

4 DISKUSSION

Ziel der vorliegenden Arbeit war es, subtypselektive Adenosinrezeptor-Antagonisten im Hinblick auf therapeutische Einsatzmöglichkeiten in verschiedenen Tiermodellen zu charakterisieren. Adenosinrezeptor-Antagonisten befinden sich derzeit in der klinischen Entwicklung für die Indikation Morbus Parkinson (JENNER 2003; KNUTSEN und WEISS 2001). Neben dieser Indikation wird jedoch auch ein möglicher Einsatz dieser Substanzklasse in der Pharmakotherapie der Depression diskutiert (KNUTSEN und WEISS 2001).

Dementsprechend wurde in der vorliegenden Arbeit zunächst die antikataleptische Wirkstärke von drei Adenosinrezeptor-Antagonisten mit jeweils unterschiedlicher Selektivität und Affinität zum Adenosin-A_{2A} Rezeptor in der Haloperidol-induzierten Katalepsie, einem Tiermodell für die Parkinsonsche Erkrankung, untersucht. Bei den drei verwendeten Substanzen handelte es sich um Theophyllin, KW-6002 und elbion Substanz A. Ziel der Katalepsie-Versuche war es, eine wirksame Dosierung für die nachfolgend durchgeführten Untersuchungen bzgl. einer antidepressiven Wirksamkeit der drei Testsubstanzen festzulegen. Darüber hinaus sollte in diesem ersten Teil der Arbeit überprüft werden, inwiefern die im Parkinson-Modell zu beobachtende Wirksamkeit dieser Substanzklasse mit dem jeweiligen pharmakologischen Profil der eingesetzten Substanzen in Hinblick auf deren Subtypselektivität und Affinität zu korrelieren ist.

Weitergehend wurde im zweiten Teil der Arbeit eine potenzielle antidepressive Wirkung dieser Substanzen in zwei unterschiedlichen Tiermodellen der Depression untersucht. Dazu wurde der von EL YACOUBI et al. (2001; 2003) beschriebene antidepressive Effekt des selektiven Adenosinrezeptor-Antagonisten KW-6002 im *Forced Swim Test* nachgestellt und weitergehend auch für Theophyllin und die elbion Substanz A gezeigt. Nachfolgend sollte selbiger Effekt in einem komplexeren Depressionsmodell eingehender untersucht werden. Zu diesem Zweck wurde die Olfaktorische Bulbektomie an der Ratte, ein anerkannt valides Modell der Depression (WILLNER 1984), im Rahmen dieser Arbeit etabliert.

4.1 Methodik

4.1.1 Die Haloperidol-induzierte Katalepsie als Parkinson-Modell

Die Durchführung dieses Tiermodells variiert von Labor zu Labor (SANBERG et al. 1988). In unserem Labor wird für die Testung eines kataleptischen Zustands der *standard bar test* verwendet, wie ihn auch MANDHANE et al. (1997) beschreiben. Die in der Literatur beschriebenen Dosierungen von Haloperidol reichen bei der Maus von

0,25 mg/kg KGW (VIYUCH et al. 2001) bis 6 mg/kg KGW (EL YACOUBI et al. 2001b). Bei der Ratte wird ein kataleptischer Zustand zumeist durch 1 mg/kg KGW Haloperidol induziert (KANDA et al. 1994; MANDHANE et al. 1997). Diese Dosierung verwenden PIRES et al. (1998) auch in ihren Untersuchungen bei der Maus. Damit induzierten sie jedoch lediglich einen moderaten Grad an Katalepsie, um so in der Lage zu sein, neben einer substanzbedingten Inhibition auch eine eventuelle Potenzierung des kataleptischen Zustandes zu beobachten.

Ziel der Katalepsie-Versuche war es, eine wirksame Dosierung für die nachfolgend durchgeführten Untersuchungen bzgl. einer potenziellen antidepressiven Eigenschaft dieser Substanzklasse herauszufinden. Unselektive Adenosinrezeptor-Antagonisten wie Theophyllin und selektive Vertreter dieser Substanzklasse wie KW-6002 haben neben einer präklinischen Wirksamkeit in diversen Parkinson-Modellen bereits in klinischen Studien zu einer Verbesserung der mit der Erkrankung einhergehenden Symptome und damit eine Anti-Parkinson-Wirkung gezeigt (JENNER 2003; KASE et al. 2003; KNUTSEN und WEISS 2001; MALLY und STONE 1994). Aus diesem Grund war eine Potenzierung der Katalepsie durch die in dieser Arbeit verwendeten Adenosinrezeptor-Antagonisten nicht zu erwarten. Neben der Dosisfindung für die beiden Depressionsmodelle sollten die Katalepsie-Versuche Auskunft über den Dosis-Wirkungsverlauf geben, um so einen Einblick in das pharmakokinetische Profil der Testsubstanzen zu erlangen. Aus diesen Gründen wurde in den durchgeführten Katalepsie-Versuchen ein stabiler und langanhaltender kataleptischer Zustand induziert, der durch einen *cataleptic score* > 4 über einen mindestens fünfstündigen Zeitraum gekennzeichnet war. Die adäquate Dosierung zur Induktion eines derartigen Zustands wurde anhand Untersuchungen zum Dosis-Wirkungsverlauf von Haloperidol festgelegt (eigene Voruntersuchungen, Ergebnisse nicht einzeln dargestellt). Um einen indirekten Einblick in das pharmakokinetische Verhalten der Substanzen zu erhalten, wurde der kataleptische Zustand der Tiere mehrfach über einen längeren Zeitraum hinweg getestet und damit die Wirkkinetik untersucht. Ausgehend von der angenommenen reversiblen Blockade des Adenosin-A_{2A} Rezeptors durch die Liganden kann von der Wirkkinetik auf die Pharmakokinetik der Substanz im Gehirn der Tiere geschlossen werden. Diese Vorgehensweise beschreiben auch MANDHANE et al. (1997) und PIRES et al. (1998) in ihren Untersuchungen. So testeten sie die Katalepsie bei Ratten in sechs aufeinanderfolgenden Messungen in jeweils halbstündigen Abständen. Andere Autoren wie SHIOZAKI et al. (1999) testeten den kataleptischen Zustand bei Mäusen hingegen nur ein einziges Mal. Sie führen als Begründung einer einmaligen Testung die Möglichkeit einer Habituation und eines Nachlassens des kataleptischen Effekts durch mehrfache Testung an. Diese beschriebene Problematik konnte in den vorliegenden Untersuchungen weder bei der Ratte noch bei der Maus

beobachtet werden. Um die Wahrscheinlichkeit derartiger Habituationseffekte jedoch zu minimieren, wurde die Anzahl der durchgeführten Testungen auf höchstens sechs aufeinanderfolgende Untersuchungen beschränkt. Als Schema zur Beurteilung des kataleptischen Zustands wird in unserem Labor das von KANDA et al. (1994) beschriebene Scoring-System verwendet. Der Endpunkt der Katalepsie ist dabei durch das Absteigen vom Holzwürfel gekennzeichnet. Einige Tiere, vor allem Ratten, zeigten in unseren Untersuchungen allerdings ein uneindeutiges Verhalten. Sie verharrten zwar mit den Vorder- resp. Hinterpfoten auf dem Holzwürfel, bewegten dabei aber den Kopf im Gegensatz zu eindeutig kataleptischen Tieren deutlich hin und her. Um diesen Beobachtungen Rechnung zu tragen, wurde analog zu PIRES et al. (1998) bei Explorationsbewegungen der Versuchstiere, die sich durch deutliche Kopf- und Schnupperbewegungen zeigten, der kataleptische Zustand als beendet betrachtet.

4.1.2 Der Forced Swim Test an der Maus als Depressionsmodell

Im *Forced Swim Test* an der Maus wurde der Effekt von Theophyllin, elbion Substanz A und KW-6002 ausgehend von antikataleptisch wirksamen Dosierungen in der Haloperidol-induzierten Katalepsie der Wirkung von zwei Standardantidepressiva, Imipramin und Amitriptylin, gegenübergestellt.

Um falsch positive Ergebnisse der Adenosinrezeptor-Antagonisten in diesem Modell durch reine Steigerung der lokomotorischen Aktivität auszuschließen, wurde wie von CRYAN et al. (2002) empfohlen, der Einfluss der elbion Substanz A und der KW-6002 auf die lokomotorische Aktivität bei Mäusen vor der Durchführung der Schwimmtests in unserem Labor untersucht. In den im *Forced Swim Test* eingesetzten Dosierungen war keine signifikante Steigerung der lokomotorischen Aktivität durch elbion Substanz A und KW-6002 zu beobachten. In einer höheren Dosierung (30 mg/kg KGW) induzierte KW-6002 jedoch einen leichten Anstieg der Aktivität, der im Vergleich zur Vehikelgruppe allerdings keine statistische Signifikanz erreichte (interner Bericht, elbion AG).

Die Dosierung der in unseren Versuchen im *Forced Swim Test* eingesetzten Standardsubstanzen orientierte sich an den von PORSOLT et al. (1977a) und von BORSINI und MELI (1988) dargestellten Versuchen. Im Gegensatz zu der ursprünglich von PORSOLT et al. (1977a) beschriebenen Versuchsdurchführung wurden die Mäuse in unseren Untersuchungen einen Tag vor dem eigentlichen Versuch über einen Zeitraum von 15 min vortrainiert. Dieses Vorgehen war in den Untersuchungen erforderlich, um einen Vergleich mit laboreigenen, etablierungsbedingt vortrainierten historischen Kontrollen zu gewährleisten. Die in der Literatur beschriebenen Ergebnisse stellen hingegen fast durchgängig die Immobilitätszeit von Mäusen ohne

Vortraining am Vortag dar (etwa in BORSINI und MELI 1988; EL YACOUBI et al. 2001a; oder PORSOLT et al. 1977a). Da sich nach WILLNER (1984) die Immobilitätszeit im *Forced Swim Test* bei wiederholter Exposition erhöht, liegen die Werte für die Immobilitätszeit in unseren Versuchen verglichen mit Ergebnissen aus der Literatur weitaus höher. Die Mittelwerte reichten in unseren Versuchen von 234,5 bis 237,2 sec. Der durchschnittliche Mittelwert der Immobilitätszeit aller fünf Kontrollgruppen zusammengenommen lag bei $236,0 \pm 0,5$ sec (siehe Tab. 22-26, Anhang). In einer Übersicht von PORSOLT et al. (1977a) variieren die Immobilitätszeiten (MW) innerhalb von 22 unterschiedlichen Kontrollgruppen hingegen von minimal 135,4 sec bis maximal 222,3 sec. Im Durchschnitt liegt die Immobilitätszeit bei 181,7 sec und damit deutlich unter dem durchschnittlichen Mittelwert der Immobilität in unseren Versuchen. Das Ausmaß der Reduktion der Immobilität durch die beiden eingesetzten Standardsubstanzen Imipramin und Amitriptylin fiel in unseren Versuchen durch die vortrainingsbedingte stabile Immobilitätszeit entsprechend geringer aus, als sie in der Literatur beschrieben wird. So zeigte BILKEI-GORZO et al. (2002) eine fast 50%ige und hochsignifikante Reduktion der Immobilitätszeit von Mäusen im *Forced Swim Test* durch Amitriptylin (10 mg/kg KGW), wohingegen der Effekt in unseren Versuchen in dieser Dosierung deutlich schwächer ausfiel und keine statistische Signifikanz erreichte (siehe Abb. 20 und Tab. 23, Anhang). In einer höheren Dosierung von Amitriptylin resp. Imipramin (jeweils 30 mg/kg KGW) geben PORSOLT et al. (1977a) in ihren Versuchen eine signifikante Reduktion der Immobilitätszeit von Mäusen im *Forced Swim Test* von 73 resp. 79 % an. In unseren Versuchen konnte in dieser Dosierung ebenfalls eine signifikante Wirkung beobachtet werden (siehe Abb. 19 und 20). Der Effekt war mit einer 29 resp. 14%igen Reduktion jedoch geringer ausgeprägt als von PORSOLT et al. (1977a) beschrieben. Ein quantitativer Vergleich mit Ergebnissen aus der Literatur ist aus den angeführten Gründen deshalb nicht möglich. Der signifikante antidepressive Effekt durch die beiden Standardsubstanzen Imipramin und Amitriptylin in den dargestellten Untersuchungen liegt jedoch im Rahmen der üblichen Wirkbreite dieser Substanzen in diesem bei der elbion AG verwendeten Modell (interne Berichte, elbion AG).

Interessanterweise zeigen Ratten, die zur Erreichung einer stabilen Immobilitätsdauer und zur Vermeidung von falsch negativen Versuchsergebnissen am Vortag vortrainiert werden müssen (BORSINI et al. 1989) ausgehend von Literaturangaben eine ähnlich hohe Immobilitätszeit wie die vortrainierten Mäuse in unseren Versuchen. BORSINI und MELI (1988) geben für die mittlere Immobilitätszeit von Ratten einen Wert von 231,0 sec an (236,0 sec in unseren Versuchen mit vortrainierten Mäusen). Die prozentuale Reduktion der Immobilitätszeit im Vergleich zur Kontrollgruppe durch

Imipramin resp. Amitriptylin in der Dosierung von 10 mg/kg KGW reicht bei Ratten nach BORSINI und MELI (1988) von 6-27 resp. 3-17 %, in der Dosierung von 30 mg/kg KGW von 14-39 % resp. 20-30 %. Die Effekte in der letztgenannten Dosierung decken sich in etwa mit der Wirkung, die wir in unseren Versuchen bei der Maus erzielen konnten (Reduktion um 14 resp. 29 %, siehe Tab. 22 und 23, Anhang).

4.1.3 Die Olfaktorische Bulbektomie an der Ratte als Depressionsmodell

Zu Beginn der Arbeit erfolgte zunächst die Etablierung dieses Modells, da die Olfaktorische Bulbektomie vor Beginn der vorliegenden Arbeit noch nicht Bestandteil der durchgeführten Depressionsmodelle in der ZNS-Abteilung der elbion AG war.

Im Zuge dessen wurden zwei unterschiedliche Operationsmethoden zur chirurgischen Entfernung der olfaktorischen Bulbi, verschiedene Untersuchungen zur Charakterisierung des Verhaltens bulbektomierter Tiere und die Wirkung von mehreren Standardsubstanzen evaluiert.

Die chirurgische Durchtrennung der olfaktorischen Bulbi mit anschließendem Absaugen mit Hilfe einer an eine Wasserstrahlpumpe angeschlossenen Eppendorfpipettenspitze führte im Vergleich zu der zuvor in der ersten Etablierungsgruppe durchgeführten reinen Durchtrennung zu einer vollständigeren Entfernung der Bulbi. Dies induzierte bei den derart bulbektomierten Tieren ein im Vergleich zu den scheinoperierten Tieren verändertes Verhalten in den durchgeführten Verhaltensuntersuchungen. Neben der Operationsmethode erfolgte in der zweiten Etablierungsgruppe allerdings zugleich eine Modifikation der Testapparatur, mit deren Hilfe die lokomotorische Aktivität untersucht wurde, so dass die Induktion des Bulbektomie-assoziierten Verhaltens nicht allein auf die optimierte Operationsmethode zurückzuführen ist.

In der Etablierungsphase wurden zur Charakterisierung dieses Bulbektomie-induzierten Verhaltens verschiedene Verhaltensuntersuchungen durchgeführt. Das lokomotorische Verhalten der operierten Tiere wurde im *Open Field*, das konditionierte Lernvermögen im *Two Compartment Passive Avoidance Task*, das Angstverhalten auf dem *Elevated Plus Maze* und das allgemeine soziale Verhalten in Form von aktivem sozialen Kontakt im *Social Interaction Test* untersucht. Darüber hinaus wurden Versuche zur Aufnahme einer 5%igen Glucoselösung durchgeführt. VAN RIEZEN und LEONARD (1990) legen den Focus innerhalb der Verhaltensuntersuchungen auf Versuche, die die Hyperaktivität im *Open Field* und das Lerndefizit bulbektomierter Tiere im *Passive Avoidance Task* darstellen. Nach HARKIN et al. (2003) sind diese beiden Versuche die einzigen Verhaltensänderungen bulbektomierter Tiere, die selektiv durch subchronische Behandlung mit antidepressiv wirksamen Substanzen

aufzuheben sind. Eine Attenuierung der Hyperaktivität im *Open Field* wird in diesem Tiermodell mit einem antidepressiven Effekt korreliert (VAN RIEZEN et al. 1977). Andere Verhaltensänderungen wie erhöhte Erregbarkeit (*irritability*) und Änderungen hormoneller Parameter hingegen sprechen nach VAN RIEZEN und LEONARD (1990) nicht selektiv auf Antidepressiva an, sondern lassen sich auch durch neuroleptische oder anxiolytische Therapeutika aufheben. Konform zu diesen Literaturangaben wurde für den Wirkungsnachweis der in unserer Arbeit untersuchten Substanzen die Messung der lokomotorischen Aktivität ausgewählt. Darüber hinaus wurde in einer Hauptversuchsgruppe der Einfluss eines Adenosin-A_{2A} Rezeptor-Antagonisten auf das Lernvermögen im *Two Compartment Passive Avoidance Task* durchgeführt. Diese beiden Versuche führten in der Etablierungsphase zudem zu eindeutigen Ergebnissen, wohingegen die Versuche zur Aufnahme einer süßen Lösung uneinheitliche Ergebnisse in den drei Etablierungsgruppen erzielten.

Bei der Messung der lokomotorischen Aktivität der ersten Etablierungsgruppe wurde allerdings deutlich, dass zur Provokation der mit der Bulbektomie einhergehenden Hyperaktivität in einer neuen, ungewohnten Umgebung eine Modifikation der von uns verwendeten Testapparatur erforderlich war. Die unter nicht-modifizierten Umgebungsbedingungen im *Open Field* getesteten bulbektomierten Tiere wiesen bei der Messung entgegen unseren Erwartungen eine geringere Aktivität als die scheinoperierten Tiere auf (siehe Abb. 8). Die Hyperaktivität bulbektomierter Tiere wird als eine reduzierte Anpassungsfähigkeit (VAN RIEZEN und LEONARD 1990) und ein vermindertes Schutzverhalten (PRIMEAUX und HOLMES 1999; STOCK et al. 2001) aufgefasst, das sich besonders deutlich in einer aversiven und damit stress-induzierenden Umgebung darstellt. Demzufolge wurde in einer zweiten Etablierungsgruppe neben der optimierten chirurgischen Durchtrennung der olfaktorischen Bulbi auch die Aversivität des von uns verwendeten *Open Fields* erhöht. Eine Steigerung der Aversivität ist beispielsweise durch Veränderungen der Lichtverhältnisse möglich. HARKIN et al. (2003) weisen in diesem Zusammenhang darauf hin, dass ein hyperaktives Verhalten bulbektomierter Tiere von einer hellen Beleuchtung und der Verwendung von reflektierenden Wänden des *Open Fields* abhängig ist. Die Angaben zur Gestaltung einer ausreichend aversiven Umgebung des *Open Fields* sind in der Literatur allerdings uneinheitlich. Zur Steigerung der Lichtintensität werden etwa Lichtquellen verschiedener Strahlungsstärke verwendet (MAR et al. 2000; MAR et al. 2002; WIERONSKA et al. 2001). MAR et al. (2000; 2002) verkleideten in ihren Untersuchungen das *Open Field* zusätzlich mit Aluminiumfolie und erreichten zusammen mit einer zentral über der Versuchsarena angebrachten 100 W Glühbirne eine Lichtstärke von 1500 – 2000 Lux im *Open Field*. Unter diesen Bedingungen zeigten die bulbektomierten Tiere eine im Vergleich zu den

scheinoperierten Tieren signifikant gesteigerte lokomotorische Aktivität. Bei niedriger Beleuchtung (150 – 200 Lux) hingegen konnte bei den bulbektomierten Tieren keine Hyperaktivität induziert werden. Die Tiere der zweiten Etablierungsgruppe wurden in einem den Angaben von MAR et al. (2000; 2002) entsprechend modifizierten *Open Field* getestet. Bei dieser Testung konnte nunmehr die erwartete gesteigerte lokomotorische Aktivität der bulbektomierten Tiere beobachtet werden (siehe Abb. 8). Neben der adäquaten Modifikation des *Open Fields* wurde bei dieser Gruppe wie bereits zuvor erwähnt eine optimierte chirurgische Entfernung der olfaktorischen Bulbi durchgeführt. Daher ist es wahrscheinlich, dass ein Zusammenwirken dieser beiden Faktoren zu der von uns erwarteten und literaturkonformen Hyperaktivität der bulbektomierten Tiere führte. Der Nachweis einer gesteigerten lokomotorischen Aktivität in unseren Untersuchungen lieferte zudem einen Hinweis auf die Vollständigkeit der Olfaktorischen Bulbektomie. So war ein Vorhandensein von Bulbusresten bei der nach dem Versuche durchgeführten adspektorischen Kontrolle der Gehirne bulbektomierter Ratten in der überwiegenden Anzahl mit einem nur mäßig oder gar nicht gesteigerten lokomotorischen Verhalten zu korrelieren. Auch LEONARD und TUIE (1981) führen an, dass sich die Hyperaktivität bulbektomierter Tiere, die die Autoren neben anderen Verhaltensveränderungen dem zusammenfassenden Begriff *olfactory bulbectomy syndrome* zuordnen, nur nach einer vollständig durchgeführten Durchtrennung der olfaktorischen Bulbi beobachten lässt. Neben unvollständig bulbektomierten Tiere zeigten auch Tiere mit einer Beeinträchtigung des Allgemeinbefindens eine herabgesetzte Aktivität. Diese Tiere wurden in unseren Untersuchungen mit Hilfe des Pre-Tests selektiert bzw. bei nachgewiesener unvollständiger Entfernung der olfaktorischen Bulbi von der statistischen Versuchsauswertung ausgeschlossen. In den jeweiligen Hauptversuchsgruppen handelte es sich dabei jedoch nur um sehr wenige Tiere (siehe Tab. 27, Anhang). Dessen ungeachtet und trotz weitestgehend standardisierter Bedingungen bei der Versuchsdurchführung konnte bei der Messung der lokomotorischen Aktivität immer noch eine große Variationsbreite der Ergebnisse sowohl zwischen den einzelnen Gruppen als auch innerhalb der jeweiligen Gruppe beobachtet werden. Die Steigerung der lokomotorischen Aktivität bulbektomierter Tiere gegenüber den scheinoperierten Tieren im Pre-Test reichte in verschiedenen Gruppen von minimal 11,9 % bis maximal 39,2 % (siehe Tab. 28, Anhang). Auch LEONARD (1984) konnte eine ähnliche Variationsbreite seiner Ergebnisse beobachten. Die Messung der lokomotorischen Aktivität über einen Zeitraum von drei Minuten stellt eine Momentaufnahme dar. Diese von KELLY et al. (1997) als "*snapshot*" bezeichnete Beurteilung der Aktivität unterliegt zahlreichen Einflussfaktoren, welche die Variationsbreite der Ergebnisse erklären könnten. Die operierten Tiere erfuhren in

unseren Untersuchungen eine mehrfache Exposition gegenüber dem *Open Field*, so dass wir zur Verringerung von Erinnerungs- und Gewöhnungseffekten der Tiere an die stressige Versuchsarena ein kurzes Zeitintervall von drei Minuten zur Erfassung der lokomotorischen Aktivität auswählten. Da die lokomotorische Aktivität bulbektomierter Tiere innerhalb einer Gruppe im Pre-Test eine deutliche Variationsbreite aufwies, diente der Pre-Test neben der zuvor beschriebenen Detektion unvollständig bulbektomierter oder erkrankter Tiere der Zusammenstellung gleichmäßig aktiver Behandlungsgruppen für die Substanztestungsphase. In der Substanztestungsphase sollte untersucht werden, ob die drei Testsubstanzen zu einer Reduktion der Hyperaktivität führten, also einen antidepressiven Effekt ausüben.

Zur Validierung des Modells wurden mit Imipramin und Amitriptylin zwei Standardsubstanzen ausgewählt, die die Hyperaktivität der bulbektomierten Tiere nach subchronischer Applikation signifikant senken konnten (siehe dazu Abb. 24-25). LEONARD (1984) zeigte in seinen Untersuchungen nach 14tägiger Behandlung bulbektomierter Ratten mit den in der Pharmakotherapie der Depression eingesetzten Substanzen Sertralin resp. Desipramin eine 39%ige resp. 21%ige Reduktion der Hyperaktivität. In unseren Versuchen führte die Behandlung mit Imipramin resp. Amitriptylin zu einer 37%igen resp. 43%igen Reduktion der Hyperaktivität bulbektomierter Tiere (siehe Abb. 22-23 und Tab. 29, Anhang). Dieser Effekt wird mit einer antidepressiven Wirkung korreliert (HARKIN et al. 2003; KELLY et al. 1997).

Zusammenfassend kann festgestellt werden, dass das Modell der Olfaktorischen Bulbektomie literaturkonform etabliert werden konnte und dass Standardsubstanzen in den hier vorgestellten Untersuchungen ein ähnliches Ausmaß der Wirkung aufzeigten wie in der Literatur beschrieben.

4.2 Ergebnisse

4.2.1 Wirkung der Adenosinrezeptor-Antagonisten in der Haloperidol-induzierten Katalepsie

Die Gabe des unselektiven und niedrig affinen Adenosinrezeptor-Antagonisten Theophyllin (siehe Tab. 2) führte bei der Ratte zu einer signifikanten dosisabhängigen und langanhaltenden Inhibition der Haloperidol-induzierten Katalepsie (siehe Abb. 14 und Tab. 17, Anhang). Dies korreliert mit Literaturdaten. So zeigten MANDHANE et al. (1997) und EL YACOUBI et al. (2001b) bei der Haloperidol-induzierten Katalepsie bei der Ratte ebenfalls einen antikataleptischen Effekt von Theophyllin. Der deutliche antikataleptische Effekt von 10 mg/kg KGW Theophyllin bei der Ratte war in unseren Versuchen bei der Maus hingegen nicht zu sehen. In dieser Dosierung wurde die

Katalepsie über den getesteten Zeitraum zwar gleichmäßig reduziert, der Effekt war jedoch zu keinem Testzeitpunkt signifikant (siehe Abb. 13 und Tab. 16, Anhang). SHIOZAKI et al. (1999) hingegen konnten in ihren Versuchen bei der Maus in Dosierungen von 2,5–20 mg/kg KGW Theophyllin eine deutlich stärkere und signifikante Inhibition der Katalepsie aufzeigen. Die Induktion einer Katalepsie erfolgte bei SHIOZAKI et al. (1999) allerdings nur mit 1 mg/kg KGW Haloperidol, wohingegen in unseren Versuchen 1,2 mg/kg KGW Haloperidol verwendet wurden.

Bei einer Dosierung von 10 mg/kg KGW reduzierte die moderat selektive elbion Substanz A bei der Maus signifikant die kataleptische Wirkung von Haloperidol. Ein signifikanter Effekt hielt bei dieser Dosierung bis 2 h nach der Substanzgabe an (siehe Abb. 15 und Tab. 18, Anhang). Ähnlich wie bei den Versuchen mit Theophyllin scheint die Ratte stärker auf einen antikataleptischen Effekt anzusprechen. So war ein signifikanter antikataleptischer Effekt bei einer Dosierung von 10 mg/kg KGW bei der Ratte deutlich stärker ausgeprägt und hielt über einen längeren Zeitraum an als bei der Maus (siehe Abb. 16 und Tab. 19, Anhang).

Die Gabe des selektiven Adenosin-A_{2A} Rezeptor-Antagonisten KW-6002 reduzierte bei der Maus in einer Dosierung von 10 mg/kg KGW p.o. in unseren Versuchen sehr effektiv und langanhaltend die kataleptische Wirkung von Haloperidol. In Untersuchungen von SHIOZAKI et al. (1999) erwies sich die KW-6002 bereits in wesentlich niedrigeren Dosierungen als antikataleptisch wirksam. In Dosierungen von 0,04 – 0,63 mg/kg KGW p.o. wurde der *cataleptic score* 60 min nach Substanzgabe dosisabhängig signifikant reduziert. Nach CACCIARI et al. (2003) liegt die ED₅₀ der antikataleptischen Wirkung von KW-6002 bei 0,03 mg/kg p.o.. Die starke antikataleptische Wirksamkeit in den von SHIOZAKI et al. (1999) dargestellten niedrigen Dosierungen ist vermutlich durch die Art der Zubereitung der Substanz bedingt, die zu einer besseren Bioverfügbarkeit geführt haben könnte. Zudem wurde mit 1 mg/kg KGW Haloperidol ein kataleptischer Zustand induziert, der vermutlich leichter zu antagonisieren war, als es in unseren Versuchen mit der höheren Haloperidol-Dosis von 1,2 mg/kg KGW der Fall war.

Werden die Ergebnisse der drei Substanzen bei der Maus und der Ratte im Hinblick auf ihre Wirkungsdauer miteinander verglichen, wird offensichtlich, dass die Substanzen deutliche Unterschiede aufweisen. Eine eindeutige antikataleptische Wirkung der KW-6002 hielt bei der Maus und der Ratte nahezu bis zum Versuchende an. Die elbion Substanz A verlor bei beiden Spezies hingegen schon früher an Wirkung. Die unterschiedliche Wirkungsdauer der eingesetzten Substanzen ist vermutlich auf ein unterschiedliches pharmakokinetisches Profil der beiden Substanzen zurückzuführen. Eine schnelle Anflutung dieser Substanz bedingt die in unseren

Untersuchungen zu beobachtende starke initiale antikataleptische Wirkung. Eine kurze Plasma-Halbwertszeit könnte zudem das relativ schnelle Nachlassen der Wirkung erklären. Die KW-6002 weist hingegen eine längere Halbwertszeit auf, was den zu beobachtenden insgesamt gleichmäßigeren Zeit-/Wirkungsverlauf erklären könnte. Die sich aus diesen Versuchen herzuleitende Plasmakinetik konnte in einer internen Studie bestätigt werden (interne Berichte, elbion AG).

Werden die Ergebnisse der drei getesteten Substanzen in der Dosierung von 10 mg/kg KGW zum Zeitpunkt 60 min nach der Applikation miteinander verglichen, wird deutlich, dass bei der Ratte alle drei Substanzen etwa gleich stark antikataleptisch wirken (*cataleptic score* Theophyllin: 0,2; elbion Substanz A: 0,0; KW-6002: 0,0). Bei der Maus besitzt die elbion Substanz A zu diesem Zeitpunkt die stärkste antikataleptische Wirksamkeit von den drei getesteten Substanzen. Ausgehend von diesen Beobachtungen kann kein direkter Zusammenhang zwischen der Stärke eines antikataleptischen Effekts und dem Grad der Subtypselektivität gefolgert werden. EL YACOUBI et al. (2001b), KANDA (1994) und SHIOZAKI (1999) führen an, dass subtypselektive Adenosin-A_{2A} Rezeptor-Antagonisten mit einer niedrigen Selektivität zum Adenosin-A₁ Rezeptor effektiv einen kataleptischen Zustand bei Versuchstieren aufheben können. Andere Autoren wie FERRE et al. (1991a), HAUBER et al. (2001), MALEC (1997), MANDHANE et al. (1997) und SHIOZAKI et al. (1999) weisen jedoch auch für unselektive Adenosinrezeptor-Antagonisten eine gute antikataleptische Wirkung auf. Diese gute Wirkung konnte auch in unseren Versuchen bei der Ratte bestätigt werden. Neben dieser präklinischen Wirksamkeit konnte Theophyllin in einer klinischen Studie als *add-on* Therapie zur üblichen Medikation mit L-Dopa nach MALLY und STONE (1994) bei Parkinson-Patienten eine signifikante Verbesserung der motorischen Bewegungsstörungen erreichen. Diese Daten zeigen, dass eine hohe Subtypselektivität für eine Wirkung bei Parkinson-Patienten nicht essentiell erforderlich ist.

Bei den eingesetzten Substanzen könnte vielmehr der Grad der Affinität zum Adenosin-A_{2A} Rezeptor an der Intensität einer antikataleptischen Wirkung beteiligt sein. So zeigte sich 60 min nach Applikation bei der hochaffinen Substanz elbion Substanz A bei der Maus die stärkste, bei der niedrig affinen Substanz Theophyllin hingegen die schwächste antikataleptische Wirkung in der Dosierung 10 mg/kg KGW. Diese eindeutige Korrelation war bei der Ratte hingegen nicht zu beobachten. Hier zeigten sich die drei unterschiedlich affinen Substanzen in der Dosierung von 10 mg/kg KGW 60 min nach der Applikation nahezu gleich stark antikataleptisch wirksam. Diese Beobachtung könnte einerseits auf speziesspezifische Unterschiede pharmakokinetischer Parameter zurückzuführen sein, die etwa eine unterschiedliche metabolische Stabilität der Substanzen in Ratte und Maus bedingen

könnten. Auf der anderen Seite wurde bei der Ratte eine geringere Haloperidol-Dosis zur Induktion eines kataleptischen Zustands verwendet als bei der Maus. Eine Antagonisierung des Haloperidol-induzierten Katalepsie bei der Ratte durch die in unseren Untersuchungen eingesetzten Substanzen ist demnach möglicherweise leichter zu erzielen als bei der Maus. Eine Bestimmung der wirksamen Minimaldosis könnte in diesem Zusammenhang Aufschluss geben.

4.2.2 Wirkung der Adenosinrezeptor-Antagonisten in zwei Depressionsmodellen

4.2.2.1 Wirkung der Adenosinrezeptor-Antagonisten im *Forced Swim Test* an der Maus

Hinweise auf eine mögliche antidepressive Eigenschaft von Adenosin-A_{2A} Rezeptor-Antagonisten gaben EL YACOUBI et al. (2001a; 2003) in zwei verschiedenen Depressionsmodellen bei der Maus, dem *Forced Swim Test* und dem Tail Suspension Test an. Begründet auf den vielversprechenden Ergebnissen in diesen präklinischen Depressionsmodellen wurde die KW-6002 als Vertreter einer neuen Klasse von Antidepressiva auf den Weg in die klinische Entwicklung gebracht (KNUTSEN und WEISS 2001).

In den in dieser Arbeit dargestellten Schwimmversuchen reduzierten alle drei Adenosinrezeptor-Antagonisten in den jeweiligen Dosierungsgruppen die Immobilitätszeit gegenüber den Kontrolltieren signifikant. Die prozentuale Reduktion der Immobilitätszeit entsprach in der jeweils geringsten Dosierung bei Theophyllin (10 mg/kg KGW p.o.), elbion Substanz A (10 mg/kg KGW p.o.) und KW-6002 (3 mg/kg KGW p.o.) der prozentualen Reduktion der Immobilität durch das als Standardsubstanz eingesetzte TCA Imipramin (10 mg/kg KGW i.p.) (siehe Abb. 19-23 und Tab. 22-26, Anhang). In der jeweils höchsten Dosierung führten Theophyllin (30 mg/kg KGW p.o.) und KW-6002 (10 mg/kg KGW p.o.) zu einer nahezu äquivalenten Reduktion wie Imipramin in der hohen Dosierung (30 mg/kg KGW i.p.).

EL YACOUBI et al. (2001a) konnten in ihren Versuchen analog zu unseren Untersuchungen die Beobachtung machen, dass Adenosin-A_{2A} Rezeptor-Antagonisten in einer relativ niedrigen Dosierung zu einem ähnlich starken antidepressiven Effekt führen wie das als Standardsubstanz eingesetzte TCA Imipramin. So zeigte der hochselektive Adenosin-A_{2A} Rezeptor-Antagonist SCH 58621 (104-fach vs. A₁, interne Berichte elbion AG, EGERLAND et al. 2003) bei 10 mg/kg KGW und die selektive Substanz KW-6002 bei 1 und 10 mg/kg KGW einen signifikanten antidepressiven Effekt im *Forced Swim Test*. In diesen Dosierungen wurde die Immobilitätszeit im Vergleich zur Kontrollgruppe durch SCH 58621 um 61 % und durch die KW-6002 um 75 resp. 79 % reduziert (EL YACOUBI et al. 2001a). In unseren Untersuchungen führte

die KW-6002 bei 10 mg/kg KGW ebenfalls zu einer signifikanten Reduktion der Immobilität. Mit einer im Vergleich zur Kontrollgruppe um 14 % reduzierte Immobilität fiel der Effekt allerdings deutlich schwächer aus als in den Untersuchungen von EL YACOUBI et al. (2001a). Dieser Unterschied ist, wie bereits beschrieben, vermutlich hauptsächlich auf die vortrainingsbedingte hohe Immobilitätszeit der Mäuse in unseren Versuchen zurückzuführen. So liegt die Immobilitätszeit der Kontrollgruppe in unserem Versuch mit 238,1 sec knapp 80 sec über der von EL YACOUBI et al. (2001a). Weiterhin könnten Unterschiede in der von den Autoren verwendeten Formulierung (Tween 80) eine höhere Bioverfügbarkeit der Substanz bedingt haben. Die Wirkung von elbion Substanz A bei 30 mg/kg KGW fiel in unseren Untersuchungen im Vergleich zu Theophyllin und KW-6002 in der jeweils höchsten Dosierung deutlich schwächer aus. Die Wirkung der elbion Substanz A erschien in der niedrigen Dosierung maximal und wurde bei 30 mg/kg KGW nicht zusätzlich verstärkt. Einen ähnlichen Effekt von Wirkungssättigung konnten EL YACOUBI et al. (2003) bei der Wirkung von Koffein im *Forced Swim Test* beobachten. Die Erreichung eines maximalen Effekts in der Dosierung von 10 mg/kg KGW ist vermutlich auf das substanzspezifische pharmakologische Profil der elbion Substanz A zurückzuführen. So besitzt sie im Vergleich zu den anderen beiden untersuchten Substanzen die höchste Affinität zum Adenosin-A_{2A} Rezeptor. Aus intern durchgeführten Untersuchungen zum pharmakokinetischen Verhalten der Substanz ist darüber hinaus eine schnelle Anflutung im Gehirn bekannt (interne Berichte, elbion AG).

Ähnlich wie bei den zuvor beschriebenen Katalepsie-Versuchen wird auch bei den Schwimmversuchen kein offensichtlicher Zusammenhang des Grades der Subtypselektivität mit der jeweiligen Wirkung der drei untersuchten Adenosinrezeptor-Antagonisten deutlich. Der unselektive Adenosinrezeptor-Antagonist Theophyllin übte im *Forced Swim Test* einen ähnlich starken antidepressiven Effekt aus wie die um den Faktor 27 selektivere KW-6002 (siehe Tab. 2). In der Dosierung von 10 mg/kg KGW übte innerhalb der Adenosinrezeptor-Antagonisten die selektive und moderat affine KW-6002 den stärksten Effekt aus. Bei den Katalepsie-Versuchen zeigte sich hingegen die hochaffine elbion Substanz A am wirksamsten. Einschränkend in der Beurteilung erweisen sich jedoch Unterschiede im pharmakokinetischen Verhalten der eingesetzten Adenosinrezeptor-Antagonisten.

Die in unseren Untersuchungen beobachtete Reduktion der Immobilitätszeit durch die drei eingesetzten Adenosinrezeptor-Antagonisten kann nach PORSOLT et al. (1977a; 1977b) in diesem Modell mit einem antidepressiven Effekt korreliert werden. Obwohl ähnliche Ergebnisse wie bei der Standardsubstanz Imipramin erzielt wurden, ist ein echter antidepressiver Effekt dieser drei Substanzen durch gleichzeitige Beeinflussung

der lokomotorischen Aktivität allerdings vorsichtig zu bewerten. Adenosin-A_{2A} Rezeptoren kommen in hoher Konzentration in den Basalganglien vor, wo sie modulierenden Einfluss auf dopaminerge Aktivität ausüben (FERRE et al. 1991b; FISONE et al. 2004; FUXE et al. 2001; ONGINI und FREDHOLM 1996). Eine Blockierung des Adenosin-A_{2A} Rezeptors durch Adenosinrezeptor-Antagonisten führt zu einem Anstieg der lokomotorischen Aktivität, wohingegen eine Unterdrückung der motorischen Aktivität durch Aktivierung des Adenosin-A_{2A} Rezeptors bedingt ist (CORREA et al. 2004; EL YACOUBI et al. 2000b; EL YACOUBI et al. 2000a; HAUBER und MUNKLE 1997; KASTER et al. 2004). Sowohl unselektive Adenosinrezeptor-Antagonisten wie Koffein als auch hochselektive Substanzen wie SCH 58621 oder ZM 241385 üben nach EL YACOUBI et al. (2000a, 2000b) einen lokomotorisch stimulierenden Effekt aus. In später von den Autoren durchgeführten Untersuchungen wurde den drei genannten Substanzen im *Forced Swim Test* und im Tail Suspension Test eine antidepressive Wirkung zugesprochen (EL YACOUBI et al. 2001a; EL YACOUBI et al. 2003), obwohl in den antidepressiv wirksamen Dosierungen gleichzeitig eine signifikante Steigerung der lokomotorischen Aktivität von Mäusen im *Open Field* zu beobachten war (EL YACOUBI et al. 2000b). Die Autoren versuchen in weiteren Untersuchungen anhand Vorbehandlung der Mäuse mit dem Dopamin-D₂ Rezeptor-Antagonisten Haloperidol allerdings, einen generell steigernden Effekt der Adenosin-A_{2A} Rezeptor-Antagonisten auf die lokomotorische Aktivität von einer echten antidepressiven Wirkung zu differenzieren (EL YACOUBI et al. 2001a; EL YACOUBI et al. 2003).

Auf eine Einschränkung der prädiktiven Gültigkeit dieses Tests durch die Möglichkeit von falsch positiven Ergebnissen wiesen bereits BORSINI und MELI (1988) hin. Der Parameter Immobilitätszeit, dessen Reduktion beim *Forced Swim Test* mit einem antidepressiven Effekt korreliert wird (PORSOLT et al. 1977a), ist neben antidepressiven Effekten auch durch Veränderungen der lokomotorischen Aktivität zu beeinflussen. Um diesem Mangel an Sensitivität entgegenzuwirken und falsch positive Ergebnisse durch reine Steigerung der lokomotorischen Aktivität zu vermeiden, weisen CRYAN et al. (2002) darauf hin, vor der Durchführung des *Forced Swim Tests* Untersuchungen zur Beeinflussung der lokomotorischen Aktivität durch die zu untersuchenden Substanzen durchzuführen. Die von uns dementsprechend durchgeführten Untersuchungen ergaben Hinweise auf eine geringgradige Steigerung der Aktivität, die in den später im *Forced Swim Test* eingesetzten Dosierungen allerdings keine Signifikanz erreichten. Weitere Hinweise auf eine Erhöhung der Aktivität durch KW-6002 und Theophyllin lieferten die Verhaltensbeobachtungen der Mäuse im Heimatkäfig, bevor sie in das Wasserglas eingesetzt wurden. So zeigten die Tiere durch gesteigertes Hin- und Herlaufen Anzeichen einer gesteigerten Aktivität.

Darüber hinaus wird im direkten Vergleich mit anderen in der elbion AG durchgeführten Schwimmversuchen deutlich, dass KW-6002 und Theophyllin in der jeweils höchsten Dosierung in den dargestellten Schwimmversuchen zu ähnlichen Ergebnissen wie Amphetamin führten (interne Berichte, elbion AG: Immobilitätszeit [sec] bei Amphetamin 1 mg/kg KGW i.p.: $206,6 \pm 7,5$ sec, Amphetamin 3 mg/kg KGW i.p.: $205,7 \pm 11,1$ sec, Kontrolle: $229,4 \pm 3,7$ sec). Psychostimulantien und Dopamin-freisetzende Substanzen wie Amphetamin führen zu einer breiten Stimulation der motorischen Aktivität (FISONE et al. 2004) und daraus resultierend zu falsch positiven Ergebnissen in diesem Tiermodell der Depression (BORSINI und MELI 1988; PORSOLT et al. 1977a; WILLNER 1984). Dopaminerg wirksame Substanzen reduzieren die Immobilitätszeit im *Forced Swim Test*, erhöhen allerdings gleichfalls die motorische Aktivität der Versuchstiere und führen so zu falsch positiven Resultaten in diesem Modell (BORSINI und MELI 1988). Der MAO-B Hemmer Selegilin (= L-Deprenyl), der zu einer Anhebung des Dopaminspiegels im ZNS führt, bedingt eine signifikante Reduktion der Immobilität (PORSOLT et al. 1977a). Nach FORTH und HENTSCHLER (2001) besitzt Selegilin jedoch keine antidepressive Wirkung, da vornehmlich die Hemmung von MAO-A die antidepressive Wirkung der MAO-Hemmer bedingt. Darüber hinaus bewirkt Selegilin ebenfalls eine Steigerung der lokomotorischen Aktivität, so dass eine falsch positive Wirkung dieser Substanz in diesem Modell wahrscheinlich ist. Tranylcypromin als unselektiver und irreversibler MAO-Hemmer reduziert in Dosierungen von 10 und 20 mg/kg KGW die Immobilitätszeit von Mäusen ebenfalls signifikant (BORSINI und MELI 1988; PORSOLT et al. 1977a). Moclobemid, ein selektiver Hemmer der MAO-A führt ebenfalls zu einer Reduktion der Immobilitätszeit bei Ratten (WEINSTOCK et al. 2002) und Mäusen (BOURIN et al. 1998). Tranylcypromin und Moclobemid werden im Gegensatz zum zuvor genannten Selegilin allerdings in der Pharmakotherapie der Depression eingesetzt. Damit erzielen diese Substanzen im Gegensatz zu dem zuvor erwähnten Selegilin zwar echt positive Ergebnisse, der Einfluss auf die lokomotorische Aktivität und ein echter antidepressiver Effekt durch diese Substanzen ist allerdings schwer voneinander zu trennen (BORSINI und MELI 1988). Tranylcypromin besitzt nach RIEDERER et al. (1993) neben der stimmungsaufhellenden jedoch auch eine motorisch stimulierende Wirkung. Der stimulierende Effekt, der durch Adenosin-A_{2A} Rezeptor-Antagonisten hervorgerufen wird, ist nach VAUGEOIS et al. (1993) allerdings von geringerer Intensität als die durch Dopamin-freisetzende Substanzen wie Cocain oder Amphetamin hervorgerufene Steigerung der lokomotorischen Aktivität. So wird der Einfluss auf die lokomotorische Aktivität durch subtypselektive Adenosin-A_{2A} Rezeptor-Antagonisten wie KW-6002, KF-17837 oder SCH 58261 nach HAUBER et al. (1998), KANDA et al. (1998) und MÜLLER (2000) als moderat bezeichnet. KW-6002 führt bei durch MPTP geschädigten

Marmorsets zu einer moderaten Steigerung der lokomotorischen Aktivität, ohne dabei jedoch abnorme Bewegungen wie z.B. Stereotypien hervorzurufen (KANDA et al. 1998).

Der in unseren Untersuchungen im *Forced Swim Test* beobachtete antidepressive Effekt durch die drei Adenosinrezeptor-Antagonisten bleibt durch deren Einfluss auf die nigrostriatale dopaminerge Neurotransmission, der eine leichte Aktivitätserhöhung induziert (FUXE et al. 2001), demnach fraglich. Aus diesem Grund wurde im Anschluss an den *Forced Swim Test* eine potenzielle antidepressive Wirkung der Substanzen in einem weiteren Modell der Depression, der Olfaktorischen Bulbektomie untersucht. Auch EL YACOUBI et al. (2003) weisen auf die Notwendigkeit weitergehender Untersuchungen eines antidepressiven Effekts von Adenosinrezeptor-Antagonisten in weiteren Modellen hin.

4.2.2.2 *Wirkung der Adenosinrezeptor-Antagonisten in der Olfaktorischen Bulbektomie an der Ratte*

In der Literatur gibt es bislang keine Angaben über die Untersuchung von Adenosinrezeptor-Antagonisten in diesem Tiermodell der Depression. Antidepressiv wirksame Substanzen wie Imipramin oder Fluoxetin führen bei bulbektomierten Tieren zu einer Normalisierung veränderter Verhaltens-Parameter, so dass die Tiere wieder mit einem angemessenen Verhalten auf ihre Umwelt reagieren können (HARKIN et al. 2003, KELLY et al. 1997). So reduziert eine subchronische, aber keine akute Behandlung mit antidepressiv wirksamen Substanzen die durch die Bulbektomie induzierte Hyperaktivität in einem aversiven *Open Field*. Diese Wirkung wird mit einem antidepressiven Effekt von Substanzen korreliert (HARKIN et al. 2003; KELLY et al. 1997).

Nach subchronischer Behandlung mit den drei untersuchten Adenosinrezeptor-Antagonisten wurde deren Wirkung auf die lokomotorische Aktivität im *Open Field* der Wirkung der beiden als Standards eingesetzten trizyklischen Antidepressiva Imipramin und Amitriptylin gegenübergestellt.

In unseren Untersuchungen führten die eingesetzten Standardsubstanzen Imipramin resp. Amitriptylin zu einer Reduktion der Hyperaktivität bulbektomierter Tiere um 37 % resp. 43 %. Das lokomotorische Verhalten der scheinoperierten Tiere wurde durch die Behandlung mit diesen beiden Substanzen hingegen nicht beeinflusst. Das Ausmaß der Wirkung entspricht publizierter Daten (KELLY et al. 1997; LEONARD 1984). Die Reduktion der Aktivität bei den bulbektomierten Tieren und der fehlende Effekt bei den scheinoperierten Tieren weist darauf hin, dass es sich hier um eine spezifische, als antidepressiv zu deutende Wirkung bei den bulbektomierten Tieren handelt (siehe Tab. 29, Anhang). Die eingesetzten Adenosin-A_{2A} Rezeptor-Antagonisten zeigten hingegen

keine antidepressive Wirkung in diesem Modell. So konnte die subchronische Behandlung mit den Adenosinrezeptor-Antagonisten im Gegensatz zu den eingesetzten Referenzsubstanzen Imipramin und Amitriptylin die Hyperaktivität bulbektomierter Tiere nicht reduzieren (siehe Abb. 24-28 und Tab. 29, Anhang). Vielmehr führte die Behandlung mit Theophyllin und KW-6002 bei den bulbektomierten Tieren im Vergleich zu den Vehikelkontrollen zu einer mäßigen Steigerung der lokomotorischen Aktivität um 7 resp. 8 %. Dieser Effekt erreichte allerdings keine statistische Signifikanz. Signifikant wurde der Effekt allerdings bei der Behandlung mit elbion Substanz A. Hier führte die Behandlung mit elbion Substanz A im Vergleich zur Vehikelkontrolle zu einer Steigerung der lokomotorischen Aktivität bulbektomierter Tiere um 38 %. Jedoch ist dies nicht unbedingt als Unterschied im Vergleich zu Theophyllin und KW-6002 zu werten, wenn man die Vehikelkontrollen der drei Versuche miteinander vergleicht. So war die Aktivität bulbektomierter Tiere in der Vehikelkontrolle der mit elbion Substanz A behandelten Gruppe etwas geringer als die der anderen beiden Gruppen. Die im Vergleich zu diesen Gruppen erhöhte Differenz zwischen der Vehikelkontrolle und den mit Substanz behandelten bulbektomierten Tieren in der mit elbion Substanz A behandelten Gruppe kann daher mindestens teilweise auf eine Variation im Bereich der Vehikelkontrollen zurückgeführt werden. Die Behandlung mit den Adenosinrezeptor-Antagonisten führte auch bei den scheinoperierten Tieren zu einer Steigerung der lokomotorischen Aktivität. Signifikant wurde dieser antriebssteigernde Effekt bei den scheinoperierten Tieren, die mit Theophyllin und KW-6002 behandelt wurden. Dies ist als Hinweis auf einen motorisch stimulierenden und antriebssteigernden Effekt zu werten. Dieser Effekt war zunächst unerwartet, denn in entsprechenden Vorversuchen waren die geprüften Dosen der KW-6002 und der elbion Substanz A in einem Aktivitätstest an der Maus als nicht signifikant aktivitätssteigernd bewertet worden (interne Berichte, elbion AG). In den zwei in dieser Arbeit durchgeführten Depressionsmodellen, dem *Forced Swim Test* an der Maus und der Olfaktorischen Bulbektomie an der Ratte, sollten Dosierungen geprüft werden, die selber keine deutliche Aktivitätssteigerung hervorrufen.

Als mögliche Ursache für die aktivitätssteigernde Wirkung im Modell der Olfaktorischen Bulbektomie lassen sich neben der Tatsache, dass hier von der Maus auf die Ratte geschlossen wurde, drei Umstände diskutieren. Zunächst wurden Tiere eingesetzt, die einem operativen Eingriff (Entfernung der olfaktorischen Bulbi resp. Schein-OP) ausgesetzt waren. Theoretisch könnte dies die Reaktionslage der Tiere chronisch beeinflusst haben. Jedoch waren diese Tiere ansonsten unauffällig und die Operation lag zum Zeitpunkt der Hauptversuche mehr als 5 Wochen zurück, so dass ein Einfluss durch den operativen Eingriff nicht nahe liegend ist. Weiterhin wurden die Substanzen in dem vorliegenden Test über einen Zeitraum von 15 Tagen appliziert. Darüber hinaus

führt eine wiederholte Gabe von Substanz in relativ zur Halbwertszeit kurzem Abstand zu einer Erhöhung des Plasmaspiegels. Aufgrund unserer Untersuchungen zur Wirkdauer ist dies jedoch nicht wahrscheinlich, da die Wirkdauer im Vergleich zum Dosierungsintervall relativ kurz ist. Des Weiteren waren die Ratten in den unter Substanzeinfluss durchgeführten Hauptversuchen im Gegensatz zu den mit Mäusen durchgeführten Vorversuchen einer aversiven Umgebung in Form des modifizierten *Open Fields* ausgesetzt. Es erscheint daher nahe liegend, dass diese erhöhte Aversivität der Umgebung im Modell der Olfaktorischen Bulbektomie die Sensitivität der Versuchsapparatur, aktivitätssteigernde Eigenschaften von Substanzen zu detektieren, deutlich erhöht hat. Um diese These zu überprüfen wären jedoch weitere Versuche notwendig.

Vergleicht man nun das Ausmaß der Aktivitätssteigerung der bulbektomierten Tiere mit dem der scheinoperierten Tiere, dann fällt auf, dass die Aktivitätssteigerung bei den scheinoperierten Tieren bei zwei der drei getesteten Adenosinrezeptor-Antagonisten stärker ausgeprägt war als bei den bulbektomierten Tieren. Bei der elbion Substanz A war das Ausmaß der Aktivitätssteigerung vergleichbar. Es entsteht daher der Eindruck, dass relativ zu den scheinoperierten Tieren die Aktivitätssteigerung bei den bulbektomierten Tieren geringer ausgeprägt war. Betrachtet man nun die beiden möglichen gegenläufigen Effekte, d.h. die Aktivitätssteigerung als unspezifische Wirkung der Adenosinrezeptor-Antagonisten und eine Aktivitätssenkung als erwarteter antidepressiver Effekt in diesem Modell, dann könnte man nach Abzug der unspezifischen Aktivitätssteigerung mindestens für die KW-6002 und Theophyllin eine relative Aktivitätssenkung bei den bulbektomierten Tieren als Hinweis für eine antidepressive Wirkung sehen. Diese Interpretation ist jedoch kritisch zu bewerten. Denn eine relative Aktivitätssteigerung muss immer auch die Grundaktivität berücksichtigen. So kann bei den von vornherein hyperaktiven bulbektomierten Tieren unter Substanzeinfluss die Aktivität aufgrund der hohen Grundaktivität nicht so stark ansteigen wie bei den weniger aktiven scheinoperierten Tieren. Es ist daher festzustellen, dass für die geprüften Adenosinrezeptorliganden keine als antidepressiv zu bewertende Wirkung aus den Versuchen zur Aktivität abzuleiten war.

Es ist nun zu prüfen, ob diese fehlende antidepressive Wirkung der Adenosinrezeptor-Antagonisten auf die Art der Versuchsdurchführung zurückzuführen ist. So wurden in zwei der drei Hauptversuchsgruppen die Tiere einer zweiten Behandlungsperiode ausgesetzt. Die Adenosinrezeptor-Antagonisten als auch die Referenzsubstanzen wurden in beiden Behandlungsperioden eingesetzt (siehe auch Behandlungsschema, Tab. 12). Der Hauptunterschied zwischen dem 1. und 2. Re-Test bestand in der Aversivität des *Open Fields*. So wurde der Boden des *Open Fields* im 2. Re-Test

zusätzlich zu den Wänden ebenfalls mit Alufolie ausgekleidet. Dies sollte zu einer weiteren Steigerung der Aversivität führen und damit mögliche Habituationseffekte der Tiere reduzieren. Die Substanzen zeigten jedoch weder beim 1. Re-Test (elbion Substanz A, Theophyllin) noch beim 2. Re-Test (KW-6002) eine antidepressive Wirkung in Form einer Reduktion der Hyperaktivität der bulbektomierten Tiere. Eine fehlende antidepressive Wirkung der Adenosinrezeptor-Antagonisten in diesem Modell war demnach unabhängig von der Reihenfolge der Testung der Substanzen. Der 2. Re-Test, der unter Einfluss von KW-6002 stattfand, führte jedoch als einziger der Re-Tests unter Einfluss von Adenosin- A_{2A} Rezeptor-Antagonisten zu einer signifikanten Steigerung der lokomotorischen Aktivität sowohl bei den bulbektomierten als auch den scheinoperierten Tieren. Diese stärkere Auslenkung der beiden Operationsgruppen könnte durch die im 2. Re-Test zusätzlich erhöhte Aversivität des *Open Fields* bedingt worden sein. Offensichtlich steigert, wie oben erwähnt, eine hohe Aversivität die Sensibilität für aktivitätssteigernde Substanzen. Dies trifft auf jeden Fall für die von uns untersuchten Adenosinrezeptor-Antagonisten zu.

Um zu überprüfen, ob der Endpunkt lokomotorische Aktivität im *Open Field* unsensitiv gegenüber einer möglichen antidepressiven Wirkung der Adenosin- A_{2A} Rezeptor-Antagonisten war, wurde in einer der drei Hauptversuchsgruppen zusätzlich der Lernversuch *Two Compartment Passive Avoidance Test* durchgeführt. Die Motilitätssteigerung sollte hier einen anderen Einfluss auf den Endpunkt Lernen ausüben als in den zuvor durchgeführten Untersuchungen der lokomotorischen Aktivität im *Open Field*. Der Lerntest wurde zum einen in der Etablierungsphase in der dritten Etablierungsgruppe bei operierten, unbehandelten Tieren und zum anderen in der zweiten Hauptversuchsgruppe unter Einfluss von KW-6002 durchgeführt, um eine antidepressive Wirkung in diesem Modell zu untersuchen. Ein Lerneffekt äußert sich bei den Tieren in diesem Modell darin, dass sie nach negativer Konditionierung in der hellen und damit aversiven Kammer verbleiben, anstatt die von ihnen natürlicherweise bevorzugte dunkle Kammer zu betreten. Wie von VAN RIEZEN und LEONARD (1990) und KELLY et al. (1997) beschrieben, wiesen die bulbektomierten Tiere in unseren Versuchen im Vergleich zu den scheinoperierten Tieren ein deutliches verändertes Verhalten auf und betraten die dunkle Kammer am zweiten Tag mit einer deutlich geringeren Latenzzeit (siehe Abb. 10). Eine geringe Latenzzeit am zweiten Versuchstag wird mit einem reduzierten Lernvermögen der Tiere korreliert. Bekannte antidepressiv wirksame Substanzen wie die TCA Imipramin und Amitriptylin beheben in diesem Modell das Lerndefizit bulbektomierter Tiere (KELLY et al. 1997). Daher ist ein derartiger Effekt auch für neuartige Antidepressiva, wie sie etwa die Adenosinrezeptor-Antagonisten darstellen könnten, zu erwarten. In der Etablierungsphase konnte mit

Hilfe dieses Modells deutlich gezeigt werden, dass das Lernverhalten bulbektomierter Tiere gestört ist (siehe Abb. 10). Der Einfluss von Referenzsubstanzen wurde in unseren Untersuchungen nicht geprüft, jedoch zeigen KELLY et al. (1997) und VAN RIEZEN et al. (1990) eine eindeutige Wirkung von Imipramin und Amitriptylin in diesem Test. Die KW-6002 hatte hingegen wie bereits zuvor bei der Bewertung der lokomotorischen Aktivität im *Open Field* auch in diesem Modell keine als antidepressive zu wertende Wirkung. So führte die subchronische Behandlung mit KW-6002 bei den bulbektomierten Tieren nicht zu einem Anstieg der Latenzzeit am zweiten Versuchstag (siehe dazu 3.2.3.3, Abb. 29). Die mit KW-6002 behandelten bulbektomierten Tiere wiesen eine ähnlich niedrige Latenzzeit wie die vehikelbehandelten Tiere auf. Bei den scheinoperierten Tieren führte die Behandlung mit KW-6002 sogar zu einer signifikant niedrigeren Latenzzeit als die Behandlung mit Vehikel (siehe Abb. 29).

Obwohl ein anderer Endpunkt als bei der Bewertung der lokomotorischen Aktivität im *Open Field* ausgewählt worden war, zeigte die KW-6002 auch im *Passive Avoidance Test* keine antidepressive Wirkung. Es ist an dieser Stelle zu fragen, warum die KW-6002 als Vertreter der Adenosin-A_{2A} Rezeptor-Antagonisten keine Wirkung gezeigt hat und ob damit diese Substanzen, wie bereits in Bezug auf den Endpunkt lokomotorische Aktivität festgestellt, keine antidepressive Wirkung besitzen. In diesem Zusammenhang ist das Augenmerk hier wiederum auf die motilitätssteigernde Wirkung der Adenosin-A_{2A} Rezeptor-Antagonisten zu richten. Vom Grundprinzip her stellt der *Passive Avoidance Test* einen Lerntest dar, wobei der Lerneffekt mit der Latenzzeit am zweiten Versuchstag positiv korreliert wird. Dieser Parameter kann jedoch auch durch zusätzliche Faktoren wie Angst oder Veränderungen des lokomotorischen Verhaltens der Tiere beeinflusst werden. Die Hyperaktivität bulbektomierter Tiere in einer aversiven Umgebung, wie sie auch durch die helle Kammer in diesem Modell dargestellt wird, führen PRIMEAUX und HOLMES (1999) auf ein gestörtes Wahrnehmen der Umwelt durch Veränderungen im Schutzverhalten der Tiere zurück. WIERONSKA et al. (2001) zeigten darüber hinaus in ihren Untersuchungen, dass bulbektomierte Tiere ein geringeres Level an Angst aufweisen. Ein derart verändertes emotionales Verhalten der bulbektomierten Tiere könnte neben einem echten Lerndefizit die Ursache für die in unseren Untersuchungen und von VAN RIEZEN und LEONARD (1990) beschriebene geringe Latenzzeit am zweiten Versuchstag sein. Für WILLNER (1984) ist das Lerndefizit in diesem Modell lediglich Ausdruck einer gesteigerten Aktivität, die die bulbektomierten Tiere schneller aus der einen in die andere Kammer übertreten lässt. VAN RIEZEN und LEONARD (1990) hingegen sehen keine Korrelation zwischen der Hyperaktivität bulbektomierter Tiere im *Open Field* und dem Lerndefizit im *Passive Avoidance Test*. In unseren Untersuchungen war bei den

bulbektomierten Tieren neben der niedrigen Latenzzeit am zweiten Versuchstag auch die Anzahl der Übertritte zwischen den beiden Kammern deutlich erhöht. Letzteres kann als Hinweis für eine gesteigerte Motilität und / oder Desorientierung der Tiere interpretiert werden. Die gesteigerte lokomotorische Aktivität durch Veränderungen im emotionalen Verhalten der bulbektomierten Tiere könnte also ein reines Lerndefizit überlagern. Auf der anderen Seite könnte ein Lerneffekt durch eine Beeinflussung der lokomotorischen Aktivität durch motilitätssteigernde Substanzen überlagert werden. Dies könnte bei den scheinoperierten Tieren durch die Behandlung mit KW-6002 zu einer derart niedrigen Latenzzeit am 2. Versuchstag geführt haben. Inwiefern dieser Effekt Ausdruck einer Abschwächung des Lernvermögens darstellt, ist jedoch fraglich. Bisher gibt es in der Literatur keine Hinweise auf einen lernverschlechternden Effekt von Adenosinrezeptor-Antagonisten. Vielmehr geben PREDIGER et al. (2005) ausgehend von ihren Untersuchungen in verschiedenen Lernmodellen einen lernfördernden Effekt sowohl für den unselektiven Adenosinrezeptor-Antagonisten Koffein als auch für den hochselektiven Adenosin-A_{2A} Rezeptor-Antagonisten ZM 241385 an.

Zusammenfassend können wir feststellen, dass alle drei in unseren Untersuchungen eingesetzten Adenosinrezeptor-Antagonisten keinen antidepressiven Effekt im Modell der Olfaktorischen Bulbektomie hatten. Die drei Substanzen führten bei den bulbektomierten Tieren weder zu der erwarteten Aktivitätssenkung im *Open Field*, noch zu einer Aufhebung des Lerndefizits im *Passive Avoidance Task*.

Da die Adenosin-A_{2A} Rezeptor-Antagonisten mit Dopamin-D₂ Rezeptoren interagieren, können wir annehmen, dass sie einige Charakteristika der Dopamin-D₂ Rezeptor-Agonisten aufweisen. Dopamin-D₂ Rezeptoren und neuronale Dopamin-Transporter sind im Striatum depressiver Patienten erhöht (BRUNSWICK et al. 2003; LAASONEN-BALK et al. 1999; SHAH et al. 1997). Nach SHAH et al. (1997) spiegeln diese Veränderungen eine reduzierte dopaminerge Funktion wider, die durch eine reduzierte Freisetzung von Dopamin bedingt sein kann. LAASON et al. (1999) diskutieren dieses Phänomen in Zusammenhang mit der bei bestimmten Erscheinungsformen der Depression beobachteten psychomotorischen Verlangsamung. SHAH et al. (1997) machen jedoch keine Angaben darüber, ob die von ihnen beschriebene reduzierte dopaminerge Funktion bei depressiven Patienten nur bei einem bestimmten Erscheinungsbild der Depression, etwa der gehemmten Depression, vorkommt. Bei bulbektomierten Tieren ist ebenfalls eine erhöhte Dichte von Dopamin-D₂ Rezeptoren zu beobachten (HOLMES 1999). Diese Veränderung der dopaminergen Transmission macht HOLMES (1999) bspw. für das Auftreten der sog. Anhedonie bei bulbektomierten Tieren verantwortlich. Diese äußert sich in einer im Vergleich zu

scheinoperierten Tieren verringerten Aufnahme von glucosehaltigen Lösungen (KELLY et al. 1997; SLOTKIN et al. 1999). Anhedonie ist ein sehr häufig anzutreffendes Merkmal bei der melancholischen Depression (APA 1994) und stellt ein Kardinalsymptom im *Chronic Mild Stress* Modell (siehe dazu 2.4.2.2) dar. KATZ (1982) und WILLNER (1992) fassen die Anhedonie als Folge einer Störung des dopaminergen Verstärkersystems auf. Die angeführten Beobachtungen von HOLMES (1999) und SLOTKIN (1999) sprechen für eine reduzierte dopaminerge Transmission bei bulbektomierten Ratten. Dies konnten zuvor REDMOND et al. (1997) bestätigen, die erniedrigte Dopamin-Konzentrationen im frontalen Cortex bulbektomierter Ratten feststellten. Dagegen fanden MASINI et al. (2004) signifikant erhöhte Dopamin-Spiegel im Striatum bulbektomierter Ratten vor. Das hyperaktive Verhalten bulbektomierter Ratten im *Open Field* spiegelt nach MASINI et al. (2004) diesen gesteigerten Dopamin-Spiegel wider. Die Tiere zeigen mit ihrer gesteigerten lokomotorischen Aktivität in einer aversiven Umgebung keine Anzeichen einer psychomotorischen Verlangsamung, wie es bei der gehemmten Depression und reduzierter dopaminerge Funktion der Fall ist (LAASONEN-BALK et al. 1999). Vielmehr stellt dieses Modell nach LUMIA et al. (1992) und KELLY et al. (1997) die psychomotorisch agitierte Form der Depression dar. HARKIN et al. (2003) weisen der Olfaktorischen Bulbektomie als Modell der agitierten Depression in diesem Zusammenhang eine hohe *face validity* zu. Bulbektomierte Tieren zeigen sich nach LEONARD (1984) unfähig, einströmende Stimuli sensorischer Natur entsprechend zu interpretieren und sich angemessen auf Veränderungen in der Umwelt einzustellen. Patienten, die an einer agitierten Depression leiden, zeigen ebenfalls eine nicht angemessene Reaktion auf die sie umgebende Umwelt und reagieren darauf krankhaft über. Sie sind über das Maß hinaus ängstlich und oft von einer hektischen, innerlichen Unruhe getrieben.

Die antidepressive Therapie einer agitierten Depression besteht nach MÖLLER et al. (2001) aus einer Therapie mit sedierenden, antriebshemmenden TCA vom Amitriptylin-Typ. Amitriptylin konnte die Hyperaktivität der bulbektomierten Tiere in unseren Untersuchungen ebenfalls signifikant reduzieren. Allerdings geben KELLY et al. (1997) in einer Übersicht über die Wirkung psychotrop wirksamer Substanzen in der Olfaktorischen Bulbektomie für den MAO-A Hemmer Moclobemid eine Wirksamkeit in diesem Modell, d.h. eine Herabsetzung der Hyperaktivität bulbektomierter Tiere an. Moclobemid führt allerdings zu einer gesteigerten lokomotorischen Aktivität, so dass bei dieser Substanz vielleicht eine zusätzliche Komponente eine Rolle bei der antidepressiven Wirkung spielt. WILLNER (1984) dagegen weist auf die Unwirksamkeit von Tranylcypromin und weiteren Hemmern der MAO in diesem Modell der Depression hin. Vertreter dieser Substanzklasse bewirken unter anderem eine Erhöhung des Dopamin-Spiegels und werden bei der Behandlung von Depressionen mit

ausgeprägter Hemmung des motorischen Antriebs verwendet (MÖLLER 2001). Nicht indiziert sind sie hingegen bei erregten, agitierten Personen.

Wenn, wie von MASINI et al. (2004) tatsächlich eine gesteigerte dopaminerge Funktion bei bulbektomierten Tieren vorliegt, wäre eine fehlende Attenuierung der Hyperaktivität durch die in unseren Untersuchungen eingesetzten Adenosinrezeptor-Antagonisten in der Olfaktorischen Bulbektomie zu erklären. Adenosin-A_{2A} Rezeptor-Antagonisten können durch die Kolokalisation von Adenosin-A_{2A} und Dopamin-D₂ Rezeptoren im Striatum eine reduzierte dopaminerge Transmission positiv beeinflussen, da sie die Affinität der Dopamin-D₂ Rezeptoren zu Dopamin steigern können (FERRE et al. 1991b; FUXE et al. 2001). Der Einsatz derartiger Substanzen wäre demnach also bei einem vorliegenden Mangel an Dopamin, wie es z.B. beim Morbus Parkinson der Fall ist, therapeutisch sinnvoll. In diesem Zusammenhang haben Adenosin-A_{2A} Rezeptor-Antagonisten bereits in zahlreichen Tiermodellen dieser Erkrankung ihre Wirksamkeit bei motorischer Beeinträchtigung erwiesen (BIBBIANI et al. 2003; CHASE et al. 2003; HAUBER et al. 1998; HAUBER et al. 2001; JENNER 2003; KANDA et al. 1998; RICHARDSON et al. 1997; SHIOZAKI et al. 1999) und befinden sich für diese Indikation derzeit in der klinischen Entwicklung (KNUTSEN und WEISS 2001). Die Olfaktorische Bulbektomie als Modell der agitierten Depression scheint jedoch mit dem durch MASINI et al. (2004) gezeigten Anstieg der dopaminergen Transmission vermutlich nicht das passende Modell zur Detektion einer antidepressiven Wirkung der Adenosinrezeptor-Antagonisten zu sein. Diese Substanzen beeinflussen die dopaminerge Transmission und könnten bei bereits erhöhten Dopamin-Spiegeln zu einer weiteren Steigerung der lokomotorischen Aktivität führen. Eben dies war in unseren Untersuchungen der Fall. So führten alle drei Adenosinrezeptor-Antagonisten zu einer zusätzlichen Steigerung der lokomotorischen Aktivität bulbektomierter Tiere im *Open Field*, wohingegen Standardsubstanzen wie Imipramin und Amitriptylin deren Aktivität signifikant reduzieren und damit ihre antidepressive Wirksamkeit in diesem Modell demonstrieren konnten.

Dopaminerg wirksame Substanzen wie die drei in der vorliegenden Arbeit untersuchten Substanzen könnten neben einer Anti-Parkinson-Wirkung und der damit einhergehenden Beeinflussung der Motorik jedoch einen positiven Einfluss auf depressive Episoden von Parkinson-Patienten nehmen. Depressive Episoden stellen die häufigsten psychiatrischen Komplikationen bei Morbus Parkinson dar (KLEIN et al. 2004). Auffällig dabei ist nach Meinung der Autoren die breite Überlappung der Symptome beider Krankheitsbilder. Als typische Symptome der Komorbidität werden in diesem Zusammenhang Energielosigkeit, Antriebsmangel, Interesselosigkeit, A- und Hypokinese angeführt (KLEIN et al. 2004). Derartige Symptome könnten durch die in dieser Arbeit untersuchten Substanzen positiv beeinflusst werden. Untersuchungen,

um einen derartigen therapeutischen Effekt eingehender zu untersuchen, stehen noch aus.

4.2.2.3 Einfluss von Adenosinrezeptor-Antagonisten auf den Gewichtsverlauf

Die Entwicklung des Körpergewichts kann als Parameter gewertet werden, der Rückschlüsse auf das allgemeine Wohlbefinden der Tiere zulässt. Die Gewichtsentwicklung unter Einfluss der Adenosinrezeptor-Antagonisten wurde daher als Hinweis auf deren Verträglichkeit in pharmakologischen Dosierungen bei subchronischer Applikation genommen. Darüber hinaus wurde ein besonderes Augenmerk darauf gelegt, inwieweit ein möglicher Effekt auf die Gewichtsentwicklung mit der Subtypselektivität der eingesetzten Adenosinrezeptor-Antagonisten zu korrelieren ist. So beschrieben z.B. LANOUE und MARTIN (1994) eine Beteiligung des Adenosin-A₁ Rezeptors an genetisch bedingtem Übergewicht. Eine hohe Anzahl dieses Rezeptorsubtyps findet sich neben dem Gehirn auch in Adipozyten (siehe Tab. 1). Adenosin und Adenosin-A₁ Rezeptor-Agonisten inhibieren über die Aktivierung des Adenosin-A₁ Rezeptors die Lipolyse in weißem und braunem Fettgewebe (LANOUE und MARTIN 1994). Die Zucker fa/fa Ratte und die ob/ob Maus, zwei genetische Modelle für Übergewicht, weisen eine abnorm gesteigerte Funktion dieses Rezeptorsubtyps auf. Auch bei Menschen mit extremem Übergewicht konnte eine erhöhte Aktivität des Adenosin-A₁ Rezeptors beobachtet werden, so dass die Möglichkeit besteht, dass eine übermäßige Aktivität des Adenosin-A₁ Rezeptors an der Entstehung von Übergewicht beteiligt ist (LANOUE und MARTIN 1994).

Bei der Gewichtsentwicklung der Tiere während der Behandlungsperiode wurde das relative Körpergewicht [%] bezogen auf das jeweilige Ausgangsgewicht [g] zu Behandlungsbeginn (= 100 %) ausgewertet.

Vor der Operation unterschied sich das mittlere absolute Körpergewicht der zu operierenden Tiere nicht signifikant voneinander. Die Bulbektomie führte allerdings zu einem unterschiedlichen Ausgangsgewicht der beiden Operationsgruppen vor Behandlungsbeginn, so dass zum einen das relative Körpergewicht ausgewertet wurde und die die beiden Operationsgruppen getrennt voneinander betrachtet wurden (siehe Tabelle 11). So lag das durchschnittliche Körpergewicht [g] der bulbektomierten Ratten in unseren Untersuchungen zu Beginn der Behandlungsperiode (= 4 Wochen post operationem) mit bis zu 26 g deutlich und signifikant unter dem Ausgangsgewicht der scheinoperierten Tiere (siehe Tab. 14). SLOTKIN et al. (1999) sprechen in diesem Zusammenhang von einem *lesioning effect*, der sich bedingt durch den im Vergleich zur Scheinoperation schwerwiegenderen chirurgischen Eingriff und die mit der Bulbektomie verbundenen weitreichenden und langanhaltenden Veränderungen

neurochemischer, neuroendokriner und neuroimmuner Parameter (LEONARD und TUIE 1981) in Form einer geringeren Körpergewichtszunahme der bulbektomierten Tiere post operationem darstellt.

Die Behandlung mit Theophyllin (30 mg/kg KGW 1 x täglich) über einen Zeitraum von 15 Tagen führte allerdings weder bei den scheinoperierten noch bei den bulbektomierten Tieren zu statistisch signifikanten Unterschieden im relativen Körpergewicht (siehe Abb. 30). Bei den bulbektomierten Tieren lag das relative Körpergewicht unter dem Einfluss von Theophyllin nur geringgradig oberhalb der Vehikelgruppe, so dass eine Beeinflussung der Körpergewichtsentwicklung durch Theophyllin in der verwendeten Dosierung in unseren Untersuchungen auszuschließen ist. Auch die Behandlung der operierten Tiere mit dem moderat selektiven Adenosin-A_{2A} Rezeptor-Antagonist elbion Substanz A und dem selektiven Adenosin-A_{2A} Rezeptor-Antagonist KW-6002 führte bei den scheinoperierten und den bulbektomierten Ratten zu einer gleichmäßigen Entwicklung des Körpergewichtes.

Ausgehend von der Gewichtsentwicklung kann eine gute Verträglichkeit der drei in unseren Untersuchungen verwendeten Adenosinrezeptor-Antagonisten in den verwendeten Dosierungen postuliert werden.

4.3 Schlussbetrachtungen

Die vorliegenden Ergebnisse demonstrieren eine gute Anti-Parkinson-Wirkung der eingesetzten Adenosinrezeptor-Antagonisten in dem ausgewählten Tiermodell. Der Grad der Subtypselektivität scheint dabei keinen herausragenden Einfluss auf die antikataleptische Wirkung in der Haloperidol-induzierten Katalepsie bei der Maus und Ratte zu haben. Die Wirksamkeit dieser Substanzklasse zur Parkinson-Therapie spiegelt sich auch in der weit fortgeschrittenen klinischen Entwicklung der KW-6002 wider. Neben der Indikation Morbus Parkinson wird jedoch auch ein möglicher Einsatz dieser Substanzklasse in der Pharmakotherapie der Depression diskutiert. Positive Ergebnisse im *Forced Swim Test*, die EL YACOUBI et al. (2001a; 2003) in ihren Untersuchungen und wir in den im Rahmen dieser Arbeit durchgeführten Schwimmversuche beobachten konnten, erhärten diese Hypothese. Die Substanzen blockieren den Adenosin-A_{2A} Rezeptor und führen aufgrund der im Striatum vorzufindenden funktionell inversen Kopplung von Adenosin-A_{2A} und Dopamin-D₂ Rezeptoren zu einer zu einer gesteigerten lokomotorischen Aktivität. Dies erschwert die Bewertung der Resultate des Schwimmtests, da der evaluierte Parameter Immobilität auch auf Veränderungen der lokomotorischen Aktivität der Tiere anspricht. Aktivitätssteigernde Substanzen können demnach in diesem Modell falsch positive Resultate produzieren. Um einen potenziellen antidepressiven Effekt eingehender zu

untersuchen, wurden die Substanzen in einem weiteren, speziell dafür etablierten Depressionsmodell, der Olfaktorischen Bulbektomie, untersucht. In diesem Modell erwiesen sich die Substanzen im Gegensatz zum *Forced Swim Test* als nicht-antidepressiv wirksam. Anders als die eingesetzten Standard-Substanzen, die die durch die Entfernung der Bulbi olfactorii induzierte Hyperaktivität im *Open Field* signifikant senken konnten, führten die Adenosinrezeptor-Antagonisten entweder zu keiner signifikanten Änderung der lokomotorischen Aktivität im Vergleich zu den Vehikel-behandelten Tieren oder zu einem signifikanten Anstieg der lokomotorischen Aktivität. Fraglich bleibt jedoch, ob die Olfaktorische Bulbektomie als Depressionsmodell zur Detektion der möglichen antidepressiven Eigenschaft von Adenosin-A_{2A} Rezeptor-Antagonisten geeignet ist, da die Olfaktorische Bulbektomie eher Aspekte des klinischen Bildes der psychomotorisch agitierten Depression darstellt (LUMIA et al. 1992, WILLNER 1984). Bei dieser Form der Depression werden Antidepressiva mit psychomotorisch sedierenden Effekten wie Amitriptylin therapeutisch erfolgreich eingesetzt (MÖLLER et al. 2001). Dagegen stellen die mit der Parkinsonschen Erkrankung assoziierten Depressionen eher die gehemmten Form der Depression dar (MC DONALD et al. 2003). Diese Depressionsform geht mit einem reduzierten Antrieb einher. Hier werden vermehrt Substanzen wie Nortriptylin oder Moclobemid eingesetzt, die diese Antriebslosigkeit senken. Adenosin-A_{2A} Rezeptor-Antagonisten könnten durch ihren Einfluss auf die dopaminerge Transmission und der damit einhergehenden stimulierenden und antriebssteigernden Wirkung (CORREA et al. 2004; EL YACOUBI et al. 2000b; EL YACOUBI et al. 2000a; HAUBER und MUNKLE 1997) bei dieser Erscheinungsformen der Depression einsetzbar sein. Werden Substanzen wie die KW-6002 in der nächsten Zeit als Medikament zur Therapie des Morbus Parkinson zugelassen, könnte in diesem Zusammenhang ebenfalls ein positiver Effekt auf eine eventuell gleichzeitig vorliegende Depression erwartet werden.