

4 Diskussion

Zellen besitzen ein ausgefeiltes System von Proteinen und Botenstoffen, um auf Signale von außen reagieren zu können. Dabei müssen mittels verschiedener Signalkaskaden Informationen externer Stimuli von der Außenseite der Zellen ins Innere gelangen, um dort entsprechende Reaktionen auslösen zu können. Diese Mechanismen werden als Signaltransduktion bezeichnet. Sie ermöglichen es der Zelle, sich an die aktuellen Bedingungen anzupassen. Ein zentraler Bestandteil von Signalkaskaden, die durch Neurotransmitter aktiviert werden, sind die sekundären Botenstoffe. Neben cAMP ist insbesondere das Calciumion von großer Bedeutung. Nach seiner Freisetzung greift es an calciumbindenden Proteinen an und bewirkt so distinkte biologische Zellantworten, wie zum Beispiel besonders langanhaltende postsynaptische Veränderungen der synaptischen Transmission, was als eine molekulare Grundlage für Lern- und Gedächtnisfunktionen angesehen wird (Svoboda und Mainen 1999).

Eine interessante Untergruppe dieser calciumbindenden Proteine ist die Familie der NCS-Proteine. Für sie konnte eine Beteiligung an einer Reihe wichtiger neuronaler Prozesse wie der synaptischen Transmission, der Modulation von Ionenkanälen und membranassoziierten Enzymen und der Regulation von Genexpression nachgewiesen werden. Neben ihren physiologischen Funktionen scheinen diese Proteine aber auch Anteil an der Pathophysiologie des Morbus Alzheimer, der Schizophrenien und anderer ZNS-Erkrankungen zu haben (Braunewell 2005).

Bei den Schizophrenien können während der Entwicklung pathologische Veränderungen in verschiedenen Neurotransmittersystemen auftreten. In Verbindung mit anderen Störungen, beispielsweise einem Mangel an neurotrophen Faktoren („BDNF“, brain-derived neurotrophic factor) (Weickert et al. 2003), führen diese im weiteren Verlauf zu Störungen der neuronalen Vernetzung und sichtbarer und nicht sichtbarer Neurodegeneration (Weickert und Weinberger 1998; Benes 1999).

Im Vordergrund steht seit langer Zeit eine gestörte dopaminerge Transmission, die zu einer reduzierten Aktivität im präfrontalen Kortex führt und für viele der hemmenden Defizite von Schizophreniekranken verantwortlich gemacht wird (Laruelle et al. 1996; Egan und Weinberger 1997; Bergson et al. 2003).

Daneben erbringen neuropathologische Studien zunehmend Hinweise dafür, dass Dysfunktionen der glutamatergen, GABAergen und cholinergen Neurotransmission ebenfalls an der Pathophysiologie der Schizophrenien beteiligt sein könnten. Interessanterweise konzentrieren sich diese Studien meist auf den präfrontalen Kortex als das das Verhalten steuernde

Integrationsgebiet für sensorische, motorische und emotionale Impulse (Akbarian et al. 1995; Volk et al. 2000) und den Hippokampus als zentrale Struktur für Lern- und Gedächtnisfähigkeiten (Todtenkopf und Benes 1998; Mizukami et al. 2000). Aber auch im Cerebellum konnte bereits ein Verlust GABAerger Interneurone nachgewiesen werden (Fatemi et al. 2005). Da beispielsweise im anterioren Thalamus, einem Integrationsgebiet, das die Weiterleitung sensorischer Afferenzen an die Großhirnrinde steuert, bisher keine Störungen der GABAergen Interneurone gefunden wurden, ist durchaus von einem spezifischen Effekt auszugehen (Dixon und Harper 2004). Die grundlegenden Aspekte sind in einer Hypothese über die glutamaterge Unterfunktion zusammengefasst (Olney und Farber 1995; Olney et al. 1999).

4.1 Glutamaterge Unterfunktion bei schizophrenieformen Defiziten

Die Hypothese von einer glutamatergen Unterfunktion bei den Schizophrenien postuliert eine gestörte glutamaterge Neurotransmission, worauf man anfangs vor allem durch Erfahrungen mit NMDA-Rezeptorantagonisten, wie PCP, MK-801 und Ketamin, die beim Menschen akute Psychosen auslösen können, aufmerksam wurde. In Gehirnen von Schizophreniekranken konnten verminderte Mengen von Glutamat und assoziierten Neurotransmissionsmarkern detektiert werden (Eastwood und Harrison 2005). Außerdem bietet die Applikation von NMDA-Rezeptorantagonisten gegenwärtig ein sehr gutes Tiermodell zur Erforschung schizophrenieformer Erkrankungen (Olney und Farber 1995). So zeigten Ratten, denen MK-801 appliziert wurde, einerseits eine erhöhte motorische Aktivität und andererseits soziale Rückzugstendenzen (Rung et al. 2005). Ein anderes Modell, das ebenfalls eine gestörte NMDA-Rezeptor-vermittelte Neurotransmission verursacht, zeigt ähnliche Ergebnisse. Bei Mäusen mit einer reduzierten NMDA-Rezeptor-Expression wurden Verhaltensweisen, die Schlüsselaspekte der Schizophrenien simulieren, beobachtet (Mohn et al. 1999).

Dabei wird davon ausgegangen, dass ein primär hypoaktives Glutamatsystem zu einer sekundär erhöhten Glutamatfreisetzung in bestimmten nachgeschalteten Hirnregionen wie dem Hippokampus führt. Diese Beobachtung wird mit einer verminderten Aktivität NMDA-Rezeptor-besetzter GABAerger Interneurone erklärt (Olney und Farber 1995; Olney et al. 1999; van Elst et al. 2005). Die herabgesetzte Stimulation der NMDA-Rezeptoren der GABAergen Neurone führt zu einer Enthemmung postsynaptischer glutamaterger Neurone mit daraus folgender exzessiver Glutamatfreisetzung (Olney et al. 1991; Benes 1999; Benes und Berretta 2001; Heckers 2001).

Da Lern- und Gedächtnisfunktionen, für die der Hippokampus eine zentrale Hirnstruktur darstellt (Milner und Penfield 1955), bei Schizophrenien gestört sind und Läsionen des Hippokampus zu schizophrenieformen Negativsymptomen führen (Lipska und Weinberger 2002), könnten aus der gestörten glutamatergen Funktion Veränderungen der Zytoarchitektur und der Zellfunktionen resultieren, die dann sekundär im Rahmen einer Schizophrenie als kognitive Beeinträchtigungen symptomatisch werden (Heckers et al. 1998; Harrison und Eastwood 2001; Harrison 2004; Eastwood und Harrison 2005).

Da für VILIP-1 sowohl eine Beteiligung an Mechanismen der synaptischen Plastizität als auch ein verändertes Expressionsmuster bei Schizophrenien im Hippokampus gefunden wurde, ist die weitere Aufklärung einer möglichen Bedeutung dieses NCS-Proteins für die Pathophysiologie der Schizophrenien von großem Interesse.

4.2 Exzessive Stimulation der Glutamatrezeptoren bei den Schizophrenien

In dieser Arbeit wurde an hippokampalen Zellkulturen experimentell untersucht, ob die Hypothese von der glutamatergen Unterfunktion an den beobachteten Expressionsänderungen von VILIP-1 bei Schizophrenien beteiligt sein könnte.

Es ist bekannt, dass der Agonist metabotroper Glutamatrezeptoren der Gruppe I DHPG eine Erhöhung der VILIP-1-Expression in hippokampalen Neuronenkulturen bewirkt (Braunewell et al. 2003). Deshalb wurde gefragt, ob eine erhöhte Glutamatkonzentration, wie sie im Hippokampus aus der glutamatergen Unterfunktion kortikaler Projektionsneurone resultiert, die VILIP-1-Expression verändert. Dazu wurden die hippokampalen Zellkulturen mit Glutamat stimuliert und der Effekt auf die VILIP-1-Expression ausgewertet.

Durch Western-Blot-Analysen konnte bereits acht Stunden nach Applikation von 100 μ M Glutamat eine Abnahme der Proteinexpression sowohl von VILIP-1 als auch von Tubulin beobachtet werden. Dieses Ergebnis war überraschend, da eher eine Expressionserhöhung wie unter DHPG-Applikation erwartet wurde. Da Tubulin wie in vorangegangenen Experimenten als nicht reguliertes Kontrollprotein eingesetzt wurde, war eine Störung der zytoskelettalen Integrität wahrscheinlich.

Es ist bekannt, dass Glutamat durch eine Störung der Calciumhomöostase zu Zelltoxizität führen kann (Frandsen et al. 1989). Über eine wirksame und dabei nicht toxische Glutamatkonzentration gibt es in der Literatur allerdings unterschiedliche Angaben. So wurden 100 μ M teilweise als subtoxisch (Mattson et al. 1988) und teilweise als toxisch (Dargusch et al. 2001) beschrieben. Da es sich in den Versuchen nur um kurze 10-minütige Stimulationen mit 8-

stündigen Verlaufsbeobachtungen handeln sollte und dabei eindeutige regulatorische Effekte hervorgerufen werden sollten, wurde die hohe Dosis von 100µM gewählt. Dennoch wurde eine Abnahme der VILIP-1-Expression nachgewiesen, so dass bei dieser Konzentration eine Zelldegeneration im Vordergrund zu stehen schien.

Die Vermutung eines zelltoxischen Effekts musste daher mit einer zweiten Methode überprüft werden. Mittels immunzytochemischer Färbungen gelang es, degenerierte Zellen, eine gestörte Struktur des Zellrasens und eine Reduktion der Gesamtzellzahl eindeutig nachzuweisen. Daher muss von einer Glutamat-induzierten Exzitotoxizität ausgegangen werden. Eine Fehlinterpretation der reduzierten Zellzahl als Verminderung der VILIP-1-Reaktivität konnte lichtmikroskopisch ausgeschlossen werden.

Während die alleinige Applikation von 100 µM Glutamat für die Untersuchung der VILIP-1-Regulation ungeeignet war, konnte jedoch ein anderer sehr interessanter Aspekt einer pathologischen Stimulation herausgearbeitet werden.

4.2.1 Interneurone sind vulnerabler – Enthemmung exzitatorischer Schaltkreise

Durch den Einsatz des immunzytochemischen Markers für Interneurone GAD-65 war es möglich, für die hippocampale Zellkultur eine zelltypspezifische Widerstandsfähigkeit der Hauptneurone und der Interneurone gegenüber einer exzitotoxischen Glutamatstimulation nachzuweisen. Die im Vergleich zu den übrigen hippocampalen Neuronen erhöhte Vulnerabilität der Interneurone könnte auch unter pathophysiologischen Bedingungen *in vivo* zu einem zelltypspezifischen Untergang von Interneuronen und damit zu einer Störung der Netzwerkstruktur führen. So wäre denkbar, dass ein selektiver Verlust von Interneuronen die Enthemmung und damit die sekundäre exzessive Glutamatfreisetzung im Hippokampus verstärken könnte. Die Folge wäre ein enthemmter sich selbst verstärkender Prozess („Teufelskreis“).

In *post mortem* Studien konnte in Gehirnen Schizophreniekranker verglichen mit gesunden Individuen tatsächlich eine 14%ige Verringerung der Dichte von GAD-65-positiven Interneuronen gefunden werden. Bei Patienten mit bipolaren Störungen lag diese Reduktion sogar bei 45% (Heckers et al. 2002), so dass mit großer Sicherheit eine Enthemmung der exzitatorischen Schaltkreise angenommen werden kann. Der trisynaptische Schaltkreis der Hippokampusformation wäre von der reduzierten Inhibition in seiner Funktion massiv gestört.

Bereits an anderer Stelle konnte gezeigt werden, dass eine Stimulation der Kainatrezeptoren im Hippokampus zu einer Entwicklungsstörung der Interneurone führt (Dong et al. 2003). Der

exzitotoxische Effekt könnte somit neben dem NMDA-Rezeptor auch über andere Glutamatrezeptoren wie den Kainatrezeptor vermittelt sein. Ein zelltypspezifisches Rezeptormuster, das zu einer zelltypspezifischen Vulnerabilität führt, wäre denkbar. Dazu passend sind Experimente, die gezeigt haben, dass eine exzitotoxische glutamaterge Stimulation neben der akuten Toxizität eine verzögerte Neurodegeneration bewirkt, deren funktionellen Auswirkungen sich als Entwicklungsstörungen darstellen würden (Humphrey et al. 2002).

Leider ist bisher nicht bekannt, welche Glutamatkonzentrationen *in vivo* im Hippokampus Schizophreniekranker tatsächlich bestehen. In Anbetracht der beobachteten neurodegenerativen Wirkung wurde hier angenommen, dass 100 μ M Glutamat pathologische Spiegel simulieren.

Insgesamt hat zwar ein Untergang von Zellen in der Pathophysiologie der Schizophrenien bei weitem nicht den Stellenwert wie beispielsweise beim Morbus Alzheimer, dennoch könnte die Apoptose einen Teilaspekt darstellen (Glantz et al. 2005; Jarskog et al. 2005).

4.2.2 Mögliche Bedeutung neuroprotektiver Mechanismen

Interessanterweise konnte, wenn auch nicht signifikant, ein teilweise protektiver Effekt des mGluR5-Antagonisten MPEP nachvollzogen werden, der bereits in der Literatur beschrieben und als Antagonismus am NMDA-Rezeptor (O'Leary et al. 2000; Movsesyan et al. 2001) bzw. als regulatorischer mGluR5-vermittelter Effekt diskutiert wurde (Bruno et al. 2000; Blaabjerg et al. 2001; Yeh und Wang 2005). Eine tierexperimentelle Studie konnte zeigen, dass nach einer vorübergehenden globalen Ischämie die Expression des mGluR5 reduziert war, was wiederum die NMDA-Rezeptor-vermittelte Exzitotoxizität hemmte und so das Überleben von Pyramidenzellen ermöglichte (Yeh und Wang 2005). Damit könnten auch einige metabotrope Glutamatrezeptoren mit ein Grund für die in dieser Arbeit gefundene variierende Vulnerabilität der Interneurone bzw. Hauptneurone darstellen. Zwar exprimieren sowohl Haupt- als auch Interneurone mGluR5, dennoch wäre auch hier ein Modell mit variierenden Rezeptormustern anwendbar. Allerdings ist unklar, warum eine erhöhte Glutamatfreisetzung nicht auch mGluR5 vermehrt stimulieren und damit die NMDA-Rezeptor-vermittelte Exzitotoxizität verstärken sollte. Interessanterweise zeigt eine andere Studie, dass beim β -amyloid-induzierten Zelltod nicht eine Antagonisierung sondern eine Aktivierung des mGluR5 neuroprotektiv wirkt (Movsesyan et al. 2004). Jüngst wurde tierexperimentell zwar ein neuroprotektiver Effekt von mGluR5-Antagonisten nachvollzogen, ein direkter Zusammenhang mit dem mGluR5 oder NMDA-Rezeptor jedoch verneint (Lea et al. 2005). Es bleibt also unklar, ob der mGluR5 einen möglichen therapeutischen Ansatz für die Behandlung degenerativer Störungen darstellt

(Homayoun et al. 2004). Beim Morbus Alzheimer werden sowohl die mGluRs der Gruppe I als auch der NMDA-Rezeptor als mögliche Ansatzpunkte für eine neuroprotektive Therapie diskutiert (Hynd et al. 2004; Tsai et al. 2005). Bei Schlaganfallpatienten wurden bisher allerdings eher unbefriedigende Erfahrungen gesammelt. Da die Rezeptoren vor allem physiologische Funktionen besitzen, die unter einer Therapie erhalten bleiben sollten, blieben bisherige Versuche, eine Neurodegeneration *in vivo* mit Rezeptorantagonisten gezielt zu unterbinden, weitestgehend erfolglos (Hoyte et al. 2004).

Darüber hinaus kann auch ein neuroprotektiver Effekt von VILIP-1 diskutiert werden. VILIP-1 scheint insbesondere in Neuronen exprimiert zu sein, die besonders resistent gegenüber zelltoxischen Einflüssen sind. So konnte beobachtet werden, dass in Gehirnen Schizophreniekranker während der Entwicklung Zelltod nur in Parvalbumin-haltigen Neuronen auftritt und nicht in stark VILIP-1 exprimierenden Interneuronen. Dazu passend werden VILIP-1 und mGluR1 α im Hippokampus vor allem in Interneuronen exprimiert, die insbesondere Somatostatin- und Calretinin-haltig sind und im Stratum oriens und im Alveus liegen, beides Regionen, die gegenüber einer globalen Ischämie eine größere Resistenz zeigen (Pellegrini-Giampietro 2003; Ferraguti et al. 2004). Außerdem konnte gezeigt werden, dass eine NMDA-Rezeptor-vermittelte Neurodegeneration in hippocampalen Zellen durch die Aktivierung des mGluR1 mit DHPG reduziert werden kann. Auch wenn unter den mittels Gene-Array-Analysen identifizierten regulierten Genen VILIP-1 bisher nicht gefunden wurde, so ist doch eine mGluR1-vermittelte Expressionserhöhung mit neuroprotektiver Wirkung denkbar (Blaabjerg et al. 2003). An anderer Stelle wird in Zelllinien für VILIP-1 jedoch ein die calcium-vermittelte Neurotoxizität verstärkender Effekt nachgewiesen und als möglichen Pathomechanismus für die Neurodegeneration beim Morbus Alzheimer diskutiert (Schnurra et al. 2001).

Die mögliche neuroprotektive Wirkung von VILIP-1 wurde in dieser Arbeit nicht weiter erforscht, da die Expressionserhöhung auch nach Unterdrückung der NMDA-Rezeptor-vermittelten Zelltoxizität erhalten blieb. Um zu unterscheiden, ob es sich um eine rein zufällige Korrelation von Exzitotoxizitätsresistenz und VILIP-1-Expressionserhöhung oder um einen zusammenhängenden Mechanismus handelt, könnte in weiterführenden Experimenten beispielsweise der Anteil VILIP-1-positiver Interneurone nach Behandlung mit Glutamat und 4CPG ausgewertet werden. Sollte eine VILIP-1-Expression einen neuroprotektiven Effekt haben, müsste nach exzitotoxischer Glutamatstimulation ein erhöhter Anteil VILIP-1-positiver Interneurone nachweisbar sein. Eine mGluR-vermittelte Expressionserhöhung von VILIP-1 wäre durch die gleichzeitige Gabe von 4CPG unterbunden.

Im Weiteren wurde statt dessen der regulatorische Effekt verfolgt. Dennoch kann es sich um zwei parallele Mechanismen handeln, die unter verschiedenen Umständen im Vordergrund stehen.

4.3 Die VILIP-1-Regulation in hippocampalen Interneuronen

Bei den Neuronen der Hippokampusformation können Hauptneurone und Interneurone unterschieden werden. Diese wiederum unterteilen sich in vielfältige Subpopulationen mit spezifischen Lokalisationen, Funktionen und neurochemischen Eigenschaften. Da mit Hilfe spezifischer Antikörper Veränderungen der Subpopulationen auf sehr elegante Art untersucht werden können, gilt ihnen eine besondere Aufmerksamkeit. Dieses Vorgehen konnte für den Nachweis der zelltypspezifischen Vulnerabilität bereits genutzt werden und sollte nun auch auf die Untersuchung der Proteinexpression angewendet werden, da eine verlässliche Aussage mittels Western-Blot-Analyse nicht getroffen werden konnte.

Vorangegangene Studien konnten zeigen, dass es während der Entwicklung einer Schizophrenie zu einem Verlust Parvalbumin-positiver Interneurone im präfrontalen Kortex und im Hippokampus kommt (Beasley und Reynolds 1997; Zhang und Reynolds 2002). Weitere Studien fanden bei Schizophreniekranken auch einen selektiven Verlust Calbindin exprimierender Neurone im präfrontalen Kortex und im Planum temporale, dem im Temporallappen liegenden Sprachzentrum des Menschen (Chance et al. 2005). Eine Studie konnte diese Ergebnisse allerdings nicht nachvollziehen und stellt sie in Frage (Tooney und Chahl 2004). Da Calretinin in diesen Studien keine Expressionsänderungen zeigte und die Veränderungen nur in bestimmten Zellschichten nachweisbar waren, liegt die Vermutung nahe, dass es sich um selektive Störungen bestimmter Subpopulationen von Interneuronen handelt (Beasley et al. 2002; Reynolds et al. 2004). Deren genaue Bedeutung ist zwar noch nicht bekannt, jedoch lässt sich ein Einfluss auf die neuronale Verschaltung und damit auf die hippocampalen Funktionen vermuten. Ähnliches könnte für die beobachteten Veränderungen der VILIP-1-Expression in hippocampalen Interneuronen bei Schizophreniekranken und im Ketamin-Tiermodell gelten (Bernstein et al. 2002; Bernstein et al. 2003).

Immunzytochemische Doppelfärbungen mit GAD-65 und VILIP-1 ermöglichten es, den Effekt einer exzessiven Glutamatstimulation auf die VILIP-1-Expression in hippocampalen Interneuronen *in vitro* zu untersuchen. GAD-65 färbt im Hippokampus von Ratten bis zu 89% aller Interneurone (Sheikh et al. 1999), während bis zu 90% aller Neurone im Hippokampus VILIP-1-positiv sind (Spilker et al. 2002).

Neben der oben diskutierten Zytotoxizität konnte tatsächlich ein expressionssteigernder Effekt des Glutamats auf die VILIP-1-Expression in hippocampalen Interneuronen nachgewiesen werden. Dieses Ergebnis wurde in mehreren Experimenten mit Antagonisten und Agonisten von ionotropen und metabotropen Glutamatrezeptoren spezifiziert. Die selektive Aktivierung durch den Agonisten DHPG führte, wie schon bei der Applikation von Glutamat, in diesem Fall jedoch ohne eine zelltoxische Beeinträchtigung, zu einer Erhöhung der Zahl VILIP-1-positiver Interneurone, ein Effekt, der durch die Applikation des mGluR1- und mGluR5-Antagonisten 4CPG, aber nicht durch den selektiven mGluR5-Antagonisten MPEP unterbunden werden konnte. Die Selektivität des Antagonisten 4CPG für die einzelnen Rezeptoren ist konzentrationsabhängig. In einer Konzentration von 50 μM eingesetzt, greift 4CPG bevorzugt am mGluR1 α an, da die IC_{50} für mGluR1 α zwischen 40-72 μM liegt, während mGluR5 besonders in Konzentrationsbereichen von 150-156 μM antagonisiert wird (Kingston et al. 1995). Das bedeutet, dass unter den hier angewendeten Konzentrationen der 4CPG-Effekt vor allem auf eine Blockade des mGluR1 zurückzuführen wäre. Da nur mGluR1 β , nicht jedoch mGluR1 α , in hippocampalen Pyramidenzellen identifiziert werden konnte (Lujan et al. 1997; Shigemoto et al. 1997; Ferraguti et al. 1998) und mGluR1 α hingegen im Hippokampus nur in Interneuronen exprimiert ist (Pellegrini-Giampietro 2003; Ferraguti et al. 2004), weisen diese Ergebnisse auf mGluR1 α als involvierten Rezeptor hin, was durch die Applikation des mGluR1-spezifischen Antagonisten CPCCOEt bestätigt werden konnte.

Damit konnten Experimente, welche nach Aktivierung von mGluRs der Gruppe I eine Steigerung der VILIP-1-Expression zeigten, spezifiziert werden (Brackmann et al. 2004). Dabei muss berücksichtigt werden, dass die Ergebnisse dieser Arbeit nur bedingt mit der Expressionserhöhung in der gesamten hippocampalen Zellkultur vergleichbar sind, da es sich in dem einen Fall um eine Bestimmung der Zellzahl und in dem anderen Fall um eine Bestimmung der Proteinmenge handelt. Ob also die erhöhte Proteinmenge allein auf die Änderungen bei den Interneuronen zurückzuführen ist, bleibt unklar.

Unabhängig davon bedeutet dies, dass die Aktivierung von mGluRs durch Glutamat an der im Tiermodell und in Gehirnen Schizophreniekranker beobachteten erhöhten VILIP-1-Expression in hippocampalen Interneuronen beteiligt sein könnte. Dies scheint insbesondere für mGluR1 α zuzutreffen, der mit VILIP-1 im Hippokampus *in vivo* vor allem in Interneuronen des Stratum oriens der CA1-Region und im Gyrus dentatus koexprimiert ist.

Bemerkenswerterweise konnte für mGluR1 α erst kürzlich eine spezifisch erhöhte Expression im präfrontalen Kortex und im Striatum bei Schizophrenien gezeigt werden (Gupta et al. 2005).

Dies bekräftigt die Vermutung einer zentralen Rolle der mGluRs in der Pathophysiologie der Schizophrenien.

Da bereits am Beispiel von Parvalbumin und Calretinin gezeigt werden konnte, dass bei den Schizophrenien nur bestimmte Subpopulationen von Interneuronen von Veränderungen der einzelnen calciumbindenden Proteine betroffen sind, bestand die Frage, ob für die Veränderung der VILIP-1-Expression nach Glutamatstimulation nur bestimmte Interneurone in Frage kommen oder ob es sich um einen unspezifischen Effekt handelt.

4.4 Charakterisierung der betroffenen Neurone

Die bisherigen Ergebnisse dieser Arbeit mit selektiven Agonisten und Antagonisten der mGluRs der Gruppe I und die aus der Literatur bekannten Verteilungsstudien über mGluRs weisen auf mGluR1 α als wichtigen Rezeptor für die VILIP-1-Regulation in hippokampalen Interneuronen hin.

Daher bestand zum einen die Frage, ob sich die *in vivo* beschriebene spezifische Expression von mGluR1 α in Interneuronen auch in diesem *in vitro*-System nachvollziehen lässt und zum anderen, ob es Hinweise für eine Koexpression von VILIP-1 und mGluR1 α gibt.

Die immunzytochemischen Färbungen dieser Arbeit zeigen ein nicht ganz eindeutiges Bild. Neben einer großen Zahl von mäßig immunreaktiven Somata fiel eine Subpopulation von Neuronen auf, deren Somata und Neuriten stark mGluR1 α -immunreaktiv waren. Diese stark mGluR1 α -immunreaktiven Neurone waren zu 100% GAD-65-positiv und damit Interneurone. Die schwächer mGluR1 α -positiven Neurone zeigten nur teilweise eine Koexpression mit GAD-65. Unter der Voraussetzung, dass es sich bei allen Neuronen um eine spezifische Immunreaktivität handelt, folgt daraus eine unterschiedlich starke mGluR1 α -Expression in Interneuronen des Hippokampus. Anhand des Expressionsmusters ist zu vermuten, dass es sich nicht um eine variierende Expression innerhalb einer Subpopulation von Interneuronen, sondern um verschiedene Subpopulationen mit differenzierten Expressionsmustern handelt, die zudem aus verschiedenen hippokampalen Regionen stammen können.

Die Aussagen über die schwächer mGluR1 α exprimierenden Interneurone gelten jedoch nur eingeschränkt, denn obwohl mGluR1 α als interneuronen-spezifisch beschrieben wird, scheinen auch nicht-GABAerge Neurone schwach mGluR1 α -positiv zu sein. Es ist unklar, ob es sich bei den schwach angefärbten Zellen um eine unspezifische Immunreaktivität zum Beispiel in Form von Kreuzreaktivität mit mGluR1 β oder mGluR5 handelt oder um den Nachweis von mGluR1 α

in hippocampalen Hauptneuronen. Letzteres stünde mit der bestehenden Literatur im Widerspruch.

Da unter alleiniger Anwendung des Interneuronenmarkers GAD-65 bei den Zellen mit schwacher mGluR1 α -Expression unklar blieb, um welchen Zelltyp es sich im Einzelnen handelte und ob die schwache mGluR1 α -Immunreaktivität spezifisch war, wurden diese Zellen nicht in die ausführliche Auswertung einbezogen.

Angaben über die Häufigkeit bestimmter Neuronenpopulationen in Verbindung mit den Expressionsmustern assoziierter neurochemischer Marker lassen vermuten, dass es sich nur bei den stark mGluR1 α -positiven Neuronen um eine spezifische Immunreaktivität handelt. 14% aller GABAergen Neurone sind für das Neuropeptid Somatostatin positiv (Kosaka et al. 1988). Somatostatin wiederum zeigt eine 100%ige Koexpression mit mGluR1 α (Baude et al. 1993). Daher kann man von einem Anteil mGluR1 α -positiver Interneurone an der Gesamtinterneuronenzahl in hippocampalen Zellkulturen von ca. 14% ausgehen. Diese Häufigkeit konnte in den immunzytochemischen Färbungen dieser Arbeit mit ca. 11% annähernd nachvollzogen werden. Die Anzahl der schwach mGluR1 α exprimierenden Neurone lag um ein Vielfaches höher.

Interessanterweise lag bei den stark mGluR1 α exprimierenden Zellen der Anteil VILIP-1-positiver Neurone mit ca. 20% deutlich unter dem durchschnittlichen Anteil VILIP-1 exprimierender Interneurone (51-52%). Somit konnte ein Hinweis für eine subtypenspezifische VILIP-1-Expression innerhalb der hippocampalen Interneurone gefunden werden. Diese Beobachtung macht in Verbindung mit dem bekannten differenzierten Glutamaterezeptorenexpressionsmuster auch eine subtypenspezifische VILIP-1-Regulation sehr wahrscheinlich. Die stark mGluR1 α -positiven Neurone könnten jene Neurone sein, die im Rahmen der mGluR- oder Ketamin-induzierten Erhöhung der VILIP-1-Expression eine neue Proteinexpression zeigen. Aus den Häufigkeitsangaben ergibt sich aber auch, dass diese Subpopulation allein die 15%ige Erhöhung der VILIP-1-Expression nicht erklären kann. Daher müssen auch andere Neurone und damit auch andere Rezeptoren betroffen sein. Während vorerst unklar bleibt, um welche es sich dabei konkret handelt, können die mGluR1 α -positiven Zellen näher charakterisiert werden.

mGluR1 α ist vor allem in den HIPP-Zellen des Gyrus dentatus und in den O-LM-Zellen, den 3L-IN und den LM-Zellen des Cornu ammonis nachzuweisen, die insbesondere an einer Feedback-Hemmung der hippocampalen Verschaltungen beteiligt sind (Freund und Buzsaki 1996; Katona et al. 1999). Diese Zellen enthalten neben dem Neuropeptid Somatostatin vor

allem auch die Calciumbindungsproteine Calretinin oder Calbindin, jedoch nur selten Parvalbumin (Dun et al. 1994). Es sollte beachtet werden, dass bei dem Versuch, anhand von Koexpressionsstudien Subpopulationen von Neuronen zu definieren, in der Literatur teilweise widersprüchliche Angaben auftreten. Dies betrifft allerdings meist nur kleine Gruppen von Neuronen. So sind beispielsweise die Beobachtungen, dass alle Somatostatin-haltigen Neurone mGluR1 α enthalten sollen und gleichzeitig Somatostatin in Parvalbumin-positiven Zellen exprimiert sein soll, widersprüchlich. Denn in Parvalbumin-positiven Interneuronen, die besonders empfindlich und bei Schizophrenien reduziert sind (Zhang und Reynolds 2002), konnte eine mGluR1 α -Immunreaktivität nicht gefunden werden (van Hooft et al. 2000).

In diesem Zusammenhang ist es interessant, dass in Interneuronen für VILIP-1 nur zu einem kleinen Teil eine Koexpression mit Parvalbumin (10%), aber zu einem großen Teil mit Calretinin (60%), das besonders in HIPP-, O-LM- und IS-1-Zellen nachweisbar ist, besteht (Bernstein et al. 2002). Dieses Verteilungsmuster erinnert stark an die mGluR1 α -Expression. Für die Regulation der VILIP-1-Expression könnte dies bedeuten, dass Parvalbumin-positive Interneurone, also Korb- und Chandelierzellen, schwach oder gar nicht VILIP-1 enthalten, da sie auf ihrer Zelloberfläche keine mGluR1 α exprimieren, die die Proteinexpression induzieren könnten. Der Umkehrschluss bei Calretinin-positiven Interneuronen, insbesondere HIPP- und O-LM-Zellen, wäre ebenfalls zutreffend.

Bezüglich mGluR1 α konnte für VILIP-1 *in vivo* eine Koexpression in Interneuronen des Stratum oriens der CA1-Region und hilären Neuronen des Gyrus dentatus gezeigt werden (unveröffentlichte Daten: Zhao et al.). Diese Lokalisationen entsprechen exakt der Verteilung der O-LM-Zellen im Cornu ammonis und der HIPP-Zellen im Gyrus dentatus. In dieser Arbeit konnte, wie oben beschrieben, auch in der Zellkultur eine Koexpression von VILIP-1 mit mGluR1 α nachgewiesen werden.

Zusammenfassend bestätigen diese Ergebnisse die Annahme, dass VILIP-1 vor allem in dendritisch terminierenden Interneuronen wie den HIPP- und O-LM-Zellen, die an Feedback-Mechanismen beteiligt sind und weniger in perisomatisch terminierenden Interneuronen (Korb- und Chandelierzellen) exprimiert ist. Eine Koexpression von VILIP-1 und mGluR1 α in hippocampalen Interneuronen konnte mehrfach nachgewiesen werden, was einen direkten Zusammenhang von Rezeptorstimulation und Proteinregulation ermöglicht.

Während für Calmodulin und mGluR7a in Kopräzipitationsstudien eine physiologisch relevante direkte Interaktion eines CBP mit einem Glutamatrezeptor in der Präsynapse gefunden werden

konnte (O'Connor et al. 1999), ist bei der Regulation von VILIP-1 durch mGluR1 α eher von einer postsynaptischen Signalkaskade auszugehen, die zum Beispiel die Genexpression aktiviert. Diese Hypothese wird von Ergebnissen, die VILIP-1 bereits seit einiger Zeit mit mGluR-abhängigen Formen der synaptischen Plastizität in Verbindung bringen, gestützt (Braunewell et al. 2003; Brackmann et al. 2004).

Zur Übersicht sind in Tabelle 1 alle besprochenen Interneurone mit ihren Lokalisationen, Projektionsgebieten, neurochemischen Eigenschaften und mGluR-Expressionen dargestellt. In der letzten Spalte wurden die bisher bekannten Verknüpfungen zu VILIP-1 eingefügt.

4.5 VILIP-1, synaptische Plastizität und Schizophrenien

4.5.1 Einfluss auf das glutamaterge System

Die mGluR1 α -vermittelte Änderung der VILIP-1-Expression, die sich während der Entwicklung der Krankheit manifestiert, kann vielleicht einige der Aspekte der Symptomatik der Schizophrenien mit erklären.

Schon bei anderen CBPs wie beispielsweise Parvalbumin wurde ein Zusammenhang mit den Schizophrenien vermutet (Beasley und Reynolds 1997; Zhang und Reynolds 2002). Da es in diesen Studien auch CBPs gibt, die keine Veränderungen zeigen, liegt die Vermutung einer selektiven Störung nahe. Auch wenn die genaue Bedeutung dieser und ähnlicher Veränderungen noch nicht bekannt ist, so lässt sich doch ein Einfluss auf die neuronale Verschaltung und damit auf die hippokampalen Funktionen vermuten.

Eine interessante Frage ist, ob es sich bei den beobachteten Veränderungen der Genexpression bei Schizophrenien um adaptive oder auslösende Mechanismen handelt. Im Rahmen dieser Arbeit wurde bezüglich VILIP-1 von einer adaptiven Expressionsänderung ausgegangen. Daher wurde auch der Effekt einer gestörten glutamatergen Transmission auf die VILIP-1-Expression untersucht und nicht der umgekehrte Zusammenhang. Da VILIP-1 aber mit Sicherheit nur ein Glied in einer langen Kette von Ursachen und Folgen ist, die darüber hinaus in Form von Feedback- und Feedforward-Mechanismen auch noch Schaltkreise darstellen, kann zu einem gewissen Teil auch von einer andere Veränderungen auslösenden Störung der VILIP-1-Expression gesprochen werden.

Die Beeinträchtigung der Lern- und Gedächtnisleistungen der Erkrankten ist ein früh auftretendes, sogenanntes negatives Symptom der Erkrankung (Egan und Weinberger 1997). Das

Tabelle 1: Tabellarische Darstellung der besprochenen hippokampalen Interneurone mit ihren Lokalisationen, Projektionsgebieten, neurochemischen Eigenschaften und Glutamatrezeptorexpressionen.

Neuron	Lokalisation Somata	Lokalisation Dendriten	Afferenzen	Lokalisation Axone	Efferenzen	Neurochemie	Metabotrope Glutamat-Rezeptoren I	Assoziation mit VILIP-1
Chandelier Zellen	GD: Stratum granulosum CA: im/direkt neben Stratum pyramidale	Stratum moleculare apikal: Strata radiatum, lacunosum moleculare. basal: Stratum oriens bis Alveus	Tractus perforans von überall	Stratum granulosum Stratum pyramidale	Anfangssegmente der Körnerzell-Axone Anfangssegmente der Pyramidenzell-Axone	Größtenteils Parvalbumin KEIN Calbindin KEIN Calretinin	MGluR5 KEIN mGluR1	V-1 10% mit PV
Korbzellen	GD: Stratum granulosum an der Grenze zum Hilus CA: Stratum pyramidale	apikal: durch Stratum granulosum bis zur Fissur. basal: in den Hilus apikal: bis ins Stratum lacunosum moleculare, basal: bis in Alveus	entorhinaler Cortex, Kommissuralfasern, CA3-Pyramidenzellen, Moosfasern Moosfasern, Schaffer Kollaterale, Kommissuralfasern, entorhinalen Kortex, rekurrenten Kollaterale	im Stratum granulosum im Stratum pyramidale	Körnerzellen Pyramidenzellen	Größtenteils Parvalbumin VIP (Vasoaktives intestinales Peptid) KEIN Calbindin KEIN Calretinin	MGluR5 KEIN mGluR1	V-1 10% mit PV
GD: HIPPO (hilar perforant path-associated cell)	unter Stratum granulosum	Hilus	Kollaterale der Moosfasern	durch das Stratum granulosum in äußere 2/3 des Stratum moleculare	Körnerzellendriten	Somatostatin Calretinin	MGluR1α	V-1 in hilären IN V-1 60% mit CR V-1 mit mGluR1α V-1 durch mGluR1 reguliert ?
GD: MOPP (molecular layer perforant path-associated cell) CA: O-LM	äußere 2/3 des Stratum moleculare Stratum oriens	äußere 2/3 des Stratum moleculare zur Grenze von Stratum oriens/Alveus	entorhinale Afferenzen von rekurrenten Kollateralen der Pyramidenzellen	äußere 2/3 des Stratum moleculare Stratum lacunosum moleculare	Körnerzellendriten Pyramidenzellen	Calbindin, Somatostatin Calretinin	MGluR1 MGluR1α MGluR5	V-1 in Str. oriens-IN V-1 mit mGluR1α V-1 durch mGluR1 reguliert
CA: 3L-IN (trilaminäre Interneurone)	Stratum oriens/Alveus Grenze	entlang der Stratum oriens/Alveus Grenze	von lokalen Kollateralen	Strata oriens, pyramidale, radiatum	Pyramidenzellen	Calbindin Somatostatin	MGluR1α	V-1 in Str. oriens-IN V-1 mit mGluR1α V-1 durch mGluR1 reguliert
CA: LM-IN (Interneurone im Stratum lacunosum moleculare)	In/am Stratum lacunosum moleculare	horizontal zu Dendriten aus Zellen des Stratum radiatum	von CA3 und entorhinalen Cortex ipsi- und kontralateral	horizontal im Stratum lacunosum moleculare	Pyramidenzellen	Calbindin Somatostatin	MGluR1α	V-1 mit mGluR1α V-1 durch mGluR1 reguliert
IS-1 (interneuron-selective Interneurone)	in CA1>CA3>GD Strata radiatum, oriens, pyramidale, Hilus, granulosum	Stratum radiatum und gesamter GD	kommissurale und assoziative Afferenzen (Schaffer Kollaterale)	Stratum radiatum	Dendriten und Somata anderer Interneurone (NUR CB-, CR-, VIP-positive)	Calretinin	?	V-1 60% mit CR
IS-2, IS-3 (interneuron-selective Interneurone)	Strata radiatum, pyramidale, moleculare, granulosum	apikal: zum Stratum lacunosum moleculare, basal: Stratum oriens	Entorhinale Afferenzen	zur Stratum oriens/Alveus-Grenze bzw. Hilus, Stratum pyramidale	Interneurone	VIP (Vasoaktives intestinales Peptid)	?	?

neurobiologische Korrelat dieser Leistungen, die synaptische Plastizität in Form von LTP und LTD, wurde bereits an glutamatergen und GABAergen Synapsen beschrieben (Bear und Malenka 1994).

Wie bereits erwähnt, konnte bei Schizophrenien für mGluR1 α erst kürzlich eine spezifisch erhöhte Expression im präfrontalen Kortex und im Striatum gezeigt werden (Gupta et al. 2005). Für diesen Rezeptor konnte eine zellspezifische Form der LTP bei hippocampalen Interneuronen des Stratum oriens und Alveus der CA1-Region charakterisiert werden. Diese neue Form ist funktionell nicht abhängig von NMDA-Rezeptoren, sondern von der Aktivierung von mGluR1 α und dem daraus resultierenden postsynaptischen Calciumanstieg (Perez et al. 2001; Lapointe et al. 2004). Diese Plastizität der Interneurone beeinflusst die Aktivität der Pyramidenzellen und damit die Informationsverarbeitung, was beispielsweise an veränderten β - und γ -Oszillationen im Hippokampus zu erkennen ist, die bei bestimmten Formen der Gedächtnisbildung eine Rolle spielen (Grunze et al. 1996; Bibbig et al. 2001). Bei diesen Interneuronen könnte es sich in der Tat um O-LM-Zellen handeln, die im Stratum oriens liegen, auf Pyramidenzellen projizieren und mGluR1 α exprimieren. Eine spannende Frage ist, ob und in wieweit eine mGluR1 α -vermittelte Regulation der VILIP-1-Expression an dieser neu entdeckten Form der Plastizität von Interneuronen beteiligt ist. Für die Beantwortung wären weiterführende elektrophysiologische Untersuchungen geeignet.

Auch an einem weiteren Phänomen, der Präpuls-Hemmung („PPI“, prepulse inhibition), das bei Schizophreniekranken und auch Alzheimer-Patienten gestört ist, konnte eine Beteiligung der mGluRs der Gruppe I gefunden werden (Brody et al. 2003; Pietraszek et al. 2005). Die PPI ist eine Untersuchungsmethode, um kognitive Defizite wie Aufmerksamkeitsstörungen oder Störanfälligkeit zu evaluieren. Diese Beispiele bekräftigen die Vermutung einer zentralen Rolle der mGluRs in der Pathophysiologie der Schizophrenien.

An den pathophysiologischen Effekten der beobachteten Erhöhung der VILIP-1-Expression sind eventuell auch die cGMP-abhängige Signalgebung und die cholinerge Neurotransmission beteiligt (Brackmann et al. 2005).

VILIP-1 beeinflusst die cGMP-abhängige Signaltransduktion und damit diverse neuronale Prozesse wie die synaptische Plastizität und Lern- und Gedächtnismechanismen durch die Regulation der Oberflächenexpression der Guanylatcyclase B (GC-B) (Schuman und Madison 1991; Monfort et al. 2002; Brackmann et al. 2005).

4.5.2 Die Beteiligung des cholinergen Systems

VILIP-1 reguliert die Oberflächenexpression und die Funktion des $\alpha 4\beta 2$ -nAChR im Oozytenexpressionssystem (Lin et al. 2002). Die chronische Inhibition dieses Rezeptors im ventralen Hippokampus hat einen negativen Effekt auf Lern- und Gedächtnisfähigkeiten (Arthur und Levin 2002; Levin 2002). Daher könnte vermutet werden, dass folgender Pathomechanismus an den negativen Symptomen der Schizophrenien beteiligt ist. Die pathologische glutamaterge Innervation der Interneurone führt, wie in dieser Arbeit gezeigt, zu einer erhöhten VILIP-1-Expression in den Interneuronen. Da VILIP-1 die Oberflächenexpression des $\alpha 4\beta 2$ -nAChR modulieren kann, erhöht sich auch die Expression dieses Rezeptors. Dadurch werden bei konstanter Acetylcholinausschüttung mehr Rezeptoren aktiviert, was zu einer verstärkten GABA-Freisetzung führt. Dies wiederum bedeutet, dass die Zielzellen der hippocampalen Interneurone, hauptsächlich Pyramiden- und Körnerzellen, verstärkt gehemmt werden. In diesen Zellen kommt es daher zu einer verminderten Expression von VILIP-1 und daraus folgend einer geringeren Oberflächenexpression des $\alpha 4\beta 2$ -nAChR. Die exzitatorischen Neurone des Hippokampus und damit der trisynaptische Schaltkreis sind so weniger stark cholinerg erregbar. Als Folge resultiert eine gestörte hippocampale Funktion, die sich als negative Symptomatik in Form von Aufmerksamkeits- und Gedächtnisdefiziten klinisch manifestiert (Braunewell 2005). Die Komplexität dieses Modells wird dadurch erhöht, dass der $\alpha 4\beta 2$ -nAChR in verschiedenen Interneurontypen unterschiedlich stark exprimiert wird und eine Acetylcholinstimulation dadurch zu unterschiedlich starken GABAergen Inhibitionen an den Zielzellen führt (Alkondon und Albuquerque 2001).

Paradoxerweise führt eine chronische exogene Nikotinstimulation zu einer erhöhten Oberflächenexpression des $\alpha 4\beta 2$ -nAChR (Corringer et al. 2006) und einer Stabilisierung dieses Rezeptors in einem hoch-affinen Zustand (Vallejo et al. 2005). Die Folge ist eine erhöhte Sensitivität für den endogenen Neurotransmitter Acetylcholin. Dies könnte neben der Bedeutung für die Nikotinabhängigkeit einen neuen Mechanismus für neuronale Plastizität darstellen und eine Begründung für die seit langem bekannte Tatsache, dass unter Schizophreniekranken der Anteil an Rauchern signifikant erhöht ist, sein.

75-90% der an einer Schizophrenie erkrankten Patienten rauchen (Lohr und Flynn 1992; Tidey et al. 2005). Dies kann als ein Versuch der Selbstmedikation angesehen werden, da eine chronische Nikotinapplikation das Expressionsdefizit der nAChR ausgleichen könnte. Es konnte nachgewiesen werden, dass insbesondere das Auftreten negativer Symptome mit dem Nikotinkonsum assoziiert ist (Patkar et al. 2002). Die Aufmerksamkeits- und

Gedächtnisleistungen rauchender Schizophreniekranker nehmen bei Nikotinabstinenz ab und bei erneutem Nikotinkonsum wieder zu. Dieser Effekt ist gegenüber einer rauchenden psychisch gesunden Kontrollgruppe signifikant verstärkt. Dass dabei die nAChRs eine zentrale Rolle spielen, wird durch die Beobachtung unterstrichen, dass die Einnahme des nicht-selektiven nAChR-Antagonisten Mecamylamin den positiven Effekt des Nikotins auf die Aufmerksamkeits- und Gedächtnisleistungen unterbinden kann (Sacco et al. 2005).

Interessant sind in diesem Zusammenhang Arbeiten, die zeigen, dass das nikotinerge Neurotransmittersystem mit dem dopaminergen (Pidoplichko et al. 1997; Zhou et al. 2001) und dem glutamatergen (Domino et al. 2004; Parodi et al. 2006) stimulierend bzw. permissiv verbunden ist, was wiederum für das mesocorticolimbische Belohnungssystem und damit für Abhängigkeitsmechanismen von Bedeutung ist (Dani et al. 2001).

Ein weiterer Acetylcholinrezeptor, der $\alpha 7$ -nAChR, wurde mit der Pathophysiologie der Schizophrenien und der Nikotinabhängigkeit in Verbindung gebracht (Freedman et al. 2000; Nomikos et al. 2000). Auch für ihn konnte eine differentielle Expression in Interneuronen mit daraus folgender spezifischer GABAerger Inhibition an Zielzellen nachgewiesen werden (Alkondon und Albuquerque 2001).

Damit stellt auch das cholinerge Transmissionssystem und dabei insbesondere die nAChRs einen potentiellen Angriffspunkt für zukünftige therapeutische Strategien bei der Behandlung negativer Symptome der Schizophrenien dar.

Darüber hinaus sind viele weitere, bisher unbekannte Zielstrukturen für VILIP-1 zu vermuten, deren Erforschung nicht nur auf das Nervensystem beschränkt sein wird (Gierke et al. 2004). Bei ihnen würde gelten, dass eine veränderte Expression bestimmter Zielgene oder -proteine zur Änderung des zellulären Phänotyps der betroffenen Zellpopulation führt. Daraus könnten im Nervensystem ebenfalls Störungen der Neurotransmission resultieren, die zu verschiedenen Pathologien, wie denen der Schizophrenien und anderer zentralnervöser Erkrankungen, führen könnten. In anderen Organsystemen wären unter anderem Stoffwechselstörungen denkbar (Dai et al. 2006).

4.6 Ausblick

In dieser Arbeit konnten der mGluR1 α und das NCS-Protein VILIP-1 mit den Schizophrenien in einen pathophysiologischen Zusammenhang gestellt werden.

Zusammenfassend erweitert diese Arbeit die Hypothese der glutamatergen Unterfunktion um den Aspekt, dass unter Beteiligung einer veränderten Expression des Calciumsensors VILIP-1

eine pathologische mGluR-abhängige Modulation der synaptischen Plastizität an inhibitorischen Synapsen an der Pathophysiologie der Schizophrenien beteiligt sein könnte. Darüber hinaus können diesen Veränderungen bestimmte Neuronensubpopulationen zugeordnet werden.

Mit dem Blick auf zukünftige Ansätze bei der Therapie der negativen Symptomatik der Schizophrenien (Moghaddam 2004), muss die funktionelle Bedeutung einer veränderten mGluR-vermittelten VILIP-1-Expression in hippocampalen Neuronen für die synaptische Plastizität weiter untersucht werden. Vieles deutet bereits daraufhin, dass die mGluRs als Zielstrukturen für pharmakologische Angriffe eine bedeutende Rolle spielen werden (Bruno et al. 2000; Konradi und Heckers 2003; de Bartolomeis et al. 2005; Deutsch et al. 2005; Heresco-Levy 2005).

Das cholinerge bzw. nikotinerge System stellt ebenfalls einen vielversprechenden Ansatzpunkt dar, da Nikotin in ersten Untersuchungen die Leistungsfähigkeit des Arbeitsgedächtnisses beeinflussen konnte (Levin 2002). Darüber hinaus wird auch GABA als Neurotransmitter zunehmend als therapeutische Option untersucht (Guidotti et al. 2005).

Bei all dem sollte aber nicht das dopaminerge System vergessen werden, das weiterhin eine große Bedeutung für die Pathophysiologie und die Therapie der Schizophrenien hat. Deshalb werden sich auch in Zukunft viele therapeutische Bemühungen auf dieses System konzentrieren. Letztendlich werden die verschiedenen Neurotransmitter zunehmend in Zusammenhang gestellt mit der langfristigen Zielsetzung einer kombinierten Strategie, die alle betroffenen Neurotransmitter berücksichtigt (Laruelle et al. 2005).

Die pharmakologische Beeinflussung symptomassoziierter Faktoren hat langfristig therapeutisches Potential. Daher müssen die Möglichkeiten der Entwicklung pharmakologischer Werkzeuge und zukünftiger Forschungsstrategien, die zur Behandlung bestimmter Krankheitsaspekte führen können, weiter diskutiert werden. Dabei nimmt die Erforschung der molekularen Grundlagen der einzelnen Neurotransmittersysteme eine essentielle Stellung ein.