17	Depressive vor der Therapie <i>n</i> = 10	Depressive im Verlauf der Therapie <i>n</i> = 14
FC-Fr-I	201	57 $\ddagger$ <sup>(1)</sup>	42 $\ddagger$ <sup>(1)</sup>
E, S, 66% F	$\pm$ 134	$\pm$ 36	$\pm$ 36
FC-Fr-II			
34% F, THF,	107	90	51 $\ddagger$ <sup>(1)</sup>
Allo-THF, THE	$\pm$ 24	$\pm$ 39	$\pm$ 33 <sup>*(2)</sup>
FC-Fr-III	46	44	8 $\ddagger$ <sup>(1)</sup>
Polare Metaboliten	$\pm$ 50	$\pm$ 25	$\pm$ 14 $\ddagger$ <sup>(2)</sup>
EC-Fr-I			
THS, DHE,	452	141 $\ddagger$ <sup>(1)</sup>	222 $\ddagger$ <sup>(1)</sup>
E, 66% F	$\pm$ 223	$\pm$ 74	$\pm$ 134
EC-Fr-II			
34% F, THF,	3.350	2.050 $\ddagger$ <sup>(1)</sup>	1.560 $\ddagger$ <sup>(1)</sup>
Allo-THF, THE	$\pm$ 860	$\pm$ 930	$\pm$ 800
EC-Fr-III	339	229	120 $\ddagger$ <sup>(1)</sup>
Polare Metaboliten	$\pm$ 249	$\pm$ 149	$\pm$ 94 <sup>*(2)</sup>

$\ddagger p < 0,01$  (1) gegenüber den Gesunden.

$\ddagger p < 0,02$  (2) gegenüber den Kontrollwerten vor der Therapie.

\*  $p < 0,05$ .

Die Fraktion EC-Fr-II, die die ganze Menge Tetrahydrocortisol, Allo-Tetrahydrocortisol und Tetrahydrocortison enthält, war bei den Patienten schon im Kontrollharn erniedrigt und fiel im Verlauf der Chemotherapie noch weiter ab. Die Fraktion EC-Fr-III sank erst im Verlauf der Therapie. Die Porter-Silber positiven Substanzen des Extraktes EPC (Tabelle 1), die nach der enzymatischen Hydrolyse mit Aethylacetat extrahiert wurden, änderten sich auch nach der Therapie nicht.

Die gesamte Ausscheidung der Porter-Silber positiven Corticosteroide der vier Extrakte, FC + FPC + EC + EPC war schon in den Kontrollurinen der Patientengruppe niedriger (Tabelle 1). Nach der Therapie blieb die durchschnittliche Gesamtmenge unverändert.

Übereinstimmend mit der Ausscheidung der P-S-posit. Corticosteroide verhielten sich auch die Cortole und Cortolone, die in beiden Extrakten nach

der Enzymhydrolyse als C-17, 20, 21-Glykole bezeichnet sind (Tabelle 1). Die Werte dieser Substanzen waren vor der Verabreichung des Thioridazins gleichfalls herabgesetzt und blieben auch nach Chemotherapie auf demselben Niveau. Von der Gesamtsumme der P.S-posit. Corticosteroide und C-17, 20, 21-Glykole (Tabelle 1) stellten die Glykole im Kontrollharn der Patienten  $46,4 \pm 8,3\%$  und im Verlauf der Therapie  $49,6 \pm 12,7\%$  vor. Dieser Anteil unterscheidet sich nicht wesentlich von dem der Gesunden, wo er sich auf  $43,7 \pm 11,5\%$  belief.

In Tabelle 3 ist die Verteilung der P-S-posit. Substanzen auf die einzelnen Extrakte verzeichnet. Es zeigte sich, dass sich der relative Anteil einzelner Steroidgruppen erst nach der Chemotherapie änderte, auch wenn die Werte der ausgeschiedenen Substanzen schon vor der Therapie erniedrigt waren.

Tabelle 3. Die prozentuelle Komposition der Porter-Silber positiven Substanzen und der Anteil der C-17,20,21-Glykole von der Gesamtsumme der analysierten Corticosteroide bei Gesunden und bei Depressiven vor und im Verlauf der Therapie mit Thioridazin

Steroidgruppen	Gesunde <i>n</i> = 17	Depressive vor der Therapie <i>n</i> = 10	Depressive im Verlauf der Therapie <i>n</i> = 14
Freie Corticosteroide- FC	5,8 $\pm 2,2$	5,6 $\pm 2,8$	2,8 $\ddagger^{(1)}$ $\pm 1,9\ddagger^{(2)}$
Freie polare Corticost.-FPC	7,1 $\pm 2,7$	9,5 $\pm 4,1$	8,4 $\pm 4,5$
Konjugierte Corticost.-EC	68,4 $\pm 5,4$	59,6 $\pm 17,7$	55,6 $\ddagger^{(1)}$ $\pm 12,9$
Konjugierte polare Corticost.-EPC	18,7 $\pm 4,1$	26,7 $\pm 17,0$	33,5 $\ddagger^{(1)}$ $\pm 14,2$
C-17,20,21-Glykole	43,7 $\pm 11,5$	46,4 $\pm 8,3$	49,6 $\pm 12,7$

$\ddagger p < 0,01$  (1) gegenüber den Gesunden.

(2) gegenüber den Kontrollwerten vor der Therapie.

Das Verhältnis von A/B, das die Tagesschwankung der Cortisol-Metaboliten ausdrückt, ist in der Tabelle 4 angegeben. Über die Werte dieses Verhältnisses bei gesunden Personen wurde an anderer Stelle berichtet [20]. Die Tagesschwankung der freien Corticosteroide wies in den Kontrollanalysen der Patienten mit endogener Depression gegenüber den Gesunden keinen Unterschied auf. Nach der Chemotherapie scheint die Ausscheidung dieser Corticosteroide allerdings verlangsamt zu sein. Bemerkenswert wäre hier die verzögerte Harnelimination der freien, polaren Corticosteroide, bei denen das Verhältnis von A/B von 2,29 auf 0,71 sank. Hinsichtlich der konjugierten Corticosteroiden Tetrahydrocortisol, Allo-Tetrahydrocortisol und Tetrahydrocortison, wo das Verhältnis von A/B schon vor der Therapie erniedrigt war, blieb die Therapie ohne Einfluss auf diesen Wert. Das Verhältnis von A/B änderte sich bei den konjugierten polaren Substanzen erst nach der Therapie mit Thioridazin. In der Ausscheidung von Cortolen und Cortolonen wurde dagegen kein Unterschied sichtbar.

#### DISKUSSION

Schon der erste Befund, dass bei unseren Patienten mit endogener Depression

eine verringerte Ausscheidung aller repräsentativen Cortisol-Metaboliten schon vor dem Beginn der Therapie auftrat, fordert eine umfangreichere Besprechung. Wie schon in der Einleitung zitiert, fand man bei endogenen Depressionen vor der Therapie oft höhere Werte der ausgeschiedenen  $17\alpha$ -OHCS [9–12], wenn diese auch dem Normalbereich nicht deutlich herausfallen. Es wurden auf der anderen Seite aber auch herabgesetzte Werte der  $17\alpha$ -OHCS in der depressiven Phase [14, 21], oder sogar in der manischen Phase der Krankheit festgestellt [22]. Aus der Bestimmung der  $17\alpha$ -OHCS im Plasma ergibt sich einheitlich, dass ihr Spiegel bei depressiver Krankheit normal oder erhöht ist [4–8]. Sclare und Grant [7] fanden bei depressiven Patienten erhöhte  $17\alpha$ -OHCS im Plasma sowohl morgens wie auch abends, wobei Patienten mit der endogenen Form der Depression am Abend wesentlich höhere Werte aufwiesen, als Patienten mit der reaktiven Form der Krankheit. Wenn man die Ergebnisse der  $17\alpha$ -OHCS im Blut berücksichtigt, so erhält man ein Bild ständig erhöhter  $17\alpha$ -OHCS im Plasma bei verminderter Ausscheidung der Harncorticosteroide. Die langfristige Dauer

Tabelle 4. Die Tagesschwankung der Cortisol-Metaboliten, ausgedrückt in dem Verhältnis der zwei Harnportionen A/B ( $\pm$  S.D.) bei Gesunden und bei depressiven Patienten vor dem Beginn der Therapie und im Verlauf der Thioridazin-Verabreichung

Steroidgruppen	Gesunde <i>n</i> = 17	Depressive vor der Therapie <i>n</i> = 10	Depressive im Verlauf der Therapie <i>n</i> = 14
Freie Corticosteroide- FC	2,06 $\pm$ 1,37	1,92 $\pm$ 0,86	1,49 $\pm$ 1,25
Freie polare Corticost.-FPC	1,95 $\pm$ 1,05	2,29 $\pm$ 2,17	0,71 $\ddagger$ (1) $\pm$ 0,58*(2)
Konjugierte Corticost.-EC	1,86 $\pm$ 0,22	1,43 $\pm$ 0,80	1,40 $\pm$ 1,28
Konjugierte polare Corticost.-EPC	1,21 $\pm$ 0,55	1,35 $\pm$ 1,26	0,89 $\pm$ 0,42
C-17,20, 21-Glykole	1,25 $\pm$ 0,43	1,37 $\pm$ 0,93	1,36 $\pm$ 1,01

$\ddagger p < 0,01$  (1) gegenüber den Gesunden.

\* $p < 0,05$  (2) gegenüber den Kontrollwerten vor der Therapie.

dieser Situation entspricht in keinem Falle dem normalen "feed-back Mechanismus". Dass es sich bei der depressiven Krankheit um keine enge Parallelität der im Plasma befindlichen und im Urin ausgeschiedenen  $17\alpha$ -OHCS handeln muss, zeigte Rubin [12], als er bei zwei Patienten in der depressiven Phase die höchsten Plasmaspiegel fand, ohne eine Erhöhung der Cortisol-Metaboliten im Urin festzustellen war. Es ist also anzunehmen, dass bei dieser Krankheit noch andere Einflüsse von grosser Bedeutung sind. Hier scheint beachtenswert, dass bei depressiver Erkrankung die Reaktion auf Dexamethason [23], sowie auch auf Metopiron im Verlauf der Amitriptylin-Verabreichung normal ist [24].

Die niedrigere Ausscheidung von Cortolen und Cortolonen, die wir beobachteten, stimmt mit den Befunden von Kurland [10] nicht überein. Kurland fand bei der depressiven Krankheit erhöhte Werte der ketogenen Steroide bei gleichzeitig normalen Werten der  $17\alpha$ -OHCS und 17-Ketosteroide. Er vertrat daher die

Meinung, dass Cortisol in einem höheren Masse zu Cortol und Cortolon umgewandelt wird auf Kosten von Tetrahydrocortisol und Tetrahydrocortison. Dagegenüber stellte Sachar[14] eine enge positive Korrelation zwischen der Ausscheidung der  $17\alpha$ -OHCS und der 17-KGS fest. Wir bemerkten bei unseren Patienten deutlich herabgesetzte Werte der C-17, 20, 21-Glykole, wenngleich ihr relativer Anteil keine Änderungen aufwies. Auf Grund unserer Ergebnisse können wir also keinen unterschiedlichen Stoffwechsel von Cortisol in der Richtung der Cortole und Cortolone konstatieren.

In diesem Zusammenhang scheinen die Befunde von Mendels[25] beachtenswert. Er fand bei Depressiven vor Beginn der Therapie eine absolute Erhöhung der 11-oxydierten 17-Ketosteroide und aus diesem Grund auch einen Anstieg der gesamten 17-Ketosteroide. Mit der Besserung des klinischen Zustandes kam es zur Rückkehr der Werte zum Normalbereich. Diese Ergebnisse könnten auf die Tatsache hinweisen, dass ein Teil der Cortisol-Metaboliten nach Abspaltung der Seitenkette in Form von 11-oxydierten 17-Ketosteroiden ausgeschieden wird.

Die Kontrollwerte der freien polaren Corticosteroide, die vorwiegend durch  $6\beta$ -Hydroxy-Cortisol vertreten sind, waren bei den Patienten mit endogener Depression nur mässig herabgesetzt. Dass die Ausscheidung von  $6\beta$ -Hydroxy-Cortisol mit den Änderungen in der Cortisol-Ausscheidung nicht parallel gehen muss, zeigten Werk und Mit.[26]. Diese Autoren beobachteten nach Verabreichung von Diphenylhydantoin eine markante Steigerung in der Ausscheidung von  $6\beta$ -Hydroxy-Cortisol, während konjugierte Cortisol-Metaboliten, wie Tetrahydrocortisol, Allo-Tetrahydrocortisol und Tetrahydrocortison vermindert waren. Keine wesentliche Änderung fand man in der Ausscheidung von Cortolen, Cortolonen und 17-Ketosteroiden. Eine deutlich erhöhte Ausscheidung von  $6\beta$ -Hydroxy-Cortisol beim Menschen bemerkten Burstein und Klaiber[27] und Burstein und Mit.[28] nach Barbiturat-Verabreichung. Ihrer Meinung nach kommt es zu dieser Erhöhung infolge einer ungenügenden Reduktion des A-Ringes von Cortisol, oder aufgrund einer Induktion hydroxylierender, Drogenmetabolisierender Enzyme, welche Cortisol als unspezifisches Substrat gebrauchen[29–31]. Die Kontrollwerte unserer Patientengruppe wiesen keine absolute Steigerung der polaren Corticosteroide auf. Ihr relativer Anteil war jedoch hoch. Wenn wir in Betracht ziehen, dass alle unsere Patienten im Laufe ihrer Krankheit schon vorher Barbiturate gebrauchten, könnte man annehmen, dass der Stoffwechsel des Cortisols hier verändert ist, und dass ein Metabolismus zu 6-hydroxylierten Verbindungen bevorzugt wird.

Wie aus den Ergebnissen weiter ersichtlich ist, kommt es im Verlauf der Therapie zu einer Erniedrigung der ausgeschiedenen freien Corticosteroide und Tetrahydroderivate, welche mit Chloroform extrahiert werden und die in den meisten Routinemethoden bestimmte Gruppe der Corticosteroide darstellen. Diese Erniedrigung wird, wie schon am Anfang zitiert, einer Besserung des Krankheitsbildes zugeschrieben. Wir sind der Meinung, dass diese Herabsetzung in der Corticosteroideausscheidung als Folge der Chemotherapie zu werten ist, die sowohl durch ihren Einfluss auf die Leber- und Nierenfunktion den Stoffwechsel von Cortisol ändern kann. Ein direkter Einfluss auf die Nebennierenrindensekretion, wie auch ein zentraler Effekt auf die ACTH-Sekretion kann bei Thioridazin, welches in die Gruppe der Chlorpromazinderivate gehört, allerdings nicht ausgeschlossen werden[32].

Der Tagesschwankung von Cortisol- und Corticosteron-Metaboliten bei Gesunden und bei Leberkranken widmeten wir uns in früheren Arbeiten [20, 33]. Bei Patienten mit psychischen Störungen ist diese Frage von ausserordentlicher Bedeutung, da die wahre Ursache dieser biologischen Rhythmizität bisher nicht geklärt ist. Ihr enger Zusammenhang mit den Störungen des zentralen Nervensystems dürfte unbestritten sein [34]. Der biologische Rhythmus kann durch einige Blocker der synaptischen Übertragung und auch teilweise durch Barbiturate beeinflusst werden [35]. Wir beobachteten bei unseren Patienten keine wesentliche Änderung in der Tagesschwankung der ausgeschiedenen Cortisol-Metaboliten, auch nicht im Verlauf der Thioridazin-Verabreichung. In der Fraktion der Tetrahydroderivate war ein mässiges Absinken des Verhältnisses von A/B sichtbar, um im Extrakt der freien polaren Corticosteroide deutlicher zu werden. Da aber die freien polaren Corticosteroide, die vorwiegend aus 6 $\beta$ -Hydroxy-Cortisol bestehen, nicht parallel mit den Änderungen in der Cortisol-Ausscheidung einhergehen müssen, schreiben wir diesen Befund in der ersten Reihe einem verlangsamten Cortisol-Stoffwechsel zu.

## LITERATUR

1. E. L. Bliss, C. J. Migeon, C. H. H. Branch und L. T. Samuels: *Psychosom. Med.* **18** (1956) 56.
2. H. Persky, R. R. Grinker, D. A. Hamburg, M. A. Sabshin, S. J. Korchin, H. Basowitz und J. A. Chevalier: *Arch. Neurol. Psychiat.* **76** (1956) 549.
3. E. H. Venning, I. Dyrenfurth und J. Beck: *J. clin. Endocr.* **17** (1957) 1005.
4. F. Board, R. Wadeson und H. Persky: *A. M. A. Arch. Neurol. Psychiat.* **78** (1957) 612.
5. J. L. Gibbons und P. R. McHugh: *Psychiat. Res.* **1** (1961) 162.
6. J. L. Gibbons: *Arch. Gen. Psychiat.* **10** (1964) 572.
7. A. B. Sclare und J. K. Grant: *J. Endocrinol.* **43** (1969) 677.
8. P. K. Bridges und M. T. Jones: *Br. J. Psychiat.* **112** (1966) 1257.
9. W. E. Bunney, J. W. Mason, J. F. Roatch und D. A. Hamburg: *Am. J. Psychiat.* **122** (1965) 72.
10. H. D. Kurland: *Arch. Gen. Psychiat.* **10** (1964) 556.
11. I. G. Pryce: *Br. J. Psychiat.* **110** (1964) 90.
12. R. T. Rubin: *Arch. Gen. Psychiat.* **17** (1967) 671.
13. E. J. Sachar: *Arch. Gen. Psychiat.* **17** (1967) 544.
14. E. J. Sachar: *Arch. Gen. Psychiat.* **17** (1967) 554.
15. A. Stančáková: *Endocrinol. exp. (Bratislava)* **3** (1969) 193.
16. R. A. Ulstrom, E. Colle, J. Burley und R. Gunville: *J. clin. Endocr.* **20** (1960) 1080.
17. M. L. Lewbart und J. J. Schneider: *J. biol. Chem.* **241** (1966) 5325.
18. I. E. Bush: *The Chromatography of Steroids*, Pergamon Press, Oxford (1961) S. 358.
19. L. Kornel und K. Motohashi: *Steroids* **6** (1965) 9.
20. A. Stančáková: *Z. klin. Chem. klin. Biochem.* **8** (1970) 56.
21. G. Curtis, R. Cleghorn und T. L. Sourkes: *J. Psychosom. Res.* **4** (1960) 176.
22. M. Schwartz, A. J. Mandell, R. Green und R. Ferman: *Br. J. Psychiat.* **112** (1966) 149.
23. J. L. Gibbons und T. J. Fahy: *Neuroendocrinology* **1** (1965/1966) 358.
24. T. J. Fahy und J. L. Gibbons: *Psychopharmacologia (Berl.)* **12** (1968) 367.
25. J. Mendels: *Br. J. Psychiat.* **115** (1969) 581.
26. E. E. Werk, J. MacGee und L. J. Sholiton: *J. clin. Invest.* **43** (1964) 1824.
27. S. Burstein und E. L. Klaiber: *J. clin. Endocr.* **25** (1965) 293.
28. S. Burstein, H. L. Kimball, E. L. Klaiber und M. Gut: *J. clin. Endocr.* **27** (1967) 491.
29. A. H. Conney, K. Schneidman, M. Jacobson und R. Kuntzman: *Ann. N.Y. Acad. Sci.* **123** (1965) 98.
30. A. H. Conney: *Pharmacol. Rev.* **19** (1967) 317.
31. R. Kuntzman: *Ann. Rev. Pharmacol.* **9** (1969) 581.
32. D. De Wied: *Pharmacol. Rev.* **19** (1967) 251.
33. A. Stančáková: *Endokrinologie* **44** (1963) 49.
34. D. T. Krieger und H. P. Krieger: *J. clin. Endocr.* **26** (1966) 929.
35. D. T. Krieger und H. P. Krieger: *Science* **155** (1967) 61.

## ZUSAMMENFASSUNG

Es wurde die Ausscheidung der Cortisol-Metaboliten bei 10 Kranken mit endogener Depression unter Berücksichtigung der Tagesschwankung der Steroidmetaboliten bestimmt. Die Ergebnisse wurden mit den Werten 17 gesunder Personen verglichen. Es liess sich zeigen, dass die depressiven Patienten schon vor dem Beginn der Therapie eine verminderte Ausscheidung der freien, mit Chloroform extrahierbaren Corticosteroide aufwiesen. Die Erniedrigung betraf an erster Stelle diejenige Fraktion, die Cortison, 11-Desoxycortisol und den grössten Teil von Cortisol enthält. Im Verlauf der Therapie mit Thioridazin wurde dieser Abfall noch deutlicher. Auch die konjugierten Corticosteroide: Tetrahydrocortisol, Allo-Tetrahydrocortisol, Tetrahydrocortison, Cortole und Cortolone waren bereits vor der Chemotherapie verringert. Die freien polaren Corticosteroide, die vorwiegend aus 6 $\beta$ -Hydroxy-Cortisol bestanden, sanken erst nach Verabreichung von Thioridazin. Die Ausscheidung von konjugierten, polaren Porter-Silber positiven Substanzen änderte sich auch im Verlauf der Chemotherapie nicht. Die Ausscheidung der Cortisol-Metaboliten in 24 St., gemessen in zwei Zeiträumen, ist bei den Patienten mit endogener Depression im Vergleich zu den Gesunden verlangsamt. Thioridazin beeinflusste an erster Stelle die Ausscheidung von 6 $\beta$ -Hydroxy-Cortisol. Dieser Befund wurde einem geänderten Cortisol-Stoffwechsel nach Thioridazin-Abgabe zugeschrieben.