Erste präklinische Untersuchungen mit dem potentiellen atypischen Antipsychotikum 2-Bromtergurid

Dissertation

zur Erlangung des akademischen Grades des
Doktors der Naturwissenschaften
(Dr. rer. nat.)

eingereicht im Fachbereich Biologie, Chemie, Pharmazie
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Diplom-Pharmazeut
Robert Thomas Franke
aus Guben

September 2016

Die Dissertation wurde vom 01.04.2012 bis zum 30.08.2016

unter der Leitung von Prof. Dr. Heidrun Fink

am Institut für Pharmakologie und Toxikologie

des Fachbereichs für Veterinärmedizin angefertigt.

1. Gutachter: Prof. Dr. Heidrun Fink

2. Gutachter: Prof. Dr. Matthias F. Melzig

Disputation am 14.12.2016

Danksagung

Ich danke meiner Doktormutter Prof. Dr. H. Fink für die Möglichkeit an ihrem Institut zu promovieren und für die aufschlussreichen Gespräche, die mir immer eine neue Perspektive auf die Dinge ermöglichten. Ich bin auch dankbar für das wunderbare Arbeitsklima, das im Institut herrschte und die Promotion wesentlich angenehmer gemacht hatte.

Ich danke Prof. Dr. M. Melzig für seine Bereitschaft, meine Promotion als Zweitgutachter zu betreuen und meine Dissertation zu begutachten. Ich bin auch dankbar, dass ich die Möglichkeit hatte, einige Abschnitte meiner Versuche in seinen Räumlichkeiten mit der Hilfe seiner Doktorandin Sonja Sytwala durchzuführen.

Ich danke Dr. J. Brosda dafür, dass er seine Mentorenrolle in vorbildlicher Weise interpretiert hat und dass er mit seiner sachlichen und unaufgeregten Art, mir dabei geholfen hat, in das vermeintliche „Chaos“ Ordnung zu bringen. Ferner bin ich dankbar, dass seine Tür für mich immer offen stand, auch wenn es mal nicht nur um das Fachliche ging.

Ich danke Prof. Dr. H. H. Pertz dafür, dass er sich bereit erklärt hat, eine Vorabkorrektur einiger Teile meiner Dissertation und meiner wissenschaftlichen Publikation durchzuführen.

Ich danke Frau Carola Kapfer, Frau Carmen Bohnwagner und Frau Sabine Jacobs dafür, dass ich während der gemeinsamen Projekte viele nützliche Ratschläge erhalten habe und einiges für die praktische Versuchsdurchführung und deren Organisation von ihnen lernen durfte.

Ich möchte mich auch bei Frau Elke Thom vom Deutschen Institut für Ernährungsforschung bedanken, dass sie mir bei der Durchführung des chronischen Versuchs geholfen hat und mich in Techniken zur Gewinnung von Gewebeproben eingeführt hat.

Weiterhin möchte ich mich auch bei allen anderen Kollegen der Arbeitsgruppe Fink für das wunderbare Arbeitsklima, das Zusammengehörigkeitsgefühl und die kollegiale Unterstützung bedanken.

Ich danke Frau Jana Jelitto für die Korrektur meiner Dissertation, die Unterstützung in schwierigen Zeiten und das Aufrechterhalten der Erkenntnis, dass es im Leben mehr gibt als „nur“ Arbeit.

Zum Schluss möchte ich meiner Familie danken, insbesondere meinen Eltern, für die anhaltende Unterstützung und ihr Verständnis in all den Jahren.

„…*You can't always get what you want*
But if you try sometimes
you might find
You get what you need…"
[M. Jagger, K. Richards]

Abkürzungen und Akronyme ..... **VII**

I. Einleitung **1**

1. Schizophrenie **2**

2. Pharmakotherapie der Schizophrenie **5**

2.1 Gegenwärtig verfügbare Antipsychotika **5**

2.2 An den Wirkungen beteiligte Transmittersysteme und Rezeptoren **9**

2.2.1 Dopamin und die dopaminergen Systeme 9

2.2.2 Wichtige nicht-dopaminerge Transmittersysteme 13

2.2.3 Wichtige Hypothesen der Schizophrenie 17

2.3 Ergoline und 2-Bromtergurid **18**

3. Tierexperimentelle Untersuchungen **21**

3.1 Allgemeine Einleitung zu Tiermodellen, Tierversuchen und Validitäten **21**

3.2 Verhaltenspharmakologische Untersuchungen nach akuter Gabe von 2-Bromtergurid **22**

3.2.1 *Open field test* 22

3.2.2 *Wet dog shakes test* 23

3.2.3 Apomorphin-induzierte Hypolokomotion 24

3.3 Prüfung auf gewünschte und unerwünschte Antipsychotika-Wirkungen **25**

3.3.1 Katalepsie-Tests 25

3.3.2 Amphetamin-induzierte Lokomotion und Stereotypien 27

3.3.3 *Conditioned avoidance response test* 28

3.3.4 Untersuchung der neuronalen Aktivität (cfos) 29

3.3.5 Einfluss der chronischen Gabe von 2-Bromtergurid auf metabolische Parameter sowie auf das Verhalten im *open field* und den Katalepsie-Tests 32

4. Zielsetzung **36**

II. Material und Methoden **37**

1. Versuchstiere **37**

2. Tierexperimentelle Untersuchungen **38**

2.1 Verhaltenspharmakologische Untersuchungen nach akuter Gabe von 2-Bromtergurid **38**

2.1.1 *Open field test* 38

2.1.2 *Wet dog shakes test* 39

2.1.3 Apomorphin-induzierte Hypolokomotion 40

2.2 Prüfung auf gewünschte und unerwünschte Antipsychotika-Wirkungen **40**

2.2.1 Katalepsie-Tests 40

2.2.2 Amphetamin-induzierte Lokomotion und Stereotypien 41

2.2.3 *Conditioned avoidance response test* 42

2.2.4 Untersuchung der neuronalen Aktivität (c-fos) 43

2.2.5 Einfluss der chronischen Gabe von 2-Bromtergurid auf metabolische Parameter sowie auf das Verhalten im *open field* und den Katalepsie-Tests 47

3. Deskriptive und abschließende Statistik **48**

4. Verwendete Lösungen und Substanzen **49**

III. Ergebnisse 54

1. Verhaltenspharmakologische Untersuchungen nach akuter Gabe von 2-Bromtergurid ... 54

1.1 *Open field test* ... 54

1.2 *Wet dog shakes test* ... 56

1.3 Apomorphin induzierte Hypolokomotion ... 56

2. Prüfung auf gewünschte und unerwünschte Antipsychotika-Wirkungen ... 58

2.1 Katalepsie-Tests ... 58

2.2 Amphetamin-induzierte Lokomotion und Stereotypien ... 60

2.3 *Conditioned avoidance response test* ... 61

2.4 Untersuchung der neuronalen Aktivität (c-fos) ... 65

2.5 Einfluss der chronischen Gabe von 2-Bromtergurid auf metabolische Parameter sowie auf das Verhalten im *open field* und den Katalepsie-Tests ... 65

IV. Diskussion 70

1. Akute verhaltenspharmakologische Untersuchung mit 2-BT ... 72

1.1 *Open field test* ... 72

1.2 *Wet dog shakes test* ... 73

1.3 Apomorphin-induzierte Hypolokomotion ... 74

2. Prüfung auf gewünschte und unerwünschte Antipsychotika-Wirkungen ... 77

2.1 Katalepsie-Tests ... 77

2.2 Amphetamin-induzierte Lokomotion und Stereotypien ... 78

2.3 *Conditioned avoidance response test* ... 80

2.4 Untersuchung der neuronalen Aktivität (c-fos) ... 82

2.5 Einfluss der chronischen Gabe von 2-Bromtergurid auf metabolische Parameter sowie auf das Verhalten im *open field* und den Katalepsie-Tests ... 85

3. Schlussfolgerung und Ausblick ... 89

V. Literaturverzeichnis 91

VI. Anhang 110

A. Zusammenfassung ... 110

B. Abstract ... 111

C. Lebenslauf ... 112

D. Wissenschaftliche Veröffentlichungen ... 113

E. Selbständigkeitserklärung ... 114

Alle fremdsprachigen, nicht-eingedeutschten Wörter werden kursiv geschrieben.

2-BT	2-Bromtergurid/ engl.:*2-bromoterguride*
5-HT/…-R	Serotonin/"…"-Rezeptor, z.B. 5-HT_{1A}R oder 5-HT_{2A}R; engl.: *5-hydroxytryptamine*
ad	auffüllen bis zu…, auffüllen bis auf…
AIL	Amphetamin-induzierte Lokomotion
AIS	Amphetamin-induzierte Stereotypien
AK	Antikörper
AMPA/-R	α-Amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazolpropansäure/-Rezeptor
AMPH	Dexamphetamin
ANOVA	*analysis of variance*
AP	Antipsychotikum/Antipsychotika/antipsychotisch
AP 1	Aktivatorprotein 1
ARI	Aripiprazol
CAR	dt.: konditionierte Vermeidungsreaktion; engl: *Conditioned avoidance response*
CLZ	Clozapin
DA	Dopamin
DOI	2,5-Dimethoxy-4-iodamphetamin
$D_{...}$R	Dopamin-…-Rezeptor, z.B. D_1R oder D_2R
GABA	dt.: γ-Aminobuttersäure; engl.: *γ-aminobutyric acid*
Glu	Glutamat
GTP	Guanosin-5'-triphosphat
$H_{...}$-R	Histamin-…-Rezeptor, z.B. H_1R oder H_2R
Halo	Haloperidol
HRP	dt.: Meerrettich-Peroxidase; engl.: *horseradish peroxidase;*
i.p.	intraperitoneal
KM	Körpermasse
l	physikalische Größe „Länge"
λ	physikalische Größe „Wellenlänge"
mPFC	medialer Präfrontaler Kortex
n	Anzahl
NA	dt.: Noradrenalin; engl.: *norepinephrine*
NAc	Nucelus accumbens
NaCl	Verhältnisformel für das Salz „Natriumchlorid"; auch „Kochsalz" genannt
NMDA/-R	*N*-Methyl-*D*-Aspartat/-Rezeptor
OLZ	Olanzapin
S.E.M.	*standard error of the mean*
SZ	Schizophrenie
t	physikalische Größe „Zeit"
ϑ	physikalische Größe „Temperatur"
UAW	Unerwünschte Arzneimittelwirkung/-en
VEH	Vehikel/-Gruppe
VT	Volumenteil/-e
WDS	*wet dog shakes*
ZNS	Zentrales Nervensystem

Zuordnung Schreibweise „c-fos“ und Molekül

Kursiv klein (z.B. c-fos)	nicht-humanes Gen/DNA/RNA
Normal klein (z.B. c-fos)	nicht-humanes Protein
KURSIV GROSS (z.B. *c-FOS*)	humanes Gen/DNA/RNA
NORMAL GROSS (z.B. c-FOS)	humanes Protein

EINLEITUNG I.

Die Schizophrenie zählt zu den psychischen Störungen, die weltweit am häufigsten vorkommen. Sie beeinträchtigt das Leben der Patienten schwer und ist nach wie vor nur unzureichend therapierbar. Es werden große Anstrengungen unternommen, um Arzneimittel zu finden, die antipsychotisch wirksam sind und gleichzeitig nur wenige unerwünschte Wirkungen induzieren.

Ein innovatives Antipsychotikum zeichnet sich dadurch aus, dass es sowohl die Positivsymptome als auch Negativsymptome und kognitive Defizite der Schizophrenie effektiv bekämpfen kann, ohne dabei unerwünschte Arzneimittelwirkungen auszulösen. Ein Fortschritt in der Behandlung der Schizophrenie könnte der Einsatz von Dopamin D_2-Rezeptor-Partialagonisten mit geringer intrinsischer Aktivität sein, die zusätzlich antagonistisch an Serotonin-Rezeptoren (u.a. 5-HT_{2A}R) und Adrenozeptoren (u.a. α_{2C}R) wirken. Bisher sind neben dem Prototyp Aripiprazol noch zwei weitere Verbindungen mit diesem Wirkmechanismus zugelassen. Aufgrund einer guten Wirksamkeit, wenigen unerwünschten Arzneimittelwirkungen, die charakteristisch für die Therapie mit anderen Antipsychotika sind, und einer besseren Patientenakzeptanz kommt es vergleichsweise zu weniger Therapieabbrüchen. D_2-Rezeptor-Partialagonisten, die an eine Vielzahl von Rezeptoren und Rezeptorsubtypen binden (*dirty drugs),* stellen daher eine interessante Option bei der Suche nach neuen atypischen Antipsychotika dar. Verbindungen aus der Naturstoffgruppe der Mutterkornalkaloide (Ergoline) gelten als *dirty drugs*. Das Ergolin Tergurid wurde bereits tierexperimentell und am Menschen getestet und zeigte kein akzeptables Wirkprofil, da es bei den Negativsymptomen aber nicht den Positivsymptomen der Schizophrenie wirkte. Durch die chemische Modifikation des Tergurids könnte ein Vertreter entstehen, dessen klinisches Wirkprofil wesentlich besser ist als das der Muttersubstanz.

1. Schizophrenie

Die Psychiater Morel, Kahlbaum und Hecker beschrieben im späten 19. Jahrhundert die Störungen *demencé precocé* (frz.: vorzeitige Demenz), Katatonie, Hebephrenie (jugendhafter Irrsinn) und Paranoia. Der Psychiater Emil Kraepelin erkannte bei diesen Störungen Gemeinsamkeiten, fasste sie als distinkte Subtypen zusammen und nannte das Störungsbild *dementia praecox* (1893). Sein schweizer Kollege Bleuler definierte die *dementia praecox* neu und führte erstmals den Begriff Schizophrenie (SZ) ein (1908; *Adityanjee et al., 1999*; altgriech.: σχίζειν (schizein): „spalten"; φρήν (phrēn): „Zwerchfell" (antike Vorstellung als Sitz der Seele) auch „Geist, Seele, Gemüt"). Heutzutage wird die SZ als eine Gruppe psychischer Störungen verstanden, die durch massive Beeinträchtigungen des Denkens, Fühlens und Handelns gekennzeichnet sind. Die Lebenszeitprävalenz der SZ liegt zwischen 0.5 - 1 % (*Soares-Weiser et al., 2015*), womit sie weltweit zu den am häufigsten auftretenden psychischen Erkrankungen zählt (*Leucht et al., 2013*). Lange Zeit wurde angenommen, dass die Prävalenz unabhängig von Geschlecht und Herkunft ist und sich selbst bei zeitlichen Vergleichen robust verhält. Neuere Studien belegen allerdings, dass Männer und (schwarzafrikanische) Migranten sowie die urbane Bevölkerung häufiger erkranken, und dass es daher weltweit große Varianzen gibt (*Di Forti et al., 2007; McGrath, 2006*). Im Vergleich mit der Gesamtbevölkerung ist die Sterblichkeit (Mortalität) der Personen, die an SZ oder einer anderen Psychose erkrankt sind, etwa viermal höher und sie sterben folglich 15 – 20 Jahre früher (*Reininghaus et al., 2015*). Erste abgeschwächte Symptome (Prodrome) können bereits Jahre vor der eigentlichen Erkrankung auftreten und diese ankündigen (*Gaebel et al., 2000; Howes et al., 2009; Tandon et al., 2013*). Die Erkrankung beginnt bei Männern und Frauen etwa zu Beginn bzw. Mitte der dritten Lebensdekade (*Feigenson et al., 2014*). Aufgrund des langsamen Fortschreitens der Krankheit und dem schwer nachzuvollziehenden Einbruch in die Fähigkeit zum sozialen, gesellschaftlichen und selbstständigen Leben zählt die SZ zu den therapeutisch aufwendigsten sowie kosten- und forschungs-intensivsten Krankheiten. In den USA beliefen sich allein im Jahr 2002 die direkten und indirekten Kosten der SZ auf etwa 62,7 Mrd. US $ (*WHO, 2002; Wu et al., 2005*). Die Nettokosten für Antipsychotika (AP) lagen 2013 in Deutschland bei ca. 744 Mio. € (*Arzneiverordnungsreport 2014, 2014*).

Zur Abschätzung des Grads der Erblichkeit einer Krankheit wird die Konkordanzrate genutzt. Im Fall der SZ beträgt diese Rate bei eineiigen Zwillinge etwa 50 % (*Karl & Arnold, 2014*). Aus diesem Grund ist der Einfluss der genetischen Prädisposition, die auf den Mendelschen Regeln beruht, genauso groß wie der Einfluss der „Umwelt"-Faktoren, wie Lebensführung und Erziehung sowie die private und berufliche Situation. Die genetischen Ursachen können punktuelle Mutationen eines Genabschnitts oder die Vervielfältigung des kompletten Gens einschließen. Dadurch können sich Expressionshäufigkeiten bestimmter Gene sowie epigenetische und neuronale Prozesse (z.B. Signalübertragung oder neuronale Reifung) verändern und somit eine Erblichkeit der SZ bedingen. Die Einflussfaktoren aus der Umwelt können zu epigenetischen Genmodifikationen und einer veränderten Genexpression führen, die sich dann als molekularer und/oder Verhaltensphänotyp zeigen kann, der mit der SZ assoziiert ist. Mutationen folgender Gene gelten als Risikofaktoren: *Neuregulin 1, Dysbindin, DISC 1 (disrupted in schizophrenia 1) oder COMT (Catechol-O-Methyltransferase; Di Forti et al., 2007; Shorter & Miller, 2015; Yao et al., 2015*).

Für die komplexe und heterogene Ätiologie der SZ wird das Vulnerabilitäts-Stress-Modell angenommen (*two hit model*). Demnach sind zwei Schritte nötig, um das Gehirn empfänglich für die Voll-ausprägung der Störung zu machen (*Bayer et al., 1999; Brown et al., 2004; Feigenson et al., 2014; Karl & Arnold, 2014; McDonald & Murray, 2000):* Zwischen der Empfängnis und den ersten Lebensmonaten

kann das Zusammenspiel endo- und exogener Faktoren (genetische Prädisposition, virale Infektionen der Mutter während des zweiten Trimesters, perinatale Komplikationen, immunologische Prozesse) zu einer gestörten neuronalen Entwicklung und *ergo* einer Verwundbarkeit (Vulnerabilität) des Gehirns führen (*first hit*). Im weiteren Leben können dadurch kognitive Funktionen, wie die Aufmerksamkeit, das Gedächtnis und Emotionen, unterschwellig beeinträchtigt werden. Physische Verletzungen, Drogenkonsum und/oder andere Umweltstressoren (*second hit*), die während der Adoleszenz und Postadoleszenz auftreten können, tragen mittelfristig zur Vollausprägung der Krankheit bei. Die neuronalen Dysfunktionen bzw. Symptome, die mit der SZ verbunden sind, können aus dem Wirken verschiedener Risikofaktoren entstehen und nicht nur aus einer bestimmten Kombination von Risikofaktoren (äquifinale Entität). Allerdings kann nicht jede Kombination die „Schwelle" zum Ausbruch der Störung überschreiten (*Green & Glausier, 2015*).

In den Diagnostikhandbüchern *ICD 10* (*International Classification of Diseases*) und *DSM IV* (*Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders*) wird die SZ anhand klinischer Gesichtspunkte in sieben bzw. fünf Subtypen unterteilt. Jeder Subtyp stellt eine charakteristische Konstellation bestimmter Symptome dar. Man unterscheidet z.B. den paranoiden, den residualen und den katatonen Typ. Die SZ ist durch einen dynamischen Verlauf gekennzeichnet, wobei jeder Patient verschiedene Subtypen durchlaufen kann, in denen die Stärke der Beeinträchtigung ebenfalls variiert (*Levine et al., 2011; Tandon et al., 2013*). In der aktuellen *DSM*-Version, dem *DSM V*, findet keine Unterscheidung mehr zwischen den Subtypen statt, da die Subtypen zeitlich nicht stabil sind und nur mit einer geringen Verlässlichkeit diagnostiziert werden konnten (*Tandon et al., 2013*).

Zur allgemeinen Differenzierung dient die lose, sich z.T. überschneidende Einteilung in Symptomfelder: (1) Positivsymptome, (2) Negativsymptome und (3) kognitiven Defizite:

(1) Positiv- oder auch Plussymptome sind psychopathologische Veränderungen der Wahrnehmung und bestimmter menschlicher Eigenschaften bzw. Fähigkeiten, welche verglichen mit dem Nicht-Schizophrenen qualitativ stark übersteigert sind oder bei diesem nicht vorkommen. Leitsymptome sind hierbei Halluzinationen und Wahnvorstellungen, stark desorganisierte Sprache und Verhalten sowie katatonisches Verhalten. Halluzinationen sind Wahrnehmungserscheinungen, die nicht von anderen Personen wahrgenommen werden und alle Sinne betreffen können. Wahnvorstellungen sind Fehlinterpretationen von Sinneswahrnehmungen und Erfahrungen (*Foussias et al., 2014; Meyer & Feldon, 2010; Tandon et al., 2013*).

(2) Unter Negativ- oder Minussymptomen versteht man den Verlust bzw. die qualitative Reduktion bestimmter menschlicher Eigenschaften und Fähigkeiten. Es wird zwischen Symptome des verminderten emotionalen und verbalen Ausdrucks und solchen der Amotivation (Asozialität, Avolition/Apathie und hedonische Defizite) unterschieden (*Foussias et al., 2014*). Aufgrund der schlechteren Behandelbarkeit sind die Negativsymptome gemeinsam mit den kognitiven Defiziten die Hauptgründe für die eingeschränkte Fähigkeit der Patienten zu einem sozialen und gesellschaftlichen Leben (*Foussias et al., 2014; Fusar-Poli et al., 2014; Rabinowitz et al., 2012*). Die Negativsymptome können bereits in der prodromalen Phase in abgeschwächter Form auftreten (*Gaebel et al., 2000*).

(3) Die kognitiven Defizite umfassen Störungen im Bereich der Aufmerksamkeit, der Exekutivkontrolle und des Gedächtnisses (*Bagney et al., 2015; Stahl, 2013; Ventura et al., 2009*). Ähnlich wie die Negativsymptome sind die kognitiven Defizite ebenfalls bereits bei prodromalen Patienten präsent (*Foussias & Remington, 2010; Meyer & Feldon, 2010*), weshalb der Grad der Interdependenz zwischen

den beiden Symptomfeldern momentan kontrovers diskutiert wird (*Bagney et al., 2015; Heydebrand et al., 2004; Ventura et al., 2009*).

Bestimmte funktionelle Zustände, v.a. eine subkortikale Hyper- und kortikale Hypoaktivität, sollen die SZ über die Störung verschiedener zentraler Transmittersysteme beschreiben und physiologisch erklären können. Das Dopamin (DA)- und das Glutamat (Glu)-System sind hierbei hervorzuheben. Für das DA-System wurden eine subkortikale Hyperaktivität und kortikale Hypoaktivität beobachtet (s. DA-Hypothese; *Howes & Kapur, 2009*). Die Glu-Hypothese beschreibt eine defizitäre Funktion des NMDA-Rezeptors bzw. eine veränderte glutamaterge Signalübertragung (*Moghaddam & Javitt, 2012*). Die Hypothesen werden unter I.3.2.3 detaillierter beschrieben.

2. Pharmakotherapie der Schizophrenie

2.1 Gegenwärtig verfügbare Antipsychotika

Die momentan auf dem Markt befindlichen Antipsychotika (AP) kann man in zwei Klassen einteilen, die typischen und die atypischen AP. Die Trennung erfolgt aufgrund der differierenden Rezeptorbindungsprofile und der damit verbundenen erwünschten und unerwünschten Arzneimittelwirkungen (UAW). Die typischen AP zeigen nur gegen die Positivsymptome Wirkung, wobei therapiebegleitend schwere parkinsonoide extrapyramidal-motorische Störungen (EPS; *Mailman & Murthy, 2010*) und hormonelle UAW auftreten können. Eine möglicherweise auftretende Störung des Ovulationszyklus oder eine Vergrößerung der maskulinen Brustdrüse können v.a. durch eine Hyperprolaktinämie bedingt sein (*Haddad et al., 2001*). Der starke Antagonismus am Dopamin (DA) D_2-Rezeptor (D_2R) ist sowohl für die Wirksamkeit als auch für das UAW-Profil der typischen AP hauptverantwortlich (*Mailman & Murthy, 2010*). Anhand der Affinität zum D_2R unterteilt man die typischen AP in nieder-, mittel- und hochpotente Vertreter. Die Inzidenz der UAW, die mit dem D_2R-Antagonismus verbunden sind, unterscheidet sich zwischen den typischen AP. Hochpotente typische AP verursachen häufiger diese D_2R-antagonistische UAW (*Stahl, 2013*). Ferner blockieren die typischen AP mit verschiedener Affinität Histamin H_1R, α_1-Adrenozeptoren und Muskarin M_1R (s. Abb. I.2.1/1). Diese Rezeptorwirkungen tragen ebenfalls zu den individuellen UAW-Profilen der typischen AP bei. Die H_1R-Blockade kann eine Sedierung und Körpermassenzunahme bedingen, wohingegen die α_1R-Blockade zu kardiovaskulären UAW führen kann (orthostatische Hypotension, Sedierung und Benommenheit). Die M_1R-Blockade kann die Inzidenz von EPS reduzieren oder auch anticholinerge UAW bedingen (Verstopfung, Störung der Akkommodation, Mundtrockenheit und Benommenheit). Die Stärke und Inzidenz der UAW, die nicht über den D_2R vermittelt werden, unterscheiden sich zwischen den typischen AP. Diese UAW treten bei den niederpotenten typischen AP häufiger auf (*Stahl, 2013*). Darüber hinaus besitzen einzelne typische AP eine relevante Affinität zu anderen Rezeptoren wie z.B. dem serotonergen $5\text{-}HT_{2A}R$ (*Stahl, 2013*).

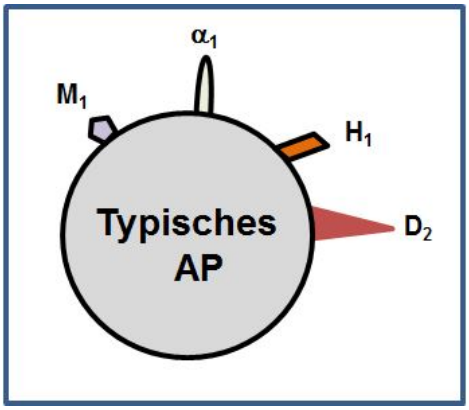

Abb. I.2.1/1: Rezeptorbindungsprofil der typischen Antipsychotika.
Die Abbildung zeigt das vereinheitlichte, qualitative Bindungsprofil aller typischen Antipsychotika. Es sind alle Rezeptoren dargestellt, für die die typischen AP eine mindestens so hohe Affinität besitzen wie zum Dopamin D_2-Rezeptor. Daher kann es vorkommen, dass nicht alle vier aufgeführten Rezeptoren zur klinischen Wirkung beitragen. nach *Stahl, 2013*

Seit der Markteinführung von Clozapin (CLZ) in den 1970er Jahren steht die Gruppe der atypischen AP für die Therapie zur Verfügung. Aus der klinischen Perspektive besitzen die atypischen AP eine ähnlich gute Wirksamkeit gegen die Positivsymptome, rufen aber weniger motorische und

hormonelle Störungen hervor (*Stahl, 2013*). Lange Zeit wurde sogar angenommen, dass die atypischen AP bei Negativsymptomen und kognitiven Defiziten wirken und somit den typischen AP überlegen sind. Die vermeintliche Überlegenheit wird momentan jedoch in Frage gestellt (*Davidson et al., 2009; Lieberman & Stroup, 2011*). Anstelle der motorischen und hormonellen UAW treten oft andere UAW auf, die die Therapie und die Compliance der Patienten gefährden können. Es kann z.B. eine deutliche Zunahme der Körpermasse (KM) hervorgerufen werden, die bestimmte metabolische Störungen begünstigen kann. Nach CLZ-Gabe können zudem eine Agranulozytose, Leukopenie oder Myokarditis auftreten (*Correll et al., 2011; Leucht et al., 2013; Pratt et al., 2012*). Aufgrund der besseren Patientenakzeptanz werden die atypischen AP jedoch häufiger eingesetzt. Die gute Wirksamkeit und die besser tolerierbaren UAW führen zu weniger Therapieabbrüchen (*Leucht et al., 2013*). Aus pharmakologischer Sicht sind die atypischen AP, ähnlich wie die typischen AP, D_2R-Antagonisten, sie binden aber z.T. mit geringerer Affinität und lösen schwächere Signale aus. Die meisten atypischen AP wirken zusätzliche als Antagonist am Serotonin (5-HT) 5-HT_{2A}-Rezeptor und besitzen z.T. eine partialagonistische Wirkung am 5-HT_{1A}R. Aufgrund der Beeinflussung des 5-HT-Systems soll die D_2R-antagonistische, antipsychotische Wirkung verstärkt werden (*Meltzer et al., 2012*). Anhand des Quotienten der Affinität zum 5-HT_{2A}R und der zum D_2R kann man typische AP von atypischen unterscheiden. Der Quotient liegt bei typischen AP unter 1.12, bei atypischen AP darüber (*Meltzer et al., 1989*). Darüber hinaus wirken viele atypischen AP auch an anderen 5-HTR (5-$HT_{1B/D}$R, 5-HT_{2C}R), Histamin- (H_1R) und Muskarin-Rezeptoren sowie an Adrenozeptoren (α_1R,α_2R; *multi target drugs*; s. Abb. I.2.1/2; *Kroeze et al., 2003; Meltzer et al., 2012; Roth et al., 2004; Schoemaker et al., 1997; Shapiro et al., 2003*). Die Gruppe der atypischen AP kann man anhand der chemischen Struktur und dem damit einhergehenden pharmakologischen Profil in „*Pine*“ (z.B. Cloz*apin* und Olanza*pin*), „*Done*“ (z.B. Risperi*don* und Ziprasi*don*) und „Andere“ unterteilen (z.B. Amisulpirid, Sulpirid und Sertindol; *Stahl, 2013*).

Während die *fast-off*-Theorie allein die schnelle Dissoziation vom D_2R für die klinischen Eigenschaften der atypischen AP (Wirksamkeit, geringe Inzidenz für EPS und Hyperprolaktinämie) verantwortlich macht (*Kapur & Seeman, 2001*), sehen die Multi-Rezeptor-Theorien hingegen den D_2R-Antagonismus und dessen synergistische Wirkungsverstärkung durch andere Rezeptorwirkungen als Hauptursache. Hervorzuheben sind hierbei die gleichzeitigen Antagonismen am 5-HT_{2A}R und D_2R bzw. am α_{2C}R und D_2R (*Kalkman & Loetscher, 2003; Meltzer et al., 1989*).

Am Ende der 1990er Jahre wurde eine Verbindung zur antischizophrenen Therapie zugelassen, die sich von den „klassischen“ atypischen AP unterscheidet, Aripiprazol (ARI). Im Gegensatz zu den „klassischen“ atypischen AP ist ARI kein moderater Antagonist sondern ein Partialagonist am D_2R. Partialagonisten sind Pharmaka, die ein System zwar beeinflussen, aber nur einen Bruchteil der maximal möglichen „Antwort“ auslösen (engl.: *response).* Die Größe dieses Bruchteils wird als intrinsische Aktivität angegeben *(Kenakin, 2009*). Ferner besitzt ARI einen 5-HT_{1A}R-Partialagonismus und antagonistische Eigenschaften am 5-HT_{2A}R und α_{2C}R (s. Abb. I.2.1/2 D und H; *Kroeze et al., 2003; Shapiro et al., 2003*). Seine Wirksamkeit soll aus dem Gleichgewicht zwischen partialagonistischen und antagonistischen Eigenschaften an einer Vielzahl bestimmter Rezeptoren resultieren (*Roth et al., 2004*). Allerdings tragen neben der Rezeptoraffinität des Partialagonistens, seiner intrinsischen Aktivität an den entsprechenden Rezeptoren und seinen pharmakokinetischen Eigenschaften auch die Konzentration des endogenen Liganden (z.B. DA und 5-HT) zur Nettowirkung eines Partialagonisten bei. In Gegenwart einer hohen

Konzentration des endogenen Rezeptorliganden reduziert der Partialagonist die agonistische Rezeptorwirkung auf das Niveau seiner intrinsischen Aktivität und wirkt somit funktionell antagonistisch. Ist die Konzentration des Liganden niedrig, hebt der Partialagonist die agonistische Rezeptorwirkung auf das Niveau seiner intrinsischen Aktivität und wirkt somit funktionell agonistisch (*Grunder & Wong, 2003*). Für die Wirkung des ARI wird jedoch auch eine zweite Hypothese diskutiert, eine funktionelle Selektivität. Gemäß dieses Ansatzes kann ARI abhängig von der Konformation, in der es den postsynaptischen D_2R bindet, verschiedene *second-messenger*-Systeme beeinflussen (s. I.2.2.1 und Abb. I.2.2.1/2). Da sich diese Systeme in den einzelnen Geweben unterscheiden können, kann die ARI-Wirkung auch gewebespezifisch sein (*de Bartolomeis et al., 2015; Lawler et al., 1999; Mailman, 2007; Natesan et al., 2011; Strange, 2007; Urban et al., 2007*). Wie bereits erwähnt, ist der 5-$HT_{2A}R/D_2R$-Affinitätsquotient ein wichtiges Indiz, um zwischen den beiden AP-Klassen zu unterscheiden. Obwohl der Quotient von ARI < 1.12 ist, zählt es zu den atypischen AP. Denn zum Zeitpunkt als der Quotient postuliert wurde, war ARI noch nicht zugelassen. Der Quotient, an dem typische von atypischen AP unterschieden werden, gilt daher eher für die D_2R-vollantagonistischen AP, was bei der Beurteilung eines D_2R-Partialagonisten berücksichtigt werden sollte. Die intrinsische Aktivität eines Partialagonisten führt nämlich dazu, dass nach Gabe die antagonistische D_2R-Nettowirkung bei gleicher Besetzungsquote geringer ist als nach Gabe eines typischen oder „klassischen“ atypischen AP. Daher wirken D_2R-Partialagonisten eher wie die „klassischen“ atypischen als die typischen AP, obwohl das Verhältnis der Rezeptoraffinitäten etwas anderes andeutet.

Bei der SZ wurde eine Hyper- oder Hypoaktivität bestimmter DA-Systeme nachgewiesen (s. I.2.2.3; *Howes & Kapur, 2009*). Aufgrund ihrer oben beschrieben Wirkung könnten Partialagonisten die Aktivität bestimmter Rezeptorsysteme regional unterschiedlich beeinflussen und deren Aktivität so normalisieren. Neben ARI gibt es weitere D_2R-Partialagonisten, die jedoch nicht zugelassen wurden (z.B. Bifeprunox, Tergurid und OPC-4392). Es wird diskutiert, ob die vergleichsweise geringe intrinsische Aktivität von ARI am D_2R der Grund seiner klinischen Wirksamkeit ist (*Mailman & Murthy, 2010; Natesan et al., 2011*). Die US-amerikanische Zulassungsbehörde *food and drug administration* (*FDA*) verwehrte z.B. Bifeprunox die Zulassung, da seine klinische Wirkung nicht robust genug war, und da es in der klinischen Phase DA-agonistische Wirkungen auslöste (z.B. Übelkeit/Brechreiz und Erbrechen; *Stahl, 2013*). OPC-4392 konnte zeigen, dass es die Negativsymptome mildert, allerdings verschlimmerte es die Positivsymptomatik und bewies somit, dass es als AP inakzeptabel ist (*Stahl, 2013*). Interessanterweise besitzen die Mitte 2015 in den USA zugelassenen D_2R-Partialagonisten Cariprazin und Brexpiprazol im Vergleich zu ARI eine ähnliche bzw. geringere intrinsische Aktivität am D_2R (*Kiss et al., 2010; Maeda et al., 2014*). In einer aktuellen Metaanalyse wurden die Ergebnisse der klinischen Studien für beide Verbindungen zusammengefasst und mit ARI verglichen (*Citrome, 2015*). Trotz der vielversprechenden Ergebnisse muss abgewartet werden, ob sich die neuen AP auch in der klinischen Anwendung bewähren

Weiterhin versuchte man, AP mit einem neuartigen Rezeptorbindungsprofil zu entwickeln, die UAW-ärmer sind. Es gibt einige präklinisch und klinisch getestete Verbindungen, die keine dopaminerge Wirksamkeit besitzen. Die Haupttargets dieser Verbindungen sind Glutamat- ($mGluR_{2/3,\,5}R$, NMDAR und AMPAR; s. I.2.2.2), 5-HT- (5-$HT_{2A/C}R$ und 5-HT_6R; s. I.2.2.2), Histamin- (H_3R; s. I.2.2.2), Muskarin- (M_1R und M_4R) und Nikotin-Rezeptoren (α_7R) sowie Adrenozeptoren ($\alpha_{2,\,3}R$), Phosphodiesterasen (PDE 4 und 10A) und der Glycin-Transporter ($GlyT_1$; s. I.2.2.2). Bisher wurde keine dieser Verbindungen zugelassen (*Dunlop & Brandon, 2015; Ellenbroek, 2012; George et al., 2013; Li et al., 2015; Takai et al., 2014*).

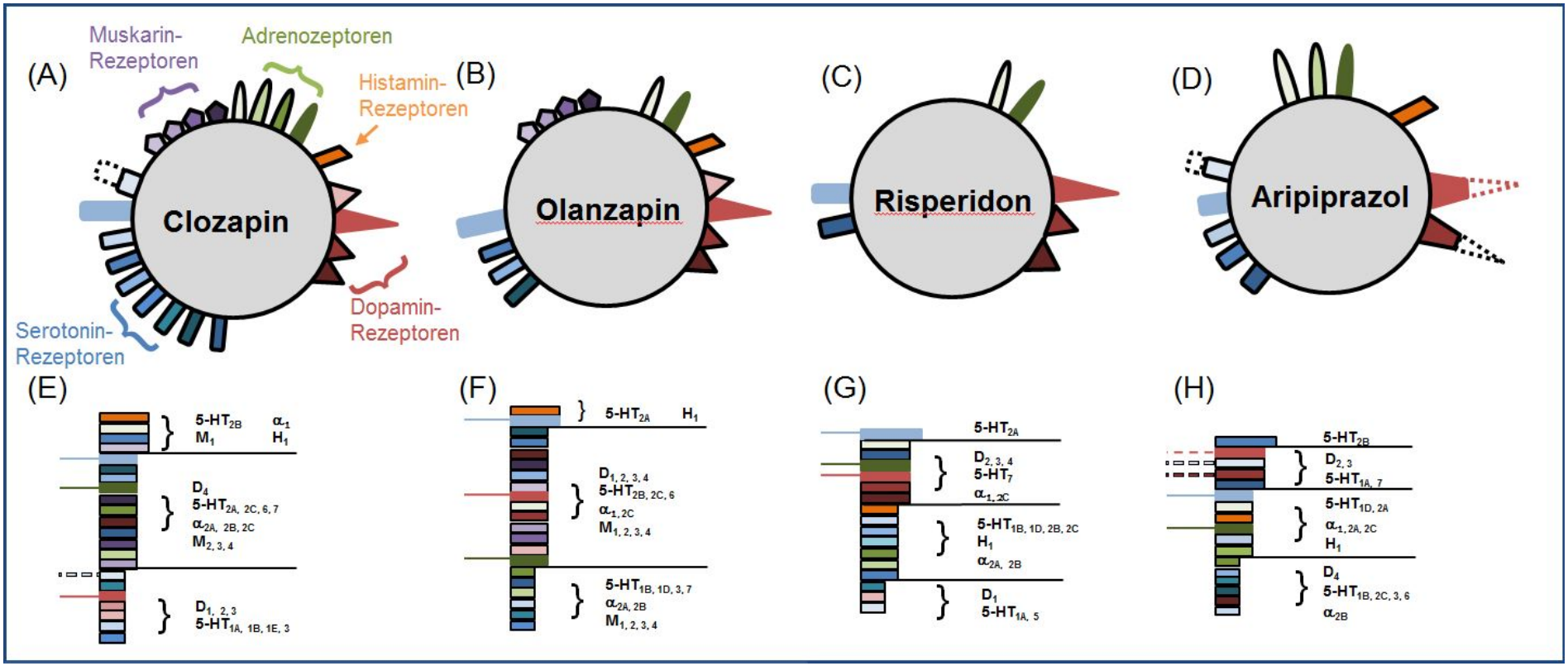

Abb. I.2.1/2: Rezeptorbindungsprofil ausgewählter atypischer Antipsychotika.

Die Abbildungen A – D zeigen qualitativ das relevante Bindungsprofil, d.h. die Rezeptoren, die mit einer mindestens so hohen Affinität gebunden werden wie der Dopamin D_2-Rezeptor. Die nicht-schwarz umrandeten Symbole stehen für den Dopamin D_2-Rezeptor (rot), den Serotonin 5-HT_{2A}-Rezeptor (blau) und den α_{2C}-Adrenozeptor (grün). Der Antagonismus an bzw. die relative Affinität zu diesen drei Rezeptoren werden bei der Wirkung gegen die Symptome der Schizophrenie große Bedeutung zugesprochen; Symbole, die z.T. gestrichelt umrandet sind, stehen für Rezeptoren, an denen das Antipsychotikum partialagonistisch wirkt.

Die Abbildungen E - H stellen das jeweilige Rezeptorbindungsprofil semiquantitativ dar. Die Klassierung der Affinitäten erfolgte anhand der Mittelwerte der veröffentlichten K_i-Werte (http://pdsp.med.unc.edu; *Stahl, 2013*). Die Rezeptoren, die mit einer Linie gekennzeichnet sind, besitzen eine besondere Bedeutung. Rezeptoren, die durch eine gestrichelte Linie gekennzeichnet sind, deuten auf eine partial-agonistische Wirkung hin. Eine nicht-schwarz umrandete Linie zeigt einen Rezeptor an, dem bei der Wirkung gegen die Symptome der Schizophrenie große Bedeutung zugesprochen wird: der Dopamin D_2-Rezeptor (rot), der Serotonin 5-HT_{2A}-Rezeptor (blau) und der α_{2C}-Adrenozeptor (grün). Verglichen mit den typischen Antipsychotika (s. Abb. I.2.1./1) besitzen die atypischen AP eine höhere Affinität zum 5-HT_{2A}R als zum D_2R. Eine Ausnahme ist Aripiprazol, da es ein D_2R-Partialagonist ist. Die höhere 5-HT_{2A}R-Affinität soll den atypischen Antipsychotika ihre Gruppeneigenschaften verleihen. Die hohe Affinität der atypischen Antipsychotika zum α_{2C}R, relativ zur D_2R-Affinität, soll die Wirksamkeit gegen Negativsymptome und kognitive Defizite sicherstellen. nach *Kroeze et al., 2003; Stahl, 2013*.

2.2 An den Wirkungen beteiligte Transmittersysteme und Rezeptoren

2.2.1 Dopamin und die dopaminergen Systeme

DA gehört, genauso wie Nor-/Adrenalin (NA), zur Gruppe der Katecholamine. Katecholamine sind Neurotransmitter, die nach Aufnahme aus dem Extrazellularraum und den Blutgefäßen intraneuronal aus der nicht-essentiellen Aminosäure Tyrosin synthetisiert werden und in Vesikeln gespeichert werden (s. Abb. I.2.2.1/1A; *Daubner et al., 2011; Stahl, 2013*). Nach Ausschüttung in den synaptischen Spalt kann DA sehr schnell über spezifische Transporter wieder in DA-Neurone aufgenommen werden. Der unspezifische Transport als „falsches" Substrat" in 5-HT- oder NA-Neurone verläuft langsamer und muss erwähnt werden. Der DA-Abbau kann intra- oder extraneuronal erfolgen (s. Abb. I.2.2.1/1B; *Stahl, 2013*).

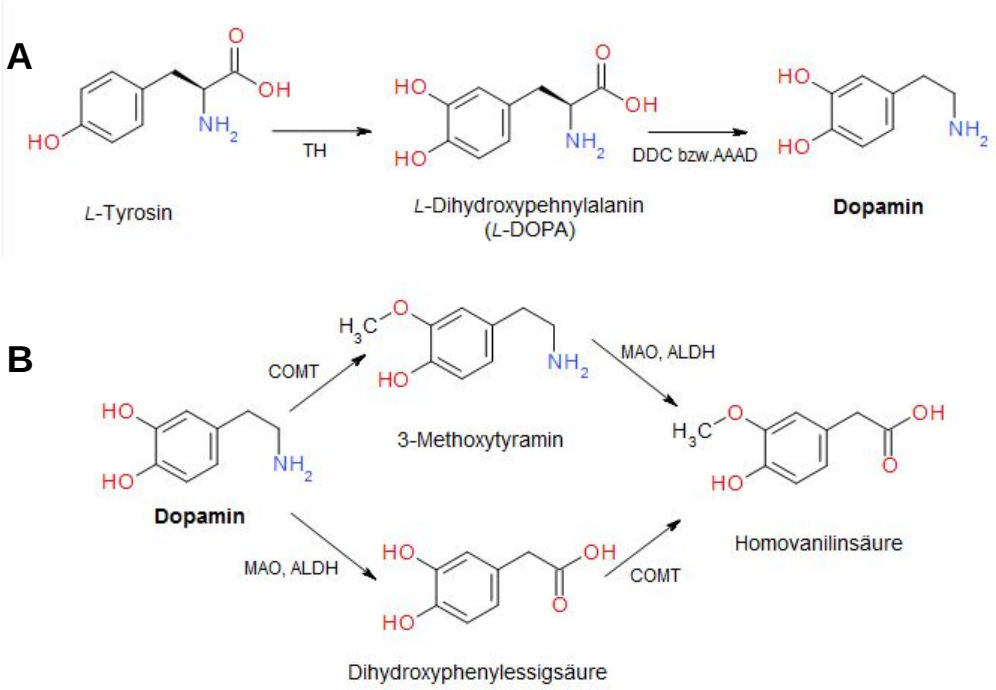

Abb. I.2.2.1/1: (A) Synthese und (B) Abbau von DA.
TH = Tyrosinhydroxylase; DDC = DOPA-Decaboxylase; AAAD = aromatische *L*-Aminosäuredecarboxylase; COMT = Catechol-*O*-Methyltransferase; MAO = Monoaminooxidase; ALDH = Aldehyddehydrogenase

Bei vereinfachter Betrachtung verlaufen innerhalb des ZNS vier DA-Systeme, die voneinander abgegrenzt werden können (*Bjorklund & Dunnett, 2007; Stahl, 2013*):

(1) Das mesolimbische DA-System hat seinen Ursprung im Hirnstamm, genauer gesagt im ventralen tegmentalen Areal (VTA; A10-Region), und endet im ventralen Striatum (Nucleus accumbens (NAc)). Als Teil des limbischen Systems ist dieses System an der Regulation des emotionalen Verhaltens, der Motivation und der Belohnung beteiligt (*Barrot et al., 2002; Ikemoto & Panksepp, 1999*). Es wird daher auch im Zusammenhang mit Suchtmechanismen und der euphorischen Wirkung verschiedener Suchtmittel genannt (z.B. Kokain, Amphetamin und Nikotin; *Di Chiara et al., 2004*). Die Einnahme von Suchtmitteln erhöht die DA-Freisetzung im NAc. Eine Hyperaktivität des mesolimbischen Systems wird auch in Zusammenhang mit den Positivsymptomen der SZ gebracht (*Di Chiara et al., 2004; Howes & Kapur, 2009*).

(2) Das mesokortikale DA-System beginnt ebenfalls im VTA, endet aber im Präfrontalkortex (PFC). Vor allem der mediale PFC (mPFC) ist wichtig bei der Kontrolle von Exekutivfunktionen. Die verminderte

Aktivität dieses Systems korreliert mit den kognitiven Defiziten und Negativsymptomen der SZ (*Howes & Kapur, 2009; Howes et al., 2015*).

(3) Das nigrostriatale DA-System ist funktionell mit den Basalganglien assoziiert und verläuft von der Substantia nigra pars compacta (A9-Region) zum dorsalen Striatum. Es trägt daher zur Kontrolle der Motorik bei, weshalb eine Hemmung oder Schädigung dieses Systems zu motorischen Störungen bzw. Erkrankungen führen kann (*Samii et al., 2004; Wadenberg et al., 2000*).

(4) Das tuberoinfundibuläre DA-System befindet sich im Hypothalamus-Hypophysen-System (HHS) und dient der Kontrolle der Prolaktinsekretion (*Sarkar et al., 1982*). Aufgrund ihres D_2R-Antagonismus können die typischen AP zu einer verstärkten Freisetzung von Prolaktin in das Blutsystem führen (Hyperprolaktinämie; s. I.2.1).

DA vermittelt seine Wirkungen im ZNS und in der Peripherie über fünf verschiedene G-Protein-gekoppelte Rezeptoren ($D_{1-5}R$). Aufgrund der intrazellulären Signalwege und der vermittelten Wirkung ordnet man die Subtypen in zwei Gruppen inkl. verschiedener Isoformen ein, $D_{1like}R$ (D_1R und D_5R) und $D_{2like}R$ ($D_{2-4}R$; *Mailman & Murthy, 2010*). Der D_1R konnte in den Hirnregionen von Sprague-Dawley-Ratten nachgewiesen werden, die dopaminerg innerviert sind. Dazu zählen das Striatum, der NAc, die Basalganglien und der Kortex sowie der Thalamus und Hypothalamus (*Fremeau et al., 1991*). Die D_1R-Stimulation spielt eine wichtige Rolle bei kognitiven Prozessen und der Milderung kognitiver Defizite (*Goldman-Rakic et al., 2004*). Die D_1R-agonistischen Eigenschaften von CLZ sollen zu seinem einzigartigen Wirkprofil beitragen (*Ahlenius, 1999*). Der D_2R kommt im Striatum, im NAc, in den Basalganglien (Globus pallidus und Substantia nigra) und im VTA, sowie im Hypothalamus und in vielen kortikalen Bereichen vor (*Gaspar et al., 1995; Gurevich & Joyce, 1999*). Für den D_2R existieren zwei Spleißvarianten, die entweder post- ($D_{2L}R$) oder präsynaptisch lokalisiert sind ($D_{2S}R$; *De Mei et al., 2009*). Obwohl viele atypische AP im relevanten Maße an D_1R, D_2R, D_3R und D_4R binden (s. Abb. I.2.1/2), ist der D_2R der wichtigste DA-Rezeptor für die antipsychotische Wirksamkeit (*Stahl, 2013*): Jede bisher zugelassene, antipsychotisch wirksame Substanz ist ein Antagonist bzw. Partialagonist am D_2R. Einige nicht-zugelassene D_2R-Partialagonisten besitzen intrinsische Aktivitäten, die vermutlich zu weit vom „optimalen“ Wert des ARI abweichen. Daran zeigt sich die überragende Wichtigkeit dieser Rezeptorwirkung. Im menschlichen Gehirn wird der D_3R häufig mit dem D_2R koexprimiert, weshalb der D_3R im Striatum, im NAc, in den Basalganglien (Substantia nigra und Globus pallidus) und im Thalamus nachweisbar ist (*Gurevich & Joyce, 1999; Hall et al., 1996*). Bestimmte Varianten des D_3R-Gens machen Menschen anfälliger, an SZ zu erkranken (*Spurlock et al., 1998; Williams et al., 1998*). Zudem treten bestimmte EPS-Formen während der Therapie häufiger auf, wenn die Patienten bestimmte D_3R-Allele tragen (*Eichhammer et al., 2000; Lerer et al., 2002; Lovlie et al., 2001; Steen et al., 1997*). Weiterhin korrelieren die D_3R-Genvarianten mit dem generellen Ansprechen der Patienten auf die Behandlung und im Besonderen auf die Behandlung mit CLZ (*Scharfetter et al., 1999; Shaikh et al., 1996*; *Szekeres et al., 2004*). Daher wird dem D_3R zunehmend mehr therapeutische Wichtigkeit eingeräumt (*Schwartz et al., 2000*). Die D_3R-Wirkung vieler atypischer AP (s. Abb. I.2.1/2) könnte daher zu deren Wirkprofil beitragen. Der D_4R wird im geringeren Maße exprimiert als die verwandten D_2R und D_3R. Nachweisbar ist der D_4R im Frontal-, Temporal- und Parietallappen sowie im geringeren Umfang auch im Thalamus, Globus pallidus und im Hippocampus (*Ariano et al., 1997; Cohen et al., 1999*). Es wurde gezeigt, dass viele wirksame atypische AP D_4R-Antagonisten sind (*Stahl, 2013*). Das Ansprechen der Patienten auf die Therapie wird ebenfalls durch das D_4R-Allel beeinflusst. CLZ ist

ein atypisches AP, das eine größere Affinität zum D_4R als zum D_2R besitzt (s. Abb. I.2.1/2). Patienten mit akuten, chronischen und refraktären Psychosen sprechen ungewöhnlich effektiv auf die CLZ-Behandlung an (*Baldessarini & Frankenburg, 1991; Cohen et al., 1999; Lahti et al., 1993; Van Tol et al., 1992*). Mit dem bisherigen Kenntnisstand kann nicht beantwortet werden, ob CLZ seine therapeutische Wirkung durch die Affinität zum D_4R allein erhält, oder ob der Effekt erst durch das Zusammenspiel mit anderen Rezeptorwirkungen entsteht. Eine Untersuchung der Verteilung der D_5R-mRNA im Affengehirn legt nahe, dass der Rezeptor im Striatum, Hippocampus, lateralen und medialen Thalamus sowie im Kortex vorkommt (*Choi et al., 1995*). Obwohl die D_5R-Dichte im mPFC durch die chronische AP-Therapie reduziert wird (*Lidow et al., 1997*), sind für die AP bisher keine relevanten Affinitäten zum D_5R bekannt (*Stahl, 2013*). Es kann daher angenommen werden, dass der D_5R für die antipsychotische Therapie eine eher untergeordnete Rolle spielt.

Nach Aktivierung der DA-Rezeptoren werden abhängig vom Rezeptorsubtyp verschiedene *second-messenger*-Systeme beeinflusst. Nach Bindung des DA an postsynaptische $D_{1like}R$ tauscht die α-Untereinheit des G-Proteins das gebundene GDP gegen GTP aus und das heterotrimere G-Protein dissoziiert in die α- und die β/γ-Untereinheit. Die β/γ-Untereinheit aktiviert die Adenylylzyklase, die ATP in cAMP umwandelt. Die Akkumulation des cAMP aktiviert die Proteinkinase A, die wiederum die Phosphorylierung bestimmter Proteine katalysiert, wie z.B. DARPP-32. DARRP-32 ist nach Phosphorylierung ein potenter Hemmer der Protein-Phosphatase 1 und verstärkt dadurch die Signale dieses *second-messenger*-Systems (z.B. veränderte Genexpression und Enzymaktivität; *De Mei et al., 2009*). Aufgrund der GTPase-Eigenschaften der α-Untereinheit wird das gebundene GTP in GDP umgewandelt. Nachdem die Untereinheiten des G-Proteins wieder ein Heterotrimer gebildet haben, wird die vermittelte Rezeptorwirkung beendet. Der stimulierende Charakter der $D_{1like}R$ ist erkennbar (*de Bartolomeis et al., 2015; De Mei et al., 2009; Tan et al., 2003*).

Nach Aktivierung der $D_{2like}R$ dissoziiert das G-Protein und die β/γ–Untereinheit bindet an die Adenylylzyklase, wodurch das nachgeschaltete *second-messenger*-System gehemmt wird. Ferner kann die $D_{2like}R$-Aktivierung die Phospholipase C aktivieren und so zur Bildung der *second messenger* IP_3 und DAG führen, die das intrazelluläre Geschehen beeinflussen (z.B. Proteinphosphorylierung und Ca^{2+}-Freisetzung; *de Bartolomeis et al., 2015*). Zusätzlich werden K^+-Kanäle geöffnet, wodurch das Ruhepotential stabilisiert und das Weiterleiten elektrischer Signale erschwert werden (*de Bartolomeis et al., 2015*). Der inhibitorische Charakter der $D_{2like}R$ ist deutlich zu erkennen. Für den D_2R gibt es ein weiteres *second-messenger*-System, das abhängig von der Konformation des gebildeten Rezeptor-Liganden-Komplexes beeinflusst werden kann (*de Bartolomeis et al., 2015*; *De Mei et al., 2009*). In dieser Signalkaskade, dem β-Arrestin-Weg, kommt es nach Rezeptorbindung cAMP-unabhängig zur Bildung eines makromolekularen Komplexes aus dem Gerüstprotein β-Arrestin, der Kinase AKT und der Phosphatase PP 2A. Die Komplexbildung inhibiert die AKT, wodurch das nachgeschaltete Enzym GSK 3 inaktiv bleibt (s. Abb. I.2.2.1/2B; *Beaulieu et al., 2005; De Mei et al., 2009*). Die erwähnten intrazellulären Signalkaskaden sind exemplarisch für den D_2R in den Abbildungen I.2.2.1/2A und B dargestellt. Die Aktivierung des präsynaptischen $D_{2S}R$ reguliert die DA-Synthese, die vesikuläre DA-Freisetzung und die Wiederaufnahme in das DA-Neuron durch den DA-Transporter (DAT; s. Abb. I.2.2.1/2A; *Benoit-Marand et al., 2001; Dickinson et al., 1999; Rouge-Pont et al., 2002; Schmitz et al., 2002*).

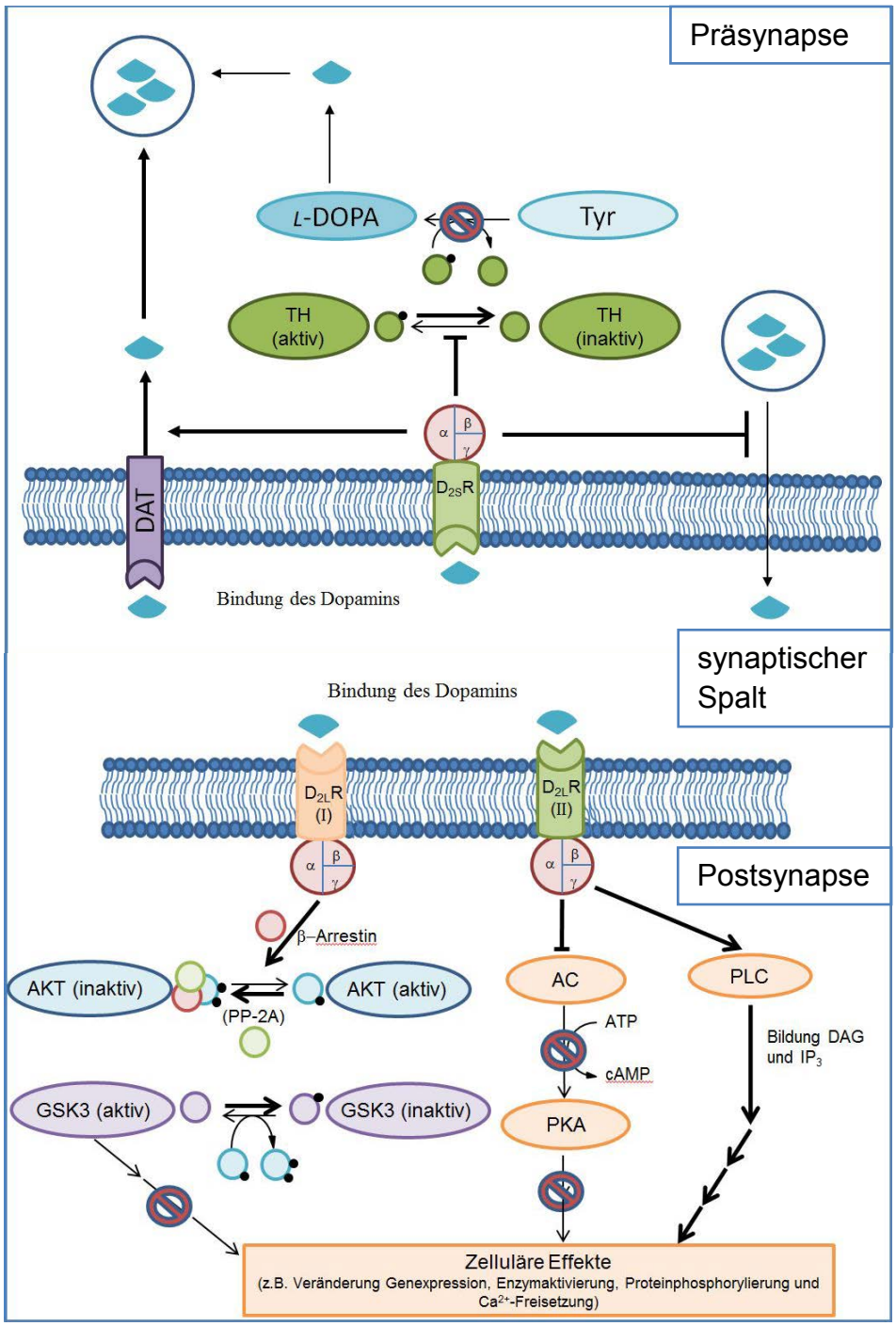

Abb. I.2.2.1/2: Intrazelluläre Signalwege des Dopamin D_2-Rezeptors in der Prä- und Postsynapse.

(A) Nach Bindung von Dopamin an den präsynaptischen Dopamin D_{2S}-Rezeptor wird Dopamin verstärkt aus dem synaptischen Spalt durch den Dopamin-Transporter (DAT) in die Präsynapse aufgenommen und die Wiederausschüttung in den synaptischen Spalt verhindert. Ferner kommt es zu einer Hemmung der Tyrosinhydroxylase (TH), wodurch die Bildung von *L*-DOPA aus Tyrosin (Tyr) gehemmt und somit die Dopamin-Synthese reduziert wird.

(B) Kommt es nach Bindung des Dopamins an den postsynaptischen Dopamin D_{2L}-Rezeptor zur Bildung eines Komplexes in der Konformation I, erfolgt die Signaltransduktion auf dem β-Arrestin-Weg. Zunächst wird das Enzym AKT gehemmt, wodurch das nachgeschaltete Enzym GSK 3 inaktiviert bleibt und keine weiteren zellulären Effekte auftreten. Bilden der postsynaptische Dopamin D_{2L}-Rezeptors und Dopamin einen Komplex in der Konformation II, wird die Adenylylzyklase (AC) durch die β/γ-Untereinheit des G-Proteins gehemmt und das nachgeschaltete *second-messenger*-System bleibt inaktiv. Ferner kann es zu einer Aktivierung der Phospholipase C (PLC) kommen, wodurch die *second messenger* Diacetylglycerin (DAG) und Phosphatidylinositol-3, 4, 5-triphosphat (IP_3) gebildet werden. Diese *second messenger* lösen nachfolgend verschiedene zelluläre Effekte aus. nach *de Bartolomeis et al., 2015; De Mei et al., 2009*

2.2.2 Wichtige nicht-dopaminerge Transmittersysteme

Serotonin

Serotonin (5-HT) ist ein biogenes Amin, das im ZNS aus der essentiellen Aminosäure *L*-Tryptophan gebildet und vesikulär gespeichert wird (s. Abb. I.2.2.2/1A). Nach Freisetzung in den synaptischen Spalt wird 5-HT wieder in die Präsynapse aufgenommen, dort vesikulär gespeichert oder wieder abgebaut (s. Abb. I.2.2.2/1B). 5-HT vermittelt seine biologischen Wirkungen über mindestens 14 verschiedene 5-HTR, die sich in sieben Klassen (5-HT_{1-7}R) und weitere Unterklassen einteilen lassen. Mit Ausnahme des 5-HT_3R, der an einem Ionenkanal gekoppelt ist, sind alle 5-HTR G-Protein-gekoppelt. Die zentralen 5-HT-Bahnen beginnen in den Raphé-Kernen des Hirnstamms und wirken modulierend auf die verschiedenen Regionen des Gehirns, wie z.B. dem Hippocampus, das VTA, den NAc und den PFC.

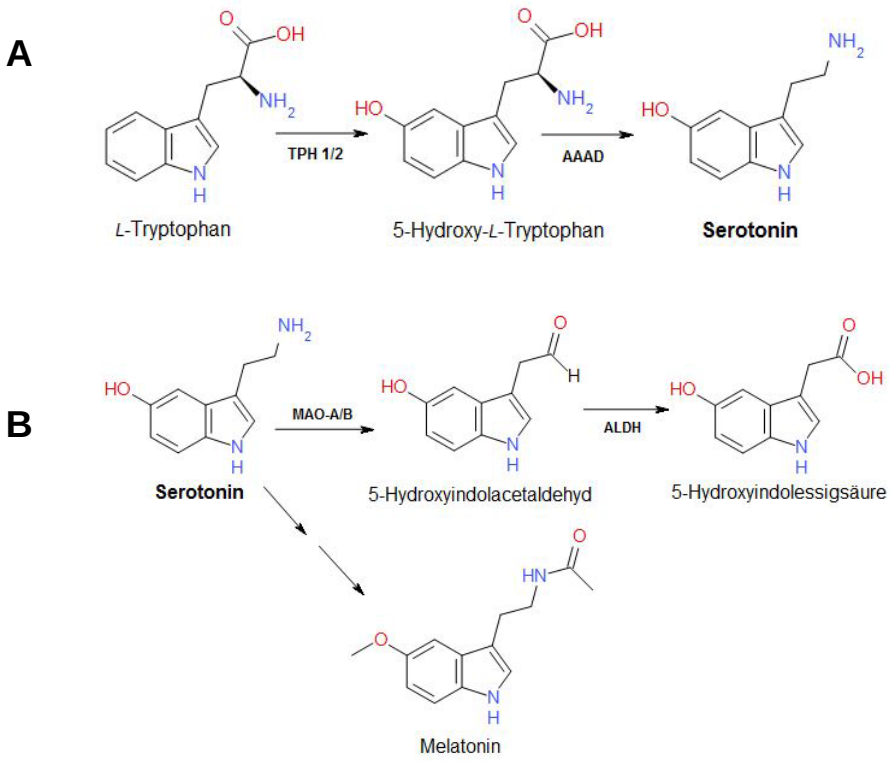

Abb. I.2.2.2/1: (A) Synthese und (B) Abbau von 5-HT.
TPH1/2 =Tryptophanhydroxylase 1 bzw. 2; AAAD = aromatische *L*-Aminosäuredecarboxylase; MAO-A/B = Monoaminooxidase A bzw. B; ALDH = Aldehyddehydrogenase.

Obwohl im Detail noch nicht geklärt ist, durch die Beeinflussung welcher neuronalen Netzwerke die Wirkung der atypischen AP entsteht, wird dem 5-HT-System große Bedeutung eingeräumt (*Mocci et al., 2014*). Der 5-HT_{2A}R-Antagonismus soll gemeinsam mit einer D_2R-Blockade für eine Wirksamkeit gegen kognitive Defizite und Negativsymptome sowie für eine reduzierte EPS- und Hyperprolaktinämie-Inzidenz mitverantwortlich sein (*Meltzer, 1989*). Der postsynaptisch vorkommende, exzitatorische 5-HT_{2A}R ist ein zentraler 5-HTR für die Vermittlung der genannten klinischen Wirkungen der atypischen AP (*Meltzer & Huang, 2008*). Aufgrund der simultanen Blockade des D_2R und des 5-HT_{2A}R können akute Psychosen behandelt werden. Die alleinige 5-HT_{2A}R-Blockade soll ein Wiederauftreten der Psychose verhindern und so den Behandlungserfolg aufrechterhalten (*Meltzer & Huang, 2008*). Der 5-HT_{2A}R und der inhibitorische 5-HT_{1A}R vermitteln ihre Wirkungen v.a. über das DA-, 5-HT-, Glu- und *GABA*-System. Hervorzuheben ist hierbei die serotonerge Modulation der DA-Freisetzung im Kortex, im Hippocampus und im NAc sowie im

VTA und in den Basalganglien (Substantia nigra pars compacta) (*Amargos-Bosch et al., 2004; de Almeida & Mengod, 2007, 2008; Meltzer & Huang, 2008; Pompeiano et al., 1992, 1994; Puig et al., 2005; Santana et al., 2004*). Die Basalganglien sind stark in die Steuerung kognitiver, motorischer und affektiver Prozesse involviert (*Alexander & Crutcher, 1990; Breakefield et al., 2008; DeLong & Wichmann, 2007; Middleton & Strick, 2000*). Da jedoch einige psychische Erkrankungen, wie die SZ, mit funktionellen und anatomischen Abweichungen in den Basalganglien korrelieren (*Aouizerate et al., 2004; Hwang et al., 2006; Manoach et al., 2000; Mittal et al., 2010; Ring & Serra-Mestres, 2002*), könnte die serotonerge Beeinflussung diese Abweichungen und damit assoziierte Prozesse kompensieren und so therapeutisch günstige Effekte hervorrufen.

Der 5-HT_{2A}R kommt postsynaptisch auf Neuronen des Kortex, der Basalganglien, der Amygdala, des Cerebellums und des Hirnstamms sowie auf Hippocampus-Neuronen vor (*Cornea-Hebert et al., 1999*). Der 5-HT_{2A}R-Antagonismus vermittelt einen DA-Anstieg im nigrostriatalen und tubero-infundibulären DA-System und reduziert somit das Auftreten von EPS oder einer Hyperprolaktinämie (*Stahl, 2013*). In einem präklinischen Test auf antipsychotisches Potential, dem *CAR test* (s. I.3.3.3), konnte eine kombinierte Gabe eines 5-HT_{2A}R-Antagonisten und einer subeffektiven Dosis des typischen AP Haloperidol (Halo) die gewünschten Effekte hervorrufen (*Wadenberg et al., 2001a*). In klinischen Studien konnte eine kombinierte Gabe eines 5-HT_{2A}R- und D_2R-Antagonisten die therapeutische Wirkung gegen Negativsymptome verbessern (*Carman et al., 1995; Duinkerke et al., 1993*). Die gemeinsame Blockade von 5-HT_{2A}R und D_2R trägt vermutlich zur Normalisierung der veränderten Funktionen bei, ohne die Signaltransduktion der striatalen D_2R massiv zu beeinflussen. Zudem soll der 5-HT_{2A}R-Antagonismus zur Aktivitätskontrolle des mesolimbischen DA-Systems beitragen und so auch zur Überlegenheit des prototypischen atypischen AP CLZ gegenüber den typischen Vertretern führen (*Kapur et al., 1999*; *Mocci et al., 2014*).

Der 5-HT_{1A}R kommt präsynaptisch auf den Neuronen der Raphé-Kerne und postsynaptisch im Kortex, Hippocampus und entorhinalen Kortex sowie in einigen thalamischen und hypothalamischen Kernen vor (*Pazos & Palacios, 1985; Pompeiano et al., 1992; Verge et al., 1986; Verge et al., 1985*). Ein Partialagonismus am 5-HT_{1A}R kann einen ähnlichen therapeutischen Effekt auslösen wie ein 5-HT_{2A}R-Antagonismus, weshalb es bei gleichzeitiger Beeinflussung beider Rezeptoren zu einer Wirkverstärkung kommen kann (*Stahl, 2013*). Präklinisch konnte ein 5-HT_{1A}R-Agonist gemeinsam mit dem D_2R-Antagonisten Racloprid die gewünschten Effekte im *CAR test* bedingen (*Wadenberg & Ahlenius, 1991*). Klinisch angewendet milderte eine gemeinsame Gabe eines 5-HT_{1A}R-Partialagonisten und dem typischen AP Halo auch die Negativsymptomatik (*Goff et al., 1991; Sumiyoshi et al., 2001*).

Der exzitatorische 5-HT_{2C}R kommt ausschließlich zentral vor (Kortex, Basalganglien, Thalamus und Hypothalamus). Über diesen Rezeptor wird die Freisetzung von DA und Noradrenalin im Kortex und im mesolimbischen DA-System reguliert (*Stahl, 2013*; *Werry et al., 2005*). Der 5-HT_{2C}R-Antagonismus wirkt durch eine Verstärkung der kortikalen DA-Freisetzung prokognitiv (*Stahl, 2013*), wohingegen ein inverser Agonismus die Hyperphagie und massive Zunahme der Körpermasse nach Gabe einiger atypischer AP erklären kann (*Kirk et al., 2009*).

Glutamat

Glutamat (Glu), das Anion der *L*-Glutaminsäure, ist der wichtigste exzitatorische Neurotransmitter (*Moghaddam & Javitt, 2012*). Nach Aufnahme der Vorstufe Glutamin (Gln) in das Neuron erfolgen die

Umwandlung zu Glu und die vesikuläre Speicherung. Nach Freisetzung in den synaptischen Spalt wird Glu in benachbarte Gliazellen aufgenommen, wo es wieder zu Gln umgewandelt wird. Nach Transport aus der Gliazelle und nachfolgenden Transport in das Glu-Neuron beginnt der Zyklus von vorn (*Stahl, 2013*). Alle kortikalen Efferenzen sind glutamaterg. Gleiches gilt für die meisten kortikalen Afferenzen und intrakortikalen Verbindungen (*Moghaddam & Javitt, 2012*). Die Glu-Bahnen, die hinsichtlich der SZ am wichtigsten sind, verlaufen vom Kortex zum Hirnstamm, zum Striatum und zum Thalamus. Weiterhin gibt es intrakortikale Bahnen, bei denen die Glu-Neurone direkt oder indirekt über inhibitorische *GABA*-Interneurone miteinander verbunden sind, sowie eine glutamaterge Bahn vom Hippocampus zum NAc (*Stahl, 2013*). Im Glu-System werden die Wirkungen über ionotrope und metabotrope Rezeptoren vermittelt. Die metabotropen Rezeptoren sind G-Protein-gekoppelt und können in drei Gruppen eingeteilt werden. Rezeptoren der Gruppe I ($mGluR_{1/5}$) kommen v.a. postsynaptisch vor, während solche der Gruppen II ($mGluR_{2/3}$) und III ($mGluR_{4/6/7/8}$) primär als präsynaptische Autorezeptoren wirken. Zu den ionotropen GluR zählen drei Gruppen Liganden-gesteuerter Ionenkanäle, die nach den selektiv bindenden Agonisten benannt sind, NMDA- (*N*-Methyl-*D*-aspartat), AMPA- (α-Amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazolpropansäure) und Kainat-Rezeptoren (*Howes et al., 2015; Stahl, 2013*). Die ionotropen Rezeptoren liegen auf der Postsynapse und modulieren gemeinsam die von Glu ausgelöste postsynaptische Exzitation. Der AMPAR und KainatR übermitteln die Exzitation sehr schnell, indem sie den Na^+-Einstrom in die Zelle erhöhen und so eine Depolarisierung bewirken. Der NMDAR ist hingegen ein „Koinzidenz-Detektor“. Dieser Rezeptor lässt die Ca^{2+}-Ionen nur dann in das Neuron, wenn gleichzeitig Glu an die NMDA-Bindungsstelle bindet, der Kotransmitter Glycin bzw. *D*-Serin sich an der entsprechenden Bindungsstelle befindet und das Neuron depolarisiert ist. Nachfolgend löst sich das Mg^{2+}-Ion, das die Kanalpore blockiert, und Na^+- und Ca^{2+}-Ionen strömen in die Zelle und wichtige Signale werden weitergeleitet, z.B. für die Langzeit-Potenzierung und synaptische Plastizität (*Stahl, 2013*). Der Kotransmitter Glycin stammt v.a. aus den benachbarten Gliazellen, in denen er entweder aufgenommen oder gebildet wurde. *L*-Serin wird in die Gliazelle aufgenommen und zu Glycin umgewandelt. Die Freisetzung aus und die Wiederaufnahme in die Gliazelle erfolgen durch den Glycin-Transporter 1 ($GlyT_1$). In den Gliazellen wird *D*-Serin aus *L*-Serin gebildet und auch dort wieder abgebaut (*D*-Aminosäureoxidase (DAO)). Die Freisetzung des *D*-Serins aus der Gliazelle und die Wiederaufnahme erfolgt über umgekehrte *D*-Serintransporter (*Stahl, 2013*).

Viele Erkenntnisse der SZ-Forschung implizieren eine Störung des Glu-Systems auf prä- und postsynaptischer Ebene. Daher sind Elemente dieses Systems gegenwärtig bei der Entwicklung neuer bzw. neuartiger AP in den Fokus gerückt (*Coyle et al., 2010; Moghaddam & Javitt, 2012*). Da bei schizophrenen Patienten eine zentrale Hypofunktion des NMDAR vorliegen soll (s.I.2.2.3), ist es nachvollziehbar, dass man durch Hemmung des $GlyT_1$ (Glycin-Transporter 1) oder Inhibition der DAO (*D*-Aminosäureoxidase) die Verfügbarkeit der Kotransmitter Glycin bzw. *D*-Serin erhöhen will, um so die NMDAR-Signalübertragung zu verstärken. Die These wird dadurch gestützt, dass genetische Studien und Studien mit *knock-out*-Mäusen zeigten, dass es Zusammenhänge zwischen der SZ und den Enzymen gibt, die den Auf- bzw. Abbau des *D*-Serins regulieren (Serin-Racemase und DAO; *Moghaddam & Javitt, 2012*). Eine weitere Möglichkeit die NMDAR-Funktion zu modulieren sind Vollagonisten am AMPAR bzw. am präsynaptischen $mGlu_{2/3}R$. Die NMDAR-Funktion könnte ebenfalls durch positiv allosterische Modulation des postsynaptischen $mGlu_5R$ oder einen $mGlu_5R$-Vollagonisten verändert werden. Entsprechende Verbindungen wurden oder werden in präklinischen und klinischen Studien getestet

(*Moghaddam & Javitt, 2012*). Weiterhin stellt Kynurensäure, ein Abbauprodukt des *L*-Tryptophans, als endogener Inhibitor des NMDAR auch ein potentielles Target für die AP-Entwicklung dar (*Moghaddam & Javitt, 2012*). Der Kv3-Kanal ist ein K^+-Kanal, der auf den Parvalbumin-haltigen *GABA*-Interneuronen im Kortex exprimiert wird, die an der fehlerhaften glutamatergen Signalübertragung beteiligt sind. Studien mit einem subchronischen PCP-Modell zeigten, dass eine Modulation des Kv3-Kanals zu einer Wirkung bei Negativsymptomen und kognitiven Defiziten führen könnte (*Neill et al., 2013*).

Noradrenalin

Noradrenalin (NA) ist, wie DA, ein Katecholamin. Nach Aufnahme von Tyrosin in das NA-Neuron wird Tyrosin zuerst mehrstufig zum DA (s. I.2.2.1/1A) und dann zu NA umgewandelt. Die Speicherung erfolgt in Vesikeln. Nach Freisetzung kann die Signalübertragung durch Aufnahme in die Präsynapse oder enzymatischen Abbau beendet werden. NA vermittelt seine Wirkungen über G-Protein-gekoppelte Adrenozeptoren (αR und βR). Die zentralen Bahnen verlaufen vom Locus coeruleus zum VTA und PFC bzw. von Hirnstammkernen (A_1, A_2) zum VTA und NAc (*Jones et al., 1977; Morrison et al., 1981; Swanson & Hartman, 1975; Weinshenker & Schroeder, 2007*). Da sowohl der PFC als auch der NAc mit den Symptomen der SZ assoziiert sind, spielen die Adrenozeptoren bei der antipsychotischen Wirksamkeit eine Rolle (*Brosda et al., 2014*). Besondere Bedeutung haben hierbei die prä- und postsynaptisch vorkommenden, hemmenden α_{2A}R und α_{2C}R (*Bucheler et al., 2002; Devoto & Flore, 2006*). Der α_{2A}R kommt am häufigsten im PFC vor und in geringerer Dichte auch im NAc (*Aoki et al., 1994; Aoki et al., 1998; Nicholas et al., 1996*). Im Gegensatz dazu kommt der α_{2C}R in hoher Dichte im NAc und im Hippocampus vor und nur spärlich im PFC (*Fagerholm et al., 2008; Holmberg et al., 2003; Scheinin et al., 1994; Uhlen et al., 1997*). Im *CAR test,* einem präklinischen Test auf antipsychotisches Potential (s. I.3.3.3), konnte Idazoxan (unselektiver α_2R-Antagonist) die Effekte von subeffektiv dosiertem Halo oder Risperidon verstärken (*Marcus et al., 2010; Wadenberg et al., 2007*). Ferner sollen der Antagonismus am α_{2A}R und v.a. am α_{2C}R zu den gewünschten Wirkungen einiger atypischer AP beitragen (*Marcus et al., 2010*). Allerdings soll nicht die absolute α_{2C}R-Affinität der Grund für die atypischen Eigenschaften sein, sondern eher die relative Affinität im Vergleich mit der zum D_2R (*Kalkman & Loetscher, 2003*). Ein Quotient > 1 spricht für eine relevante Beteiligung des α_{2C}R-Antagonismus am Wirkprofil. Bestätigt wird dies durch klinische Studien, bei denen die Negativsymptomatik und die kognitiven Defizite durch die kombinierte Gabe von Risperidon und Mirtazapin (α_2R-Antagonist) verbessert werden konnten (*Abbasi et al., 2010; Cho et al., 2011*).

Histamin

Histamin ist ein Gewebshormon und Neurotransmitter. Nach Aufnahme wird die Aminosäure Histidin in einer einstufigen Reaktion zu Histamin. Da kein Transporter für Histamin existiert, wird es nach Freisetzung nicht wieder in die Präsynapse aufgenommen. Die Wirkung wird entweder durch Diffusion oder Abbau beendet (Methyltransferasen und Oxidasen; *Stahl, 2013*). Histamin vermittelt seine Signale über G-Protein-gekoppelte Rezeptoren (H_{1-4}R). Darüber hinaus kann Histamin zum NMDAR diffundieren, dort an die Polyamin-Bindungsstelle binden und die Rezeptoraktivität modulieren. Die genaue Rolle und Funktion des Histamins ist hierbei nicht bekannt. Alle zentralen Histamin-Bahnen beginnen im tuberomammillaren Nucleus des Hypothalamus (*Stahl, 2013*). In Hinblick auf die SZ und

dessen Therapie sind nur der postsynaptisch vorkommende H_1R und der H_3R als Autorezeptor relevant. Der H_1R vermittelt seine zentrale Wirkung über ein PIP_2-abhängiges *second-messenger*-System und ist wichtig für die Kognition und den Schlaf-Wach-Rhythmus sowie für die Regulation physiologischer Funktionen im Hypophysen-Hypothalamus-System (*Stahl, 2013*). Aufgrund ihrer H_1R-antagonistischen Wirkung können viele AP sedierend wirken oder eine starke Zunahme der Körpermasse bedingen (s. I.3.3.5). Der H_3R reguliert im ZNS die Histamin-Freisetzung in den synaptischen Spalt. Da man sich von H_3R-Antagonisten eine prokognitive Wirkung erhofft, befinden sich einige Substanzen mit diesem Wirkmechanismus in der klinischen Entwicklung (*Stahl, 2013*).

2.2.3 Wichtige Hypothesen der Schizophrenie

Die DA-Hypothese der SZ postuliert eine subkortikale Hyperaktivität, v.a. im NAc, die mit den Positivsymptomen assoziiert ist (*Howes & Kapur, 2009*). Eine erhöhte präsynaptische DA-Syntheseleistung wurde mit einer akuten Psychose bzw. der Positivsymptomatik verknüpft. Bei chronisch erkrankten Patienten ist es weniger eindeutig (*Howes et al., 2015*). Die Negativsymptome und kognitiven Defizite werden dagegen u.a. mit einer Dysfunktion der dopaminergen Signaltransmission im mPFC korreliert. Neuere Daten zeigen, dass auch die subkortikale DA-Hyperfunktion Beitrag zu den Negativsymptomen und kognitiven Defiziten leistet (*Howes & Kapur, 2009; Howes et al., 2015*). Die Hypothese wird durch zwei Fakten gestützt: 1.) Alle bisher zugelassenen AP sind mehr oder minder starke, funktionelle D_2R-Antagonisten und zur Behandlung der Positivsymptome geeignet (s. I.2.1). 2.) Die Gabe potenter D_2R-Agonisten, wie z.B. Dexamphetamin (AMPH) und Kokain, kann bei Nichterkrankten psychotische Symptome auslösen und bei Schizophrenen die Psychose verstärken (*Howes & Kapur, 2009; Koch, 2006*). Da die typischen AP D_2R-Vollantagonisten sind und keine Wirkung gegen die Negativsymptome und kognitiven Defizite aufweisen, sind eher andere dysfunktionale Transmittersysteme für diese Symptome bzw. Defizite verantwortlich (*Howes et al., 2015*). Hervorzuheben ist das Glu-System und v.a. der NMDAR, die eine theoretische Schlüsselrolle in der SZ inne haben (*Howes et al., 2015*). Die Glu-Hypothese der SZ besagt, dass eine gestörte Glu-Neurotransmission vorliegt, die aus einer Hypofunktion des NDMAR und einer übersteigerten Aktivität anderer GluR resultiert (*Moghaddam & Javitt, 2012*). Als Ursache wird eine abnormale neuronale Entwicklung angenommen (s. *two hit model*; s. I.1). Die NMDAR-vermittelten Signale der Pyramidenzelle werden von Parvalbumin-haltigen *GABA*-Interneuronen nicht adäquat empfangen, wodurch die Aktivität der nachfolgenden, kortikalen Pyramidenzellen weniger gehemmt wird. So kann es zu einer verstärkten Aktivität in den Projektionsarealen kommen und Negativsymptome und kognitive Beeinträchtigungen bedingen. Da auch die Aktivität der DA-Neurone im VTA verändert wird, resultiert daraus eine Aktivitätserhöhung des mesolimbischen und eine Aktivitätsminderung des mesokortikalen DA-Systems (*Coyle et al., 2010; Stahl, 2013*). Eine Verknüpfung zur DA-Hypothese und den Positivsymptomen ist somit gegeben. Die Glu-Hypothese wird dadurch gestützt, dass die Gabe nicht-kompetitiver NMDAR-Antagonisten wie Ketamin, Phencyclidin (PCP) oder MK-801 (Dizocilpin) Verhalten hervorruft, das sowohl präklinisch als auch klinisch den Positiv- und Negativsymptomen sowie den kognitiven Defiziten der SZ ähnelt (*Howes et al., 2015; Moghaddam & Javitt, 2012; Neill et al., 2010*).

Beide Hypothesen sind wichtige Konzepte der experimentellen SZ-Forschung, die durch viele präklinische und klinische Ergebnisse bestätigt wurden. Allerdings zeigen die Forschungsergebnisse auch, dass man ergänzende Hypothesen/Erklärungsmodelle berücksichtigen muss. Viele atypische AP

sind nur schwache D_2R-Antagonisten und zeigen keine Interaktionen mit GluR, sie lösen aber an 5-HTR und Cholin-Rezeptoren sowie an Adrenozeptoren Wirkungen aus (s. Abb. I.2.1/2; *Kroeze et al., 2003*). So wird besonders einem gleichzeitigen Antagonismus am $5\text{-}HT_{2A}R$ und D_2R bzw. am $\alpha_{2C}R$ und D_2R eine wichtige Rolle bei der Therapie der Negativsymptome und kognitiven Defiziten eingeräumt. Die Wichtigkeit des zusätzlichen Antagonismus am $5\text{-}HT_{2A}R$ bzw. $\alpha_{2C}R$ für die pharmakologische Therapie der SZ ist sowohl durch präklinische (*Meltzer, 1989*; *Kalkman & Loetscher, 2003*) als auch klinische Untersuchungen untermauert (s. . I.2.1 und 2.2.2; *Abbasi et al., 2010; Carman et al., 1995; Cho et al., 2011; Duinkerke et al., 1993*)

2.3 Ergoline und 2-Bromtergurid

Biogene Wirkstoffe werden seit Jahrhunderten zur Therapie von Krankheiten, zur Linderung von Symptomen und bei der Diagnostik eingesetzt. Der technische Fortschritt erlaubte es, die wirksamen Verbindungen sowie deren Pharmakophore und Wirkmechanismen zu identifizieren. Nachfolgend wurden zur Optimierung des Wirkprofils Substanzen derivatisiert, wodurch vormals toxische Substanzen und Rauschdrogen für die Medizin nutzbar gemacht werden konnten. Die große, chemisch heterogene Gruppe der Alkaloide liefert sehr viele Beispiele, wie z.B. Morphin, Tubocurarin, Kokain und Pilocarpin. Alkaloide werden, im engeren Sinne, aus einem Kohlenstoffgerüst und dem N-Atom bzw. den N-Atomen einer oder mehrerer Aminosäuren gebildet. Mutterkornalkaloide, oder auch Ergoline genannt, gehören zur Gruppe der aus *L*-Tryptophan gebildeten Indolalkaloide. Sie besitzen einen Indolo [4,3-f,g-]chinolin-Grundkörper, das Ergolin-Ringsystem (s. Abb. I.2.3 A), das in Position 8 substituiert ist und zwischen Position 9 und 10 eine Doppelbindung aufweisen kann (Ergol-9-ene). In Position 5 befindet sich ein β-ständiges H-Atom und in Position 6 ein N-Atom, das meistens methyliert ist. Der erwähnte tetrazyklische Grundkörper besitzt Strukturelemente der Monoamine DA, 5-HT und Adrenalin (s. Abb. I.2.3 B - D).

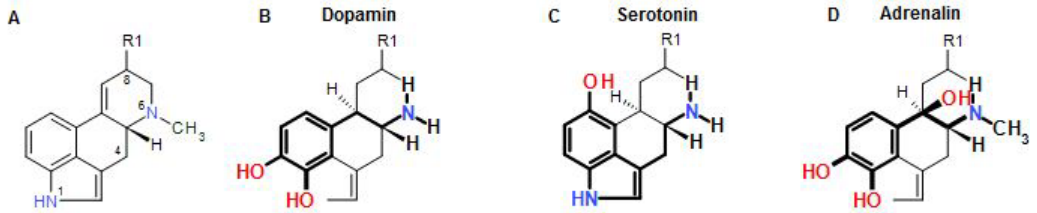

Abb. I.2.3: (A) Gemeinsames Strukturelement aller Ergoline; (B - D) Strukturelemente von Dopamin, Serotonin und Adrenalin im Pharmakophor der Ergoline.

Ergoline binden an die entsprechenden Monoaminrezeptoren (u.a. $D_{1/2}R$, $5\text{-}HT_{1/2}R$ und $\alpha_{1/2}R$) und lösen Wirkungen im ZNS und in der Peripherie aus. Da die Ergoline viele Rezeptoren unselektiv binden und demzufolge unspezifische Wirkungen auslösen, werden sie als *dirty drugs* bezeichnet (*Pertz & Eich, 1999*). Nichtsdestotrotz oder gerade deswegen sind Ergoline interessant für chemische Modifikationen. Durch partialsynthetische Abwandlung konnte ihre Wirkung modifiziert werden. Heutzutage besitzen allerdings nur noch Ergometrin, Ergotamin und einige halbsynthetische Derivate (z.B. Bromocriptin, Dihydroergotamin, Lisurid und Pergolid) als Utero- und Venotonika, als Migränemittel, zur Linderung der M. Parkinson-Symptome und als Antigalaktogoga therapeutische Bedeutung.

Die Wirkung an unterschiedlichen Rezeptoren ist essentiell für ein klinisch wirksames atypisches AP. Dass sich ein Ergolin-Derivat als atypisches AP eignen könnte, ist aufgrund des breiten

Rezeptorbindungsprofils naheliegend. Die Eignung des mit Lisurid nahverwandten Tergurid wurde bereits präklinisch und klinisch getestet. Es wirkte in der klinischen Phase bei Negativ- aber nicht bei Positivsymptomen (*Olbrich & Schanz, 1988, 1991*). Als Ursache wird die intrinsische Aktivität am D_2R angeführt (*Natesan et al., 2011*), die verglichen mit ARI doppelt so hoch ist (43 vs. 20 %; *Tadori et al., 2005*). Bisher sind ARI, Brexpiprazol und Cariprazin die einzigen Partialagonisten, die die „optimale" intrinsische Aktivität am D_2R besitzen (s. I.2.1) und zur Therapie der SZ zugelassen sind (s. I.2.2.1).

Der Arbeitskreis von Prof. Pertz (Fachbereich Biologie, Chemie und Pharmazie; Institut für Pharmazie; Freie Universität Berlin) führte mit Tergurid, drei halogenierten Derivaten (2-Chlor-, 2-Iod- und 2-Bromtergurid (2-BT)) und ARI als Referenz-AP *in-vitro*-Untersuchungen durch (*Jantschak et al., 2013*), um die Aktivitäten an und die Affinitäten zu bestimmten Rezeptoren zu untersuchen. Die agonistische Potenz (als pEC_{50}) und die maximale Wirkungsstärke (intrinsische Aktivität; als E_{max} in %) wurden am präsynaptischen D_2R ($D_{2S}R$; s. I.2.2.1) mit einem [^{35}S]GTP$_\gamma$S-Bindungsassay sowie durch die Hemmung der Forskolin-induzierten cAMP-Akkumulation bestimmt. Insbesondere der letztgenannte Test ließ exakte Aussagen über die agonistische Potenz und die intrinsische Aktivität zu, da der Einfluss auf das *second-messenger*-System mitberücksichtigt wurde. Die Affinität zum postsynaptischen D_2R ($D_{2L}R$; s. I.2.2.1) wurde ebenfalls mit einer [^{35}S]GTP$_\gamma$S-Bindungsstudie bewertet. Weiterhin wurden funktionelle Tests (Organbadstudien) durchgeführt, um antagonistische Effekte am serotonergen 5-$HT_{2A}R$, adrenergen $\alpha_{2C}R$ und histaminergen H_1R zu bewerten. Anhand der nachfolgend vorgestellten Ergebnisse der *in-vitro*-Untersuchungen wurde beschlossen, dass von den drei untersuchten Derivaten 2-BT in ersten *in-vivo*-Untersuchungen näher charakterisiert werden soll. Die Ergebnisse der *in-vitro*-Studien zeigen nämlich, dass 2-BT ein $D_{2S}R$-Partialagonist mit antagonistischen Wirkungen am $D_{2L}R$, 5-$HT_{2A}R$ und $\alpha_{2C}R$ ist. Seine H_1R-antagonistischen Eigenschaften sind vernachlässigbar. Die Resultate dieser *in-vitro*-Studien hinsichtlich 2-BT, dessen Muttersubstanz Tergurid und des Referenz-AP ARI sind in Tabelle I.2.3 zusammengefasst und durch Angaben aus der Literatur ergänzt worden. Ferner wurden Literaturangaben über die AP Halo und Olanzapin (OLZ) hinzugefügt, die wie ARI in den durchgeführten *in-vivo*-Studien (s. I.3.3.1 - 3.3.5) als Referenz eingesetzt wurden.

In den durchgeführten *in-vitro*-Untersuchungen zeigten die Muttersubstanz Tergurid und ARI die gleichen dopaminergen Eigenschaften wie 2-BT ($D_{2S}R$-Partialagonismus und $D_{2L}R$-Antagonismus). Hervorzuheben ist, dass 2-BT scheinbar eine mit ARI vergleichbare und somit „optimale" intrinsische Aktivität am D_2R besitzt (28 bzw. 29 %; s. oben), die nur halb so hoch ist wie die des Tergurids (57 %). Die Aussagen über die Wirkungen von ARI an den D_2R-Isoformen werden durch die Angaben aus der Literatur bestätigt, wobei einige Quellen auch eine partialagonistische $D_{2L}R$-Aktivität des ARI nachweisen konnten (zusammengefasst in *de Bartolomeis et al., 2015*). Es ist jedoch möglich, die unterschiedlichen Befunde miteinander zu vereinbaren. Da die intrinsische Aktivität von ARI recht klein ist (20 bzw. 28 %; *Tadori et al., 2009; Tadori et al., 2005*) und nur bei geringen Konzentrationen des endogenen Liganden nachweisbar ist, kann ein Partialagonismus versuchsbedingt wie ein Antagonismus erscheinen. Aus unseren Organbadstudien ging hervor, dass neben 2-BT (s. oben) auch Tergurid mit hoher Affinität an den 5-$HT_{2A}R$ und den $\alpha_{2C}R$ bindet, wohingegen die Affinität zum H_1R vernachlässigbar ist. Die Untersuchung zum 5-$HT_{2A}R$-Antagonismus zeigte, dass der Maximaleffekt des eingesetzten Agonisten (5-HT) durch 2-BT und Tergurid gemindert wurde, weshalb angenommen wird, dass beide Ergoline unüberwindbare (*insurmountable*) bzw. nicht-kompetitive 5-$HT_{2A}R$-Antagonisten sind. Verglichen mit 2-BT und Tergurid besitzt ARI eine geringere Affinität zum 5-$HT_{2A}R$ und $\alpha_{2C}R$ und eine höhere H_1R-

Affinität. Die *in-vitro*-Untersuchung hinsichtlich der Eigenschaften am 5-HT_{1A}R wies keine Affinität für 2-BT nach (unveröffentlichte Daten), während ARI als Partialagonist wirkt (*Stark et al., 2007*).

Der Vergleich zeigt, dass 2-BT und ARI ähnliche dopaminerge Eigenschaften besitzen, es jedoch Unterschiede hinsichtlich der Eigenschaften an nicht-dopaminergen Rezeptoren gibt, die eine wichtige Rolle für ein gutes klinisches Wirkprofil haben sollen.

Tabelle I.2.3: Ermittelte pharmakodynamische Eigenschaften von 2-Bromtergurid, der Muttersubstanz Tergurid und ausgewählten Antipsychotika.
Die Bewertung der Affinität erfolgte auf Grundlage der veröffentlichten Ki-Werte (http://pdsp.med.unc.edu; *Jantschak et al., 2013*): „hoch“: K_I < 10 nM; „moderat“: 10 nM ≤ K_I < 100 nM, „schwach“: 100 nM ≤ K_I < 1000 nM, „nicht relevant“: K_I ≥ 1000 nM.
Die pharmakodynamischen Einstufungen wurden aus den zitierten Veröffentlichungen übernommen.

Rezeptor	2-Bromtergurid	Tergurid	Aripiprazol	Olanzapin	Haloperidol
D_2	• Hohe Affinität • D_{2S}R-Partialagonist, D_{2L}R-Antagonist[1]	• Hohe Affinität • D_{2S}R-Partialagonist, D_{2L}R-Antagonist[1] bzw. -Partialagonist[3]	• Hohe Affinität • D_{2S}R-Partialagonist[1,3] bzw. -Antagonist[4], D_{2L}R-Partialagonist[3]	• Moderate Affinität • D_{2S}R- / D_{2L}R-Antagonist[3,8]	• Hohe Affinität • D_{2S}R- / D_{2L}R-Antagonist[3,8]
5-HT_{1A}	• keine Affinität (unveröffentlichte Daten)	• Hohe Affinität • Antagonist[2]	• Hohe Affinität • Partialagonist[5,6] bzw. Agonist[7]	• Affinität nicht relevant	• Affinität nicht relevant
5-HT_{2A}	• Hohe Affinität • Antagonist[1]	• Hohe Affinität • Antagonist[1]	• Moderate Affinität • Partialagonist[6,7] bzw. Antagonist[1]	• Hohe Affinität • Antagonist[8]	• Moderate Affinität • Antagonist[8]
5-HT_{2C}	• Nicht verfügbar	• Moderate Affinität • Antagonist[2]	• Moderate Affinität • Partialagonist[6]	• Moderate Affinität • Antagonist[8] bzw. inverser Agonist[9]	• Affinität nicht relevant[2]
α_{2C}	• Hohe Affinität • Antagonist[1]	• Hohe Affinität • Antagonist[1,2]	• Moderate Affinität • Antagonist[4]	• Moderate Affinität	• Schwache Affinität[8] • Antagonist[8]
H_1	• Affinität nicht relevant	• Schwache Affinität • Antagonist[1,2]	• Moderate Affinität • Antagonist[6]	• Hohe Affinität • Antagonist[8,9]	• Affinität nicht relevant

Referenzen:
[1]*Jantschak et al., 2013*; [2]http://pdsp.med.unc.edu; [3]*Tadori et al., 2005*; [4]*de Bartolomeis et al., 2015*; [5]*Jordan et al., 2002*; [6]*Shapiro et al., 2003*; [7]*Stark et al., 2007*; [8]*Stahl, 2013*; [9] *Kroeze et al., 2003*

3. Tierexperimentelle Untersuchungen

3.1 Allgemeine Einleitung zu Tiermodellen, Testsystemen und Validitäten

Da physiologische Systeme anatomisch homolog und funktionell analog sein können, werden Tiermodelle und Tierexperimente in der Forschung genutzt, um Krankheiten, Krankheitssymptome oder krankheitsähnliche Zustände in Tieren abzubilden. Anhand der Versuchsergebnisse können Erkenntnisse über eine Krankheit abgeleitet werden. Man muss jedoch zwischen Modellen und Versuchen klar unterscheiden: Im Bereich der Verhaltens-/Neurowissenschaften sind Tiermodelle lebende Organismen, die genutzt werden, um die Beziehungen zwischen Gehirn und Verhalten zu untersuchen. Durch Einsatz von Tiermodellen möchte man Einblick in diese Beziehung erhalten, um anschließend Vorhersagen für den Menschen bzw. Prognosen für dieselbe Spezies unter anderen Bedingungen zu ermöglichen. Der Test bzw. das Tierexperiment ist hingegen der Vorgang, durch den die Beobachtungen gemacht werden (*van der Staay, 2006*). In den Verhaltens-/Neurowissenschaften gibt es zwei Gruppen von Tiermodellen: „normale“ Tiere und solche mit Verhaltensstörungen, die entweder natürlich auftreten oder experimentell induziert wurden. Experimentelle Defizite können durch molekularbiologische Techniken, selektive Zucht oder verschiedene Läsionsarten generiert werden. Störungen können auch elektrisch, pharmakologisch oder durch Hypoxie/Anoxie herbeigeführt werden. Zu den verfügbaren Krankheitsmodellen zählen u.a. Tiermodelle mit zerebraler Ischämie oder hämorrhagischem Schlaganfall (*Gamzu, 1985; van der Staay, 2006*).

Die Validität eines Modells wird anhand folgender Kriterien bewertet (die Bewertung eines Test erfolgt in analoger Weise): 1) Die Konstruktvalidität (*construct validity*) ist eine theoretische Größe, die beschreibt, inwieweit die theoretisch relevanten, kausalen Mechanismen bzw. Zustände nachgebildet wurden. Wird in einem Modell ein Zustand auf eine Weise nachgebildet, die theoretisch genauso beim Menschen stattfindet, besitzt das Modell hohe Konstruktvalidität (*Lubow, 2005; van der Staay, 2006; Wadenberg, 2010*). 2) Die Augenschein- oder phänomenologische Validität (*face* bzw. *phenomenological validity*) beschreibt den Grad der Isomorphie zwischen Modell und dem Zustand bzw. Prozess, der nachgebildet wurde. Führt die Substanzgabe bei Tier und Menschen zu ähnlichem Verhalten, wird von einer hohen phänomenologischen Validität gesprochen (*van der Staay, 2006; Wong & Josselyn, 2015*). 3) Die prädiktive Validität (*predictive validity*) ist eine empirische Größe, die beschreibt, inwieweit die erhaltene Aussage auf den nachgebildeten Zustand bzw. Prozess übertragen werden kann. Treffen die Aussagen eines Tiermodells auf den Menschen zu, besitzt das Modell eine hohe prädiktive Validität (*van der Staay, 2006; Wadenberg, 2010)*. In Hinblick auf pharmakologische Studien beschreibt die prädiktive Validität auch, wie gut die Wirkungen bestimmter Pharmaka durch das Modell vorhergesagt werden können. Die Wichtigkeit der Kriterien wird wie folgt geordnet (*Van der Staay, 2006*): *construct validity* > *predictive validity* > *face validity.* Daher ist es nachvollziehbar, dass die eingesetzten Modelle bzw. Tests eine Relevanz für die Forschung haben, obwohl sie nicht alle drei Kriterien erfüllen.

Tiermodelle eignen sich für die Untersuchung der verschiedenen Erkrankungen unterschiedlich gut. Bei einer heterogenen und komplexen Erkrankung wie der SZ, ist es unrealistisch zu erwarten, dass ein einziges Modell die Erkrankung ganzheitlich darstellen kann. Da die SZ eher eine heterogene Ansammlung einzelner Subtypen mit distinkten Ursachen und Symptomen ist (*Wong & Josselyn, 2015*), werden in der Forschung gelegentlich Endophänotypen genutzt, Charakteristiken des zu untersuchenden Phänotyps. Endophänotypen können das Verhalten, die Physiologie, die Biochemie, die Endokrinologie

oder die Neuroanatomie betreffen. Unter Studienbedingungen vermitteln sie die Wirkung der Genprodukte auf den Phänotyp und sind somit „näher an den Genen“ als der zu untersuchende Phänotyp (*Bailey et al., 2000; de Geus, 2002; Gottesman & Gould, 2003; Gould & Gottesman, 2006*). Aufgrund der Quantifizierbarkeit sind sie besser für das wissenschaftliche Arbeiten geeignet (*Braff, 2015; Wong & Josselyn, 2015*) und z.T. auch die einzige Möglichkeit für translationale Forschung. Allerdings beruhen nicht alle genutzten Tiermodelle und –experimente auf tieferliegenden Endophänotypen. Viele Modelle/Experimente werden eher aufgrund offensichtlicherer Verknüpfungen eingesetzt.

Für die SZ-Forschung gibt es verschiedene etablierte Testsysteme und Modelle, die genutzt werden, um bestimmte Aspekte zu untersuchen oder neue Thesen zu prüfen. Wenn man erste präklinische Tests mit einem neuen, potentiellen AP durchführen will, müssen folgende Bereiche untersucht werden: 1. Das *in-vivo*-Rezeptorbindungsprofil und allgemeine Rezeptorwirkungen: Hierfür bieten sich neben dem *open field test* (allgemeine Wirkungen; s. I.3.2.1), den *wet dog shakes test* (*WDS*; 5-HT_{2A}R-Antagonismus; s. I.3.2.2) und der Apomorphin-induzierten Hypolokomotion (D_{2S}R-Wirkung; s. I.3.2.3) auch die *lower lip retraction* bzw. das *forepaw treading* an (5-HT_{1A}R-Antagonismus; *Porsolt et al., 2010*). 2. Das antipsychotische Potential und die Wirksamkeit gegen die Positivsymptome: Häufig eingesetzte Tests sind der AIL- (Amphetamin-induzierte Lokomotion s. I.3.3.2) und der *CAR test* (*conditioned avoidance response test*; s. I.3.3.3) sowie die Untersuchung des Einflusses auf eine Hyperaktivität oder Stereotypien nach Gabe eines NMDAR-Antagonisten. Die beiden letzten Tests können typische von atypischen AP differenzieren (*Porsolt et al., 2010*). 3. Die Wirksamkeit gegen Negativsymptome und kognitive Defizite: Zur Bewertung der entsprechenden Wirkung werden häufig die Präpulsinhibition der akustisch ausgelösten Schreckreaktion (der Endophänotyp sensomotorische Informationsfilterung), der *social interaction test* (sozialer Rückzug), der *Morris water maze test* (Gedächtnis und Orientierung) und der *novel object recognition test* eingesetzt (Gedächtnis). Mit dem subchronischen PCP-Modell kann die Wirkung einer Substanz auf die Negativsymptome und kognitiven Defizite in Nagern untersucht werden (*Neill et al., 2013*). 4. Das UAW-Profil der Substanz: Es wird häufig bewertet, ob ein (potentielles) AP EPS verursacht (s. I.3.3.1) oder metabolische Parameter wie die Nahrungsaufnahme, die Körpermasse oder die Körperfettzusammensetzung verändert (s. I.3.3.5). Da sowohl die antipsychotische Wirksamkeit als auch das Hervorrufen von EPS mit der neuronalen Aktivität in bestimmten ZNS-Areal verbunden sind, kann zur Bewertung auch die semi-/quantitative Bestimmung eines Aktivitätsmarkers genutzt werden (c-fos; s. I.3.3.4).

In den nachfolgenden Kapiteln werden die Testmethoden und ggf. Tiermodelle detailliert vorgestellt, die während des praktischen Teils dieses Promotionsvorhabens durchgeführt und genutzt wurden.

3.2 Verhaltenspharmakologische Untersuchungen nach akuter Gabe von 2-Bromtergruid

3.2.1 *Open field test*

Im *open field test* können Änderungen des motorischen, emotionalen und explorativen Verhaltens der Versuchstiere untersucht und bewertet werden. Nach Konfrontation eines Tiers mit einer neuen, stressauslösenden Umgebung können verschiedene Verhaltensweisen initiiert werden. Das Spektrum reicht von einem starken Explorationsdrang und hoher motorischer Aktivität bis zum dauerhaften ängstlichen Verweilen in einer Ecke. Das gezeigte Verhalten resultiert aus dem Zusammenspiel

verschiedener innerer und äußerer Motivatoren. Da der Test unspezifische Effekte auf die Psychomotorik widerspiegelt, wird er für unterschiedliche Fragestellungen in der pharmakologischen und biopsychologischen Forschung genutzt. Wenn unbehandelte („naive“) Ratten mit einer neuen Umgebung konfrontiert werden, besitzen sie eine höhere motorische Aktivität als Ratten, die an die Umgebung habituiert sind (*Hooks & Kalivas, 1995*). Da Nager dazu neigen die Peripherie einer Versuchsbox dem Zentrum vorzuziehen und an den Wänden entlang zu laufen (Thigmotaxis), können Eintritte ins Zentrum bzw. das dortige Verweilen zur Bewertung des Angstverhaltens genutzt werden (*Prut & Belzung, 2003*). Das Putzverhalten, ein weiterer Teil des Spontanverhaltens, wird als Ausdruck der Anpassung an eine stressauslösende Umgebung gedeutet. Vermehrtes Putzverhalten korreliert mit Angst und verstärkten emotionalen Reaktionen (*Archer, 1973; Kametani, 1988*). Mit dem *open field test* kann daher untersucht werden, ob eine Substanz sedierend wirkt, oder ob sie das Angstverhalten bzw. die motorische Aktivität beeinflusst (*Prut & Belzung, 2003; Semba et al., 1995*).

Die Effekte können über eine indirekte und/oder direkte Beeinflussung des motorischen Systems erklärt werden. Hervorzuheben ist hierbei der NAc im ventralen Striatum. Der NAc besteht zu 90 - 95 % aus inhibitorischen, *GABA*ergen *medium spiny neurons* und erhält aus verschiedenen Arealen des ZNS dopaminerge, serotonerge und glutamaterge Afferenzen (*Koch, 1999; Nicola et al., 2000*). Der NAc moduliert die Motorik durch Innervation der Basalganglien und ist somit ein Bindeglied zwischen den Basalganglien und den ZNS-Gebieten, die an unzähligen emotionalen, motorischen und kognitiven Prozessen beteiligt sind (u.a. Neokortex, limbisches System und Hirnstamm). Mit anderen Worten, er hilft bei der Umsetzung verschiedener endogener und exogener Reize in Bewegung (*Mogenson et al., 1980*). Die Basalganglien können auch unter Umgehung des NAc beeinflusst werden. Das dorsale Striatum und die Subthalamuskerne, zwei Strukturen der Basalganglien, erhalten direkten glutamaterge Afferenzen aus kortikalen Strukturen (*Wolgin, 2012*). Daher können pharmakologisch aktive Substanzen die eingehenden kortikalen und limbischen Signale bzw. die Umwandlung im NAc *per se* modulieren. Die motorische Aktivität kann durch dopaminerge oder sedierende Substanzen beeinflusst werden (*Semba et al., 1995*), das Angstverhalten durch serotonerg bzw. *GABA*erg wirkende Substanzen (*Prut & Belzung, 2003*). Der *open field test* ist daher ein geeigneter Test, um erste Erkenntnisse über Effekte auf das Angstverhalten und die Motorik sowie über sedierende Substanzeffekte zu erhalten. Es ist jedoch notwendig, Nachfolgeuntersuchungen anzuschließen, mit denen die Ursache des veränderten Verhaltens differenzierter untersucht werden kann.

3.2.2 *Wet dog shakes test*

Aufgrund ihres 5-HT_{2A}R-Agonismus modulieren Halluzinogene wie LSD, DOI oder DOB die Aktivität verschiedener Gehirnareale. Die Gabe von DOI (2,5-Dimethoxy-4-iodamphetamin) führt zu charakteristischen *wet dog shakes* (*WDS*), einem simultanen Schütteln der Kopf-, Nacken- und Rumpfmuskulatur (*Bedard & Pycock, 1977*). Dieser Effekt kann durch AP mit einem relevanten 5-HT_{2A}R-Antagonismus beeinflusst werden (*Celada et al., 2008*). Das *in-vivo*-Rezeptorbindungsprofil einer gegebenen Substanz kann so bewertet werden: Erhöht sich die Zahl der *WDS*, wirkt die Substanz agonistisch am 5-HT_{2A}R. Verringert sich jedoch die Anzahl, ist die Substanz ein (funktioneller) 5-HT_{2A}R-Antagonist. Anhand der quantitativen Änderung kann in Relation zu den Effekten der Referenzsubstanzen der Grad des Antagonismus bzw. Agonismus differenzierter dargestellt werden.

Viele atypische AP lösen einen Teil ihrer Wirkung über den 5-HT_{1A}R und 5-HT_{2A}R aus (s. I.2.1). Beide 5-HTR kommen im PFC auf Pyramidenzellen und *GABA*ergen Interneuronen vor und vermitteln dort konträre Wirkungen. Die gegensätzlichen Wirkungen spielen eine Rolle bei der Kontrolle der DA-Freisetzung in subkortikalen und kortikalen Bereichen. Die Neurone im VTA, in den Raphé-Kernen und im NAc werden durch einen 5-HT_{2A}R-abhängigen Mechanismus moduliert. Die 5-HT_{2A}R-exprimierenden Pyramidenzellen projizieren zum VTA und NAc und bilden dort Synapsen mit dopaminergen und *GABA*ergen Neuronen (*Carr & Sesack, 2000; Gabbott et al., 2005; Mocci et al., 2014; Sesack et al., 1989*). Die systemische und direkte Applikation des 5-HT_{2A}R-Agonisten DOI in den mPFC erhöhte bei Nagern das *burst firing* der zentralen DA-Neurone und die DA-Freisetzung im mPFC und VTA, aber nicht im NAc (*Bortolozzi et al., 2005; Bortolozzi et al., 2010; Mocci et al., 2014*). Es existieren daher vermutlich gegenläufige neuronale Verbindungen zwischen dem mPFC und den mesokortikalen DA-Neuronen des VTA, aber nicht zwischen dem mPFC und dem mesolimbischem DA-System (*Carr & Sesack, 2000; Mocci et al., 2014*). Interessanterweise erhöhte die Injektion von DOI in den mPFC auch die Glu-Konzentration lokal und im NAc. Vermutlich hat die Erregung der *medium spiny neurons* im NAc einen indirekten und/oder direkten inhibitorischen Einfluss auf die *output*-Kerne der Basalganglien (*Gerfen, 2000; Schmidt & Kretschmer, 1997*).

An dieser Stelle kann nicht genau eruiert werden, durch die Beeinflussung welches Gehirnareals die *WDS* vermittelt werden. Der *WDS test* wird präklinisch eingesetzt, um die Eigenschaften einer Substanz am 5-HT_{2A}R *in vivo* zu überprüfen, und nicht um dessen Wirkung auf nachgebildete Symptome der SZ bzw. auf einen krankheitsähnlichen Zustand zu untersuchen.

3.2.3 Apomorphin-induzierte Hypolokomotion

Es wird vermutet, dass bei der SZ Anomalien des präsynaptischen DA-Systems zu einer verminderten DA-Verfügbarkeit führen können (*Howes et al., 2015*). Eine differenzierte Betrachtung der Aktivitäten eines (potentiellen) AP an den D_2R-Isoformen ist daher notwendig. DA und andere D_2R-Agonisten besitzen eine zehnfach höhere Affinität zum präsynaptischen D_{2S}R als zum postsynaptischen D_{2L}R (*Roth, 1979*). Nach Gabe des $D_{2/3}$R-Agonisten Apomorphin (APO) in niedriger Dosierung zeigen Nager häufig ein Gähnverhalten und penile Erektionen, ferner können Hypolokomotion und Hypothermie beobachtet werden. Höhere APO-Dosierungen führen dagegen zu einer Hyperlokomotion (*Moller, 2003; Sanna et al., 2012*). Studien mit genetisch veränderten Mäusen zeigten, dass der D_2R für die Hypolokomotion und Hypothermie mitverantwortlich ist. Die penile Erektion und das Gähnverhalten wird hingegen über den D_3R vermittelt (*Boulay et al. (1999a; Boulay et al., 1999b*). Pharmakologische Studien mit selektiven Agonisten bzw. Antagonisten am D_2R bzw. D_3R bestätigten die Ergebnisse (*Chaperon et al., 2003; Collins et al., 2007; Collins et al., 2005*). Die APO-induzierte Hypolokomotion kann daher genutzt werden, um die Wirkungen einer Substanz am D_{2S}R zu bewerten.

Der NAc bündelt die eingehenden Signale aus den verschiedenen ZNS-Arealen und leitet sie *GABA*erg an die Basalganglien weiter (s. I.3.2.1). Auf diesem Weg kann der NAc modulierend auf die Prozesse in den Basalganglien wirken. Mikroinjektionsstudien zeigten, dass die Gabe von niedrig dosiertem APO in den NAc die horizontale und vertikale lokomotorische Aktivität reduzierte (*Van Ree & Wolterink, 1981*) sowie die Effekte einer Dexamphetamin-Gabe (s. I.3.3.2) abschwächte. Wurden die mesolimbischen DA-Neurone zuvor neurotoxisch zerstört, konnte der Effekt nicht mehr festgestellt werden (*Costall et al., 1980*). Dieselbe Arbeitsgruppe zeigte auch, dass die alleinige hoch dosierte APO-

Gabe und die Kombination mit Halo den Effekt der geringen APO-Dosierung nivellierten. Daher wird der reduzierende Effekt vermutlich über den $D_{2S}R$ vermittelt, der auf den Neuronen des mesolimbischen DA-Systems exprimiert ist. Da niedrig dosiertes APO bevorzugt an den $D_{2S}R$ bindet (*Roth, 1979*), werden die synaptische Verfügbarkeit des DA und nachfolgend die Signalweiterleitung über den $D_{2L}R$ verringert. Hoch dosiert bindet APO zusätzlich an den $D_{2L}R$ und verstärkt die DA-Signaltransmission wieder (*Andersen & Jansen, 1990; Braga et al., 2009; Irifune et al., 1995; Kebabian & Calne, 1979*). Der NAc besteht v.a. aus *medium spiny neurons* (s. I.3.2.1). Die Bindung von DA oder D_2R-Agonisten an den hemmenden $D_{2L}R$ auf den *medium spiny neurons* reduziert den hemmenden Einfluss der *medium spiny neurons* und führt so zu einer Enthemmung der nachgeschalteten Basalganglien, die sich als Hyperlokomotion äußern kann (s. AIL; s. I.3.2.2). Die APO-vermittelte $D_{2S}R$-Aktivierung senkt die synaptische Verfügbarkeit des DA, wodurch die nachgeschalteten DA-Neurone weniger aktiviert werden und eine Hypolokomotion resultiert (*Braga et al., 2009; Carey et al., 2004*).

3.3 Prüfung auf gewünschte und unerwünschte Antipsychotika-Wirkungen

3.3.1 Katalepsie-Tests

Extrapyramidal-motorische Störungen (EPS) können durch einen D_2R-Antagonismus ausgelöst und als Bradykinesien verstanden werden, die mit Muskelrigidität, Tremor, Dyskinesie und einer instabilen Körperhaltung assoziiert sein können (*Friedman, 2014; Hughes et al., 1992; Samii et al., 2004*). Die EPS sind charakteristische UAW der Therapie mit typischen AP. Die atypischen AP führen i.A. seltener und zu schwächeren EPS. Die klinische Inzidenz ist nach Gabe von CLZ, OLZ, ARI und Quetiapin sogar auf dem Niveau der Placebo-Gabe (*Grunder et al., 2009; Leucht et al., 2013*). Der Beginn des kataleptischen Verhaltens korreliert bei den meisten AP mit einer Besetzung der striatalen D_2R > 80 % (*Wadenberg et al., 2001b*). Daher kann der Katalepsie-Test verwendet werden, um zu prüfen, ob eine Substanz kataleptisches Verhalten hervorruft, das präklinische Äquivalent zu EPS (*Ahlenius & Hillegaart, 1986; Wadenberg et al., 2001b*). Überschreitet die Latenz bis zur Initiierung einer Bewegung in den Katalepsie-Tests eine gewisse Schwelle, deutet das daraufhin, dass das nigrostriatale DA-System in einem relevanten Umfang gehemmt wird. Ein kataleptisches Verhalten spricht für das Hervorrufen von EPS während der klinischen Behandlung der SZ.

Bei der Steuerung der Motorik spielen die Basalganglien eine essentielle Rolle. Die menschlichen Basalganglien setzten sich aus den *input*-Kernen, den *output*-Kernen und den intrinsischen Kernen zusammen (*Wolgin, 2012*; s. Abb. I.3.3.1). Zu den *input*-Kernen werden das dorsale Striatum (Nucleus caudatus und Putamen) und die Subthalamuskerne gezählt. Diese Kerne erhalten Signale aus dem Kortex und dem Thalamus. Die *output*-Kerne, der Globulus pallidus internus und die Substantia nigra pars reticulata (bei Ratten der entopedunkuläre Nucleus), senden Signale zum Hirnstamm und dem Thalamus. Die intrinsischen Kerne Substantia nigra pars compacta und Globulus pallidus externus dienen der Signalübertragung innerhalb der Basalganglien. Zudem empfängt das dorsale Striatum direkt oder auch indirekt über den NAc Signale aus anderen Hirnarealen. Dadurch werden z.B. limbische Signale (u.a. Emotionen und Gefühle) sowie dopaminerge und serotonerge Afferenzen des VTA bzw. der Raphé-Kerne in die Verhaltensplanung involviert (s. Abb. I.3.3.1). Somit erhalten die Basalganglien eine über die Motorik hinausgehende Bedeutung. Das dorsale Striatum besteht zu 90 - 95 % aus *GABA*ergen *medium spiny neurons*. Die afferenten Signale aus allen Gehirnbereichen konvergieren im dorsalen Striatum und werden als hemmendes Nettosignal an andere Kerne der Basalganglien weitergeleitet

(*Nicola et al., 2000*), wo das Signal auf drei verschiedene Wege verarbeitet werden kann (*Wolgin, 2012*). Die Wege werden nun exemplarisch für die Motorik beschrieben (s. Abb. I.3.3.1): 1. Die kortikalen, exzitatorischen Glu-Signale werden im dorsalen Striatum als hemmendes *GABA*erges Signal an die *output*-Kerne weitergeleitet (Substantia nigra pars reticulata und Globulus pallidus internus). Die Substantia nigra pars reticulata und der Globulus pallidus internus senden tonische *GABA*erge Signale an den Thalamus. Werden die *output*-Kerne nun infolge des striatalen Signals gehemmt, wird die Hemmung des Thalamus aufgehoben (Disinhibition) und Motorik wird initiiert (direkter Weg). 2. Das kortikale Signal kann im dorsalen Striatum auch als hemmendes Signal an den Globulus pallidus externus weiter geleitet werden und so die *GABA*erge Hemmung der Subthalamuskerne reduzieren. Die resultierende glutamaterge Aktivierung der Substantia nigra pars reticulata und des Globulus pallidus internus erhöht den tonisch-hemmenden Einfluss auf den Thalamus und führt letztendlich zu einer Unterdrückung der Motorik (indirekter Weg). 3. Das kortikale Signal kann die Subthalamuskerne auch direkt aktivieren. Die nachfolgende, verstärkte Aktivierung der *output*-Kerne erhöht die Hemmung des Thalamus und erschwert so die Initiierung der Motorik (hyperdirekter Weg; s. Abb. I.3.3.1). Die von der Substantia nigra pars compacta zum dorsalen Striatum verlaufenden DA-Neurone ermöglichen eine Beeinflussung des direkten und indirekten Wegs innerhalb der Basalganglien. Für den direkten und indirekten Weg existieren verschiedene Populationen von *medium spiny neurons*, striatonigrale und striatopallidale Projektionsneurone. Die striatonigralen Projektionsneurone exprimieren neben D_1R auch Muskarin-Rezeptoren, z.B. den exzitatorischen M_1R und inhibitorischen M_4R. Die striatopallidalen Projektionsneurone exprimieren neben D_2R auch M_1R (*Gerfen, 1992; Ince et al., 1997; Kreitzer, 2009; Nicola et al., 2000; Schmidt, 2000b*). Nach Gabe eines D_2R-Antagonisten kommt es durch den fehlenden inhibitorischen Einfluss der D_2R-Blockade zu einer verstärkten Aktivierung des indirekten Wegs und somit zu einer verstärkten Hemmung der Motorik.

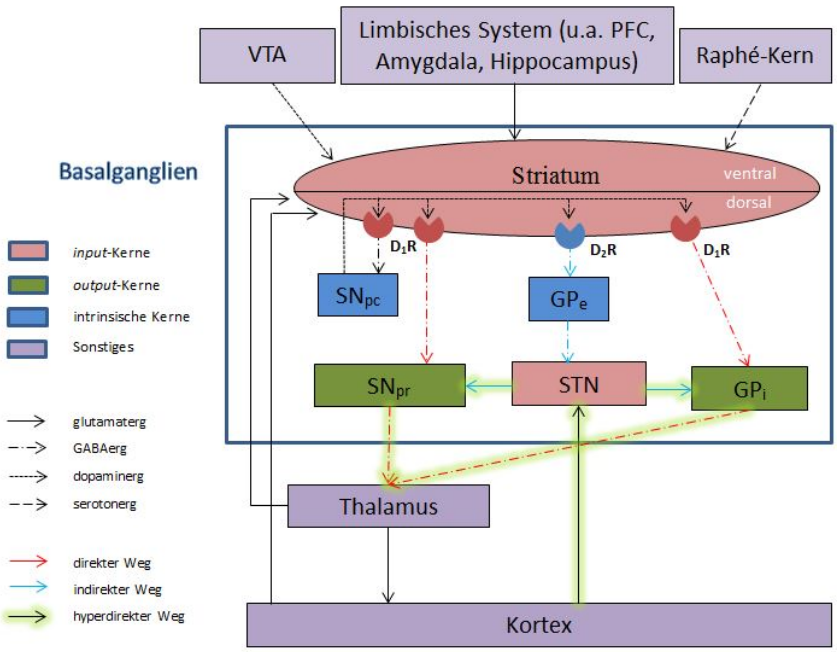

Abb. I.3.3.1: Vereinfachter funktionell-anatomischer Aufbau der neuronalen Kreisläufe zwischen Basalganglien und anderen Hirnarealen (u.a. Kortex, Limbischen System, Hirnstamm und Thalamus; nach *Koch et al., 1998; Schmidt, 2000a; Wolgin, 2012*. GP_e bzw.. GP_i: Globulus pallidus externus bzw. internus; PFC: Präfrontalkortex; SN_{pc} bzw. SN_{pr}: Substantia nigra pars compacta bzw. pars reticulata; STN: Subthalamus-Kerne; VTA: ventrales tegmentales Areal

3.3.2 Amphetamin-induzierte Lokomotion und Stereotypien

Durch Gabe eines DA-Rezeptoragonisten wie AMPH, Kokain oder APO kann die dopaminerge Aktivität u.a. in subkortikalen Bereichen erhöht werden. Bei Nicht-Schizophrenen können dadurch psychotische Symptome auftreten, während sich bei einem Schizophrenen die Positivsymptomatik verschlimmern kann (*Howes & Kapur, 2009*; *Koch, 2006*). Gemäß der DA-Hypothese der SZ (s. I.2.2.3) ist eine erhöhte subkortikale Aktivität der DA-Neurone mitverantwortlich für die Positivsymptome (s. I.2.2.3; *Howes & Kapur, 2009; Porsolt et al., 2010*). Die moderate Dosis eines DA-Agonisten führt in Nagern zu einer Hyperlokomotion (AIL), während eine hohe Dosis Stereotypien verursacht (AIS). Obwohl die Bewegungskontrolle komplex und multifaktoriell ist, gibt es für DA eine klar definierte Rolle. Es sind v.a. mesolimbische bzw. nigrostriatale DA-Bahnen involviert. Die Hyperlokomotion wird über mesolimbische $D_{2L}R$ vermittelt, Stereotypien dagegen über nigrostriatale (*Porsolt et al., 2010; van den Buuse, 2010*). Nach Substanzgabe kann überprüft werden, ob im gewählten Dosisbereich Effekte auf das mesolimbische (AIL-Test) bzw. das nigrostriatale DA-System (AIS-Test) vermittelt werden. D_2R-Antagonisten können die $D_{2L}R$-Aktivierung im NAc vermindern (AIL-Test) bzw. die Hemmung konkurrierender motorischer Subsysteme verstärken (AIS-Test; s. Exkurs 1), wodurch sich die motorische Aktivität normalisiert bzw. sich stereotypes Verhalten abschwächt.

Der AIL-Test ist ein leicht durchführbarer und quantifizierbarer Test, bei dem Positivsymptome im Tier nachgebildet werden, um Substanzen auf antidopaminerge Wirkungen bzw. antipsychotisches Potential zu testen. Eine Läsionsstudie zeigte, dass die DA-Freisetzung in der NAc_{core}-Region essentiell für den AIL-Test ist (*Sellings & Clarke, 2003*). Da AMPH auch die Freisetzung von NA und 5-HT erhöht, kann der Einfluss anderer Transmittersysteme nicht ausgeschlossen werden (*van den Buuse, 2010*). Der AIS-Test ist ebenfalls ein Test aus der präklinischen SZ-Forschung, um das kataleptische Potential einer Substanz zu bewerten (*Porsolt et al., 2010*). Die induzierten Stereotypien zeichnen sich dabei durch unflexibles, sich wiederholendes Verhalten aus. Es können Bewegungen mit oder ohne erhöhter Aktivität auftreten, die einfach oder komplex sein können (motorische Stereotypien; z.B. Lecken, Schnüffeln, Aufrichten; *Canales & Graybiel, 2000; Setler et al., 1976*). Wie Läsionsstudien zeigten, werden die Stereotypien über das nigrostriatale DA-System vermittelt (*Arnt, 1985; Costall & Naylor, 1976; Creese & Iversen, 1972; Fibiger et al., 1973; Fog, 1972; Sharp et al., 1987*). Die wissenschaftlichen Grundlagen der AIS sind in Exkurs 1 detaillierter beschrieben. Die Ergebnisse des AIL-, AIS- und der Katalepsie-Tests (s. I.3.3.1) stellen das *in-vivo*-Wirkprofil von 2-BT differenziert für das mesolimbische und nigrostriatale DA-System dar und erlauben eine Beurteilung einer etwaigen selektiven Wirkung. Die Untersuchung der neuronalen Aktivität (c-fos) kann die Befunde der anderen drei Versuche untermauern, da hierbei die Aktivität in den verschiedenen ZNS-Arealen untersucht werden kann.

Im AIL-Test können auch nicht-dopaminerge Substanzen und AP mit geringer D_2R-Affinität die gewünschten Effekte zeigen (*Porsolt et al., 2010*). Daher werden die Effekte vermutlich nicht nur durch den $D_{2L}R$-Antagonismus allein vermittelt, sondern auch als synergistischer Effekt aus der Beeinflussung anderer Transmittersysteme. So konnte die Gabe der 5-HT-Vorstufe 5-Hydroxytryptophan die AIL abmildern, ohne die extrazelluläre DA-Konzentration im NAc zu verändern (*Baumann et al., 2011*).

Exkurs 1: Stereotypien und das Selektionsproblem

Eine Funktion der Basalganglien ist es auch, gemeinsam mit anderen ZNS-Arealen, ein adäquates Verhalten auszuwählen und konkurrierende Verhaltensmöglichkeiten zu unterdrücken (Selektionsproblem; *Wolgin, 2012*). Das Selektionsproblem wird über parallele neuronale Verbindungen zwischen dem Kortex und den Basalganglien geregelt (s. I.3.3.1 und Abb. I.3.3.1; *Wolgin, 2012*), die unterschiedliche Regionen verschiedener Hirnareale miteinander verknüpfen. Innerhalb der einzelnen Strukturen der Basalganglien nutzen sie voneinander unabhängige Zellpopulationen, wobei es jedoch Hinweise gibt, dass die einzelnen Netzwerke miteinander verbunden sind (*Haber et al., 2000; Joel & Weiner, 1994; Wolgin, 2012*). Die Selektion eines Verhaltens könnte wie folgt ablaufen: die *output*-Kerne (Globulus pallidus externus und Substantia nigra pars reticulata) der Basalganglien hemmen die kortikalen Subsysteme tonisch (s. Abb. I.3.3.1). Wenn ein Verhalten „gewählt" wird, werden die motorischen Subsysteme, die für die Ausführung des Verhaltens benötigt werden, durch Signale des direkten Wegs disinhibiert, während die konkurrierenden Subsysteme, die nicht benötigt werden, zusätzlich durch den indirekten und hyperdirekten Weg gehemmt werden (s. Abb. I.3.3.1; *Wolgin, 2012*). Die Gabe eines DA-Agonisten wie AMPH kann zu einer vermehrten DA-Freisetzung in den synaptischen Spalt und einer simultanen Aktivierung der D_1R und D_2R führen (s. Abb. I.3.3.1). Die gleichzeitige Aktivierung des direkten Weges (über D_1R-Aktivierung) und Hemmung des indirekten Weges (durch Aktivierung des D_2R) könnte dosisabhängig zu einer erheblichen Steigerung der motorischen Aktivität, einer schlechteren Selektion eines adäquaten Verhaltens und somit zum Auftreten stereotypen Verhaltens führen. Stereotypes Verhalten resultiert nämlich aus der simultanen Aktivierung unabhängiger motorischer Subsysteme, die laterale, vertikale und horizontale Bewegungen steuern (*Wolgin, 2012*).

3.3.3 *Conditioned avoidance response test*

Der *conditioned avoidance response (CAR) test* nutzt das von B.F. Skinner entwickelte Konzept der operanten Konditionierung (*Skinner, 1938*), das auf der klassischen Konditionierung nach Pavlov beruht (*Pavlov, 1927; Wadenberg, 2010*). Skinner berücksichtigte, dass die Wahrscheinlichkeit für das Auftreten eines Verhaltens durch Verstärkung (positiv und negativ) erhöht bzw. durch Bestrafung (Typ I und II) reduziert wird. Die am häufigsten genutzte Variante des *CAR tests* ist die *two way active avoidance* mit klar abgegrenzten Durchläufen (*trials*). Hierbei werden die Ratten so lange in Zwei-Kompartiment-Shuttleboxen trainiert, bis sie nach Präsentation des konditionierten Stimulus (*CS*) „Ton- und Lichtreiz" das Kompartiment wechseln. Ein erfolgreicher Kompartimentwechsel innerhalb einer bestimmten Latenz ist eine Vermeidungsreaktion (*avoidance*). Der bei ausbleibenden Wechseln als unkonditionierter Stimulus (*UCS)* eingesetzte negative Verstärker „elektrischer Fußreiz" erhöht in den nachfolgenden *trials* die Wahrscheinlichkeit eines rechtzeitigen Wechsels. Erfolgt der Wechsel nach Anwendung des *UCS*, spricht man von Flucht (*escape*). Gänzlich ausbleibende Wechsel sind Fluchtfehler (*failure; Wadenberg, 2010)*. Da alle klinisch wirksamen AP innerhalb eines bestimmten Dosisintervalls die *avoidance*-Rate verringern, ohne *failures* auszulösen (selektive Reduktion), wird der *CAR test* genutzt, um das antipsychotische Potential einer Substanz sicher und verlässlich zu untersuchen. Die bereits beschriebene Variante wird als standardisiert angesehen und liefert reproduzierbare Ergebnisse (*Wadenberg, 2010*).

Es gibt Theorien, die die Sensitivität des *CAR tests* erklären sollen (*Wadenberg, 2010*): 1. Der *CAR test* scheint, durch Einsatz negativer Verstärkung bestimmte psychologische und biologische Prozesse einzuschließen, die bei der paranoiden Psychose als Abwehr gegen aversive Erfahrungen (pathologisch) aktiv sind (*Moutoussis et al., 2007*). 2. Die Hemmung der zentralen DA-Transmission, v.a. der mesolimbischen Bahnen, durch AP könnte eine Veränderung der Motivation vermitteln, die ein äußerer Anreiz hervorrufen kann (*Li et al., 2004*). 3. Die Neigung verstärkt auf unbedeutende Umweltreize zu reagieren, ist ein wichtiger zugrunde liegender Mechanismus der Psychose (*Kapur, 2003*). Dieser Zustand kann durch D_2R-Agonisten nachgebildet werden (*Li et al., 2008*). Mithilfe des *CAR tests* kann z.B. der Einfluss einer Substanz auf diesen Zustand untersucht werden. Allen drei Theorien ist gemein, dass das DA-System und dessen Beeinflussung eine wichtige Rolle spielt.

Da ein Verhalten im *CAR test* v.a. von der DA-Transmission im NAc_{shell} abhängt (*Wadenberg, 2010*), wurde der Test anfänglich genutzt, um den D_2R-Antagonismus einer Verbindung nachzuweisen. Präklinisch korrelierte v.a. bei den typischen AP eine Besetzung der striatalen D_2R (65 - 80 %) mit einer selektiven Reduktion der *avoidance*-Rate. Höhere Besetzungen sind mit motorischen Störungen und *failures* assoziiert (*Wadenberg & Hicks, 1999; Wadenberg, 2010; Wadenberg et al., 2001b*). Das präklinische Dosisfenster korreliert mit den klinischen Dosen der verwendeten AP, bei denen die Patienten begannen, auf die Behandlung anzusprechen bzw. erste EPS zeigten (*Farde et al., 1992; Kapur et al., 2000*). Die atypischen AP und einige falsch-positive Substanzen sind z.T. nur moderate D_2R-Antagonisten und lösten eine Reduktion der *avoidance*-Rate schon bei einer Besetzung < 65 % aus (*Natesan et al., 2008; Wadenberg, 2010; Wadenberg & Hicks, 1999*). Der D_2R-Partialagonist ARI reduzierte die *avoidance*-Rate interessanterweise erst bei > 85 % Besetzung (*Natesan et al., 2006; Yokoi et al., 2002*). Neben einer D_2R-Blockade können auch andere Rezeptorwirkungen Einfluss auf das Verhalten im *CAR test* haben, wodurch sich das Dosisfenster für einige atypische AP verschiebt (*Natesan et al., 2006; Wadenberg, 2010*). Für den *CAR test* sind adrenerge, serotonerge, glutamaterge und nikotinerge Mechanismen hervorzuheben (*Wadenberg, 2010*).

Obwohl eine selektive Reduktion der *avoidance*-Rate bei ca. 25 - 33 % der Dosis beginnt, die nötig ist, um motorische Störungen zu induzieren, darf sie nicht als milde Katalepsie verstanden werden. Sie stellt einen eigenständigen Prozess dar, der stark von einer funktionsfähigen DA-Transmission im ventralen Striatum abhängt (*Wadenberg, 2010*). Dass 5-HT_{1A}R-Agonisten und Anticholinergika konträre Wirkungen im *CAR* und Katalepsie-Test zeigen (*Salamone et al., 1997; Wadenberg & Ahlenius, 1991; Wadenberg et al., 2001b*), unterstützt die Behauptung, dass die Effekte in den Katalepsie-Tests und im *CAR test* über Mechanismen vermittelt werden, die voneinander unabhängig sind.

3.3.4 Untersuchung der neuronalen Aktivität (c-fos)

Nach extrazellulärer Stimulation kann ein Neuron das Signal auf Nachbarneurone weiterleiten, ohne dass intrazelluläre Prozesse induziert werden. Durch Aktivierung bzw. Hemmung intrazellulärer Signalkaskaden kann es jedoch auch zu einer Veränderung der Genexpression kommen, was mittel- und langfristig eine funktionelle Veränderung des Neurons hervorruft. Eine Genexpression aus der *DNA* wird u.a. von Transkriptionsfaktoren reguliert. Diese Faktoren binden sequenzspezifisch an die jeweilige Promotorregion eines Gens und induzieren oder reprimieren dabei die Expression (*Herdegen & Leah, 1998*). *Immediate early genes (IEG)* sind Gene, die zeitnah nach einer extrazellulären Stimulation exprimiert werden, ohne dass Transkriptionsfaktoren zuvor neu transkribiert werden müssen. Aus den

IEG können neben Sekretionsproteinen (z.B. Zytokine und chemotaktische Stoffe) und zytoplasmatischen Enzymen (u.a. Phosphatasen) auch Transkriptionsfaktoren exprimiert werden, wie z.B. die Aktivatorproteine der Jun- (u.a. c-Jun und JunB) und Fos-Familie (u.a. c-fos und fosB) (*Herdegen & Leah, 1998*). In Abhängigkeit der Schreibweise bezieht man sich auf verschiedene Moleküle: *c-fos* ist das Gen, d.h. die *DNA/RNA*; c-fos ist das exprimierte Protein.

Neben physiologischen Stimuli beeinflussen auch xenobiotische Substanzen wie Arzneistoffe die *c-fos*-Induktion in den verschiedenen Hirnarealen (*Herdegen & Leah, 1998; Robertson et al., 1994*). Eine Veränderung der c-fos-Expression kann als molekularer Marker genutzt werden, um das Verhältnis von antagonistischen und agonistischen Wirkungen bei einer bestimmten Dosis widerzuspiegeln (*Natesan et al., 2011; Sumner et al., 2004*). Daher lassen sich anhand des c-fos-Expressionsmuster verschiedene Klassen von psychoaktiven Substanzen (AP, Antidepressiva, Anxiolytika und Psychostimulantien) unterscheiden und neue Wirksubstanzen identifizieren (*Sumner et al., 2004*). Die Variabilität innerhalb einer Klasse ist vermutlich durch die verschiedenen Wirkmechanismen und deren Nettoeffekte sowie durch die unterschiedliche Verteilung der Arzneistofftargets verursacht (*Sumner et al., 2004*). Im Fall der AP zeigen sich deutliche Unterschiede zwischen den c-fos-Expressionsmustern der typischen und denen der atypischen AP (*Robertson et al., 1994).* Das typische AP Halo verstärkte die c-fos-Expression im NAc (*core* und *shell*) und dorsolateralen Striatum, während die atypischen AP CLZ und Sulpirid eine *c-fos*-Induktion im NAc_{shell} und im mPFC, aber nicht im dorsalen Striatum hervorriefen (*Deutch et al., 1992; Dilts et al., 1993; Nguyen et al., 1992; Robertson & Fibiger, 1992; Robertson et al., 1994*). Daher kann der Effekt eines potentiellen AP auf die *c-fos*-Induktion im mPFC auch als Indiz gesehen werden, dass es wie ein atypisches AP wirken könnte. Obwohl die Verknüpfung zwischen expliziter Wirkung und *c-fos*-Induktion eher vage und spekulativ ist, können trotzdem Hinweise für oder gegen eine bestimmte Wirkung geliefert werden. Eine Aktivität im NAc_{shell} und im dorsalen Striatum korrelieren z.B. mit der antipsychotischen Wirksamkeit bzw. dem therapiebegleitender motorischer Störungen (*Robertson et al., 1994; Sumner et al., 2004*). Darüber hinaus ist eine Bestimmung der neuronalen Aktivität (c-fos) im NAc gemeinsam mit dem *CAR* und AIL-Test fähig, antipsychotisch wirksame D_2R-Partialagonisten von unwirksamen Verbindungen abzugrenzen (*Natesan et al., 2011*).

Exkurs 2: Entstehung und Effekte des c-fos

Eine Induktion des *c-fos* kann durch Beeinflussung verschiedener *second-messenger*-Systeme vermittelt werden. Dieser Exkurs soll eine kurze Einleitung darstellen und einen allgemeinen Überblick vermitteln:

Nach Bindung eines Neurotransmitters (*first messenger*) an einen membranständigen Rezeptor können verschiedene intrazelluläre Signalwege aktiviert oder gehemmt werden. Infolge einer Aktivierung können *second messenger* (cAMP, IP_3 und DAG) gebildet und die intrazelluläre Konzentration der Ca^{2+}-Ionen erhöht werden. Ca^{2+}-Ionen und cAMP dienen als Kofaktor bei der Aktivierung vieler Proteinkinasen. Die anschließende Phosphorylierung kann Transkriptionsfaktoren aktivieren, die die Proteinexpression aus *immediate early genes* (*IEG*) regulieren. c-fos ist ein konstitutiver und induzierbarer Transkriptionsfaktor, der aus einem *IEG* gebildet wird. Für die c-fos-Expression sind die Transkriptionsfaktoren *CREB* (*calcium response element binding protein*), *SIF (c-sis inducible factor*) und *SRF* (*serum response factor*) hervorzuheben (*Herdegen & Leah, 1998; Marinissen & Gutkind, 2001; Rosenbaum et al., 2009*). Auf der *DNA* binden das *CREB* an das *CRE* (*calcium response element*), *der SIF* an das *SIE (c-sis inducible element)* und das *SRF* an das *SRE (serum response element)* und leiten dadurch kontextabhängig gemeinsam oder unabhängig voneinander die c-fos-Expression ein (*Herdegen & Leah, 1998*).

Eine Feinregulation der c-fos-Expression kann durch c-fos selbst und c-fos-Heterodimere erfolgen (*Herdegen & Leah, 1998*). Ferner wirkt die Bindung eines Thyroid- oder Glucocorticoid-Rezeptors an eine *c-fos*-Promotorregion repressiv. Allerdings kann die repressive Wirkung der Rezeptorbindung durch Dimerisierung mit c-fos abgeschwächt werden (*Herdegen & Leah, 1998; Mocci et al., 2014*). Zudem können *DNA*-biegende Proteine (z.B. Yin-Yang 1-Protein) die Transkriptionsgeschwindigkeit beeinflussen. Die Aktivität des c-fos-Promotors und die Induzierbarkeit des Gens können so sichergestellt werden, obwohl die Stimulation schwankt und/oder von verschieden langer Dauer ist (*Herdegen & Leah, 1998*).

Nach der Expression ist c-fos an der Regulation der Genexpression beteiligt. Da es allerdings keine Homodimere bilden kann, dimerisiert es zeitnah nach seiner Expression mit Glucocorticoid-Rezeptoren und ATF-Proteinen. Als Heterodimer beeinflusst c-fos die Genexpression während der sensiblen, frühen Phase nach der Zellstimulation. Ferner kann c-fos mit Jun-Proteinen Aktivator-protein 1 (AP 1)-Proteine bilden. Da die Jun-Proteine langsamer exprimiert werden als c-fos, beeinflussen die AP 1-Proteine das Zellgeschehen erst mit leichter Verzögerung nach der Bildung des c-fos. Die AP 1-Proteine sind an wichtigen physiologischen Prozessen beteiligt, wie z.B. der Zellproliferation und –differenzierung sowie der Regulation der neoplastischen Transformation und der Apoptose (*Herdegen & Leah, 1998; Jurado et al., 2007; Sheng & Greenberg, 1990*).

Die Halbwertszeit ($t_{1/2}$) von c-fos liegt bei ca. 15 min. Ist der Degradationsmechanismus durch hohe c-fos-Konzentrationen saturiert, kann sich die $t_{1/2}$ auf 90 - 100 min erhöhen. Auch die Bindung an Jun-Proteine beeinflusst die $t_{1/2}$: bei geringen Assoziierungsgraden (20-30 %) sind es ca. 45 min; bei hohen Graden (> 90 %) 90 - 120 min (*Herdegen & Leah, 1998*)

3.3.5 Einfluss der chronischen Gabe von 2-Bromtergurid auf metabolische Parameter sowie auf das Verhalten im *open field* und den Katalepsie-Tests

Eine pharmakologische Behandlung mit AP kann bei Menschen eine Zunahme des viszeralen Fettgewebes und der Körpermasse (KM) bewirken (*Correll et al., 2011; Leucht et al., 2013; Lieberman et al., 2005; McEvoy et al., 2007)*. Vermehrtes viszerales Fett und Übergewicht sind Schlüsselfaktoren bei der Entwicklung bestimmter metabolischer Störungen. Mittel- und langfristig können sich das Risiko für Diabetes mellitus Typ II, Dyslipidämie und kardiovaskuläre Erkrankungen/Ereignisse erhöhen (*Coccurello & Moles, 2010; Correll et al., 2011; Davey et al., 2013; Sohn et al., 2015*). Daher sind die Therapie und der Patient selbst gefährdet (*Coccurello & Moles, 2010*). Durch chronische Behandlung kann bewertet werden, ob eine Substanz Einfluss auf metabolische Parameter wie die Nahrungsaufnahme, die Körpermasse (KM) und die Körperfettzusammensetzung hat.

Die KM-Zunahme nach AP-Gabe tritt am stärksten bei jüngeren und nicht-vorbehandelten Patienten auf (*Correll et al., 2011*). Obwohl berichtet wird, dass Frauen anfälliger für die iatrogene KM-Zunahme sind (*Homel et al., 2002*), ist nicht final geklärt, ob das Geschlecht eine prädiktive Größe ist, oder ob ein *confounder* (Störgröße) existiert (*Coccurello & Moles, 2010; Correll et al., 2011*). Der Einfluss der Ethnie ist widersprüchlich und hängt vom jeweiligen AP ab (*Allison et al., 1999; Coccurello & Moles, 2010; Correll et al., 2011*). Zudem spielen Komorbiditäten, Polypharmazie und der BMI-Wert zu Therapiebeginn eine Rolle (*Allison et al., 2009; Correll et al., 2011; Gebhardt et al., 2009; McIntyre & Jerrell, 2008; Strassnig et al., 2007*). Beim Menschen existieren drei Stadien der KM-Zunahme (*He et al., 2014*): 1. innerhalb der ersten drei Therapiemonate tritt eine schnelle KM-Zunahme auf; 2. zwischen dem 3. und 18. Monat verlangsamt sich die Zunahme; 3. ab dem 18. Monat bleibt die KM stabil. Vermutlich wird jede Phase durch ein anderes physiologisches System bestimmt (*Allison & Casey, 2001; He et al., 2014; Huang et al., 2006; Pai et al., 2012*).

Die AP-assoziierte KM-Zunahme scheint durch die Beeinflussung zentraler und peripherer Mechanismen bedingt zu sein, wodurch es zu einer gestörten Balance zwischen orexigenen und anorexigenen bzw. anabolen und katabolen Wirkungen der körpereigenen Botenstoffen kommt (*Correll et al., 2011*). Hervorzuheben sind v.a. Eingriffe in die Wirkung bzw. Freisetzung der Hormone Ghrelin und Leptin. Gleiches gilt für bestimmte Zytokine (z.B. TNFα) und Adipokine (z.B. Adiponektin). Ferner wird angenommen, dass Patienten, die bestimmte Genallele (z.B. *MC4R, HTR2C, NPY)* tragen, für das Auftreten einer iatrogenen KM-Zunahme genetisch prädisponiert sein können (*Himmerich et al., 2015*). Daher ist es nachvollziehbar, dass keine eindeutige Abhängigkeit zwischen der verabreichten Dosis und der KM-Zunahme bzw. den erwähnten metabolischen Störungen gefunden werden konnte (*Correll et al., 2011; Correll et al., 2009; Lencz et al., 2010; Simon et al., 2009*). Für einige AP ist jedoch bekannt, dass sie die metabolischen Störungen durch direkte Effekte vermitteln, die keine KM-Zunahme benötigen oder diese sogar abmildern können (*Correll et al., 2011; Correll et al., 2009*). Nach Gabe von atypischen AP zeigten Patienten erhöhte Leptin-Blutspiegel und eine Leptin-Resistenz (*Jin et al., 2008; Sentissi et al., 2009*). Leptin wird von Fettgeweben sezerniert und bewirkt über hypothalamische Rezeptoren eine Appetitzügelung und eine Steigerung des Energieumsatzes (Thermogenese), wodurch sich die Menge an Fettgewebe selbst begrenzt. Durch welche Interaktionen die atypischen AP die Leptin-Spiegel im Blut beeinflussen bzw. die Leptin-Resistenz verursachen, konnte bisher nicht hinreichend belegt werden (*Correll et al., 2011; Jin et al., 2008; Sentissi et al., 2008*). Ferner konnte noch nicht abschließend geklärt werden, inwiefern das *in-vivo*-Rezeptorbindungsprofil mit einer KM-Zunahme, dem Essverhalten und den

metabolischen Störungen zusammenhängt. Jedoch wurden hinreichende Indizien für die Beteiligung bestimmter Rezeptoren und Transmittersysteme gefunden. Obwohl viele AP an adrenergen Rezeptoren wirken (*Kroeze et al., 2003*), sind die Korrelationen mit der KM-Zunahme und den metabolischen Störungen nur schwach ausgeprägt (*Coccurello & Moles, 2010*). Für diese UAW sind eher histaminerge, serotonerge und dopaminerge Mechanismen verantwortlich.

Das histaminerge System und v.a. der Histamin H_1R im Hypothalamus-Hypophysen-System sind für die Aufrechterhaltung der KM und die Regulation der Energiehomöostase, der Temperatur und der Essensaufnahme wichtig (*Coccurello & Moles, 2010; Lecklin et al., 1998; Sakata et al., 1990*). Da anhand der H_1R-Affinität eines AP die KM-Zunahme nach klinischer Anwendung vorausgesagt werden kann (*Kroeze et al., 2003*), zeigt sich hier die Wichtigkeit des Histamin-Systems. Unterstützend wurde präklinisch gezeigt, dass der H_1R-*knock-out* bzw. die pharmakologische H_1R-Blockade die Nahrungsaufnahme steigerte und Übergewicht bedingte (*Correll et al., 2011; Deng et al., 2010; Masaki et al., 2004*). Ferner waren Mäuse mit H_1R-*knock-out* bzw. ohne Histamin-synthetisierendem Enzym anfälliger für die obesogenen Effekte einer fettreichen Ernährung und resistenter gegenüber den anorektischen Effekten des Leptins (*Coccurello & Moles, 2010*; *Jorgensen et al., 2006; Kroeze et al., 2003; Masaki et al., 2001a*, *2001b*). Von H_1R-Antagonisten ist bekannt, dass sie die Sympathikus-vermittelte und Orexin-modulierte Lipolyse im Fettgewebe unterdrücken, den Energieverbrauch senken und so die Adipogenese fördern und die hohe KM aufrechterhalten (*Coccurello & Moles, 2010; He et al., 2014*). Da die Zunahme des Fettgewebes zu einer vermehrten Leptin-Freisetzung führt, ist somit eine scheinbare Verknüpfung zwischen der histaminergen Modulation der Nahrungsaufnahme und den erhöhten Leptin-Spiegeln gegeben (*Kroeze et al., 2003*), die während der Therapie mit atypischen AP beobachtet wurden (*Jin et al., 2008; Sentissi et al., 2008*). Ferner ist im Hypothalamus-Hypophysen-System die Aktivierung der AMP-Kinase infolge einer H_1R-Blockade entscheidend für die Regulation der Essensaufnahme (*Correll et al., 2011; Kim et al., 2007*).

Neben den atypischen AP können das typische AP Halo und der reine $D_{2/3}R$-Antagonist Amisulpirid KM-Zunahmen und eine Hyperphagie induzieren (*Baptista et al., 2002; Baptista et al., 1987; Kahn et al., 2008*). Daher könnte der D_2R-Antagonismus, eine gemeinsame Eigenschaft aller AP, eine mögliche Ursache für die untersuchten Effekte sein (*Coccurello & Moles, 2010; Correll et al., 2011*). Obwohl die Rolle des D_2R am (pathologischen) Essverhalten, Übergewicht und KM-Zunahme wenig untersucht ist (*Correll et al., 2011*), wird die verminderte D_2R-Signalübertragung mit einer Beeinflussung des Belohnungssystem, einer Senkung der psychomotorischen Aktivität, einer Veränderung des Energiemetabolismus und einer Anregung der Nahrungs- und Energieaufnahme assoziiert (*Coccurello & Moles, 2010; Correll et al., 2011*). Weiterhin werden modulierend wirkende Leptin- und Insulin-Rezeptoren im mesolimbischen und nigrostriatalen DA-System koexprimiert (*Figlewicz et al., 2003; Fulton et al., 2006; Hommel et al., 2006*). Eine Gabe von Leptin in den VTA reduzierte bei Nagern die Nahrungsaufnahme (*Hommel et al., 2006*), während der *knock down* des Leptin-Rezeptors zu einer verstärkten Nahrungsaufnahme und einer Präferenz für Nahrung mit hohem Fettgehalt führte (*Coccurello & Moles, 2010*). Nach einer chronischen Behandlung mit atypischen AP wurden nach klinischer und präklinischer Anwendung eine Leptin- und Insulin-Rezeptorresistenz festgestellt (*Albaugh et al., 2006; Bromel et al., 1998; Chintoh et al., 2008; Coccurello & Moles, 2010; Henderson, 2001; Kim et al., 2008; McIntyre et al., 2003; Wu et al., 2006*). Weiterhin fanden Studien einen Zusammenhang zwischen der D_2R-Expression und einer iatrogenen KM-Zunahme (*Hong et al., 2010; Lencz et al., 2010*). Die DA-Rezeptoren sollen aus

zwei Gründen relevant sein (*Coccurello & Moles, 2010*): 1. Die D_{2like}R-Blockade soll gemeinsam mit den Wirkungen der AP am 5-HT_{2A}R bzw. 5-HT_{2C}R die initiale Kaskade auslösen, die zu der verstärkten Energieaufnahme führt (*Coccurello & Moles, 2010*). 2. Auf den mesolimbischen DA-Neuronen sind modulierend wirkende Leptin- und Insulin-Rezeptoren koexprimiert. Nach längerer Behandlung soll durch die steigende, zentrale Resistenz der Leptin- und Insulin-Rezeptoren die Beeinflussung der koexprimierten DA-Rezeptoren an Bedeutung gewinnen (*Coccurello & Moles, 2010*). Gestützt wird die zweite These dadurch, dass die Leptin-Spiegel im Blut mit zunehmender Behandlungsdauer anstiegen (*He et al., 2014; Jin et al., 2008; Sentissi et al., 2008*). Man muss allerdings erwägen, dass die Mechanismen bei typischen und atypischen AP verschieden sind, und dass eine Hyperprolaktinämie bei den typischen AP eine Rolle spielen könnte (*Baptista et al., 1987; Coccurello & Moles, 2010*).

Das 5-HT-System ist ebenfalls entscheidend an der Regulation des Essverhaltens und der Vermittlung von Sättigungssignalen beteiligt. Die 5-HT_{2A}R- bzw. 5-HT_{2C}R-Aktivierung unterdrückt die Nahrungsaufnahme und die Lipidoxidation (*Currie et al., 2002*). Zudem wird das orexigene hypothalamische Neuropeptid Y funktionell antagonisiert (*Coccurello & Moles, 2010*). Die Aktivierung des 5-HT_{2A}R wirkt hypophag, hilft bei der Glucose-Aufnahme in die Muskeln und Fettzellen und ist an der Sättigung beteiligt (*Gilles et al., 2005*). Der 5-HT_{2C}R ist über den Melanocortin-Weg an der Sättigung, Nahrungsaufnahme und KM-Regulation beteiligt. Die Gabe von 5-HT_{2C}R-Agonisten wirkt hypophag, wohingegen Mäuse mit 5-HT_{2C}R-Überexpression hyperphag und adipöser waren sowie vermehrt weißes Fett besaßen (*Coccurello & Moles, 2010; Tecott et al., 1995*). Zudem waren Mäuse mit überexprimierten 5-HT_{2C}R resistenter gegenüber den anorektischen Effekten des Fenfluramins (5-HT_{2C}R-Agonist und 5-HT-Releaser; *Vickers et al., 1999*). Eine Mutation des 5-HT_{2C}R-Gens führte zu einer Hyperinsulinämie, Hyperglykämie und Hyperleptinämie (*Nonogaki et al., 1998*). Weiterhin wurden Korrelationen zwischen einer Mutationen in der Promoterregion des 5-HT_{2C}R-Gens (759T/C-Allel) und der KM-Zunahme nach chronischer AP-Gabe (*De Luca et al., 2007*) bzw. der generellen Übergewichtigkeit festgestellt (*Bah et al., 2010; Vimaleswaran et al., 2010*). Die beiden AP und inversen 5-HT_{2C}R-Agonisten OLZ und CLZ induzieren nach klinischer Anwendung die stärksten Effekte (*Correll et al., 2011; Leucht et al., 2013*). Ihr inverser 5-HT_{2C}R-Agonismus soll zu verlängerten und vermehrten Nahrungsaufnahmen führen, die letztendlich die starke KM-Zunahme bedingen (*Davoodi et al., 2009; Kluge et al., 2007*).

Wie wichtig die einzelne Rezeptorwirkung für das Hervorrufen der untersuchten Wirkungen ist, konnte bisher noch nicht final geklärt werden. Eine große Verantwortung wird dem H_1R zugeschrieben (*Kroeze et al., 2003*), wobei der Einfluss des 5-HT_{2C}R immer mehr in den Fokus rückt (*Kirk et al., 2009*). Um den Einfluss der einzelnen Rezeptoren besser abschätzen zu können, wurde es versucht, den Effekt des atypischen AP OLZ durch alleinige und kombinierte Gabe selektiver Antagonisten nachzubilden. Eine alleinige Gabe eines selektiven inversen 5-HT_{2C}R-Agonisten (SB 243213) oder H_1R-Antagonisten (Mepyramin) induzierte eine geringere KM-Zunahme als die OLZ-Gabe. Die Kombination von SB 243213 mit dem starken D_2R-Antagonisten Halo verstärkte die KM-Zunahme und hob den Unterschied zur OLZ-Behandlung auf, wohingegen der Unterschied zur OLZ-Gruppe nach der kombinierten Gabe von Mepyramin und Halo noch vorhanden war (*Correll et al., 2011; Kirk et al., 2009; Wood et al., 2001*). Daher wird vermutet, dass der Einfluss des (funktionellen) 5-HT_{2C}R-Antagonismus auf die KM-Zunahme nach AP-Gabe stärker ist als die H_1R-Wirkung (*Kirk et al., 2009*), was im Widerspruch zu der These von *Kroeze et al., 2003* ist. Ferner wird vermutet, dass ein 5-HT_{1A}R-Partialagonismus die Effekte einer 5-HT_{2C}R-Blockade vermindern könnte (*Coccurello & Moles, 2010*).

Die massive Steigerung der KM, die nach einer chronischen klinischen OLZ- und CLZ-Gabe (*Leucht et al., 2013*) auftreten kann, konnte präklinisch nicht immer bestätigt werden (*Boyda et al., 2010*). Beispielsweise traten bei Ratten Reduktionen der KM und Geschlechtsunterschiede auf. Die AP-Gabe führte bei Weibchen stärkeren Wirkungen auf die untersuchten metabolischen Parametern, die z.T. schon bei kleineren Dosen auftraten (*Davey et al., 2012; von Wilmsdorff et al., 2013*). Zudem wurde bei Ratten beobachtet, dass sich das viszerale Fett unabhängig von der KM-Zunahme und der veränderten Nahrungsaufnahme akkumulierte (*Cooper et al., 2008; Cooper et al., 2007; Davey et al., 2012; Victoriano et al., 2009*). Die Beobachtung, dass die Fettverteilung sensitiver auf eine AP-Gabe reagiert als die Nahrungsaufnahme oder die KM (*Mann et al., 2013*), passt daher gut zu den zuvor genannten Versuchsergebnissen. Da die präklinische OLZ-Gabe mit einer veränderten Darmflorakomposition und einer veränderten energetischen Verfügbarkeit der Nahrungsbestandteile korrelierte (*Davey et al., 2013*), zeigt sich hier noch ein weiterer Erklärungsansatz.

Da viele AP selbst unter Studienbedingungen große interindividuelle Varianzen zeigen, kann der Einfluss anderer Faktoren nicht ausgeschlossen werden. Hierbei muss u.a. die medizinische Vorgeschichte, eine Komedikation und Komorbidität sowie der Einfluss der Lebensführung bzw. bestimmter Gene erwähnt werden (*Correll et al., 2011*). Es sind daher weitergehende Studien nötig, um das komplexe Zusammenspiel zwischen dem einzelnen AP und den beteiligten physiologischen Regelkreisen besser zu verstehen, die zu den erwähnten Effekten führen, und um den Einfluss anderer Faktoren abschätzen zu können, die das Zusammenspiel beeinflussen können.

4. Zielsetzung

Die SZ ist eine psychische Erkrankung mit einer Lebenszeitprävalenz von etwa 1 %. Die monetären, persönlichen und gesellschaftlichen Kosten infolge der Erkrankung sind immens hoch. Alle gegenwärtig verfügbaren AP liefern nur bedingt zufriedenstellende Erfolge. Sie sind nicht gegen alle Symptome einsetzbar und wirken z.T. nur für eine begrenzte Zeit. Ein Bedarf an neuen AP, die eine Schritt- oder Sprunginnovation darstellen, ist vorhanden.

Die erwünschte Wirksamkeit gegen Positivsymptome und die UAW der typischen AP sind durch ihren starken D_2R-Antagonismus bedingt. Der moderate D_2R-Antagonismus der atypischen AP und deren Affinität zu Rezeptoren des 5-HT- (5-HT_{2A}R) und Histamin-Systems (H_1R) sowie zu Adrenozeptoren (α_{2C}R; *multi target drugs*) ermöglicht die diskutierte zusätzliche Wirksamkeit gegen Negativsymptome und kognitive Defizite und verändert das UAW-Profil. Eine Sonderstellung nehmen die D_2R-Partialagonisten ein. ARI, der am längsten zugelassene Vertreter dieser Subklasse der atypischen AP, erzielt gute Behandlungserfolge in der Klinik und zeigt weniger UAW, die für die typischen und atypischen AP charakteristisch sind. Im Vergleich mit ARI besitzen die nicht zugelassenen D_2R-Partialagonisten OPC 4392, Tergurid und Bifeprunox eine höhere intrinsische Aktivität am D_2R. Daher scheint es essentiell zu sein, dass ein antipsychotisch wirksamer D_2R-Partialagonist eine „optimale“ intrinsische Aktivität am D_2R besitzt

Ergoline sind bekannte *dirty drugs*, was bedeutet, dass sie ihre Wirkungen über viele verschiedene Rezeptoren auslösen können. Aufgrund des breiten Rezeptorbindungsprofils erhofft man sich, dass ein Vertreter gegen die verschiedenen Symptome und Defizite der SZ wirken könnte. Das D_2R-partialagonistische Derivat Tergurid konnte die Negativ- aber nicht die Positivsymptome der SZ mildern. Nach der *in-vitro*-Untersuchung dreier Tergurid-Derivate wurde 2-BT für *in-vivo*-Tests an Ratten ausgewählt. 2-BT besitzt *in vitro* ähnliche dopaminerge Eigenschaften wie ARI, unterscheidet sich aber aufgrund seines stärkeren Antagonismus am $5HT_{2A}$R und α_{2C}R von ARI. Daher wurde 2-BT in ersten *in-vivo*-Studien getestet.

Ziel der vorliegenden Dissertation war es, 2-BT mit sich ergänzenden neuropharmakologischen Ansätzen zu untersuchen: 1. Zunächst sollten die bekannten *in-vitro*-Rezeptorwirkungen von 2-BT über Ausprägung charakteristischer Verhaltenseffekte bei der Ratte *in vivo* geprüft werden. Die durchgeführten Versuche erlaubten Rückschlüsse auf allgemeine Substanzwirkungen (Beeinflussung der Lokomotion oder des Spontanverhaltens) sowie auf solche, die über den D_{2S}R bzw. den 5-HT_{2A}R vermittelt werden. 2. In ausgewählten prädiktiven Verhaltenstests der präklinischen Forschung wurden das antipsychotische Potential und das UAW-Profil der Substanz näher charakterisiert. Die Ergebnisse erlauben auch eine Aussage darüber, inwiefern 2-BT die verschiedenen DA-Systeme beeinflusst (mesolimbische Selektivität).

MATERIAL UND METHODEN II.

1. Versuchstiere

Die Versuche II.2.1.1 - 2.2.4 wurden mit männlichen, der Versuch II.2.2.5 mit weiblichen Sprague-Dawley-Ratten (Élevage Janvier, Frankreich) durchgeführt. Die Tiere waren zu Beginn der jeweiligen Versuche in der zehnten Lebenswoche und wurden zuvor zwei Wochen gehandelt. Hierfür wurden die Ratten individuell 5 min täglich an den Versuchsdurchführenden gewöhnt (*handling*). In der zweiten *handling*-Woche wurden sie zusätzlich an die manuelle Fixierung vor der Injektion und an die Injektion *per se* habituiert. In den Tagen zwischen der Lieferung und dem Beginn des *handlings* konnten sich die Ratten u.a. vom Transportstress erholen und sich an die Haltungsräume habituieren. Während der gesamten Zeit, in der die Ratten am Institut waren, wurden sie in Makrolonkäfigen Typ IV gehalten (n = 2 - 3) und zweimal wöchentlich gewogen. Die Käfige wurden mit staubfreien Hartholz-Einstreu ausgelegt (hygienisches Tiereinstreu, J. Rettenmaier & Söhne, Rosenberg, D) und enthielten Papiertücher und Metallrohre, die eine Versteckmöglichkeit boten. In den Haltungs- und Versuchsräumen herrschten Standardbedingungen (Temperatur: 22 ± 2°C; relative Luftfeuchtigkeit: 55 ± 10 %) und ein Hell-Dunkel-Rhythmus mit 12 h-Intervallen (Hellphase ab 6:00). Den Ratten stand während der gesamten Haltungs- und Versuchsphasen standardisiertes Haltungsfutter (ssniff, Soest, D) und Wasser *ad libitum* zur Verfügung. Eine Reinigung der Käfige, Trinkflaschen und Tierräume erfolgte einmal wöchentlich durch die Tierpfleger. Zweimal in der Woche wurden die Trinkflaschen bzw. das Trockenfutter aufgefüllt. Alle Experimente wurden nach Erhalt der Genehmigung durch die zuständige Behörde (Landesamt für Gesundheit und Soziales) während der Hellphase (8:00 – 15:00) durchgeführt. Gemäß der Empfehlung der *federation for labarotory animal science* (*FELASA*) waren die Tiere pathogenfrei.

2. Tierexperimentelle Untersuchungen

Soweit nicht anders angegeben, wurden die Versuche in einer schalldichten und gleichmäßig beleuchteten Kammer (E_V = 100 lx) durchgeführt. Die in den Versuchsbeschreibungen aufgeführten Vorversuche wurden jeweils mit 3 – 5 Tieren durchgeführt und dienten zwei Zwecken: 1. der Findung geeigneter Dosierungen der pharmakologisch aktiven Verbindungen und 2. der Überprüfung und eventuellen Modifizierung des Versuchsdesigns. Die verwendeten 2-BT-Dosierungen wurden durch den Vorversuch in II.2.1.1 festgelegt. Die nachfolgend beschriebenen Hauptversuche wurden mit anderen Ratten durchgeführt als die Vorversuche und dienten der Bearbeitung der Zielstellung dieser Arbeit (s. I.4). Insofern die Versuchsbeschreibung (s. II.2.1.2 – 2.2.5) nicht explizit etwas anderes sagt, wurde den Ratten jeweils nur eine Injektion gegeben und sie wurden nur einmal im Versuch getestet. Die Applikation aller Lösungen erfolgte intraperitoneal (i.p.) mit dem Dosiervolumen 1.0 ml/kg KM. In den Versuchen II.2.1.2 und II.2.2.2 wurde ARI mit einem Dosiervolumen von 2.0 ml/kg KM injiziert.

Alle verwendeten Chemikalien, Geräte, Verbrauchsmaterialien und Softwares, die im Folgenden erwähnt werden, sind tabellarisch in detaillierter Form im Kapitel II.4 aufgeführt. Die mit * markierten Lösungen wurden gemäß der Anleitung im Kapitel II.4 hergestellt. Vehikel (VEH) bezeichnet jeweils die wirkstofffreie Variante der korrespondierenden Lösung.

2.1 Verhaltenspharmakologische Untersuchungen nach akuter Gabe von 2-Bromtergurid

2.1.1 *Open field test*

Dopaminerge Substanzen können durch Wirkung auf das mesolimbische und mesokortikale DA-System das Verhalten verändern. In diesem Versuch soll untersucht werden, ob 2-BT Effekte auf die lokomotorische Aktivität und das Spontanverhalten ausübt (s. I.3.2.1).

Der Versuch wurde in zwei 50 cm x 50 cm großen und 32 cm hohen *open-field*-Boxen durchgeführt (s. Abb. II.2.1.1). Die Boxen bestanden aus grauem PVC und wurden in der institutseigenen Werkstatt angefertigt. Im Vor- und Hauptversuch wurden zwei Ratten gleichzeitig getestet. Im Vorversuch wurden die Ratten 30 min nach der Injektion von 2-BT* (0.03, 0.1, 0.3 oder 1.0 mg/kg KM) oder VEH für 120 min in die Boxen gesetzt. Während des gesamten Zeitraums wurde das Verhalten durch die an der Decke der Versuchskammer befestigten Videokamera (Sanyo VCB 3512; Panasonic, Hamburg, D) und den angeschlossen DVD-Rekorder aufgezeichnet (Panasonic DMR-EX725; Panasonic, Hamburg, D). Im Hauptversuch verbrachten die Ratten nach einmaliger Gabe von 2-BT* (0.1 oder 0.3 mg/kg KM) oder VEH 30 min in ihren Heimatkäfigen, bevor sie in die Mitte der Boxen gesetzt wurden. Das Verhalten wurde für 30 min aufgezeichnet und über den angeschlossenen PC inkl. Steuerungssoftware (TSE Systems VideoMot 2, Bad Homburg, D) hinsichtlich der zurückgelegten Wegstrecke (l in cm) ausgewertet. Mithilfe der Software konnte die Aktivität weiter differenziert werden. Folgende Parameter wurden manuell ermittelt und ausgewertet:

- Anzahl (n) der Eintritte ins Zentrum (mittlerer Quadrant der Box; 25 x 25 cm)
- Anzahl (n) des vertikalen Aufrichtens (*rearing*)
- Gesamtdauer (t in s) des Putzverhaltens (*grooming*)
- Gesamtdauer (t in s) der Inaktivitätsphasen

Die *open-field*-Boxen wurden nach jedem Versuchsdurchlauf mit Wasser und am Ende jedes Versuchstages zusätzlich mit einer Isopropanol-Lösung* gereinigt.

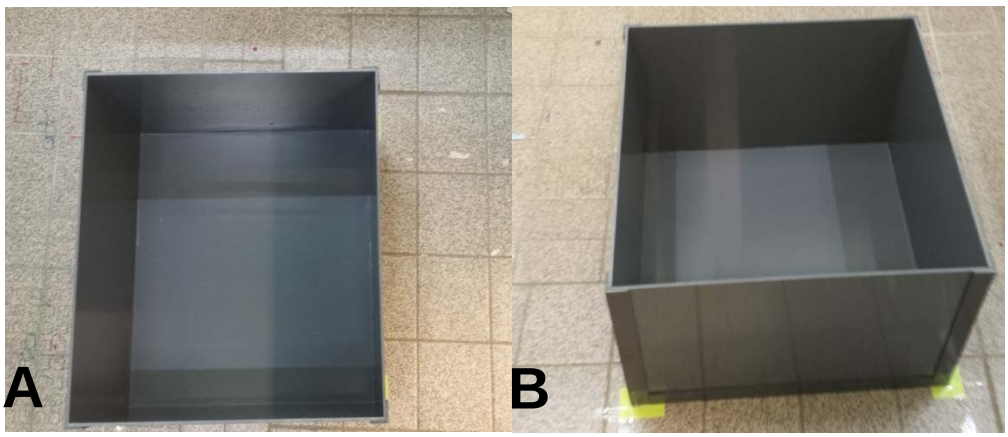

Abb. II.2.1.1: Verwendete *open-field*-Box (A) in Draufsicht und aus (B) schräger Perspektive

2.1.2 *Wet dog shakes test*

Eine charakteristische Wirkung, die bei Ratten akut über den 5-HT_{2A}R ausgelöst wird, sind die sogenannten *WDS* (*Kawakami et al., 2005*). Es soll für 2-BT die funktionelle Relevanz des 5-HT_{2A}R-Antagonismus bewertet werden (s. I.3.2.2).

Im Vor- und Hauptversuch wurden zwei Ratten gleichzeitig in zwei 29 cm x 22 cm großen und 39 cm hohen Glasboxen getestet, die mit Einstreu ausgelegt waren. Im Vorversuch wurden die Ratten nach der Habituationszeit (30 min) mit dem 5-HT_{2A}R-Agonisten DOI* (0.3, 1.0, 1.5, 2.0 oder 3.0 mg/kg KM) oder VEH behandelt und ihr Verhalten für 1 h beobachtet. Im Hauptversuch wurden die Ratten mit 2-BT* (0.1 oder 0.3 mg/kg KM), dem Referenz-AP ARI* (3.0 mg/kg KM), der Positivkontrolle Ketanserin* (1.0 mg/kg KM) oder VEH vorbehandelt. Nach der Habituationszeit wurde den Ratten VEH oder 2.0 mg/kg KM DOI* injiziert und ihr Verhalten für 30 min beobachtet. Um eine genauere Beobachtung zu gewährleisten, befand sich der Versuchsdurchführende während des letzten Versuchsabschnitts gemeinsam mit den Tieren in der Versuchskammer, zeichnete das Verhalten mit einem Camcorder (Canon HG10 HD-Camcorder, Canon, Krefeld, D) auf und notierte die Anzahl der *WDS.*

Die Boxen wurden am Ende eines Versuchstages gewaschen, mit Isopropanol-Lösung* ausgewischt und mit neuer Einstreu ausgestattet.

Abb. II.2.1.2: Simultane Bewertung der *wet dog shakes* in zwei Glasboxen mit Einstreu

2.1.3 Apomorphin-induzierte Hypolokomotion

DA und D_2R-Agonisten besitzen eine zirka zehnfach stärkere Affinität zum D_{2S}R als zum D_{2L}R (*Roth, 1979*). Daher bindet APO niedrig dosiert vorrangig an den D_{2S}R und führt zu einer Hypolokomotion (*Moller, 2003*). Mit diesem Test soll für 2-BT die funktionelle Relevanz der D_{2S}R-Wirkung bewertet werden (s. I.3.2.3).

Im Vor- und Hauptversuch wurden zwei Ratten gleichzeitig in zwei *open-field*-Boxen (s. II.2.1.1 und Abb. II.2.1.1) getestet. In den Vorversuchen wurden die Ratten an die Boxen habituiert (30 min) und erhielten anschließend eine APO* (0.03, 0.1 oder 0.3 mg/kg KM)- oder VEH-Gabe. Nachdem sie in die Boxen zurückgesetzt wurden, wurde das Verhalten für 120 min mit einer Kamera (s. II.2.1.1) aufgezeichnet. Im Hauptversuch erhielten die Ratten eine 2-BT* (0.1 oder 0.3 mg/kg KM)- oder VEH-Injektion. Nach der Habituationszeit in den *open-field*-Boxen wurde den Ratten VEH oder 0.1 mg/kg KM APO* injiziert und sie wurden für 30 min in die Boxen zurückgesetzt. Ein Computerprogramm (s. II.2.1.1) wertete den Versuch anhand der zurückgelegten Wegstrecke (l in cm) aus.

Die Boxen wurden nach jedem Durchlauf mit Wasser gereinigt und am Ende jedes Versuchstages zusätzlich mit Isopropanol-Lösung* ausgewischt.

2.2 Prüfung auf gewünschte und unerwünschte Antipsychotika-Wirkungen

2.2.1 Katalepsie-Tests

EPS werden über das nigrostriatale DA-System vermittelt und stellen eine charakteristische UAW der D_2R-vollantagonistischen, typischen AP dar (*Leucht et al., 2013; Wadenberg et al., 2007*). Mit den Katalepsie-Tests soll das kataleptische Potential von 2-BT beurteilt werden (s. I.3.3.1; *Wadenberg et al., 2000*).

Im Hauptversuch wurden zu bestimmten Zeitpunkten (t = 15, 30, 60, 90, 120 min) nach Gabe von 2-BT* (0.1 oder 0.3 mg/kg KM), dem Referenz-AP Halo* (0.5 mg/kg KM) oder VEH zwei Tests durchgeführt. Der Messpunkt t = 150 min wurde erst nachträglich hinzugefügt. Mit jeder Ratte wurde dreimal der *bar test* und nachfolgend dreimal der *grid test* durchgeführt (s. Abb. II.2.2.1). Für den *bar test* wurde die Ratte mit beiden Vorderpfoten auf einen 9 cm hohen Holzwürfel gesetzt. Die Zeit bis zur Bewegung einer der Pfoten vom Würfel wurde gestoppt. Für den *grid test* wurde die Ratte auf ein um 60° geneigtes Gitter gesetzt und die Zeit bis zu einer gerichteten Bewegung gestoppt. Falls sich die Ratte nicht bewegte, wurde der jeweilige Test nach 150 s abgebrochen. Aus den jeweils drei ermittelten Werten wurde für jeden Test und jeden Zeitpunkt das arithmetische Mittel (t in s) gebildet und in ein *score*-System übersetzt (nach *Ahlenius & Hillegaart, 1986*):

0.0 s ≤ t < 5.4 s	→ „**0**“	5.4 s ≤ t < 21.6 s	→ „**1**“	21.6 s ≤ t < 48.6 s	→ „**2**“
48.6 s ≤ t < 85.8 s	→ „**3**“	85.8 s ≤ t < 135 s	→ „**4**“	t ≥ 135 s	→ „**5**“

Ein Tier wurde als „kataleptisch“ betrachtet, wenn der *score* ≥ 2 betrug (*Wadenberg et al., 2001*).

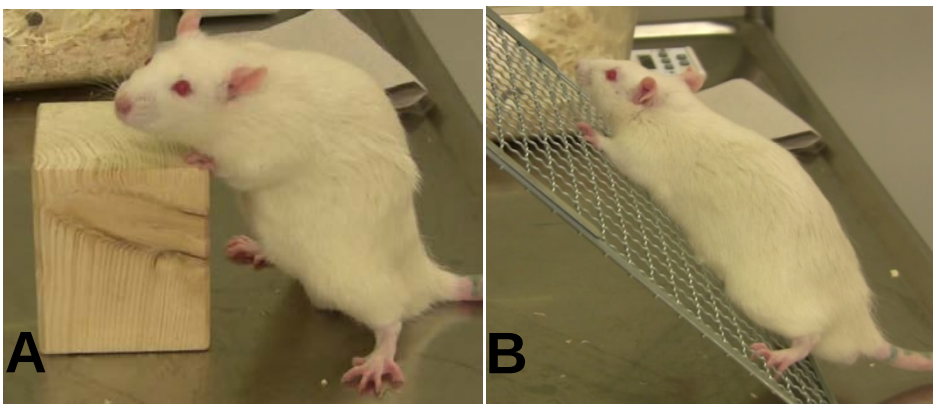

Abb. II.2.2.1: Bewertung des kataleptischen Verhaltens mithilfe des (A) *bar tests* und (B) *grid tests*

2.2.2 Amphetamin-induzierte Lokomotion und Stereotypien

AIL

Die Gabe eines D_2R-Agonisten wie AMPH kann bei gesunden Menschen zu psychotischen Symptomen führen und lässt bei Schizophrenen eine Psychose ausbrechen (s. I.2.2.3; *Howes & Kapur, 2009*; *Koch, 2006*). Eine moderate AMPH-Dosis führt bei Nagern zu einer Hyperlokomotion (*van den Buuse, 2010*). Verbindungen mit einem D_2R-Antagonismus, wie z.B. AP, können den präklinischen und klinischen Effekten entgegenwirken. Daher kann der AIL-Test als prädiktiver Test genutzt werden, um das antipsychotische Potential von 2-BT zu untersuchen (s. I.3.3.2; *van den Buuse, 2010*).

Im Vor- und Hauptversuch wurden jeweils zwei Ratten simultan in zwei *open-field*-Boxen (s. II.2.1.1 und Abb. II.2.1.1) getestet. Im Vorversuch wurden die Ratten für 30 min an die Boxen habituiert und nach einmaliger Gabe von AMPH* (1.5 oder 2.0 mg/kg KM) oder VEH für 90 min zurückgesetzt. Im Hauptversuch erhielten die Ratten eine Injektion mit 2-BT* (0.1 oder 0.3 mg/kg KM), dem Referenz-AP ARI* (3.0 mg/kg KM) oder VEH und wurden für 30 min in die Boxen gesetzt. Anschließend wurde den Ratten 1.5 mg/kg KM AMPH* oder VEH injiziert und sie verbrachten 120 min in der Box. Das Laufverhalten wurde während der gesamten Versuchsdauer mit einer Kamera (s. II.2.1.1) aufgezeichnet und bezüglich der Laufstrecke (l in cm) ausgewertet (s. II.2.1.1).

AIS

Eine hohe Dosis eines D_2R-Agonisten induziert bei Nagern charakteristische Verhaltensmuster, sogenannte Stereotypien (*van den Buuse, 2010*). D_2R-Antagonisten können diese Verhaltensmuster aufgrund ihrer Wirkung auf das nigrostriatale DA-System abschwächen. Die Wirkung von 2-BT auf dieses DA-System soll untersucht werden (s. I.3.3.2).

Für den Vor- und Hauptversuch wurden zwei Ratten zeitgleich in zwei Glasboxen getestet (s. II.2.1.2 und Abb. II.2.1.2), deren Böden mit Einstreu bedeckt waren. Im Vorversuch wurden die Ratten für 30 min an die Boxen habituiert, erhielten dann eine AMPH*- (3.0, 4.0, 5.0 oder 6.0 mg/kg KM) oder VEH-Gabe und wurden anschließend für 120 min in die Boxen zurückgesetzt. Für den Hauptversuch wurden die Ratten 60 min vor Beginn des Versuchs in die Boxen gesetzt. Nach den ersten 30 min (Habituation) wurde den Ratten 2-BT* (0.1 bzw. 0.3 mg/kg KM) oder VEH appliziert und sie wurden in die Boxen zurückgesetzt. Weitere 30 min später erhielten die Ratten eine Injektion mit AMPH* (5 mg/kg KM) oder VEH und das Verhalten wurde für 60 min mit einem Camcorder (s. II.2.1.2)

aufgezeichnet. Alle 5 min wurde ein 30 s-Ausschnitt betrachtet und das vorherrschende Verhalten bewertet (nach *Setler et al., 1976*):

„**0**“ → Die Ratte schläft oder verweilt auf einer Stelle

„**1**“ → Die Ratte ist aktiv

„**2**“ → Die Ratte ist vorwiegend aktiv, zeigt aber kurzen Phase mit stereotypen Schnüffeln und Aufrichten

„**3**“ → Die lokomotorische Aktivität der Ratte ist noch präsent, aber sie zeigt stetiges stereotypes Verhalten (z.B. Schnüffeln, Aufrichten oder Wippen des Kopfes)

„**4**“ → Die Ratte verharrt an einer Stelle und zeigt stetiges stereotypes Verhalten

„**5**“ → Die Ratte zeigt stetiges stereotypes Verhalten mit kurzen Phasen des Leckens und/oder Kauens und Beißens

„**6**“ → Die Ratte leckt oder versucht kontinuierlich an den Wänden der Box zu nagen

Die Boxen wurden am Ende eines Versuchstages gewaschen, mit Isopropanol-Lösung* ausgewischt und mit neuer Einstreu ausgestattet.

2.2.3 *Conditioned avoidance response test*

Alle klinische wirksamen AP besitzen einen Dosisbereich, in dem sie das Auftreten eines vorher erlernten Verhaltens verringern (s. I.3.3.3). Anhand des Einflusses von 2-BT auf das Verhalten im *CAR test*, kann sein antipsychotisches Potential bewertetet werden. Gemeinsam mit dem AIL-Test (s. II.2.2.2) und der Untersuchung der neuronalen Aktivität (c-fos) (s. II.2.2.4) werden ein sensibles *screening* auf antipsychotische Wirksamkeit ermöglicht (s. I.3.3.3; *Wadenberg, 2010*) und es können klinisch wirksame Substanzen von unwirksamen abgegrenzt werden (*Natesan et al., 2011*).

Der *CAR test* wurde sowohl an den Trainings- als auch an den Testtagen in zwei Zwei-Kompartiment-Shuttleboxen durchgeführt, die durch eine Mittelwand mit Durchlass getrennt sind (s. Abb. II.2.2.3; *Med Associates Inc.,* St. Albans, VT, USA). Die Ratten wurden darauf konditioniert nach einem Ton- und Lichtsignal (*CS*) das Kompartiment zu wechseln (*avoidance*). Bei zu langer Latenz wurde ein elektrischer Fußreiz (*UCS*; negativer Verstärker) eingesetzt. Der Wechsel des Kompartiments während des elektrischen Reizes galt als *escape* und der ausbleibende Wechsel als *failure.* Alle klinisch wirksamen AP reduzieren die Rate der *avoidances,* ohne *failures* hervorzurufen. Für jede eingesetzte Substanz wurde ein unabhängiger Versuchsabschnitt mit noch unbehandelten Ratten durchgeführt, in dem jedes Tier pseudorandomisiert die jeweiligen Dosierungen bzw. VEH erhielt.

Im Vor- und Hauptversuch wurden die Ratten vor und an mehreren Zeitpunkten nach der Behandlung (t = 30, 90, 270 min und 24 h) getestet. Im Vorversuch wurden Ratten mit Halo* (0.01, 0.05 oder 0.1 mg/kg KM) und ARI* (1, 3 oder 5 mg/kg KM) getestet, um zwei Dosierungen für den Hauptversuche zu ermitteln. Im Hauptversuch wurden die Ratten mit 2-BT* (0.1 oder 0.3 mg/kg KM), den Referenz-AP Halo* (0.05 oder 0.1 mg/kg KM), ARI* (1 oder 3 mg/kg KM) oder VEH behandelt. Am ersten Trainingstag wurden die Ratten für 15 min an die Boxen habituiert. An den Folgetagen gab es vor den 30 Durchläufen (*trials)* jeweils eine Habituationsphase (3 min). Zu Beginn jedes *trials* wurde für 10 s ein Licht- und Tonreiz (76 dB, *CS*) präsentiert. Wie bereits erwähnt, ist ein Kompartimentwechsel innerhalb der ersten 10 s eine Vermeidungsreaktion (*avoidance).* Danach wurde für maximal 20 s ein

intermittierender, elektrischer Fußreiz (0.3 mA; *UCS*) über das Bodengitter vermittelt. Ein Wechsel während dieser 20 s ist eine Fluchtreaktion (*escape*) und ausbleibende Wechsel sind Vermeidungsfehler (*failure*). Nach Ende jedes *trials* wurden Ton und Licht ausgeschaltet. Die Abstände zwischen den *trials* wurden randomisiert (10 - 30 s). Die Software Med PC IV (*Med Associates Inc.,* St. Albans, VT, USA) erstellte für jeden Durchlauf ein Protokoll mit der Anzahl der erfolgten *avoidances* und *escapes,* dem arithmetischen Mittel der Latenzen, sowie der Gesamtzahl der Kompartimentwechsel und der Gesamtzeit. Die Ratten wurden solange trainiert, bis sie an zwei aufeinander folgenden Tagen eine *avoidance*-Rate ≥ 80 % zeigten.

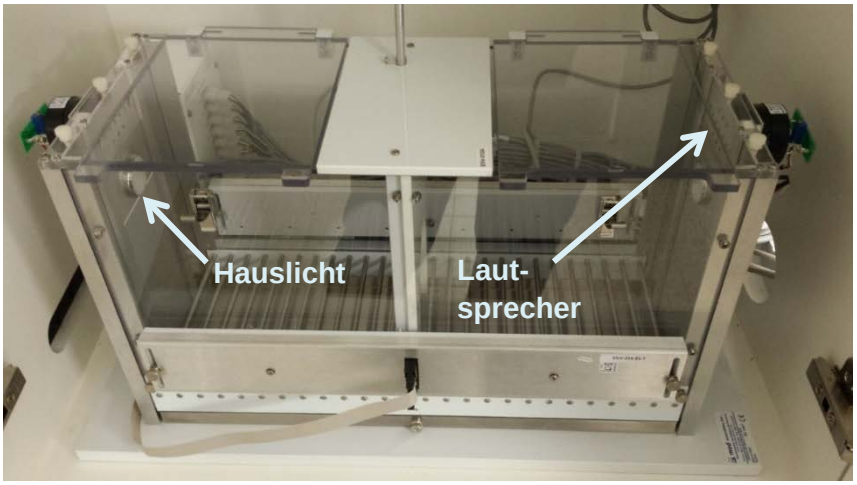

Abb. II.2.2.3: Zwei-Kompartiment-Shuttlebox mit metallischem Gitterboden, über das der elektrische Reiz vermittelt wird.

2.2.4 Untersuchung der neuronalen Aktivität (c-fos):

Da das ubiquitäre Protein c-fos zeitnah nach Stimulation aus dem *immediate early gene c-fos* transkribiert wird, kann es in Nervenzellen als Indikator für neuronale Aktivität genutzt werden. Die klinische Wirksamkeit und die Klassenzugehörigkeit der AP korreliert mit der Aktivität bestimmter Gehirnareale (*Natesan et al., 2011; Robertson et al., 1994; Sumner et al., 2004*). Um die neuronale Aktivität in ausgewählten Hirnarealen nach 2-BT-Gabe zu untersuchen, wurde der c-fos-Gehalt semiquantitativ mittels w*estern-blot*-Analysen bestimmt (s. I.3.3.4).

Behandlung der Tiere und Probengewinnung

Die Ratten wurden 2 d vor der Probengewinnung an den Versuchsablauf habituiert. Hierfür wurden die Ratten in ihren Heimatkäfigen in eine schallgedämpfte Dunkelkammer gebracht, die mit Rotlicht- bzw. Wärmelampen (Beurer Therapy GmbH, Ulm, D) beleuchtet war. Nach 1 h wurde begonnen, allen Ratten physiologische Kochsalz-Lösung zu injizieren. Nachdem alle Ratten eine Injektion erhalten hatten, wurde das Licht wieder eingeschaltet. Um zusätzlichen Stress für die Ratten zu vermeiden, verblieben die Ratten bis zur Gewinnung der Proben in der Dunkelkammer. Der Hell-Dunkel-Rhythmus wurde danach wieder eingehalten. Am Tag der Probengewinnung wurden die Ratten zunächst mit 2-BT* (0.1 und 0.3 mg/kg KM), dem Referenz-AP Halo* (0.5 mg/kg KM) oder VEH behandelt. Aus tierschutzrechtlichen Gründen und da Narkotika die c-fos-Expression beeinflussen können (*Dampney et al., 1995*), erfolgte die Dekapitierung der Ratten 2 h später in einem Nachbarraum ohne Narkose. Die Gehirne wurden danach frei präpariert und auf Eis sektioniert (mPFC, NAc, dorsales Striatum und Hypothalamus-Hypophysen-System). Die Gewebeproben wurden in 1.5 ml-Gefäßen (Eppendorf AG, Hamburg, D) gesammelt, ihre

Masse mit einer Feinwaage (Sartorius *weighing technology* GmbH, Göttingen, D) ermittelt und in flüssigem Stickstoff schockgefroren. Bis zum Beginn der Probenaufarbeitung wurden die Proben bei - 80°C gelagert.

Aufarbeitung der Proben

Pro 100 mg Gewebe wurden 2 000 µl *RIPA** hinzu pipettiert. Die Proben wurden im Gefäß mit 1.5 ml-Einmalpistillen (VWR *disposable pestle*, VWR International GmbH, Darmstadt, D) zerrieben, für 10 min auf Eis inkubiert und mittels Sonicator® (Bandelin Sonopuls; Bandelin *electronics*, Berlin, D) durch zehn halbsekündige Schallstöße lysiert. Nach erneutem Inkubieren auf Eis (10 min) wurden die Proben bei 14 000xg zentrifugiert (10 min; Jouan MR 1822; Jouan GmbH, Unterhaching, D). Abschließend wurden die Überstande separat in neue Gefäße pipettiert. Jeweils 25 µl wurden für die Proteinbestimmung bzw. als Sicherung für eine evtl. Wiederholung genutzt. Um die Proben für die weiteren Arbeitsschritte aufzubereiten, wurden die verbliebenen Überstande als Aliquote mit dem halbem Volumen Ladepuffermix* vermischt, auf 90°C erhitzt (5 min; TMix Thermomixer, Analytik Jena AG, Jena, D), auf Eis gelagert (10 min) und bei 14 000xg zentrifugiert (5 min).

Bestimmung des Proteingehaltes

Der Proteingehalt der Proben wurde mit dem Pierce® BCA *protein assay kit* (Thermo Scientific, Rockford, IL, USA) bestimmt. Hierbei wurde gemäß der Anleitung für die (1) „Vorbereitung der Standards und Arbeitslösungen“ und die (2) „*microplate procedure*“ verfahren:

(1) Nach Öffnen der BSA-Ampulle (bovine Standardalbuminlösung; 2 mg/ml) wurden die Standardproben hergestellt (c = 0 - 2 mg/ml). Das benötigte Volumen der BCA-Arbeitslösung (*working reagent; WR*) wurde mit folgender Formel berechnet:

[n(Standardproben) + n(Gewebeproben)] x n(Replikate) x200 µl
= benötigtes Gesamtvolumen *WR*

Die *WR*-Lösung wurde durch Vermischen von 50 Volumenteilen (VT) Reagenz A und 1 VT Reagenz B hergestellt.

(2) Zu jedem Gewebeproben-Aliquot (25 µl) wurde 50 µl *RIPA** pipettiert. 25 µl jeder Standard- und verdünnten Gewebeprobe wurden jeweils in drei bzw. zwei *wells* einer 96 *well*-Platte pipettiert. Nach Zugabe von 200 µL *WR* pro *well* und 30 s auf einem Plattenschüttler wurde die Platte für 30 min bei 37°C inkubiert. Nach dem Abkühlen auf Raumtemperatur wurde die Absorption (λ=562 nm) mit einem *ELISA*-Plattenlesegerät (*Tecan infinite® 200 PRO*; Tecan Dtl. GmbH, Crailsheim, D) bestimmt.

Sodium dodecylsulfate polyacrylamide gelelectrophoresis

Die *sodium dodecylsulfate polyacrylamide gelelectrophoresis* (*SDS PAGE)* ist ein denaturierendes Verfahren zur Auftrennung von Gemischen, die Makromoleküle enthalten. Über die Konzentrationen des Bisacrylamids bzw. Acrylamids kann die Porenweite der Gele moduliert und so der Bereich der Auftrennung optimiert werden.

Nach Polymerisation des Trenn*- (8 %) und des Sammelgels* (5 %) wurden die Glasplatten in die Elektrophoresekammer (*multigel long*; Whatman Biometra®, Göttingen, D; s. Abb. II.2.2.4/1) gespannt, der Laufpuffer (1 x)* eingefüllt und die Wasserkühlung (ϑ = 15 ± 5°C) angeschlossen. Nach dem

Pipettieren der Proben (40 µg Protein) und des Größenmarkers (10 - 180 kDa; *Biomol BLUE plus*; Biomol GmbH, Hamburg, D) in die Geltaschen, wurde der angeschlossene Stromverteiler (Biometra® *standard power pack* P25; Biometra®, Göttingen, D) auf konstant 100 V eingestellt. Sobald die Lauffront das Trenngel erreicht hatte, wurde zu einer konstanten Stromstärke (35 mA) gewechselt.

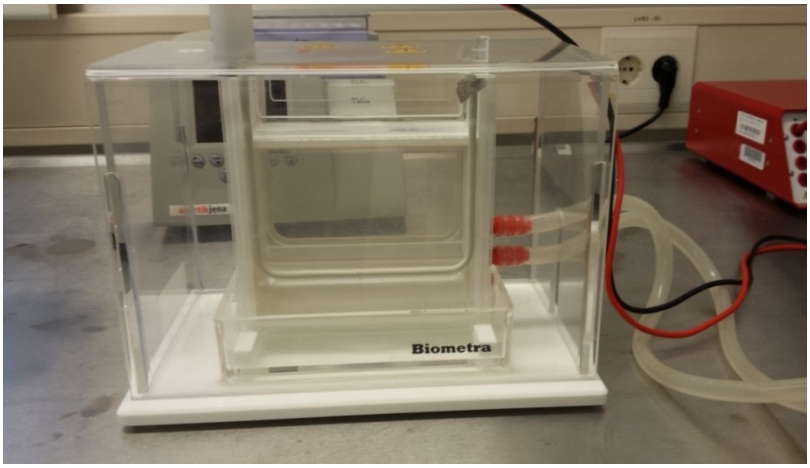

Abb. II.2.2.4/1: Elektrophoresekammer zur Auftrennung des Proteingemisches

Blotting und Anfärbungen

Nach Auftrennung des Proteingemisches wurden die Proteine auf Polyvinylidendifluorid (PVDF)-Membranen (Westran® S 0,2 µm; *GE Health Care Life Science,* Buckinghamshire, UK) überführt (*blotting*). Die Membranen wurden zunächst aktiviert (15 s 100 % Methanol, dann kurz *aqua dest.**), um genauso wie die Gele und die Whatman®-Löschpapiere (*blotting pads 707*; VWR International, Darmstadt, D) in kaltem Transferpuffer* äquilibriert zu werden. Unter Kühlung des *semi-dry*-Transfergeräts (G&P Kunststofftechnik GbR, Kassel, D) wurde für 150 min eine konstante Stromstärke (300 mA) orthogonal zu den aufgetrennten Proteinbanden angelegt. Anschließend wurden die Membranen und Gele für Färbungen und die Immundetektion der Proteine weiterverwendet.

Färbung mit Ponceau S

Die Membranen wurden mit *aqua dest.** (5 min), 100 % Methanol (15 s) und wieder *aqua dest.** (5 min) aktiviert, um abschließend mit Ponceau S-Lösung (5 min) gefärbt zu werden. Die Membranen wurden mit Essigsäure* (1 %) und *aqua dest.** entfärbt, um so die Proteinmuster sichtbar zu machen. Vor dem Einscannen der Membranen wurden mittels Bleistift die Markerbanden nachgezeichnet und die Membranen nummeriert (s. Abb. II.2.2.4/2A).

Färbung mit Coomassie

Die Gele wurden für 1 h in Coomassie-Färbelösung* eingelegt, um über Nacht (14 h; 4°C) in einer Entfärbelösung* gelagert zu werden. Für eine verbesserte Entfärbung wurde Zellstoffpapier geknotet und in die Schalen gegeben. Bei ausreichender Entfärbung wurden die Gele direkt am nächsten Morgen eingescannt. Andernfalls wurden die Entfärbelösung* und das Papier ausgewechselt, der Status über den Tag beobachtet und bei zufriedenstellender Entfärbung eingescannt (s. Abb. II.2.2.4/2B).

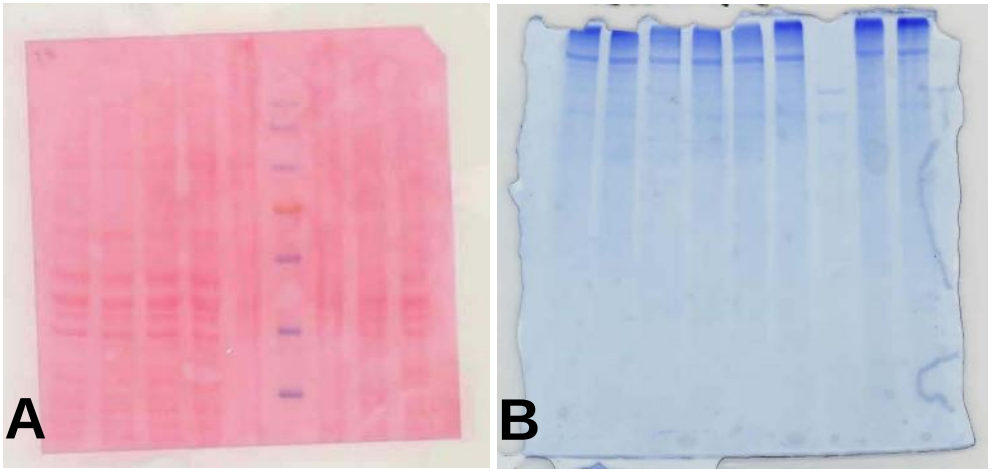

Abb. II.2.2.4/2: Überprüfung des Proteintransfers durch Anfärbung (A) der PVDF-Membranen mit Ponceau S bzw. (B) der Gele mit Coomassie

Immunodetektion und Auswertung mittels Imaging-Software

Neben dem c-fos wurde das ubiquitäre Strukturprotein β-Aktin nachgewiesen. β-Aktin hat im Gewebe eine konstant hohe Konzentration (*house-keeping molecule*) und diente als interner Standard bzw. Ladekontrolle.

Die durch das *blotting* auf die Membranen transferierten Proteinbanden lassen sich mittels spezifischer Antikörper (AK) nachweisen. Aufgrund der vorherigen Färbung wurden die Membranen mit TBST 0,1 %* (4 x 10 min) gewaschen. Zur Sättigung unspezifischer Bindungsstellen wurden die Membranen mit Roti-Block®* behandelt (1 h). Die Membranen wurden über Nacht (14 h; 4°C) in eine Lösung* eingelegt, die Anti-c-fos- (1:2 000) und Anti-β-Aktin-AK (1:20 000) enthielt. Zur Entfernung etwaiger AK-Rückstande wurden die Membranen mit TBST 0,1 %* (4 x 10 min) gewaschen. Sie wurden dann in frisch angesetzter Lösung mit polyklonalem *horseradish-peroxidase (HRP)*-gekoppelten Zweit-AK* (1:10 000) für 1 h inkubiert und nochmals mit TBST 0,1 %* (4 x 10 min) gewaschen.

Zur Detektion der gebundenen AK wurde Chemilumineszenz als Nachweisprinzip genutzt (*Amersham™ ECL™ Prime*; *GE Life Science*, Buckinghamshire, UK). Nach Auftragen der Lösung kam es aufgrund der *HRP*-katalysierten Reaktion des Luminols zur Lichtemission (λ = 428 nm), die ein enthaltendes Phenolderivat (*enhancer*) verstärkte. In der Dunkelkammer wurde jeweils ein Röntgenfilm (*Amersham™ Hyperfilm™, GE Life Science,* Buckinghamshire, UK) für 30 s bis 30 min aufgelegt. Das emittierte Licht verursachte Verschattungen (Banden) auf den Filmen, die durch die Inkubation (2 min) in der Entwicklerlösung* sichtbar gemacht wurden (s. Abb. II.2.2.4/3:). Die Inkubation (5 min) in der Fixierlösung* beendete die Filmentwicklung. Nachfolgend wurden die Filme 15 min mit Leitungswasser gespült, mit *aqua dest.** abgespritzt und zum Trocknen aufgehängt. Die trockenen Filme wurden eingescannt und gespeichert (s. Abb. II.2.2.4/3), um den Schwärzungsgrad der relevanten Banden mit der Software ImageJ (Download über http://rsb.info.nih.gov/ij/download.html) zu ermitteln. Die c-fos-Expression wurde anhand des Quotienten der Stärke des c-fos- und des β-Aktin-Signal semiquantitativ ausgewertet.

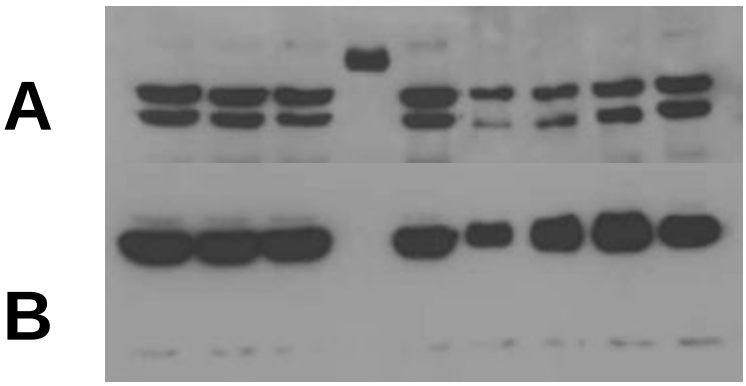

Abb. II.2.2.4/3: Entwickelter Röntgenfilm mit (A) c-fos- und (B) β-Aktin-Banden einiger, exemplarischer mPFC-Proben

2.2.5 Einfluss der chronischen Gabe von 2-Bromtergurid auf metabolische Parameter sowie auf das Verhalten im *open field* und den Katalepsie-Tests

Einige atypische AP können bestimmte metabolische Parameter verändern, z.B. KM, den Körperfettanteil, und so bestimmte metabolische Störungen hervorrufen (*Davey et al., 2013; Deng et al., 2010*). Zu der multifaktoriellen Ätiologie zählt u.a. ein H_1R-Antagonismus, dessen Einfluss bereits tierexperimentell bzw. mittels Meta-Analyse bestätigt worden ist (*Deng et al., 2010; Kroeze et al., 2003*). Es wurde untersucht, ob 2-BT die beschriebenen Wirkungen hervorruft. Für diesen Test wurden weibliche Ratten genutzt, da die Effekte oft stärker und auch bei geringeren Dosen auftreten (s. I.3.3.5).

Die Ratten (weiblich) verbrachten die gesamte Versuchsdauer in ihren Heimatkäfigen. Um vergleichbare Ausgangsbedingungen zu schaffen, gab es vor Beginn des Versuchs ein *matching* anhand der KM. Für 21 d erhielten die Ratten zweimal täglich (9:00 und 16:00) eine Injektion mit 2-BT* (0.1 oder 0.3 mg/kg KM), dem Referenz-AP OLZ* (2.0 mg/kg KM) oder VEH. Morgens wurden die KM individuell und der Verbrauch an Wasser und Futter für jeden Käfig (n = 2 - 3) bestimmt. Für die Auswertung wurde jeweils der Nahrungskonsum durch die Anzahl der Ratten pro Käfig geteilt. Die Ergebnisse wurden danach in Relation zu den individuellen KM ausgewertet. Weiterhin wurde der Einfluss der chronischen 2-BT-Gabe auf die lokomotorische Aktivität untersucht. Hierfür wurden mit den Ratten am 14. Behandlungstag ca. 1 - 4 h nach der ersten Injektion der *open field test* durchgeführt (30 min; s. II.2.1.1). Um die Anfälligkeit für EPS nach chronischer Gabe zu prüfen, wurde am 20. Behandlungstag ca. 1 - 2,5 h nach der ersten Wirkstoffgabe dreimalig die Latenz im *bar* bzw. *grid test* bestimmt (s. II.2.2.1). Am 22. Behandlungstag wurden die Ratten mit Chloralhydrat* (720 mg/kg KM) euthanasiert. Frau Thom, eine Mitarbeiterin des Deutschen Instituts für Ernährungsforschung (DIfE), entfernte und wog das subkutane (inguinal), viszerale (retroperitoneal und gonadal) und braune Fettgewebe (interscapular) der Ratten.

3. Deskriptive und abschließende Statistik

Die statistische Auswertung der Versuche und das anschließende Anfertigen der dazugehörigen Graphen erfolgte mit der Statistiksoftware SigmaPlot 11.0 (Systat Software, Erkrath, Deutschland). Eine signifikante Abweichung ist durch $p \leq 0.05$ definiert. Eine Tendenz liegt vor, wenn der p-Wert kleiner als das doppelte Signifikanz-Niveau ist, also $p \leq 0.10$. Die Auswertung erfolgte durch Varianzanalysen (*analysis of variance*; *ANOVA*) und anschließende *post hoc tests*. Gepaarte Daten wurden mit einer *repeated measures (RM) ANOVA* untersucht. Sind die Daten durch mehr als eine Größe beeinflusst worden, z.B. Behandlung und Zeit, wurden *two way ANOVA* angewendet. Die Auswahl der *ANOVA* bzw. des *post hoc tests* erfolgt nach dem in Tabelle II.3 dargestellten Schema. Werden beim *post hoc test* die Behandlungsgruppen nicht nur mit der Kontrollgruppe sondern auch miteinander verglichen (*pairwise*), wurde das kritische Level für signifikante und tendenzielle Abweichungen zu kleineren p-Werten adjustiert. Soweit es für die Auswertung relevant ist, wird das adjustierte kritische Level angeführt. Die normalverteilten Daten sind in den Graphiken als Mittelwert ± Standardfehler (*standard error of the mean*; *S.E.M.*) dargestellt und die nicht-normalverteilten Daten als Boxplot (Median mit Mittelwert und 0.25/0.75-Quantilen) mit/ohne *whiskers* (0.05/0.95-Quantile). Die Daten wurden mit dem Grubbs-Test auf Ausreißer geprüft. Als Ausreißer gelten Werte, die mehr als den 1.5-fachen Quantilsabstand (Abstand zwischen 0.25- und 0.75-Quantil) vom 0.25- oder 0.75-Quantil abweichen. Welche Darstellung und Auswertung für den jeweiligen Versuch gewählt wurde, kann dem Ergebnisteil entnommen werden (s. III).

Tabelle II.3: Auswahl der *ANOVA* und des *post hoc tests*

	ANOVA		***post hoc test***	
	gepaart	ungepaart	gepaart	ungepaart
normalverteilt	*one* bzw. *two way RM ANOVA*	*one* bzw. *two way ANOVA*	Holm-Sidak-Methode	
nicht normalverteilt	Friedman *RM ANOVA*	Kruskal Wallis *one way ANOVA on Ranks*	Dunns Methode	

4. Verwendete Substanzen und Lösungen

Tabelle II.4.1: Verwendete pharmakologisch aktive Substanzen

Wirkstoff (Kurz-/Markenname)	Bezugsquelle	Zubereitung:
2-Bromtergurid	synthetisiert bei Alfarma sro, Cernoscice, Tschechien	Saline und 15 Vol.%-igem Cremophor EL
Dexamphetaminsulfat (Dexamphetamin)	Berlin Chemie, Berlin, Deutschland	In Saline gelöst
Haloperidol (Haldol®-Janssen)	Janssen-Cilag GmbH, Neuss, Deutschland	Haldol® (5 mg/mL) mit Saline verdünnt
Aripiprazol	Toronto Research Chemicals, Toronto, Ontario, Kanada	3,0 mg/kg (s. II.2.1.2 und II.2.2.2): Saline, 15 Vol.%igen Cremophor EL und 0,1 Vol.%-iger Essigsäure 3 mg/kg (s. II.2.2.3): Saline, 30 Vol.%-igem DMF und 1 Vol.%-iger Essigsäure; Ultraschallbad bei ϑ = 30°C
(±) 2,5-Dimethoxy-4-iodamphetamin-HCl (DOI)	Sigma Aldrich, Steinheim, Deutschland	Saline
Ketanserintartrat	Janssen Pharmaceuticals, Beerse, Belgien	Saline
(*R*)-(-)-Apomorphin-HCl x 0,5 H_2O (Apomorphin)	Sigma Aldrich Chemie, Steinheim, Deutschland	Saline und 0,1 Vol.%-iger *L*-(+)-Ascorbinsäure
Olanzapin	Sigma Aldrich Chemie, Steinheim, Deutschland	Saline und 15 Vol.%-igem Cremophor EL

Tabelle II.4.2: Verwendete Gebrauchslösungen

Lösung (evtl. ausführliche Bezeichnung)	Zusammensetzung	
AK-Lösung*	80 µl	Anti-c-fos-AK
	8 µl	Anti-β-Aktin-AK
	800 µl	NaN_3-Stammlsöung (SL)
	Ad 80 ml	Roti®-Block
APS (Ammoniumpersulfat-Lösung); 10 %	1.0 g	Ammoniumpersulfat
	ad 10.0 ml	*aqua dest.*
Aqua bidest.	Maschinell (*GFL 2014*) durch zweifache bzw. einfache Destillation von Leitungswasser hergestellt	
Aqua dest.		
Chloralhydrat; Lösung zur Euthanasie	7.2 g	Chloralhydrat; kristallin
	ad 10.0 ml	*aqua dest.*
Coomassie-Färbelösung	400 ml	Ethanol
	500 ml	*aqua dest.*
	1.0 g	Brilliant Blau G250
	100 ml	Eisessig
	anschließend durch Faltenfilter geben	
Entwickler (-lösung)	109 ml	Entwicklerkonzentrat
	ad 500 ml	*aqua dest.*
Fixierer (-lösung)	109 ml	Fixiererkonzentrat
	ad 500 ml	*aqua dest.*
Gel-Entfärbelösung	50 ml	Ethanol
	ad 900 ml	*aqua dest.*
	75 ml	Eisessig
	ad 1000 ml	*aqua dest.*
Isopropanol; 70 % (m/m)	700 ml	Isopropanol
	ad 1000 ml	*aqua dest.*
Ladepuffer-Mix	1 VT	DTT-Lösung; 30 x
	10 VT	*red loading buffer*; 3 x
	ad 30 VT	*aqua dest.*
Laufpuffer; 1x	100 ml	Laufpuffer; 10 x
	ad 1000 ml	*aqua dest.*
Laufpuffer*; 10x	30.2 g	Tris
	150.0 g	Glycin
	10.0 g	*SDS*
	ad 1000 ml	*aqua dest.*

VT…Volumenteil/-e

Fortsetzung Tabelle II.4.2: Verwendete Gebrauchslösungen

Lösung (evtl. ausführliche Bezeichnung)	Zusammensetzung	
***Lower buffer*,** **(Tris-HCl/SDS-Puffer; pH = 8,8)**	45.5 g 1.0 g 150.0 ml ad pH = 8.8 ad 250 ml	Tris *SDS* *aqua bidest.* HCl *aqua bidest.*
RIPA buffer **(*radioimmuno precipitation assay buffer*)**	1 VT 10 VT ad 100 VT	Protease-/Phosphatase-Hemmer; 100 x RIPA; 10 x *aqua dest.*
Roti®-Block **(*blocking-Lösung*)**	1 VT ad 10 VT	Roti®-Block-Konzentrat *aqua dest.*
TBS; 10x	80.0 g 24.2 g ad pH = 7.60 ad 1000 ml	NaCl Tris HCl *aqua dest.*
TBST 0,1%	100.0 ml 1.0 ml ad 1000 ml	TBS; 10 x Tween 20® *aqua dest.*
Transferpuffer	3,0 g 14,4 g 150,0 ml ad 1000 ml	Tris Glycin Methanol *aqua dest.*
***Upper buffer*,** **(Tris-HCl/SDS-Puffer; pH = 6,8)**	6,05 g 0,40 g 40,0 ml ad pH = 6,8 ad 100 ml	Tris *SDS* *aqua bidest.* HCL *aqua bidest.*.
Trenngel; 8%	9,000 ml 8,400 ml 16,200 ml 0,150 ml 0,030 ml	Acrylamid *lower buffer* *aqua dest.* APS TEMED

VT…Volumenteil/-e

Tabelle II.4.3: Verwendete Fertiglösung und Reinsubstanzen

Fertiglösung bzw. Reinsubstanz (evtl. ausführliche Bezeichnung)	**Hersteller**
Acrylamid (30% Acrylamid / 0,8% Bisacrylamid)	Sigma Aldrich Chemie, Steinheim, Deutschland
Ammoniumpersulfat; kristallin	Sigma Aldrich Chemie, Steinheim, Deutschland
Anti-c-fos-AK; aus Hasen gewonnen	New England Bio Labs, Frankfurt, Deutschland
Anti-β-Actin-AK; aus Hasen gewonnen	New England Bio Labs, Frankfurt, Deutschland
***L*-(+)-Ascorbinsäure; ≥ 99,0%**	Carl Roth, Karlsruhe, Deutschland
Blue loading buffer pack	*Cell Signaling Technology*, Leiden, Niederlande
Brilliant Blau G250	Carl Roth, Karlsruhe, Deutschland
Chloralhydrat, kristallin; ≥ 99,5%	Carl Roth, Karlsruhe, Deutschland
Cremophor EL	Sigma Aldrich Chemie, Steinheim, Deutschland
DMF (*N,N*-Dimethylformamid); ≥ 99,5%	Merck, Darmstadt, Deutschland
DTT-Lösung (1,4-Dithiothreitol); 30 x	*Cell Signaling Technology*, Leiden, Niederlande
Entwicklerkonzentrat (*carestream® Kodak® autoradiography GBX developer/replenisher*)	Sigma Aldrich Chemie, Steinheim, Deutschland
Eisessig (Essigsäure; ≥ 99,8%)	Riedel-de-Haën Laborchemikalien, Suelze, Deutschland
Ethanol; ≥ 99,9%	Merck, Darmstadt, Deutschland
Fixiererkonzentrat (*carestream® Kodak® processing chemicals for autoradiography films fixer/replenisher*)	Sigma Aldrich Chemie, Steinheim, Deutschland
Glycin; ≥ 99,0%	Carl Roth, Karlsruhe, Deutschland
HCl (Salzsäure); 32%	Merck, Darmstadt, Deutschland
***HRP*-gekoppelter Zweit-AK, polyklonal; aus Ziegen gewonnen, anti-Hase-IgG**	*Cell Signaling Technology*, Leiden, Niederlande
NaCl (Natriumchlorid, Salz); ≥ 99,5%	Merck, Darmstadt, Deutschland
Isopropanol; ≥ 99,5%	Carl Roth, Karlsruhe, Deutschland
Methanol; ≥ 99,8%	Merck, Darmstadt, Deutschland
Natriumazid; ≥ 99,5%	Sigma Aldrich Chemie, Steinheim, Deutschland
***SDS* (Natriumdodecylsulfat-Pellets); ≥ 99,0%**	Carl Roth, Karlsruhe, Deutschland
Ponceau® S-Lösung	Sigma Aldrich Chemie, Steinheim, Deutschland
Protease/Phosphatase-Hemmer; 100 x	*Cell Signaling Technology*, Leiden, Niederlande

Fortsetzung Tabelle II.4.3: Verwendete Fertiglösung und Reinsubstanzen

Fertiglösung bzw. Reinsubstanz (evtl. ausführliche Bezeichnung)	**Hersteller**
Proteinmarker; 10-180 kDa (*Biomol BLUE plus prestained Protein ladder*)	Biomol, Hamburg, Deutschland
***Red loading buffer*; 3 x**	*Cell Signaling Technology*, Leiden, Niederlande
RIPA-Puffer; 10 x *(radioimmunoprecipitation assay buffer)*	New England Bio Labs, Frankfurt, Deutschland
Roti®-Block-Konzentrat; 10 x	Carl Roth, Karlsruhe, Deutschland
Saline (Natriumchloridlösung, isotonisch)	B. Braun, Karlsruhe, Deutschland
TEMED (Tetramethylethylendiamin); ≥ 99,0%	Carl Roth, Karlsruhe, Deutschland
Tris (Pufferan®); ≥ 99,9%	Carl Roth, Karlsruhe, Deutschland
Tween 20 ®	Carl Roth; Karlsruhe, Deutschland

ERGEBNISSE III.

1. Verhaltenspharmakologische Untersuchungen nach akuter Gabe von 2-Bromtergurid

Soweit nichts anderes angegeben ist, wurden alle Effekte der Behandlungsgruppen mit denen der VEH-Gruppe verglichen.

1.1 *Open field test*

Im Vorversuch wurde das Laufverhalten durch 0.03 mg/kg KM 2-BT nur geringfügig beeinträchtigt, wohingegen die Gabe 1.0 mg/kg 2-BT eine starke Sedierung hervorrief. Daher wurden die Dosierungen 0.1 und 0.3 mg/kg KM 2-BT für alle nachfolgenden Versuche ausgewählt. Im Hauptversuch wurden die lokomotorische Aktivität und das Spontanverhalten an 30 Ratten untersucht, wobei jeweils 10 Tiere in der VEH- und den 2-BT (0.1 und 0.3 mg/kg)-Gruppen waren.

Die statistische Auswertung (*one way ANOVA*) ergab signifikante Unterschiede bzgl. der lokomotorischen Aktivität [$F_{(2, 27)} = 25.2$; $p < 0.001$], der Anzahl des vertikalen Aufrichtens [*rearing*; $F_{(2, 27)} = 19.0$; $p < 0.001$] und der Zentrumsläufe [$F_{(2, 27)} = 6.9$; $p = 0.004$], sowie der Inaktivitätszeiten [$F_{(2, 27)} = 10.5$; $p < 0.001$]. In Bezug auf das Putzverhalten [*grooming*; $F_{(2, 27)} = 2.9$; $p = 0.075$] zeigten sich keine Unterschiede.

Post hoc tests (Holm-Sidak-Methode) zeigten, dass die Tiere beider 2-BT-Gruppen signifikant weniger Distanz zurücklegten (0.1 und 0.3 mg/kg 2-BT: $p < 0.001$; s. Abb. III.1.1/1), sich weniger aufrichteten (0.1 und 0.3 mg/kg 2-BT: $p = 0.003$ bzw. $p < 0.001$; s. Abb. III.1.1/2) und länger inaktiv waren (0.1 und 0.3 mg/kg 2-BT: $p = 0.019$ bzw. $p < 0.001$; s. Abb. III.1.1/2). Hierbei gab es dosisabhängige Effekte ($p < 0.05$; s. Abb. III.1.1/1 und III.1.1/2). Ferner liefen die Ratten durch die Behandlung mit 2-BT (0.3 mg/kg) weniger in den mittleren Quadranten (Zentrum) ($p < 0.001$; s. Abb. III.1.1/2).

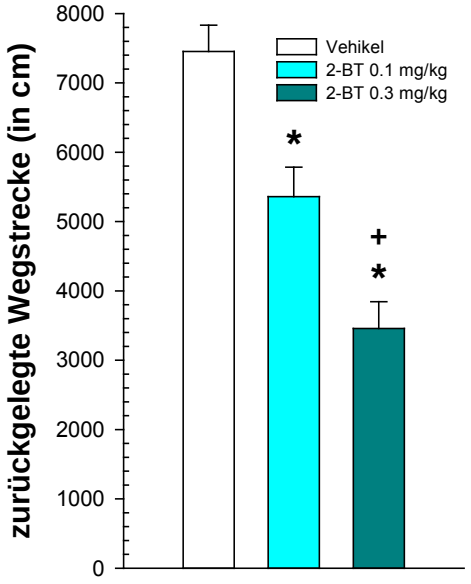

Abb. III.1.1/1: Effekt der Behandlung mit 2-Bromtergurid (0.1 und 0.3 mg/kg) auf die zurückgelegte Wegstrecke. Die Daten sind als Mittelwert der zurückgelegten Wegstrecken und den zugehörigen Standardfehlern (+ *S.E.M.*) dargestellt. Es zeigten sich signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen (*one way ANOVA*; *, $p < 0.05$ vs. VEH; +, $p < 0.05$ vs. 0.1 mg/kg 2-BT; n = 10).

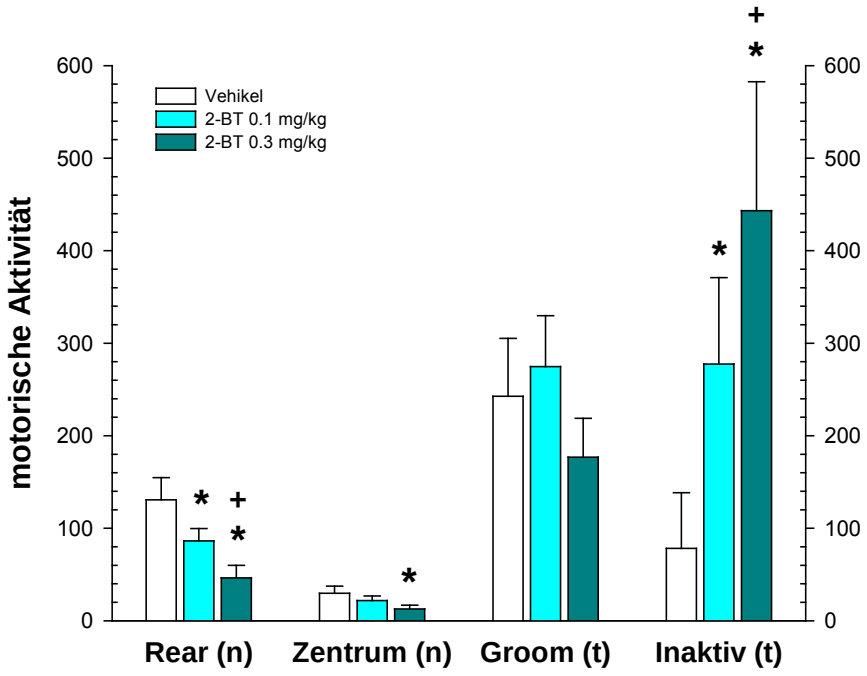

Abb. III.1.1/2: Effekt der Behandlung mit 2-Bromtergurid (0.1 und 0.3 mg/kg) auf das Spontanverhalten. Die Daten sind als Mittelwerte der Untersuchungsparameter und den zugehörigen Standardfehlern (+ *S.E.M.*) dargestellt. Es zeigten sich signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen (*one way ANOVA*; *, $p < 0.05$ vs. VEH; +, $p < 0.05$ vs. 0.1 mg/kg 2-BT; n = 10). Rear…*rearing* (Aufrichteverhalten); Zentrum…Zentrumseintritte; Groom…*grooming* (Putzverhalten); Inaktiv…Inaktivitätszeiten

1.2 *Wet dog shakes test*

Der *WDS*-Vorversuch zeigte, dass 2 mg/kg DOI ausreichend viele *WDS* bei Ratten hervorruft und dass dieses Resultat reproduzierbar ist. Der Hauptversuch wurde mit 59 Ratten durchgeführt, davon waren 10 Tiere in der VEH-Gruppe, jeweils 11 in den 2-BT (0.1 und 0.3. mg/kg)- und der DOI (2 mg/kg)-Gruppe, sowie jeweils 8 Ratten in der Ketanserin (1 mg/kg)- und ARI (3 mg/kg)-Gruppe.

Die *one way ANOVA* zeigte signifikante Unterschiede der *WDS*-Anzahl [$F_{(5, 53)} = 10.8$; $p < 0.001$].

DOI induzierte *WDS* ($p < 0.001$; Holm-Sidak-Methode; s. Abb. III.1.2). Ketanserin konnte den DOI-Effekt wieder aufheben ($p < 0.001$ vs. DOI; $p = 0.918$ vs. VEH). Die 2-BT-Gruppen milderten den DOI-Effekt ab (0.1 und 0.3 mg/kg 2-BT: $p = 0.004$ bzw. $p = 0.002$), unterschieden sich aber noch von VEH (0.1 und 0.3 mg/kg 2-BT: $p = 0.002$ bzw. $p = 0.004$). ARI unterschied sich signifikant von VEH ($p < 0.001$), aber nicht von der DOI-Gruppe ($p = 0.035$ bei adjustiertem kritischen Level $p = 0.010$).

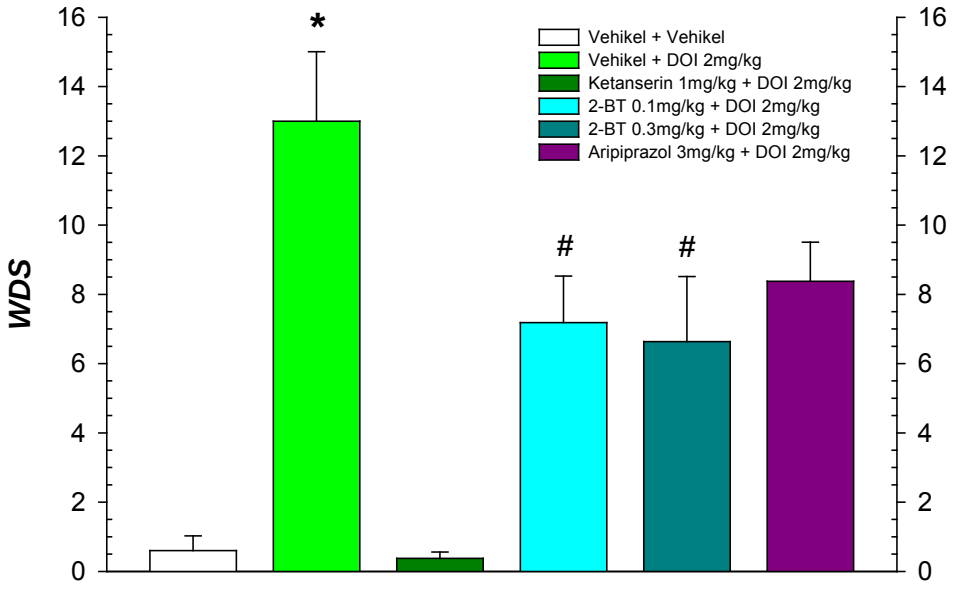

Abb. III.1.2: Effekt der Behandlung mit 2-Bromtergurid (0.1 und 0.3 mg/kg) und Aripiprazol (3 mg/kg) auf die DOI (2 mg/kg)-induzierten *WDS*. Die Daten sind als Mittelwert der *WDS*-Anzahl und den zugehörigen Standardfehlern (+ *S.E.M.*) dargestellt. Es zeigten sich signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen (*one way ANOVA*; *, $p < 0.05$ vs. VEH; #, $p < 0.05$ vs. DOI; $n = 8 - 11$).

1.3 Apomorphin-induzierte Hypolokomotion

Im durchgeführten Vorversuch wurde gezeigt, dass 0.1 mg/kg KM APO die Lokomotion ausreichend verringert und dass dieses Ergebnis reproduzierbar ist. Im Hauptversuch wurde die APO-induzierte Hypolokomotion an 43 Tieren untersucht, davon waren 10 Tiere in der VEH-Gruppe und jeweils 11 Tiere in der APO (0.1 mg/kg) und den 2-BT (0.1 und 0.3 mg/kg)-Gruppen.

Die *one way ANOVA* stellte signifikante Unterschiede der zurückgelegten Laufstrecken fest [$F_{(3, 39)} = 13.9$; $p < 0.001$].

APO induzierte eine Hypolokomotion ($p < 0.001$; Holm-Sidak-Methode; s. Abb. III.1.3). Verglichen mit APO wurde die lokomotorische Aktivität durch 2-BT nicht beeinflusst (0.1 mg/kg und 0.3 mg/kg 2-BT: $p = 0.352$ bzw. $p = 0.047$ bei adjustiertem kritischen Level $p = 0.017$; s. Abb. III.1.3). Die 2-BT-Gruppen wichen signifikant von VEH ab (0.1 und 0.3 mg/kg 2-BT: $p < 0.001$).

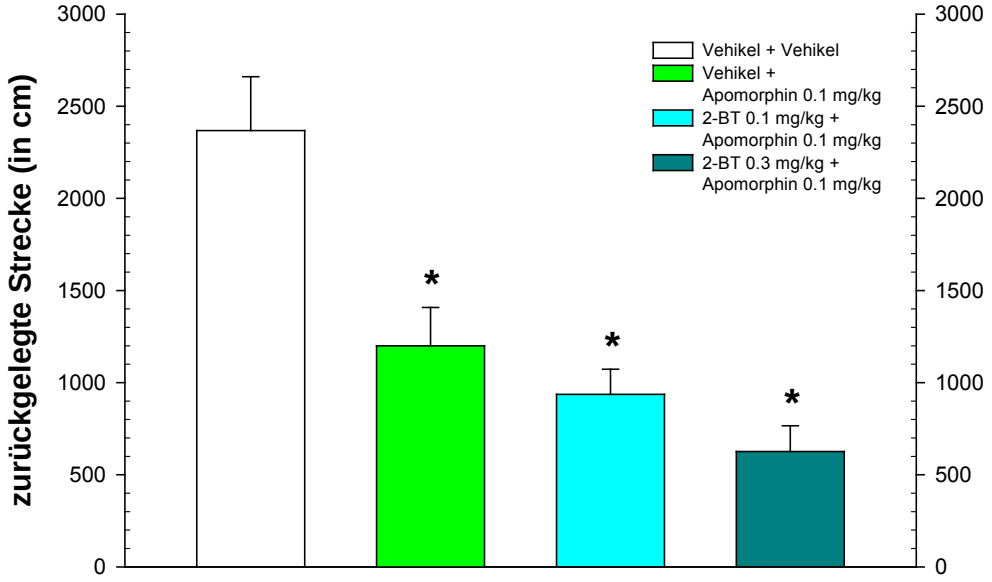

Abb. III.1.3: Effekt der Behandlung mit 2-Bromtergurid (0.1 und 0.3 mg/kg) auf die Apomorphin (0.1 mg/kg)-induzierte Hypolokomotion. Die Daten sind als Mittelwert der zurückgelegten Laufstrecken und den zugehörigen Standardfehlern (+ *S.E.M.*) dargestellt. Es zeigten sich signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen (*one way ANOVA*; *, $p < 0.05$ vs. VEH; n = 10 - 11).

2. Prüfung auf gewünschte und unerwünschte Antipsychotika-Wirkungen

2.1 Katalepsie-Tests

Die Katalepsie-Tests (*bar* und *grid test*) wurden an 38 Tieren untersucht, davon waren jeweils 10 Tiere in der VEH- und den 2-BT (0.1 und 0.3 mg/kg)-Gruppen, sowie 8 Tiere in der Halo (0.5 mg/kg)-Gruppe. Da der Messpunkt t = 150 min erst nachträglich festgelegt wurde, wurden an diesem Messpunkt nur 7 Tiere der VEH- und der 2-BT (0.3 mg/kg)-Gruppe getestet.

Die Kruskal Wallis *one way ANOVA on Ranks* zeigte im *bar test* nach 15 min [$H = 1.2$; $p = 0.748$; $df = 3$] keine signifikanten Unterschiede bzgl. des kataleptischen Verhaltens, aber nach 30 [$H = 12.7$; $p = 0.05$; $df = 3$], 60 [$H = 9.8$; $p = 0.02$; $df = 3$], 90 [$H = 23.3$; $p \leq 0.001$; $df = 3$], 120 [$H = 20.1$; $p \leq 0.001$; $df = 3$] und 150 min [$H = 15.5$; $p = 0.001$; $df = 3$]. Im *grid test* zeigten sich signifikante Unterschiede nach 15 [$H = 17.2$; $p \leq 0.001$; $df = 3$], 30 [$H = 16.6$; $p \leq 0.001$; $df = 3$], 60 [$H = 24.3$; $p \leq 0.001$; $df = 3$], 90 [$H = 25.8$; $p \leq 0.001$; $df = 3$], 120 [$H = 23.0$; $p \leq 0.001$; $df = 3$] und 150 min [$H = 19.9$; $p \leq 0.001$; $df = 3$].

Gemäß *Wadenberg et al., 2001* ist ein *score* = 2 der Beginn des kataleptischen Verhaltens. 2-BT induzierte in beiden Tests kein kataleptisches Verhalten, da mindestens 80 % der Ratten durch einen *score* < 2 charakterisiert waren. Obwohl bei t = 150 min weniger Ratten mit 2-BT (0.3 mg/kg) getestet wurden, hatten trotzdem mehr als die Hälfte der Tiere einen *score* < 2. Mindestens 70 % der Halo-behandelten Tiere zeigten in beiden Tests spätestens ab t = 60 min einen *score* ≥ 2. Im *bar und grid test* zeigten die Halo-Gruppe nach 60, 90, 120 und 150 min einen signifikant höheren *score* als die VEH- und/oder 2-BT (0.1 mg/kg)-Gruppe ($p < 0.05$; Dunns Methode; s Abb. III.2.1A und B). Im *grid test* führte die Halo-Behandlung auch nach 30 min zu einem signifikant höheren *score* als jede andere Behandlung ($p < 0.05$; s Abb. III.2.1B).

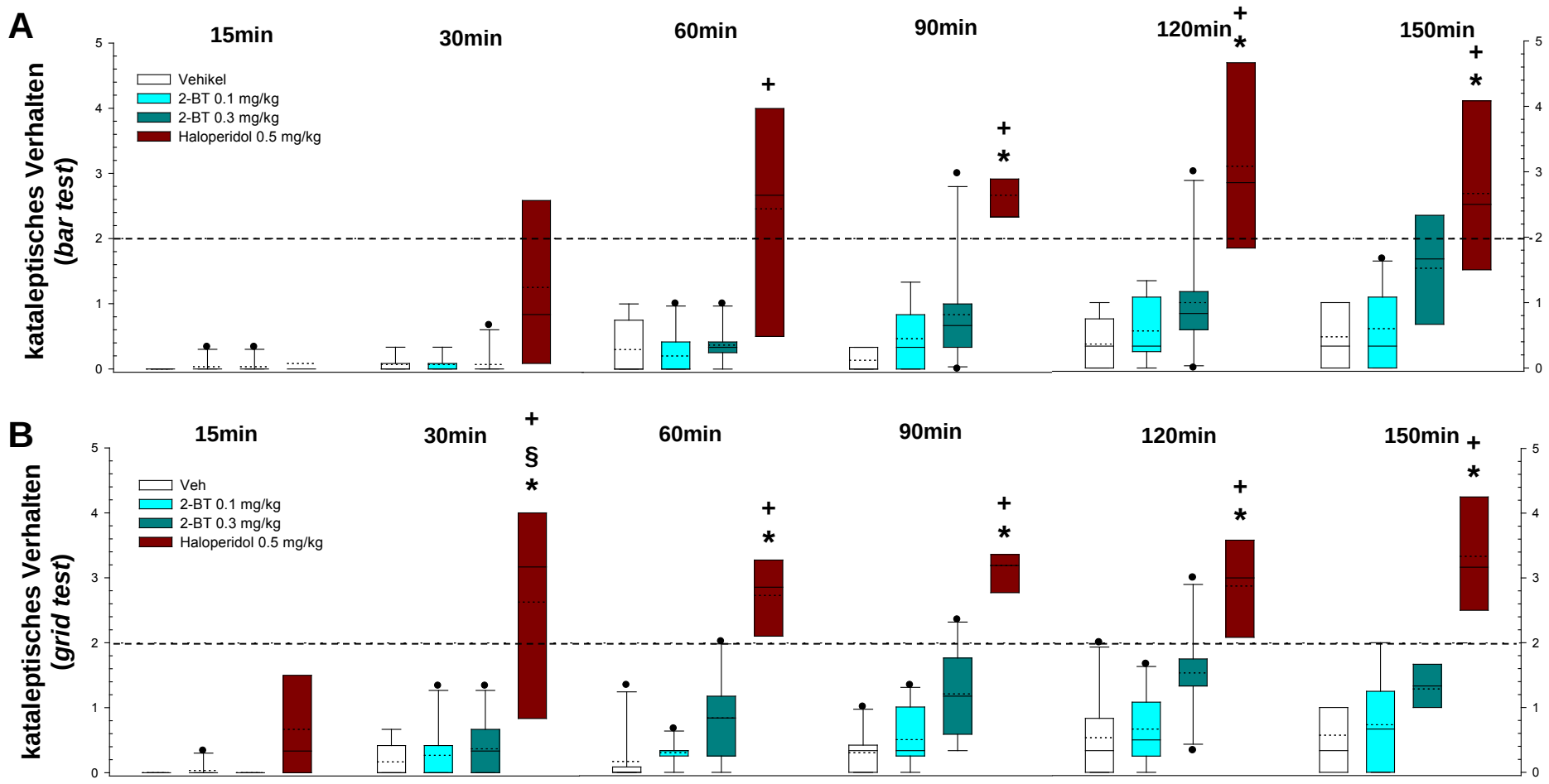

Abb. III.2.1: Überprüfung des kataleptischen Potentials von 2-Bromtergurid (0.1 und 0.3 mg/kg) und Haloperidol (0.5 mg/kg) durch den (A) *bar* und (B) *grid test*. Die Daten sind als *box plot* mit Median (durchgezogene Linie), Mittelwert (gepunktete Linie) und 0.05/0.95-Quantilen dargestellt. Es zeigten sich signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen (Kruskal Wallis *one way ANOVA on Ranks*; *, $p < 0.05$ vs. VEH; +, $p < 0.05$ vs. 0.1 mg/kg 2-BT; §, $p < 0.05$ vs 0.3 mg/kg 2-BT; n = 7 - 10); Die gestrichelte Linie markiert den Punkt, ab dem das Verhalten als kataleptisch betrachtet wird (*Wadenberg et al., 2001*).

2.2 Amphetamin-induzierte Lokomotion und Stereotypien

AIL

Im durchgeführten Vorversuch des AIL-Tests wurde gezeigt, dass 1.5 mg/kg KM AMPH genügen, um die Lokomotion ausreichend und reproduzierbar zu steigern. Im Hauptversuch wurde der AIL-Test mit 48 Ratten durchgeführt, davon waren jeweils 10 Tiere in der VEH-, der AMPH- und den 2-BT (0.1 und 0.3 mg/kg)-Gruppen, sowie 8 Tiere in der ARI (3 mg/kg)-Gruppe.

Die statistische Auswertung (*two way RM ANOVA*) ergab signifikante Unterschiede bzgl. der Behandlung [$F_{(4, 473)} = 16.0$; $p < 0.001$], der Zeit [$F_{(11, 473)} = 23.9$; $p < 0.001$] und der Interaktion beider Faktoren [$F_{(44, 473)} = 4.3$; $p < 0.001$].

AMPH induzierte eine Hyperlokomotion (t = 0–120 min; $p < 0.05$; Holm-Sidak-Methode; s. Abb. III.2.2/1). Die Behandlungsgruppen konnten die induzierte Hyperlokomotion signifikant reduzieren (0.1 mg/kg 2-BT: t = 0 - 80 min, $p < 0.05$; 0.3 mg/kg 2-BT: t = 0 – 100 min, $p < 0.05$; ARI: t = 0 – 110 min, $p < 0.05$).

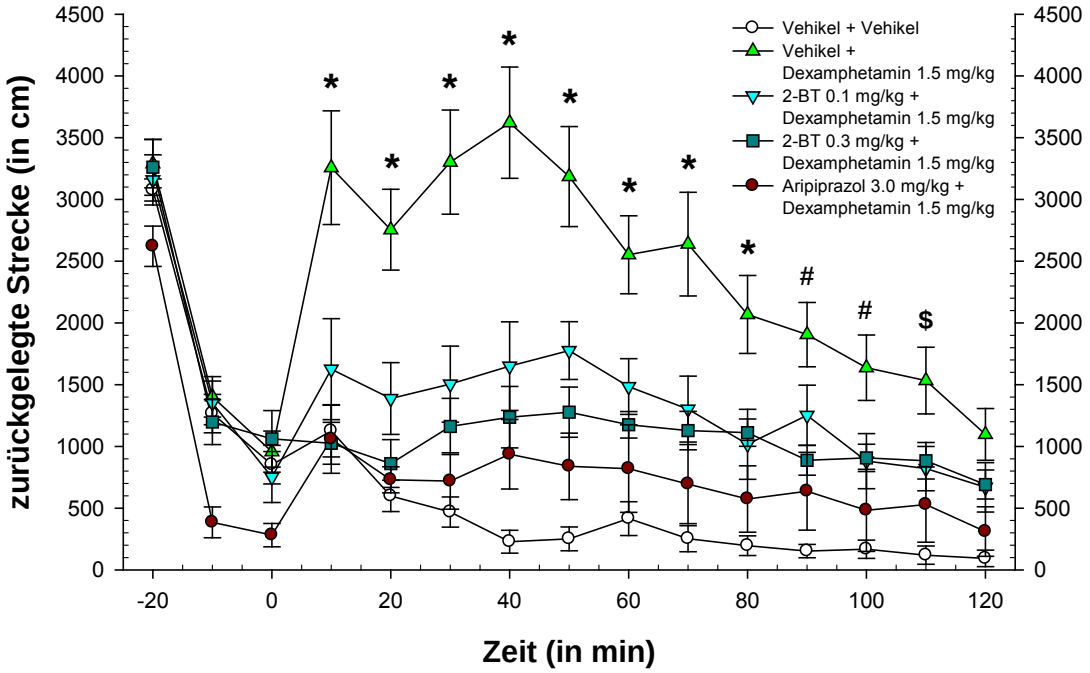

Abb. III.2.2/1: Effekt der Behandlung mit 2-Bromtergurid (0.1 und 0.3 mg/kg) und Aripiprazol (3.0 mg/kg) auf die Dexamphetamin (1.5 mg/kg)-induzierte Lokomotion. Die Daten sind als Mittelwert der zurückgelegten Laufstrecken und den zugehörigen Standardfehlern (± *S.E.M.*) dargestellt. Es zeigten sich signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen (*two way RM ANOVA*; *, $p < 0.05$ AMPH vs. 0.1 und 0.3 mg/kg 2-BT und ARI; #, $p < 0.05$ AMPH vs. 0.3 mg/kg 2-BT und ARI; $, $p < 0.05$ AMPH vs. ARI; n = 8 - 10).

AIS

Der durchgeführte Vorversuch zeigte, dass 5.0 mg/kg KM AMPH nötig sind, um Stereotypien zu induzieren, die bei allen Ratten gleich stark sind und sich phänotypisch ähneln. Im Hauptversuch wurden 40 Tiere untersucht, davon wurden je 10 Tiere den einzelnen Gruppen zugeordnet (VEH, 2-BT (0.1 und 0.3 mg/kg), AMPH (5 mg/kg)).

Die statistische Auswertung (*one way ANOVA on Ranks*) zeigte signifikante Unterschiede des stereotypen Verhaltens an [$H = 26.6$; $p \leq 0.001$; $df = 3$].

AMPH induzierte stereotypes Verhalten ($p < 0.05$), das durch die 2-BT-Behandlung nicht abgemildert werden konnte ($p > 0.05$ vs. AMPH; Dunns Methode; s. Abb. III.2.2/2). Die 2-BT-Gruppen unterschieden sich signifikant von VEH ($p < 0.05$).

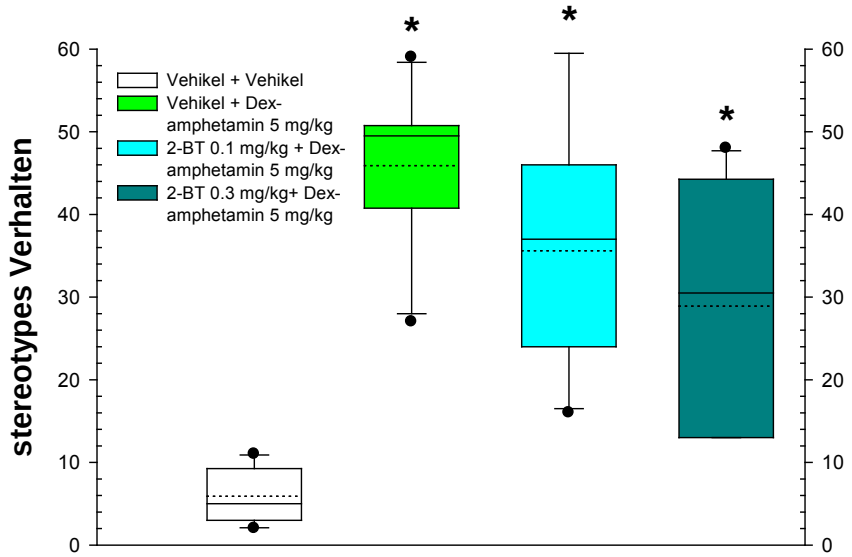

Abb. III.2.2/2: Effekt der Behandlung mit 2-Bromtergurid (0.1 und 0.3 mg/kg) auf die Dexamphetamin (5 mg/kg)-induzierten Stereotypien. Die Daten sind als *box plot* mit Median (durchgezogene Linie), Mittelwert (gepunktete Linie) und 0.05/0.95-Quantilen dargestellt. Es zeigten sich signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen (*one way ANOVA on Ranks*; *, $p < 0.05$ vs. VEH; $n = 10$)

2.3 *Conditioned avoidance response test*

Im durchgeführten Vorversuch wurde gezeigt, dass 0.05 und 0.1 mg/kg KM Halo bzw. 1 und 3 mg/kg KM ARI die *avoidance*-Rate beeinflussen ohne *failures* zu verursachen. Für den Hauptversuch wurden 37 Tiere verwendet, davon erreichten 34 das Testkriterium (*avoidance*-Rate ≥ 80 % an zwei aufeinander folgenden Tagen). 12 Tiere wurden im ersten Versuchsabschnitt (VEH, 2-BT 0.1 und 0.3 mg/kg) getestet, 10 Tiere im zweiten Abschnitt (VEH, Halo 0.05 und 0.1 mg/kg) und 12 Tiere im dritten Abschnitt (VEH, ARI 1.0 und 3.0 mg/kg; s.II.2.2.3). Die Ratten der drei Abschnitte erreichten den ersten Testtag gleich schnell [$H = 3.5$; $p = 0.175$; $df = 2$].

2-Bromtergurid

Die *avoidance*-Rate wurde durch die Behandlung [$F_{(2, 88)} = 12.7$; $p < 0.001$], die Zeit [$F_{(4, 88)} = 23.3$; $p < 0.001$] und die Interaktion beider Faktoren [$F_{(8, 88)} = 4.7$; $p < 0.001$] beeinflusst (*two way RM ANOVA*). 2-BT reduzierte nach 30, 90 und 270 min die *avoidance*-Rate (0.1 und 0.3 mg/kg 2-BT: $p < 0.05$ bzw. $p < 0.001$; Holm-Sidak-Methode; s. Abb. III.2.3/1A). Im Vergleich zum eigenen Vortest, dem Testlauf vor der Wirkstoffgabe, verminderte 2-BT (0.1 mg/kg) die *avoidance*-Rate nach 90 und 270 min und 2-BT (0.3 mg/kg) zusätzlich nach 30 min ($p < 0.001$; s. Abb. III.2.3/1A).

Die mittlere *avoidance*-Latenz wurde nicht durch die Behandlung [$F_{(2, 88)} = 1.6$; $p = 0.219$], die Zeit [$F_{(4, 88)} = 2.4$; $p = 0.061$] oder die Interaktion beider Faktoren [$F_{(8, 88)} = 1.8$; $p = 0.087$] beeinflusst (*two way RM ANOVA;* nicht dargestellt).

Es gab keine Unterschiede der Gesamt-*failures* [χ^2 = 5.0; p = 0.083; *df* = 2], sowie der *failures* im Vortest [χ^2 = 2.0; p = 0.368; *df* = 2], nach 30 [χ^2 = 3.0; p = 0.227; *df* = 2], 90 [χ^2 = 4.7; p = 0.096; *df* = 2], 270 min [χ^2 = 2.0; p = 0.368; *df* = 2] und 24 h [χ^2 = 3.0; p = 0.223; *df* = 2] (Friedman *RM ANOVA;* s. Abb. III.2.3/2A).

Haloperidol

Die *avoidance*-Rate wurde durch die Behandlung [$F_{(2, 72)}$ = 16.2; p < 0.001], die Zeit [$F_{(4, 72)}$ = 23.6; p < 0.001] und die Interaktion beider Faktoren [$F_{(8, 72)}$ = 9.1; p < 0.001] beeinflusst (*two way RM ANOVA*). Halo (0.05 mg/kg) induzierte nach 90 und 270 min eine Reduktion der *avoidance*-Rate (p < 0.05) und Halo (0.1 mg/kg) zusätzlich nach 30 min (p < 0.001; Holm-Sidak-Methode; s. Abb. III.2.3/1B). Beide Halo-Gruppen unterschieden sich nach 30, 90 und 270 min vom jeweiligen Vortest (0.05 und 0.1 mg/kg Halo: p < 0.05 bzw. p < 0.001).

Die Zeit hatte keinen Einfluss auf die mittlere a*voidance*-Latenz [$F_{(4, 71)}$ = 0.8; p = 0.516], aber die Behandlung [$F_{(2, 71)}$ = 3.7; p = 0.046] und die Interaktion beider Faktoren [$F_{(8, 71)}$ = 2.8; p = 0.009] (*two way RM ANOVA*). Nach 90 min verringerte Halo (0.1 mg/kg) die mittlere *avoidance*-Latenz (p = 0.002; Holm-Sidak-Methode; nicht dargestellt).

Es gab keine Unterschiede der Gesamt-*failures* [χ^2 = 4.8; p = 0.093; *df* = 2], sowie der *failures* im Vortest [χ^2 = 2.0; p = 0.368; *df* = 2], nach 30 [χ^2 = 2.0; p = 0.368; *df* = 2], 90 [χ^2 = 5.0; p = 0.084; *df* = 2], 270 min [χ^2 = 3.9; p = 0.143; *df* = 2] und 24 h [χ^2 = 2.0; p = 0.368; *df* = 2] (Friedman *RM ANOVA*; s. Abb. III.2.3/2B).

Aripiprazol

Die *two way RM ANOVA* zeigte an, dass die *avoidance*-Rate durch die Behandlung [$F_{(2, 72)}$ = 38.5; p < 0.001], die Zeit [$F_{(4, 80)}$ = 49.1; p < 0.001] und die Interaktion beider Faktoren beeinflusst wurde [$F_{(8, 80)}$ = 12.9; p < 0.001]. Verglichen mit VEH und dem eigenen Vortest reduzierte ARI nach 30, 90 und 270 min die *avoidance*-Rate (1 und 3 mg/kg ARI: p < 0.05 und p < 0.001 bzw. p < 0.001 und p < 0.001; Holm-Sidak-Methode; s. Abb. III.2.3/1C).

Auf die mittlere *avoidance*-Latenz hatten die Behandlung [$F_{(2, 80)}$ = 0.4; p = 0.667], die Zeit [$F_{(4, 80)}$ = 0.2; p = 0.913] und die Interaktion beider Faktoren [$F_{(8, 80)}$ = 0.7; p = 0.710] keinen Effekt (*two way RM ANOVA;* nicht dargestellt).

Die Friedman *RM ANOVA* stellte hinsichtlich der Gesamt-*failures* [χ^2 = 10.8; p = 0.005; *df* = 2], sowie der *failures* nach 30 [χ^2 = 13.6; p = 0.001 *df* = 2] und 90 min [χ^2 = 7.78; p = 0.022; *df* = 2] Unterschiede fest. Es wurden keine Unterschiede im Vortest [χ^2 = 1.0; p = 0.607; *df* = 2], nach 270 min [χ^2 = 5.8; p = 0.055; *df* = 2] und 24 h [χ^2 = 2.0; p = 0.368; *df* = 2] gefunden. Die Gesamt-*failures* und die *failures* nach 30 min waren nach Gabe von ARI (3 mg/kg) erhöht (p < 0.05; Dunns-Methode; s. Abb. III.2.3/2C).

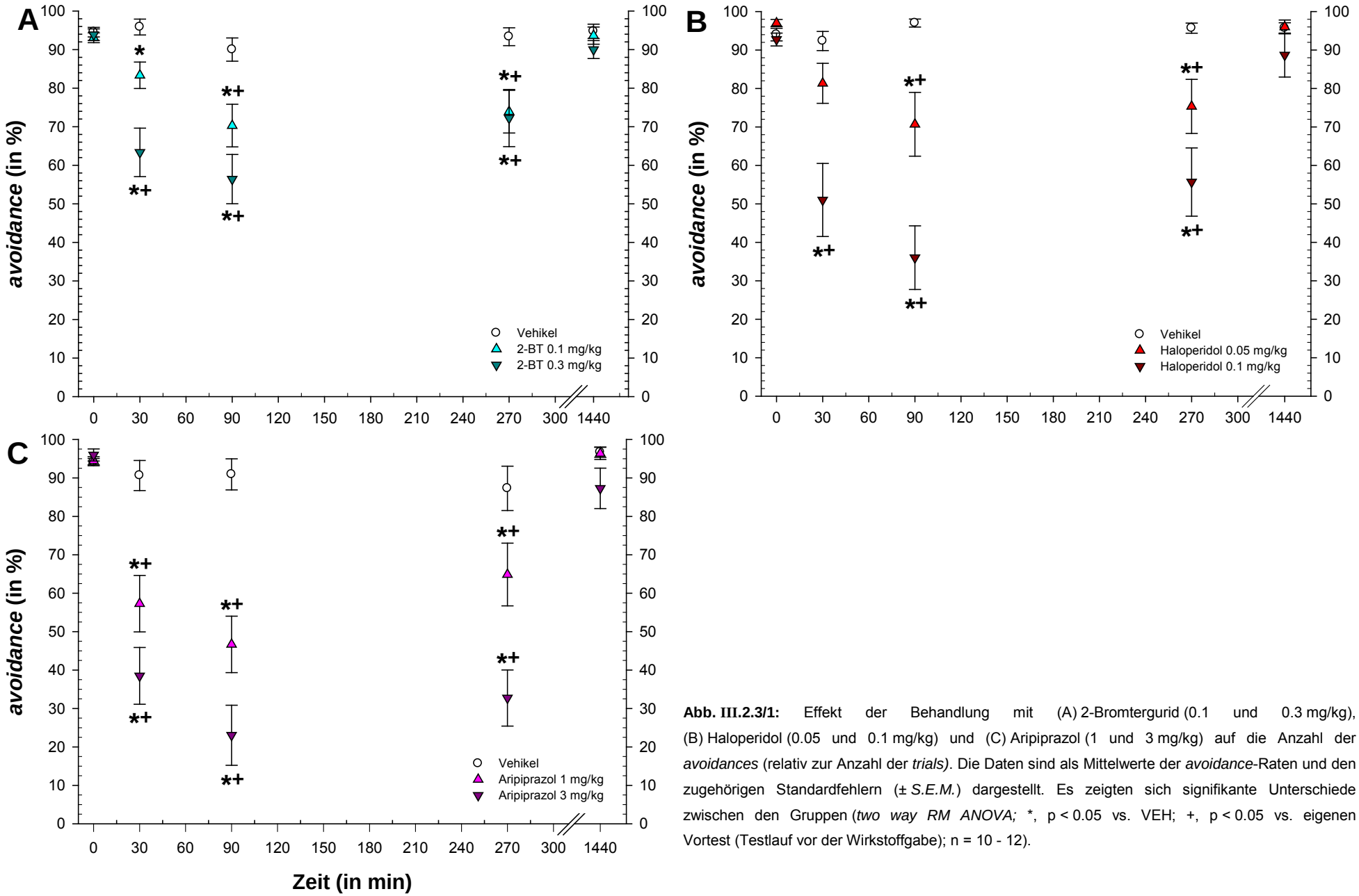

Abb. III.2.3/1: Effekt der Behandlung mit (A) 2-Bromtergurid (0.1 und 0.3 mg/kg), (B) Haloperidol (0.05 und 0.1 mg/kg) und (C) Aripiprazol (1 und 3 mg/kg) auf die Anzahl der *avoidances* (relativ zur Anzahl der *trials)*. Die Daten sind als Mittelwerte der *avoidance*-Raten und den zugehörigen Standardfehlern (± *S.E.M.*) dargestellt. Es zeigten sich signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen (*two way RM ANOVA;* *, $p < 0.05$ vs. VEH; +, $p < 0.05$ vs. eigenen Vortest (Testlauf vor der Wirkstoffgabe); n = 10 - 12).

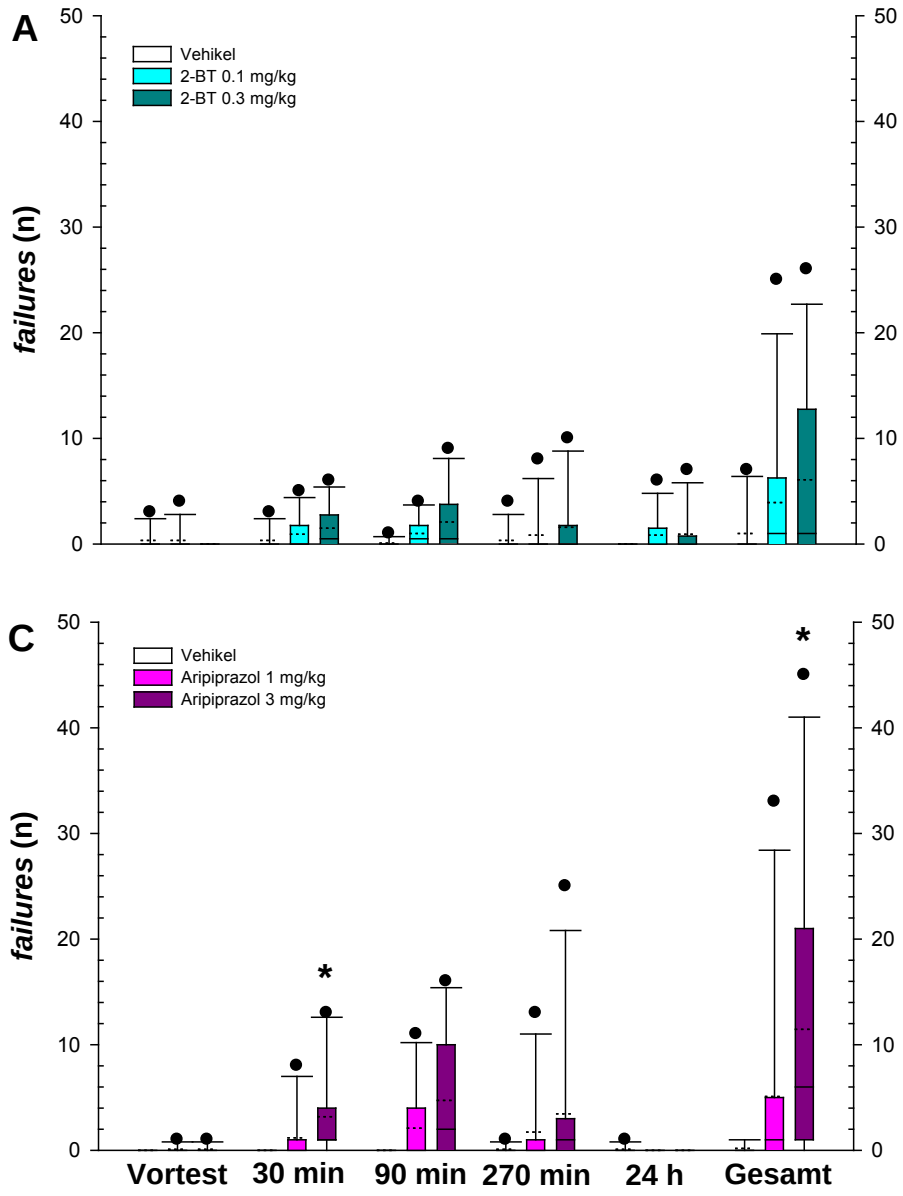

Abb. III.2.3/2: Effekt der Behandlung mit (A) 2-Bromtergurid (0.1 und 0.3 mg/kg), (B) Haloperidol (0.05 und 0.1 mg/kg) und (C) Aripiprazol (1 und 3 mg/kg) auf die Anzahl der *failures*. Die Daten sind als *box plots* mit Median (durchgezogene Linie), Mittelwert (gepunktete Linie) und 0.05/0.95-Quantilen dargestellt. Es zeigten sich signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen (*Friedman RM ANOVA; **, $p < 0.05$ vs. VEH; n = 10 - 12).

2.4 Untersuchung der neuronalen Aktivität (cfos)

Die biochemische Bestimmung der neuronalen Aktivität (c-fos) wurde an 32 Tieren durchgeführt, davon waren jeweils 8 Tiere in den Behandlungsgruppen (2-BT 0.1 und 0.3 mg/kg, Halo 0.5 mg/kg und VEH). Der *Grubbs test* zeigte an, dass ein Tier aus der 2-BT (0.1 mg)-Gruppe ein Ausreißer ist. Die entsprechenden Werte wurden bei der Auswertung nicht berücksichtigt. Zwei Proben wurden aus der Auswertung entfernt, da keine c-fos-Signale detektiert werden konnten.

Die durchgeführten *one way ANOVA* erkannten im mPFC [$F_{(3, 27)} = 6.4$; $p = 0.002$], im NAc [$F_{(3, 26)} = 5.6$; $p = 0.004$] und im dorsalen Striatum [dStr; $F_{(3, 27)} = 5.8$; $p = 0.003$] Behandlungseffekte. Im Hypophysen-Hypothalamus-System [HHS; $F_{(3, 25)} = 1.1$; $p = 0.358$] wurde kein Unterschied festgestellt.

2-BT verursachte im mPFC und im NAc eine verstärkte c-fos-Expression (0.1 und 0.3 mg/kg 2-BT: $p = 0.002$ und 0.003 bzw. $p = 0.007$ und < 0.001; Holm-Sidak-Methode; s. Abb. III.2.4). Halo hatte keinen Effekt auf die Aktivität im mPFC ($p = 0.793$), verstärkte aber die Expression im NAc tendenziell ($p = 0.023$ bei adjustiertem kritischen Level $p = 0.013$; s. Abb. III.2.4). 2-BT (0.1 mg/kg) und Halo erhöhten die c-fos-Expression im dStr (0.1 mg/kg 2-BT: $p = 0.004$; Halo: $p = 0.005$; s. Abb. III.2.4). Die Effekte der 2-BT-Dosen unterschieden sich im dStr ($p = 0.010$; s. Abb. III.2.4).

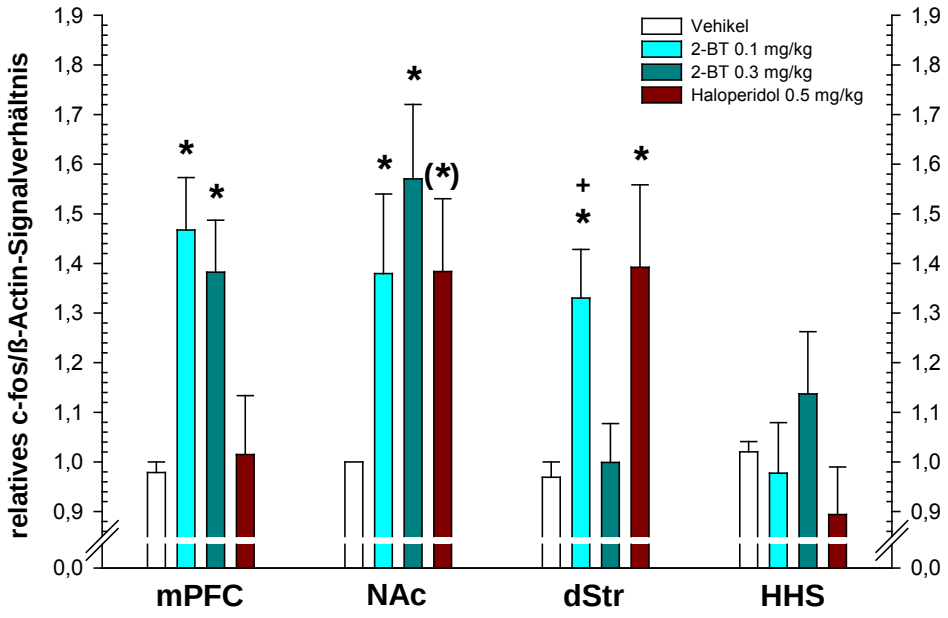

Abb. III.2.4: Effekt der Behandlung mit 2-Bromtergurid (0.1 und 0.3 mg/kg) und Haloperidol (0.5mg/kg) auf die c-fos-Expression in verschiedenen Hirnarealen. Die Daten sind als Mittelwerte der c-fos/β-Aktin-Verhältnisse und den zugehörigen Standardfehlern (+ *S.E.M.*) dargestellt. Es zeigten sich signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen (*one way ANOVA*; *, $p < 0.05$ vs. VEH; (*), $p < 0.10$ vs. VEH; +, $p < 0.05$ vs. 0.3 mg/kg 2-BT; $n = 7 - 8$). mPFC…medialer Präfrontalkortex; NAc…Nucleus accumbens; dStr…dorsales Striatum; HHS… Hypophysen-Hypothalamus-System

2.5 Einfluss der chronischen Gabe von 2-Bromtergurid auf metabolische Parameter sowie das Verhalten im *open field* und den Katalepsie-Tests

Die Untersuchung des Einflusses der chronischen Behandlung auf die KM, den Nahrungs- bzw. Wasserkonsum und bestimmte Fettgewebe, sowie auf die motorische Aktivität und das kataleptische Potential wurde mit 35 Ratten durchgeführt, davon bekamen je 9 Tiere VEH oder 2-BT (0.1 und 0.3 mg/kg) und 8 Ratten OLZ (2 mg/kg).

Die statistische Analyse (*two way RM ANOVA*) der relativen KM zeigte Unterschiede durch die Behandlung [$F_{(3, 651)} = 4.8$; $p = 0.008$], die Zeit [$F_{(21, 651)} = 196.4$; $p < 0.001$] und die Interaktion beider Faktoren [$F_{(63, 651)} = 1.8$; $p < 0.001$]. OLZ verursachte im Untersuchungszeitraum eine KM-Zunahme (Tag 6 - 11, 13 - 15, 18 - 21; $p < 0.05$; Holm-Sidak-Methode; s. Abb. III.2.5/1), während 2-BT keinen Einfluss hatte (0.1 und 0.3 mg/kg 2-BT: $p = 0.547$ bzw. $p = 0.705$; s. Abb. III.2.5/1).

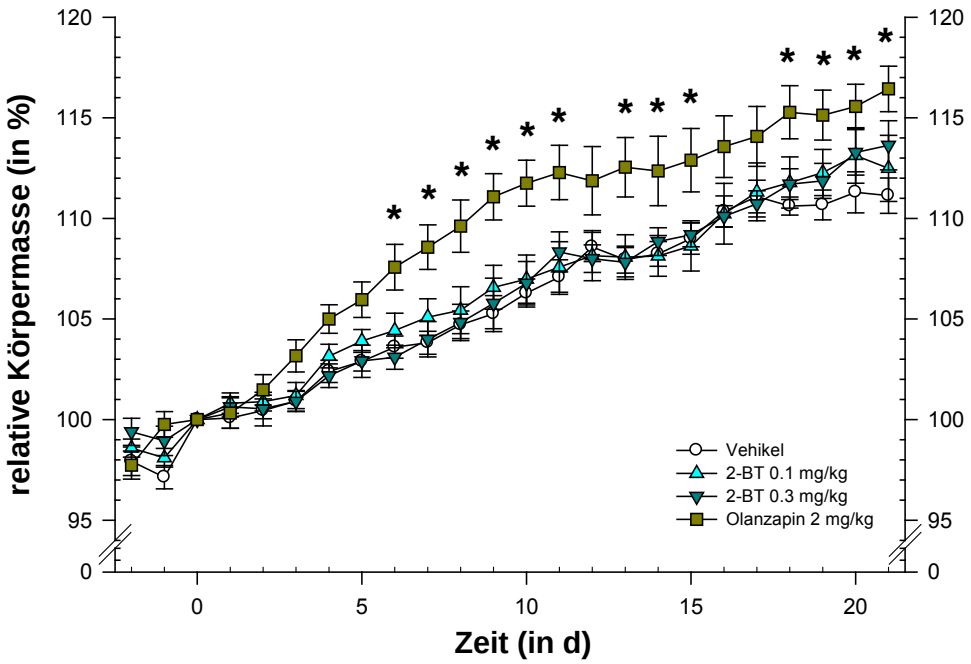

Abb. III.2.5/1: Effekt der chronischen Behandlung mit 2-Bromtergurid (0.1 und 0.3 mg/kg) und Olanzapin (2.0 mg/kg) auf die Körpermasse (relativ zu Tag 0). Die Daten sind als Mittelwerte der relativen Körpermassen und den zugehörigen Standardfehlern (± *S.E.M.*) dargestellt. Es zeigten sich signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen (*two way RM ANOVA*; *, $p < 0.05$ vs. VEH; n = 8 - 9).

Es gab signifikante Unterschiede für das viszerale [$F_{(3, 31)} = 6.3$; $p = 0.002$] und das subkutane Fettgewebe [$F_{(3, 31)} = 11.1$; $p < 0.001$], aber nicht für das interscapuläre [$F_{(3, 31)} = 2.7$; $p = 0.062$] (*two way RM ANOVA)*. OLZ führte zu vermehrtem viszeralen und subkutanen Fettgewebe ($p = 0.005$ bzw. $p < 0.001$; Holm-Sidak-Methode; s. Abb. III.2.5/2). 2-BT hatte hingegen keinen Einfluss auf diese Fettgewebe (0.1 und 0.3 mg/kg 2-BT: $p = 0.641$ und 0.922 bzw. $p = 0.329$ und 0.900; s. Abb. III.2.5/2). Bei beiden Fettgeweben gab es signifikante Unterschiede zwischen OLZ und den 2-BT-Gruppen (0.1 und 0.3 mg/kg 2-BT: $p \leq 0.001$; s. Abb. III.2.5/2).

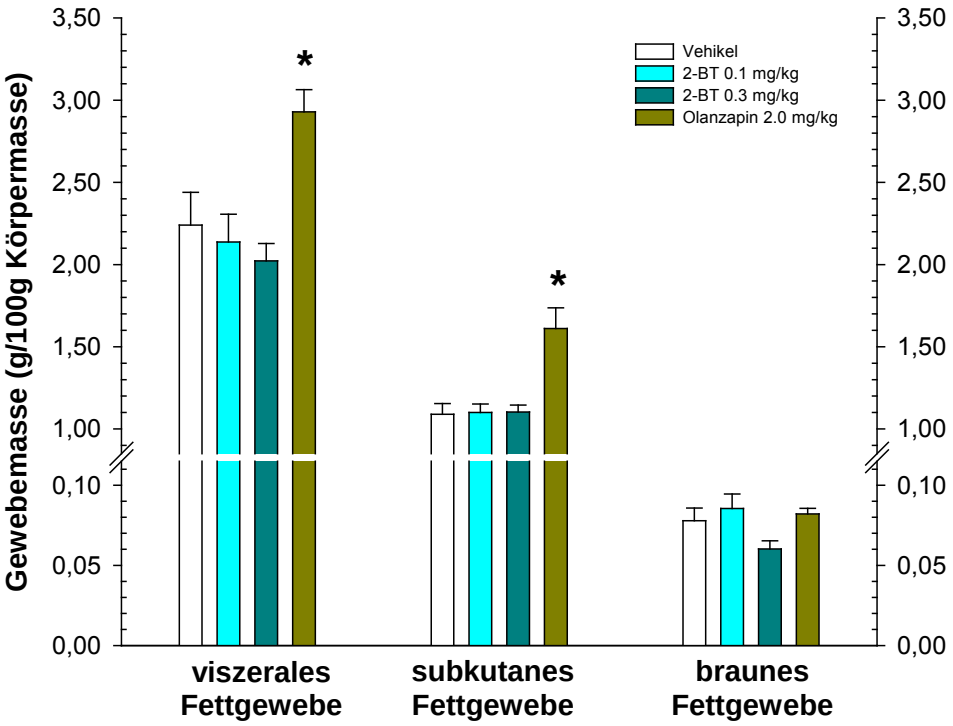

Abb. III.2.5/2: Effekt der chronischen Behandlung mit 2-Bromtergurid (0.1 und 0.3 mg/kg) und Olanzapin (2.0 mg/kg) auf ausgesuchte Fettgewebe. Die Daten sind als Mittelwerte der Fettgewebsmassen (relativ zur Körpermasse) und den zugehörigen Standardfehlern (+ *S.E.M.*) dargestellt. Es zeigten sich signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen (*one way ANOVA*; *, $p < 0.05$ vs. VEH und 0.1 und 0.3 mg/kg 2-BT; n = 8 - 9).

Für den Nahrungs- und Wasserkonsum wurden signifikante Unterschiede aufgrund der Behandlung [$F_{(3, 651)} = 5.8$; $p = 0.003$ bzw. $F_{(3, 651)} = 49.7$; $p < 0.001$], der Zeit [$F_{(21, 651)} = 14.1$; $p < 0.001$ bzw. $F_{(21, 651)} = 12.9$; $p < 0.001$] und der Interaktion beider Faktoren [$F_{(63, 651)} = 3.4$; $p < 0.001$ bzw. $F_{(63, 651)} = 2.9$; $p < 0.001$] gefunden (*two way RM ANOVA*). Die OLZ-behandelten Tiere konsumierten im Beobachtungszeitraum weniger Nahrung (Tag 2 - 10; $p < 0.05$; Holm-Sidak-Methode; s. Abb. III.2.5/3), während 2-BT keinen Einfluss hatte (0.1 und 0.3 mg/kg 2-BT: $p = 0.965$ bzw. $p = 0.285$; s. Abb. III.2.5/3). Lediglich am 11. Tag führte 2-BT (0.3 mg/kg) zu einer geringeren Nahrungsaufnahme als VEH ($p = 0.02$). Der Wasserkonsum der VEH-Tiere unterschied sich von allen anderen Gruppen ($p < 0.05$; Holm-Sidak-Methode; Ergebnisse nicht dargestellt). Ausnahmen sind die Tage 4, 7 und 8, an denen es keine Unterschiede zu OLZ gab, und der Tag 11, an dem sich 2-BT (0.1 mg/kg) nicht von VEH unterschied ($p > 0.05$).

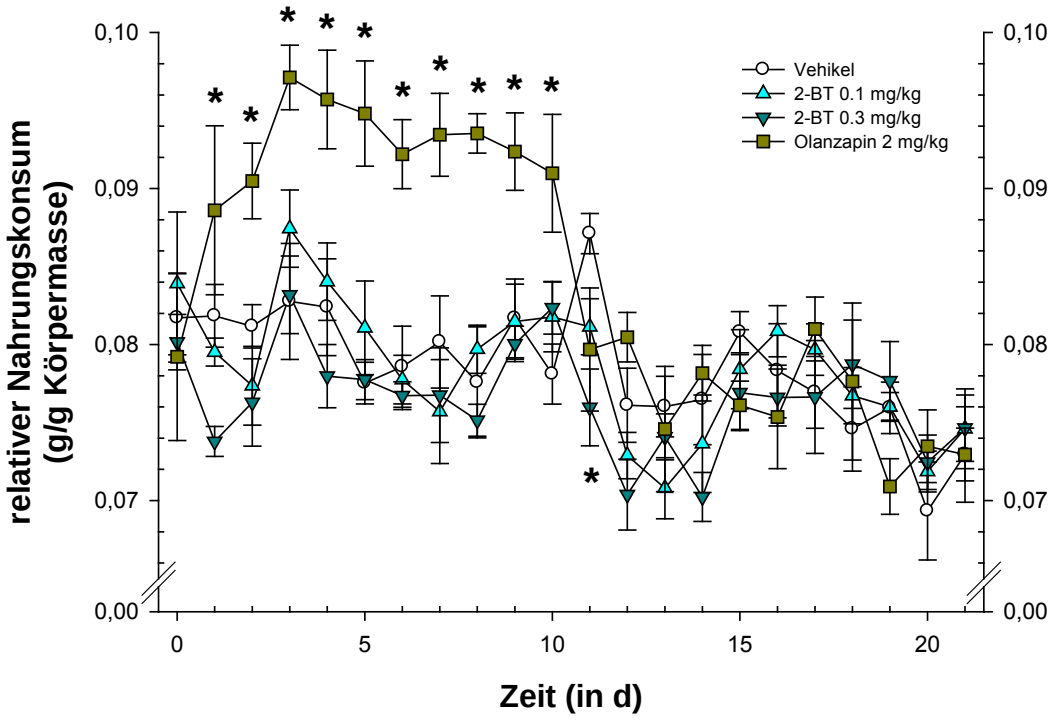

Abb. III.2.5/3: Effekt der chronischen Behandlung mit 2-Bromtergurid (0.1 und 0.3 mg/kg) und Olanzapin (2.0 mg/kg) auf den relativen Nahrungskonsum. Aus dem Nahrungskonsum je Käfig wurde der individuelle Verbrauch berechnet und anschließend in Relation zur individuellen Körpermasse ausgewertet. Die Mittelwerte der errechneten individuellen Nahrungsaufnahmen (relativ zur eigenen Körpermasse) sind hier mit den zugehörigen Standardfehlern (± *S.E.M.*) dargestellt. Es zeigten sich signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen (*two way RM ANOVA*; *, $p < 0.05$ vs. VEH; n = 8 - 9).

Es gab keine Unterschiede im durchgeführten *bar* [H = 3.5; p = 0.316; *df* = 3] und *grid test* [H = 4.6; p = 0.200; *df* = 3] (Kruskal Wallis *one way ANOVA on Ranks*). Ähnlich der akuten Gabe (s. III.2.1) wurden unterschiedliche motorische Aktivitäten gefunden [$F_{(3, 31)} = 9.5$; $p < 0.001$] (*one way ANOVA*). Die Behandlung mit 2-BT (0.3 mg/kg; p = 0.004) und OLZ ($p < 0.001$) verringerte die zurückgelegte Wegstrecke (Holm-Sidak-Methode; s. Abb. III.2.5/4). 2-BT (0.3 mg/kg) unterschied sich tendenziell von OLZ (p = 0.031 bei adjustiertem kritischen Level p = 0.025). Nach Behandlung mit 2-BT (0.1 mg/kg) liefen die Ratten tendenziell weniger als nach VEH-Gabe (p = 0.023 bei adjustiertem kritischen Level p = 0.017; s. Abb. III.2.5/4), aber trotzdem noch mehr als nach OLZ-Gabe (p = 0.006; s. Abb. III.2.5/4). Es zeigten sich keine Unterschiede zwischen den Dosierungsregimen [$F_{(1, 51)} = 0.1$; p = 0.723].

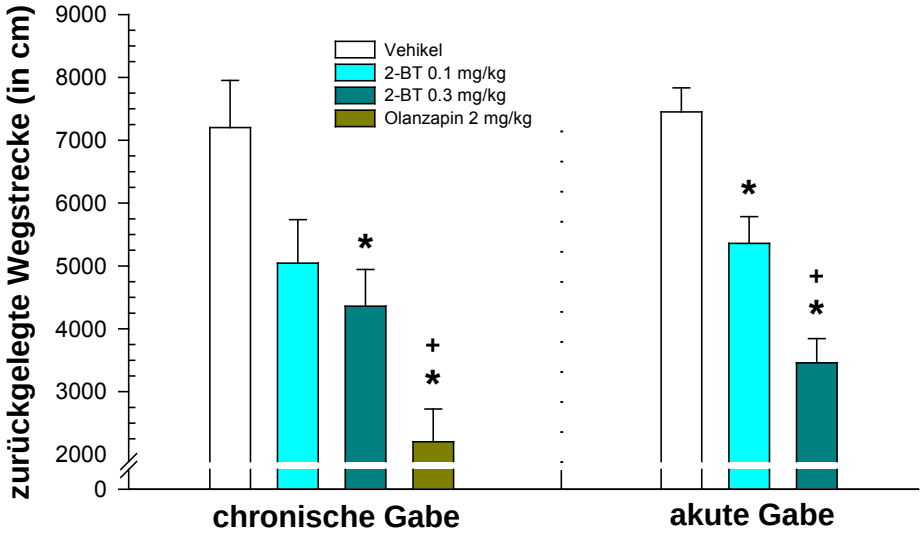

Abb. III.2.5/4: Effekt der chronischen Behandlung mit 2-Bromtergurid (0.1 und 0.3 mg/kg) und Olanzapin (2.0 mg/kg) auf die zurückgelegte Wegstrecke. Die Daten sind als Mittelwerte der zurückgelegten Wegstrecken und den zugehörigen Standardfehlern (+ *S.E.M.*) dargestellt. Es zeigten sich signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen (*one way ANOVA*; *, $p < 0.05$ vs. VEH; +, $p < 0.05$ vs. 2-BT 0.1 mg/kg; n = 8 - 9). Zum Vergleich wurden die Ergebnisse der akuten Behandlung in die Grafik eingefügt (s. III.1.1/1; *one way ANOVA*; *, $p < 0.05$ vs. VEH; +, $p < 0.05$ vs. 2-BT 0.1 mg/kg; n = 10). Es zeigten sich nur Unterschiede innerhalb eines Dosierungsregimes.

DISKUSSION IV.

Die Zielsetzung dieser Dissertation ist es, die Wirkungen des potentiellen Antipsychotikums 2-BT erstmalig in Tierversuchen zu untersuchen. Hierbei sollen *in vivo* die funktionelle Relevanz der *bereits in vitro* festgestellten Rezeptorwirkungen bestimmt, sowie Hinweise auf das antipsychotische Potential und das UAW-Profil geliefert werden. In den verschiedenen Arealen des ZNS bzw. der Peripherie kommen Rezeptoren in unterschiedlicher Dichte vor und werden mit verschiedenen Rezeptoren koexprimiert. Ferner können sich die gekoppelten *second-messenger*-Systeme unterscheiden. Daher bietet der Tierversuch die Möglichkeit, Erkenntnisse über die Wirkung einer Substanz an lebenden Organismus zu sammeln, die aus dem komplexen Zusammenspiel der einzelnen, nachgewiesenen Rezeptorwirkungen resultiert und nicht aus Rezeptorbindungsstudien o.ä. vorausgesagt werden kann. Die Verwendung von Versuchsnagern ist der nächste logische Schritt bei der Entwicklung eines Arzneimittels, nachdem ein aussichtsreicher Kandidat in *in-vitro*-Studien gefunden wurde.

Für alle aktuell zugelassenen AP ist die Beeinflussung der dopaminergen Signaltransmission aufgrund ihres funktionellen D_2R-Antagonismus von grundlegender Bedeutung. Kommt es zu einem Eingriff in die Funktionsfähigkeit der zentralen DA-Systeme, werden Effekte hervorgerufen, die man von einem AP erwartet oder die unerwünscht sind (s. I.2.1). Das mesolimbische und das mesokortikale DA-System haben ihren Ursprung im VTA und verlaufen zum ventralen Striatum (NAc) bzw. zum PFC (*Bjorklund & Dunnett, 2007; Stahl, 2013*). Gemäß der DA-Hypothese der SZ (s. I.2.2.3) liegen im ZNS eines Erkrankten eine dopaminerge Hyperaktivität im NAc und eine dopaminerge Hypoaktivität im PFC vor (*Howes & Kapur, 2009*). Vermag ein AP die Aktivität eines der beiden oder sogar die Aktivität beider DA-System zu normalisieren, könnten so die Symptome der SZ behandelt werden. Ferner sind das nigrostriatale und das tuberoinfundibuläres DA-System zu nennen. Sie sind mit Funktionen der Basalganglien bzw. des Hypothalamus-Hypophysen-Systems (HHS) assoziiert (s. I.2.2.1). Kommt es infolge der AP-Gabe zu einer Einschränkung der Funktionalität der Basalganglien oder des HHS, können daraus motorische Störungen bzw. eine vermehrte Prolaktin-Freisetzung resultieren, die sich als hormonelle Störung äußern kann (*Samii et al., 2004; Sarkar et al., 1982*). Die genannten Störungen treten v.a. während der Therapie mit typischen AP auf, da Vertreter dieser AP-Klasse fast ausschließlich über einen starken D_2R-Antagonismus verfügen. Dieser starke Antagonismus führt dazu, dass die Positivsymptome der SZ, die mit der beschriebenen Hyperaktivität im NAc assoziiert sind, behandelbar werden. Die Negativsymptome und kognitiven Defizite können durch die Behandlung mit typischen AP nicht gemildert werden (s. I.2.1).

Im Gegensatz zu den typischen AP sind die atypischen AP nur moderate D_2R-Antagonisten, die zusätzlich aber an eine Vielzahl anderer Rezeptoren binden. Somit resultiert deren Wirkung nicht aus dem alleinigen D_2R-Antagonismus, sondern aus der gemeinsamen Beeinflussung dopaminerger und nicht-dopaminerger Rezeptorsysteme (*multi target drugs,* s. I.2.1). Hervorzuheben sind hierbei der Antagonismus am 5-$HT_{2A}R$ und $\alpha_{2C}R$, die eine wichtige Rolle für das Wirkprofil spielen. Atypische AP, die am 5-$HT_{2A}R$ bzw. $\alpha_{2C}R$ antagonistisch wirken und deren Affinität zum D_2R kleiner ist als die zum 5-$HT_{2A}R$ bzw. $\alpha_{2C}R$, sollen zur Therapie der Negativsymptome und kognitiven Defizite der SZ geeignet

sein (*Kalkman & Loetscher, 2003; Meltzer et al., 1989*). Diese Symptome sind mit der erwähnten dopaminergen Hypoaktivität im PFC assoziiert (s. I.2.2.3). Allerdings führt das breite Rezeptorbindungsprofil der atypischen AP dazu, dass andere unerwünschte Wirkungen induziert werden als nach Gabe typischer AP. Es ist z.B. bekannt, dass die atypischen AP bestimmte metabolische Parameter verändern (u.a. Körpermasse, Körperfettanteil und Nahrungsaufnahme; s. I.3.3.5).

Innerhalb der letzten Dekaden war die Entwicklung von D_2R-Partialagonisten ein Ansatz, um einen Therapiefortschritt zu erzielen. Die Idee dahinter ist eine regional spezifische Wirkung auf die zentralen DA-Systeme (s. I.2.1). Gemäß der DA-Hypothese der SZ liegen im ZNS Hirnareale mit hoher und geringer dopaminerger Aktivität nebeneinander vor (s. I.2.2.3). Auf dopaminerg hypoaktive Neurone wirkt der D_2R-Partialagonist eher aktivierend, da er die präsynaptische DA-Freisetzung kaum beeinträchtigt und das Folgeneuron entsprechend seiner intrinsischen Aktivität aktiviert (*Grunder & Wong, 2003*). Bei einer exemplarischen intrinsischen Aktivität von 20 % entspricht die Wirkung der 20 %-igen Wirkung eines D_2R-Agonisten wie DA. Die Wirkstoffgabe führt dazu, dass diese hypoaktiven Neurone wieder leicht aktiviert werden. Im Gegensatz dazu wirkt der D_2R-Partialagonist auf hyperaktive DA-Systeme dämpfend, da er die postsynaptische DA-Wirkung auf die exemplarischen 20 % reduziert (*Grunder & Wong, 2003*). In diesem Fall wirkt der Partialagonist funktionell antagonistisch. Für die pharmakologische Therapie der SZ sind neben dem Prototyp ARI seit Mitte 2015 zwei weitere D_2R-Partialagonisten zugelassen, Brexpiprazol und Cariprazine (*Citrome, 2015*). Für ARI wurde neben dem D_2R-Partialagonismus auch ein Partialagonismus am 5-HT_{1A}R und D_3R festgestellt. Des Weiteren tragen auch antagonistische Eigenschaften am 5-HT_{2A}R, α_{2A}R und α_{2C}R zu der gewünschten Wirkung bei (s. I.2.2.1; *Kroeze et al., 2003; Shapiro et al., 2003*). Anhand der D_2R-Partialagonisten, die nicht zugelassen wurden (z.B. Bifeprunox, OPC-4392, Tergurid und Preclamol), lässt sich erkennen, dass es insbesondere für die intrinsische Aktivität am D_2R nur einen engen Spielraum gibt, in der die Substanz antipsychotisch wirksam ist, aber kaum unerwünschte Wirkungen hervorruft (*Natesan et al., 2011; Stahl, 2013*). Hinsichtlich des D_2R ist bekannt, dass es zwei Isoformen gibt, die entweder post- (D_{2L}R) oder präsynaptisch (D_{2S}R) lokalisiert sind und nach Aktivierung gegenteilige Effekte auslösen (s. I.2.2.1; *De Mei et al., 2009*): Die D_{2L}R-Aktivierung hemmt die nachgeschalteten Neurone. Nach Aktivierung des D_{2S}R wird u.a. die DA-Freisetzung in den synaptischen Spalt verringert. Dadurch bindet weniger DA an den D_{2L}R und an andere DA-Rezeptoren ($D_{1,3,4,5}$R) und die vermittelte Hemmung ($D_{3,4}$R) bzw. Aktivierung ($D_{1,5}$R) der Folgeneurone verringert sich. Nachdem sukzessiv immer mehr Belege geliefert wurden, dass bei schizophrenen Personen die Störung des DA-Systems auch auf präsynaptischer Ebene vorliegt, ist es nötig ein (potentielles) AP hinsichtlich seiner Wirkung an beiden D_2R-Isoformen zu untersuchen. Für ARI wurde gezeigt, dass es an beiden Isoformen als Partialagonist wirken kann (*Burris et al., 2002*). Das Ergolin-Derivat 2-BT zeigte in *in-vitro*-Studien, dass es ein aussichtsreicher Kandidat für die Entwicklung eines zukünftigen AP ist. Es besitzt an den bisher untersuchten Rezeptoren ähnliche Eigenschaften wie ARI. Sowohl ARI als auch 2-BT besaßen in unseren *in-vitro*-Studien eine D_{2L}R-antagonistische und D_{2S}R-partialagonistische Wirkung (s. I.2.3). Die intrinsische Aktivität am D_{2S}R ist bei beiden Substanzen gleich groß (Inhibition der Forskolin-induzierten cAMP-Akkumulation: 28 % (2-BT) bzw. 29 % (ARI); *Jantschak et al., 2013*). Hinsichtlich der antagonistischen Aktivität am 5-HT_{2A}R und α_{2C}R (in Organbadstudien) zeigte 2-BT *in vitro* eine Überlegenheit gegenüber ARI, da es eine höhere Affinität zu beiden Rezeptoren besitzt. Es könnte vermutet werden, dass sich die höheren Affinitäten auf

das Wirkprofil in Hinblick auf eine Wirksamkeit bei Negativsymptomen und kognitiven Defiziten der SZ auswirken könnten (s. oben).

Daher wurden erste präklinische Untersuchungen mit 2-BT durchgeführt, die Gegenstand dieser Dissertation sind. Ziel ist dabei die Eignung von 2-BT als potentielles Antipsychotikum zu untersuchen. Hierfür ist es nötig, 1. die funktionelle Relevanz der gefundenen *in-vitro*-Rezeptorwirkungen *in vivo* zu bewerten, 2. seine antipsychotische Aktivität in verschiedenen Verhaltenstests abzuschätzen und 3. zu prüfen, ob bestimmte UAW ausgelöst werden, die charakteristisch für die Behandlung mit AP sind.

1. Verhaltenspharmakologische Untersuchungen nach akuter Gabe von 2-Bromtergurid

1.1 *Open field test*

Das Spontanverhalten und die lokomotorische Aktivität von Labornagern resultieren aus dem Zusammenwirken endogener und exogener Motivation. Die Verarbeitung der Einflüsse erfolgt durch verschiedene kortikale Areale, das limbische System und die Basalganglien (s. I.3.2.1). Der NAc fungiert als ein Bindeglied zwischen den Basalganglien und anderen involvierten Arealen und hilft bei der Umwandlung von Motivation in Bewegung (*Mogenson et al., 1980*). Nach 2-BT-Gabe kann überprüft werden, ob die Verarbeitung verändert ist und ob bestimmte Wirkungen induziert werden.

2-BT führte zu einer dosisabhängigen Verringerung der zurückgelegten Wegstrecke und des *rearings* (Aufrichteverhalten). Die Gabe der D_2R-Partialagonisten ARI, Tergurid, SDZ 208-911 und SDZ 208-912 verminderte ebenfalls die horizontale und vertikale Motorik (*Nordquist et al., 2008; Semba et al., 1995; Svensson et al., 1991*). Wie Mikroinjektions- und Läsionsstudien zeigten, wird die Wirkung dopaminerger Substanzen auf die Motorik über die Kernregion des NAc vermittelt, den NAc_{core}, (*Swerdlow & Koob, 1989; Kelly et al., 1975; Kelley et al., 1989;*). Der NAc empfängt dopaminerge Afferenzen vom VTA und innerviert die Basalganglien v.a. *GABA*erg (s. I.3.2.1). Für die motorische Aktivität nach Exposition mit einer neuen Umgebung ist die Integrität dieser neuronalen Verknüpfungen wichtig (*Hooks & Kalivas, 1995*). Die beobachteten 2-BT-Wirkungen auf die Motorik resultieren vermutlich aus folgenden Rezeptorbindungen: 2-BT konkurriert mit DA um die D_{2S}R, die auf den mesolimbischen DA-Neuronen exprimiert sind. Aufgrund seines D_{2S}R-Partialagonismus (s. I.2.3) erhöht sich die DA-Freisetzung in den synaptischen Spalt zwischen DA-Neuron und *medium spiny neuron* nur moderat. 2-BT konkurriert ebenfalls mit dem vorhandenen DA um die inhibitorischen D_{2L}R, die auf den *medium spiny neurons* selbst exprimiert sind. Im Vergleich zu DA bewirkt 2-BT aufgrund seines funktionellen D_{2L}R-Antagonismus (s. I.2.3) eine wesentlich geringere Hemmung der *GABA*ergen *medium spiny neurons.* Da diese Neurone dämpfend auf die Basalganglien wirken, führt 2-BT so zu einer Verminderung der motorischen Aktivität. Die dosisabhängige Verlängerung der Inaktivitätszeit ist vermutlich ebenfalls durch den funktionellen D_2R-Antagonismus und der resultierenden verringerten motorischen Aktivität bedingt.

Die sedierende Wirkung vieler AP kann auch durch die alleinige oder kombinierte Blockade von Histamin H_1R, Muskarin M_1R oder α_1-Adrenozeptoren ausgelöst werden (*Beaumont, 2000; Stahl, 2013*). Die Eigenschaften von 2-BT am H_1R wurden bereits untersucht und es wurde eine vernachlässigbare Affinität festgestellt (s. I.2.3). Daher kann die Erklärung, dass die Hypolokomotion und die Verlängerung der Inaktivitätszeit durch eine H_1R-vermittelte Sedierung bedingt ist, vernachlässigt werden. Die Eigenschaften an den anderen genannten Rezeptoren wurden bisher noch nicht untersucht. Es kann

daher an dieser Stelle nicht beantwortet werden, inwiefern die Wirkungen an diesen Rezeptoren zur Hypolokomotion und der erhöhten Inaktivität nach 2-BT-Gabe beitragen.

Die Zahl der Eintritte in den bzw. die Verweilzeit im zentralen Quadranten kann nur dann genutzt werden, um anxiogene bzw. anxiolytische Effekte einer Substanz zu bewerten, wenn die Motorik nicht beeinträchtigt ist (*Prut & Belzung, 2003*). Da jedoch durch die Behandlung eine Hypolokomotion auftrat, ist keine Aussage über den Einfluss auf das Angstverhalten möglich. Anhand des Putzverhaltens kann ebenfalls der Einfluss auf das Angstverhalten und auf die emotionale Stressreaktion bewertet werden. Die Behandlung mit 2-BT hatte in diesem Test keinen Effekt auf das Putzverhalten. Daher scheint 2-BT keinen Einfluss auf das Angstverhalten und die Stressverarbeitung zu haben. Da weiterhin bekannt ist, dass eine Beeinflussung der 5-HT_{1A}R-Aktivität das Angstverhalten verändern kann, passt die fehlende 5-HT_{1A}R-Affinität von 2-BT (s. I.2.3) gut zu dem hier diskutierten Versuchsergebnis.

Durch diesen Versuch konnte erstmals gezeigt werden, dass 2-BT eine Wirkung auf das Verhalten der Labornager hat. Die herbeigeführte Hypolokomotion und erhöhte Inaktivität resultieren vermutlich aus dem funktionellen D_2R-Antagonismus. Ob bisher unbekannte Rezeptorwirkungen auch dazu beitragen, kann hier nicht eruiert werden. Auf die anderen untersuchten Parameter des Spontanverhaltens hatte 2-BT keinen Einfluss.

1.2 *Wet dog shakes test*

WDS sind charakteristische Verhaltensweisen bei Nagern, die durch Aktivierung des 5-HT_{2A}R vermittelt werden (*Bedard & Pycock, 1977*). Nach Gabe von 2-BT kann anhand der veränderten *WDS*-Anzahl die funktionelle Bedeutung seines 5-HT_{2A}R-Antagonismus abgeschätzt werden.

2-BT senkte die *WDS*-Anzahl, wobei die behandelten Tiere allerdings mehr *WDS* zeigten als nach Gabe von VEH oder dem selektiven 5-HT_{2A}R-Antagonisten Ketanserin (Positivkontrolle). Ketanserin konnte den Effekt des 5-HT_{2A}R-Agonisten DOI wieder völlig aufheben. Das Referenz-AP ARI konnte in unseren Untersuchungen die Zahl der *WDS* nicht abmildern. Da bekannt ist, dass Verbindungen mit einem relevanten 5-HT2AR-Antagonismus die DOI-Effekte mildern können (*Dursun & Handley, 1996*), ergeben sich die unterschiedlichen Ergebnisse von ARI und 2-BT vermutlich aus der Tatsache, dass ARI ein schwächerer Antagonist am 5-HT_{2A}R ist (s. I.2.3). Interessanterweise konnte ARI in dem *WDS*-Versuch einer anderen Forschergruppe die Zahl der *WDS* verringern (*Kohnomi et al., 2008*). Wahrscheinlich sind die dort verwendeten, höheren ARI-Dosierungen (10 und 30 mg/kg; unsere Studie 3 mg/kg) nötig, um trotz des schwächeren Antagonismus die DOI-induzierten *WDS* zu inhibieren.

Die hier diskutierten Ergebnisse sprechen dafür, dass 2-BT funktionell antagonistisch am 5-HT_{2A}R wirkt und sind somit im Einklang mit seiner antagonistischen *in-vitro*-Wirkung (*insurmountable* Antagonist; s. I.2.3). Darüber hinaus kann man anhand der erhaltenen *in-vivo*-Ergebnisse vermuten, durch welche Art der 5-HT_{2A}R-Wirkung die funktionell antagonistische Wirkung vermittelt sein könnte. Obwohl 2-BT und der 5-HT_{2A}R-Vollantagonist Ketanserin *in vitro* eine ähnliche Affinität zum 5-HT_{2A}R besitzen (als scheinbare antagonistische Potenz pA_2: 8.87 (2-BT) bzw. 8.99 (Ketanserin); *Jantschak et. al., 2013*), sind die *in-vivo*-Resultate verschieden. Des Weiteren fällt auf, dass sich die Ergebnisse nach Gabe beider 2-BT-Dosen kaum unterscheiden ($p = 0.782$). Die Vermutung, dass der Maximaleffekt bereits bei der geringen Dosis erreicht wurde, liegt daher nahe. Die Übertragung der Schlussfolgerung des *in-vitro*-Versuches, dass 2-BT ein nicht-kompetitiver bzw. *insurmountable* Antagonist ist, auf den *in-vivo*-Versuch ist genauso möglich wie die Vermutung, dass sich 2-BT *in vivo* als Partialagonist verhält. Ein nicht-

kompetitiver bzw. *insurmountable* Antagonist ist dadurch gekennzeichnet, dass er im *in-vitro*-Versuch die Dosis-Wirkungskurve des Agonisten (hier: 5-HT) nach rechts zu einer höheren Konzentration verschiebt und gleichzeitig die Maximalwirkung des Agonisten vermindert (*Vauquelin et al., 2002*). Über welchen Mechanismus diese Effekte ausgelöst werden, ist noch nicht final geklärt (*Vauquelin et al., 2002*). Im Gegensatz dazu binden Partialagonisten an dieselbe Rezeptorbindungsstelle wie der Agonist und verringern so ebenfalls die Rezeptorwirkung des Agonisten. Da die Partialagonisten selbst intrinsische Aktivität besitzen, bleibt eine geringe agonistische Rezeptorwirkung erhalten (*Kenakin, 2009*). Da die beobachtbaren Effekte für beide Wirkmechanismen vergleichbar sind, aber die Wege, auf denen die Wirkungen vermittelt werden, sich unterscheiden, kann hier keine abschließende Schlussfolgerung gezogen werden.

Weiterführende Studien zeigten, dass Wirkungen an anderen Rezeptoren ebenfalls die Anzahl der *WDS* beeinflussen können. 5-HT_{1A}R-agonistische Wirkungen können u.a. zu einer Reduktion der *WDS*-Häufigkeit führen (*Dursun & Handley, 1993).* Für 2-BT wurde jedoch *in vitro* keine Affinität zum 5-HT_{1A}R nachgewiesen (s. I.2.3). Darüber hinaus wurde gezeigt, dass α_2R-Antagonisten die Zahl der gezeigten *WDS*-Anzahl erhöhen kann (*Dursun & Handley, 1993*). Für 2-BT wurde eine α_{2C}R-antagonistische Wirkung gezeigt (s. I.2.3), weshalb es möglich ist, dass diese Wirkung das Ergebnis des *WDS tests* beeinflusst hat. Es könnte nun spekuliert werden, dass 2-BT ein 5-HT_{2A}R-Vollantagonist ist, dessen Wirkung durch seinen nachgewiesenen *in-vitro*-Antagonismus am α_{2C}R geschwächt wurde. Des Weiteren wurde gezeigt, dass Wirkungen auf glutamaterge NMDAR, KainatR und AMPAR auch die Häufigkeit der *WDS* beeinflussen können (*Dursun & Handley, 1993*, *1996; Gorzalka et al., 2005; Zhang & Marek, 2008*). Hinsichtlich dieser Rezeptorwirkungen können keine Aussagen über 2-BT getroffen werden, da bisher noch keine Untersuchungen hinsichtlich der Affinität zu GluR durchgeführt worden sind.

Basierend auf den Beobachtungen kann an dieser Stelle konstatiert werden, dass 2-BT funktionell antagonistisch am 5-HT_{2A}R wirkt. Zusätzliche Aussagen hinsichtlich der Art der 5-HT_{2A}R-Rezeptorwirkung, oder ob eine Wirkung an anderen Rezeptoren (z.B. α_2R) zum Versuchsergebnis beigetragen hat, ist eher spekulativer Natur.

1.3 Apomorphin-induzierte Hypolokomotion

Verglichen mit der Affinität zum D_{2L}R binden DA und andere D_2R-Agonisten mit einer höheren Affinität an den präsynaptischen D_{2S}R. Dadurch gibt es einen Dosisbereich, in dem ausschließlich präsynaptisch-vermittelte Effekte sichtbar sind (*Roth, 1979*). Der D_2R-Agonist APO bindet daher in niedriger Dosis bevorzugt an die präsynaptischen D_{2S}R. Eine Aktivierung der D_{2S}R, die auf u.a. den mesolimbischen DA-Neuronen lokalisierten sind, resultiert in einer verringerten DA-Freisetzung aus der Präsynapse und einer geringeren D_{2L}R-vermittelten Hemmung der *GABA*ergen Neurone des NAc. Dadurch wird die Aktivität der Basalganglien stärker gedämpft, was als Hypolokomotion beobachtet werden kann (s. I.3.2.3). Mit diesem Test kann nach 2-BT-Gabe die funktionelle Bedeutung des D_{2S}R für sein *in-vivo*-Wirkprofil bewertet werden.

Der Versuch zeigte, dass die Gabe von 2-BT die lokomotorische Aktivität in einem ähnlichen Umfang verringerte wie die APO-Gabe. Eine Veränderung des APO-Effekts durch 2-BT konnte nicht festgestellt werden. In anderen Studien konnten (potentielle) AP den Effekt des APO z.T. wieder aufheben, während es jedoch nach Gabe einiger Dosen zu einer Verstärkung des APO-Effekts kam

((-)-OSU 6162, ACR 16, Remoxiprid, Halo und Amisulprid*; Perrault et al., 1997; Rung et al., 2008).* Im Versuch *Open field test* (s. IV.1.1) wurde ebenfalls eine Hypolokomotion nach 2-BT-Gabe beobachtet, die mit seinem D_{2L}R-Antagonismus begründet wurde. Es liegt daher nahe, dass die während dieses Versuches beobachtete Hypolokomotion auch über den D_{2L}R vermittelt wurde und eventuell die präsynaptische D_2R-Wirkung des 2-BT überlagerte. Wie bereits erwähnt (s. I.3.2.3), sind für diesen Versuch Substanzwirkungen wichtig, die die Signalübertragung in den Synapsen des NAc beeinflussen, die durch Neurone aus dem VTA und efferenten Neuronen gebildet werden, die zu den Basalganglien laufen. Die Wirkungen des APO und 2-BT lassen sich auf synaptischer Ebene wie folgt vorstellen: Das D_2R-agonistisch wirkende APO führt zu einer verringerten präsynaptischen DA-Freisetzung, die aufgrund der höheren Affinität des APO nur marginal durch die partialagonistische 2-BT-Wirkung erhöht wird (*Jantschak et al., 2013; Lehmann et al., 1983*). Die Situation an der Postsynapse ist vermutlich genau andersherum: In den gewählten Dosierungen ist der postsynaptische APO-Effekt bekanntlich zu vernachlässigen (*Roth, 1979*), wodurch die antagonistische 2-BT-Wirkung sichtbar wird. Infolge der Rezeptorblockade durch 2-BT verringert sich der inhibitorische Einfluss der D_{2L}R auf die hemmenden *GABA*-Neurone des NAc und die neuronale Aktivität der Basalganglien verringert sich. Diese Aktivitätssenkung wird dann als Hypolokomotion sichtbar. Inwiefern 2-BT am präsynaptischen D_2R wirkt, müsste durch weiterführende Studien beantwortet werden. Hierfür würden sich Mikrodialysestudien anbieten.

Obwohl die statistische Auswertung keinen Unterschied zwischen der 2-BT-Gabe und der alleinigen APO-Behandlung fand, könnten die Ergebnisse des *Open field tests* (s. IV.1.1) dabei helfen, ein Indiz für eine Wirkverstärkung zu finden. Der *Open field test* eignet sich hierfür sehr gut, da dieser Versuch mit Ausnahme der APO-Gabe unter denselben Rahmenbedingungen (30 min, unbekannte Umgebung) durchgeführt wurde wie die APO-induzierte Hypolokomotion. In beiden Tests traten jeweils signifikante Unterschiede zwischen der Vehikel- und den 2-BT-Gruppen auf. Beim Vergleich der Ergebnisse beider Versuche zeigt sich, dass die zusätzliche APO-Gabe die zurückgelegte Laufstrecke von 72 auf 40 % (0.1 mg/kg 2-BT) bzw. von 46 auf 26 % (0.3 mg/kg 2-BT) reduzierte. Ratten, die nur mit APO behandelt wurden, liefen halb so viel wie die Ratten der Vehikel-Gruppe. Eine Verstärkung der lokomotionssenkenden Wirkung des 2-BT durch die APO-Gabe wirkt naheliegend. Scheinbar führt die verringerte synaptische Verfügbarkeit des DA nach APO-Gabe zu einer verstärkten Hemmung der Basalganglien durch die 2-BT-Gabe und final zu einer noch geringeren lokomotorischen Aktivität.

Abschließend muss konstatiert werden, dass die beobachtete Gesamtwirkung nach 2-BT-Gabe nicht von seiner postsynaptischen D_2R-Wirkung abgegrenzt werden kann. Daher kann keine eindeutige Aussage über die präsynaptische D_2R-Wirkung getroffen werden. Die Diskrepanz wird zusätzlich verstärkt, da 2-BT präsynaptisch nur ein D_2R-Partialagonist ist, während es an der Postsynapse D_2R-vollantagonistisch wirkt. Es ist zu vermuten, dass die durch 2-BT gesteigerte DA-Freisetzung zu gering war, um trotz der starken postsynaptischen 2-BT-Wirkung Effekte in diesem Test nachzuweisen. DA und andere D_2R-Agonisten besitzen eine höhere Affinität zu den präsynaptischen D_2R als zum D_{2L}R, wodurch es einen Dosisbereich gibt, in dem die Substanz vorwiegend präsynaptisch wirkt (*Roth, 1979*). Es ist nun fraglich, ob diese Aussage auch für den D_{2S}R-Partialagonismus von 2-BT gilt. In den *in-vitro*-Untersuchungen band 2-BT an beide D_2R-Isoformen mit einer ähnlichen Affinität (s. I.2.3). Es ist möglich mithilfe von Mikrodialyse den Einfluss verschiedener 2-BT-Dosen auf die DA-Freisetzung direkt zu

bestimmen. Hirnareale, die hierbei untersucht werden sollten, sind der NAc, das dorsale Striatum und der mPFC, da es eine Verbindung zur SZ bzw. deren pharmakologische Behandlung gibt.

2. Prüfung auf gewünschte und unerwünschte Antipsychotika-Wirkungen

2.1 Katalepsie-Tests

Verbindungen, die einen starken D_2R-Antagonismus besitzen, können durch Beeinflussung des extrapyramidalen Systems Störungen der Motorik auslösen (*Wadenberg et al., 2001b*). Daher können Katalepsie-Tests auf präklinischer Ebene eingesetzt werden, um D_2R-antagonistische Verbindungen und Substanzen zu identifizieren, die die erwähnten motorischen Störungen induzieren. Nach Gabe eines typischen AP treten z.B. EPS auf (*Leucht et al., 2013*), eine Gruppe motorischer Störungen, die dem M. Parkinson ähneln (*Friedman, 2014*; s. I.3.3.1). Nach 2-BT-Gabe soll mithilfe zweier Katalepsie-Tests geprüft werden, ob eine Beeinträchtigung der Motorik auftritt.

Die durchgeführten Tests zeigten übereinstimmend, dass 2-BT trotz der sukzessiv verlängerten Latenzzeiten kein kataleptisches Potential besitzt, wohingegen das typische AP Halo kataleptisches Verhalten auslöste. Das erhaltene Resultat ist im Einklang mit den Ergebnissen der D_2R-Partialagonisten ARI, Tergurid, Preclamol, OPC-4392 und Bifeprunox, die auch kein kataleptisches Verhalten auslösten (*Natesan et al., 2011; Semba et al., 1995*). Die motorische Beeinträchtigung nach Gabe von Halo (0.5 mg/kg) war zu erwarten, da andere Arbeitsgruppen übereinstimmend berichteten, dass bereits 0.025 und 0.1 mg/kg Halo die Latenzzeiten verlängerten und kataleptisches Verhalten verursacht hatten (*Natesan et al., 2011; Natesan et al., 2006; Wadenberg et al., 2001*).

Der Beginn des kataleptischen Verhaltens korreliert bei den typischen und einigen atypischen AP mit einer 80 %-igen Besetzung der D_2R im Striatum (*Wadenberg et al., 2001b*). Dass die atypischen AP weniger EPS verursachen, soll dadurch bedingt sein, dass sie 5-HT_{2A}R-antagonistisch wirken und ihre Affinität zum 5-HT_{2A}R größer ist als die zum D_2R (*Meltzer et al., 1989*). Gestützt wird die These dadurch, dass das kataleptische Potential von Halo durch Gabe eines 5-HT_{2A}R-Antagonisten reduziert wurde (*Wadenberg et al., 2001b*). Die beiden D_2R-Partialagonisten Tergurid und ARI besitzen ebenfalls eine 5-HT_{2A}R-antagonistische Wirkung (s. Tab. I.2.3; *Jantschak et al., 2013*) und lösen trotz einer Besetzung der striatalen D_2R von ≥ 86 % kein kataleptisches Verhalten aus (*Natesan et al., 2011*). Allerdings ist die Affinität beider Verbindungen zum D_2R höher als die zum 5-HT_{2A}R, wodurch das Ergebnis nicht im Einklang mit der These von *Meltzer et al.* 1989 ist. Es muss jedoch berücksichtigt werden, dass diese These zu einer Zeit aufgestellt wurde, als ARI noch nicht auf dem Markt war. Die damals verfügbaren typischen und „klassischen“ atypischen AP sind mehr oder minder starke D_2R-Vollantagonisten, die bekanntlich keine intrinsische Aktivität besitzen. Im Vergleich mit Vollantagonisten müssten D_2R-Partialagonisten aufgrund ihrer intrinsischen Aktivität mehr striatale D_2R besetzen, um eine kataleptogene Wirkung zu erzielen, die einer 80 %-Rezeptorbesetzung nach Gabe typischer AP entspricht (*Grunder & Wong, 2003*; *Natesan, et al., 2006).* Eine hohe intrinsische Aktivität am D_2R kann daher dazu führen, dass die Nettohemmung der D_2R, die für ein kataleptisches Verhalten notwendig ist, nur schwer erreicht wird. Aufgrund einer großen Diskrepanz zwischen Besetzungsrate und Nettohemmung der D_2R wäre es auch möglich, dass eine gleichzeitig ausgelöste 5-HT_{2A}R-Wirkung trotz einer geringen relativen Affinität zur Reduktion des kataleptischen Potentials beiträgt.

Im Hinblick auf 2-BT kann nach dem bisherigen Erkenntnisstand vermutet werden, dass die Besetzung der striatalen D_2R unterhalb von 80 % lag, und dass deshalb kein kataleptisches Verhalten verursacht wurde. 2-BT ist ein funktioneller 5-HT_{2A}R-Antagonist (s. IV.1.2), dessen Affinität zum 5-HT_{2A}R geringer ist als die zum D_2R (Tab. I.2.3). Daher trägt seine 5-HT_{2A}R-Wirkung vermutlich nicht zu dem

erhaltenen Versuchsergebnis bei. Der erwähnte D_2R-Partialagonismus konnte für 2-BT bisher nur für den D_{2S}R nachgewiesen werden (Tab. I.2.3). Der D_{2S}R-Partialagonismus führt im Vergleich zu DA zu einer moderaten Erhöhung der DA-Freisetzung in den synaptischen Spalt. Die APO-induzierte Hypolokomotion (s. IV.3.1.3) zeigte allerdings, dass die D_{2L}R-antagonistische Wirkung des 2-BT nicht wesentlich durch seine D_{2S}R-Wirkung beeinträchtigt wird. Daher spielt der D_2R-Partialagonismus nach bisherigem Kenntnisstand keine Rolle für die Resultate der Katalepsie-Tests nach 2-BT-Gabe.

Weiterhin konnte ein kataleptisches Verhalten durch die Gabe des Muskarin-Antagonisten Scopolamin, eines $\alpha_{2A/2C}$R-Antagonisten oder 5-HT_{1A}R-Agonisten abgeschwächt werden (*Setler et al., 1976; Wadenberg & Ahlenius, 1991; Wadenberg et al., 2001b*; *Imaki et al., 2009*). Der starke α_{2C}R-Antagonismus von 2-BT (s. I.2.3) könnte ebenfalls das kataleptische Potential reduziert haben. Für 2-BT konnte *in vitro* keine 5-HT_{1A}R-Affinität festgestellt werden (s. I.2.3) und die Eigenschaften an Muskarin-Rezeptoren und am α_{2A}R wurden bisher noch nicht untersucht. Daher kann nichts über einen Einfluss dieser Rezeptoren auf das Resultat nach 2-BT-Gabe gesagt werden. Neben den gerade erwähnten Rezeptorwirkungen kann die Beeinflussung anderer Rezeptorsysteme ebenfalls die Qualität und Quantität der EPS senken. Typische AP, die zusätzlich den exzitatorischen Muskarin M_1R blockieren, zeigen weniger und schwächere EPS als typische AP ohne M_1R-Antagonismus (*Stahl, 2013*). Der M_1R wird u.a. auf den *medium-spiny-neuron*-Populationen koexprimiert, die für die Regulation innerhalb der Basalganglien wichtig sind (s. I.3.2.1). Da auf den striatopallidalen und striatonigralen Projektions-neuronen neben dopaminergen Rezeptoren auch exzitatorische M_1R koexprimiert werden (*Gerfen, 1992; Ince et al., 1997; Kreitzer, 2009; Nicola et al., 2000; Schmidt, 2000b*), ist die modulatorische Wirkung eines M_1R-Antagonismus nachvollziehbar.

Eine abschließende Aussage, ob die motorische Dämpfung nach 2-BT-Gabe durch die geringe dopaminerge Beeinflussung des nigrostriatalen DA-Systems, aufgrund zusätzlicher nicht-dopaminerger Wirkungen oder beidem bedingt ist, kann hier nicht gemacht werden. Im AIS-Test (s. IV.2.2) wird der Einfluss von 2-BT auf ein hyperaktives nigrostriatales DA-System untersucht, wodurch die hier diskutierte Wirkung auf das nigrostriatale DA-System bestätigt werden kann. Da durch den AIL- und AIS-Test (s. IV.2.2) der Einfluss des 2-BT auf das hyperaktive mesolimbische bzw. nigrostriatale DA-System bewertet wird, ist es möglich, nachfolgend zu beurteilen, ob 2-BT eine gewisse Selektivität für ein bestimmtes DA-System besitzt. Eine mesolimbische Selektivität wurde für CLZ gezeigt und gilt als Indikator für die atypischen Eigenschaften eines AP, v.a. für deren geringe EPS-Inzidenz (*Porsolt et al., 2010*).

2.2 Amphetamin-induzierte Lokomotion und Stereotypien

AIL

Nach Gabe einer moderaten Dosis eines D_2R-Agonisten werden beim Menschen psychotische bzw. Psychose-ähnliche Symptome hervorgerufen, während diese Dosis bei Nagern eine Hyperlokomotion bedingen kann (*Koch, 2006; van den Buuse, 2010*). Ausgehend vom Einfluss auf die Hyperlokomotion können Rückschlüsse auf die Wirkung des 2-BT auf das hyperaktive mesolimbische DA-System und somit auf seine antipsychotische Aktivität gezogen werden (*Porsolt et al., 2010*).

2-BT und das Referenz-AP ARI (3.0 mg/kg; Positivkontrolle) konnten die durch 1.5 mg/kg AMPH induzierte Hyperlokomotion in vergleichbarem Umfang reduzieren und lösten dabei keine repetitiven Verhaltensmuster (Stereotypien) aus. Eine Studie belegte, dass ARI und andere D_2R-Partialagonisten

(Tergurid, Preclamol, OPC-4392, Bifeprunox) die durch AMPH induzierte Hyperlokomotion vermindern können (*Natesan et al., 2011*). Nach bisherigem Kenntnisstand können alle zugelassenen AP, typische Vertreter wie Halo als auch atypische wie CLZ und OLZ, die Hyperlokomotion nach Gabe eines D_2R-Agonisten absenken (*Natesan et al., 2007; Natesan et al., 2006*), was daher als essentielle Anforderung für zukünftige AP gilt. Wie bereits in der Einleitung erwähnt (s. I.3.3.2), wird eine durch D_2R-Agonisten ausgelöste Hyperlokomotion über die postsynaptischen D_{2L}R im NAc_{core} vermittelt (*Kelly & Iversen, 1976; Pijnenburg et al., 1975; Sellings & Clarke, 2003; Sharp et al., 1987*). Daher wird der 2-BT-Effekt auf die AIL als *in-vivo*-Bestätigung seines *in-vitro*-Antagonismus am D_{2L}R (s. I.2.3) betrachtet. Gemäß der DA-Hypothese der SZ (s. I.2.2.3) ist das subkortikal gelegene, mesolimbische DA-System hyperdopaminerg. Da AMPH bekanntlich zu einer erhöhten präsynaptischen DA-Freisetzung führt und auf diese Weise u.a die Aktivität des mesolimbischen DA-Systems erhöht, kann der erwähnte hyperdopaminerge Zustand durch AMPH nachgebildet werden. Durch den AIL-Test konnte gezeigt werden, dass 2-BT antagonistisch auf ein hyperaktives mesolimbisches DA-System wirkt, und dass 2-BT daher antipsychotisch wirksam sein könnte. Allerdings muss angemerkt werden, dass der AIL-Test allein nicht geeignet ist, klinisch wirksame AP zu identifizieren. Alle klinisch wirksamen AP zeigen zwar eine positive Wirkung im AIL-Test, jedoch gibt es Substanzen, die zwar eine gewünschte Wirkung im AIL-Test gezeigt hatten, aber während der klinischen Entwicklungsphase als unwirksam eingestuft wurden (*Natesan et al., 2011*). Daher wird empfohlen neben dem AIL-Test z.B. den CAR *test* durchzuführen (s. IV.2.3) oder die Veränderung der neuronalen Aktivität (c-fos) nach Substanzgabe in bestimmten Hirnbereichen zu bestimmen (s. IV.2.4; *Natesan et al., 2011*). Anhand der drei aufgeführten Tests ist es möglich wirksame AP zu entdecken und sie von unwirksamen Verbindungen abzugrenzen.

AIS

Ähnlich wie der AIL- und die Katalepsie-Tests dient auch der AIS-Test dazu, die antidopaminerge Wirkung einer Substanz zu bewerten (*Porsolt et al., 2010*). Die Gabe einer hohen Dosis eines D_2R-Agonisten wie AMPH führt neben der Aktivitätssteigerung im mesolimbischen DA-System auch zu einem hyperaktiven nigrostriatalen DA-System. Läsionsstudien zeigten, dass die Stereotypien über das nigrostriatale DA-System vermittelt werden (s. I.3.3.2). Da das nigrostriatale DA-System an der Funktion der Basalganglien beteiligt ist, kann eine Hyperaktivität die Feinregulation innerhalb der Basalganglien beeinflussen und sich in Form verschiedener Stereotypien äußern (s. I.3.3.2 und Exkurs 2). Nach 2-BT-Gabe kann anhand seines Einflusses auf die Qualität bzw. Quantität der Stereotypien seine Wirkung auf das nigrostriatale DA-System abgeschätzt werden (*Porsolt et al., 2010*). Da ein kataleptisches Verhalten durch Wirkung einer D_2R-antagonistischen Substanz auf das nigrostriatale DA-System entstehen kann (s. IV.2.1), kann der AIS-Test genutzt werden, um die Aussagen der Katalepsie-Tests hinsichtlich des kataleptischen Potentials zu untermauern. Gemeinsam mit den Ergebnissen der Katalepsie-Tests (s. IV.2.1) und des AIL-Tests (s. oben) kann beurteilt werden, ob 2-BT das mesolimbische DA-System selektiv beeinflussen kann, was eine Eigenschaft atypischer AP ist. Durch die Bestimmung der Veränderung der neuronalen Aktivität (c-fos) infolge einer 2-BT-Gabe (s. IV.2.4) könnte die gemeinsame Schlussfolgerung untermauert werden.

Durch Gabe von 5 mg/kg AMPH wurden robuste Stereotypien induziert. Der Vergleich mit Studien, die eine ähnliche Fragestellung haben (*Clark et al., 1991; Robertson & MacDonald, 1984*, *1985; Tschanz & Rebec, 1988*), zeigt, dass die AMPH-Dosierung gut gewählt wurde. Wie bereits erwähnt (s. I.3.3.2),

führt eine hohe AMPH-Dosis zu einer dopaminergen Hyperaktivität des mesolimbischen (s. AIL) und nigrostriatalen DA-Systems. Phänotypisch zeigte sich daher bei den Ratten anfänglich eine motorische Hyperaktivität, die später durch bestimmte stereotype Verhaltensmuster (Schnüffeln, Aufrichten und Kopfwippen) ergänzt und abschließend durch orale Stereotypien ersetzt wurden (Lecken, Beißen und Kauen; *Setler et al., 1976*). Die erwähnten Stereotypien konnten durch 2-BT qualitativ nicht gemildert werden. Von anderen Forschergruppen wird berichtet, dass typische AP wie Halo die Stereotypien reduzierten (8.0 mg/kg AMPH; *Clark et al., 1991*), wohingegen atypische AP wie CLZ und Thioridazin die Stereotypien z.T. verstärken konnten (≤ 5.0 mg/kg AMPH; *Robertson & MacDonald, 1984*, *1985*) oder nur bestimmte Stereotypien abschwächten (≤ 5.0 mg/kg AMPH; *Tschanz & Rebec, 1988*). Das erhaltene Ergebnis suggeriert, dass die Wirkung von 2-BT auf das nigrostriatale DA-System vergleichsweise gering ist. In den Katalepsie-Tests (s. IV.2.1) wurde ebenfalls die Schlussfolgerung gezogen, dass das nigrostriatale DA-System nur wenig durch eine 2-BT-Gabe beeinträchtigt wird. Im AIL-Test wurde die Wirkung auf das mesolimbische DA-System untersucht und 2-BT zeigte eine positive Wirkung. Da durch drei Tests gezeigt wurde, dass 2-BT bevorzugt das mesolimbische und weniger das nigrostriatale DA-System beeinflusst, kann man für 2-BT eine leichte mesolimbische Selektivität konstatieren. Die mesolimbische Selektivität gilt als Indikator für die klinischen Eigenschaften eines atypischen AP und v.a. für die geringe EPS-Inzidenz während der pharmakologischen Therapie (*Moller, 2003; Porsolt et al., 2010*). Interessanterweise konnte für CLZ ebenfalls eine mesolimbische Selektivität gezeigt werden (*Castagne et al., 2009; O'Neill & Shaw, 1999*). Somit wird ein Indiz geliefert, dass 2-BT wie ein atypisches AP wirken könnte.

2.3 *Conditioned avoidance response test*

Der *CAR test* wird beim *screening* nach antipsychotisch wirksamen Substanzen eingesetzt. Hierfür werden meist Ratten ohne vorherige Wirkstoffgabe trainiert, nach einem Signal das Kompartiment einer Zwei-Kompartiment-Shuttlebox zu wechseln. Wechsel innerhalb der Latenzzeit sind *avoidances*. Ein Wechsel nach Anwendung eines intermittierenden elektrischen Reizes ist ein *escape.* Bleibt der Wechsel aus, wird die Reaktion als *failure* gewertet (*Wadenberg, 2010*). Alle klinisch wirksamen AP besitzen bei diesem Test ein Dosisfenster, in dem sie die *avoidance*-Rate reduzieren, ohne *failure* zu induzieren (selektive Reduktion; *Wadenberg, 2010*). Der Einfluss einer Substanz auf die Aktivität des mesolimbischen DA-Systems führt zu einer Änderung der *avoidance*-Rate, während eine Sedierung oder motorische Störung die Zahl der *failures* erhöht (*Wadenberg, 2010*). Daher kann der Test genutzt werden, um Hinweise auf ein antipsychotisches Potential von 2-BT zu suchen.

2-BT und die Referenz-AP Halo und ARI reduzierten die *avoidance*-Raten. Mit Ausnahme der hohen ARI-Dosis (3.0 mg/kg) wurden die *avoidance*-Raten reduziert, ohne mehr *failure* zu verursachen als die VEH-Gabe. Die vorliegenden Ergebnisse stimmen hinsichtlich des *avoidance*-reduzierenden Potentials von Halo und ARI mit der Literatur überein (*Brennan et al., 2010; Wadenberg et al., 2011)*. Im vorliegenden Versuch führten bereits geringere ARI-Dosen zu einer selektiven *avoidance*-Reduktion als bei den zitierten Arbeitsgruppen. Die 2-BT-Dosen reduzierten die Zahl der *avoidances* ähnlich stark wie die Halo-Dosen und 1 mg/kg ARI. Damit wird ein weiterer Anhaltspunkt geliefert, dass 2-BT eine antipsychotische Aktivität besitzen könnte und die Schlussfolgerung des AIL-Tests (s. IV.2.2) wird somit bestätigt. Der *CAR* und AIL-Test zeigen für alle klinisch wirksamen AP ein positives Ergebnis an, allerdings liefern beide Tests auch einige falsch-positive Resultate. Daher wird empfohlen, die

Versuchsergebnisse beider Tests in Zusammenhang mit der Bestimmung der neuronalen Aktivtät (c-fos) auszuwerten (s. IV.2.4; *Natesan, et. al., 2011*).

Wie bereits einleitend erwähnt (s. oben), wird eine Verringerung der *avoidance*-Rate durch eine Reduktion der Aktivität im mesolimbischen DA-System erreicht, wohingegen die *failure*-Anzahl durch Sedierung oder eine motorische Störung infolge der übermäßigen Blockade nigrostriataler D_2R erhöht wird. Für die meisten AP korreliert der Dosierungsbereich, in dem die *avoidance*-Rate selektiv gesenkt wird, mit einer Besetzungsquote der striatalen D_2R zwischen 65 und 80 % (*Wadenberg, 2010*). Allerdings reduzierte der D_2R-Partialagonist ARI (s. I.2.3) die Zahl der *avoidances* erst bei > 85 % Besetzung und war erst in äquivalenten Dosen klinisch wirksam (*Kane et al., 2002; Marder et al., 2003; Natesan et al., 2006; Yokoi et al., 2002*). Dass D_2R-Partialagonisten mehr postsynaptische D_2R besetzen müssen, um klinisch wirksam zu sein und eine Wirkung im *CAR test* zu zeigen, wird mit dem Partialagonismus begründet (*Grunder & Wong, 2003; Natesan et al., 2011*). Sowohl für die klinische Wirksamkeit als auch für die Reduktion der *avoidance*-Rate im *CAR test* ist der Antagonismus am D_2R eine essentielle Größe. Aufgrund ihrer intrinsischen Aktivität müssen die Partialagonisten mehr D_2R binden als die vollantagonistischen, typischen AP, um eine antagonistische Nettowirkung am D_2R zu erreichen, die einer 65 %-igen Besetzung der striatalen D_2R durch ein typisches AP entspricht (*Natesan et al., 2006*). Für 2-BT wurde ein Partialagonismus am präsynaptischen $D_{2S}R$ festgestellt, aber nicht am postsynaptischen $D_{2L}R$ (s. I.2.3). Da die gewählten 2-BT-Dosierungen den gewünschten Effekt im *CAR test* auslösten, kann vermutet werden, dass die D_2R-antagonistsiche Wirkung nach 2-BT-Gabe vermutlich einer Besetzung der striatalen D_2R zwischen 65 und 80 % entspricht. Allerdings muss berücksichtigt werden, dass für eine 2-BT eine gewisse selektive Wirkung auf das mesolimbische DA-System vermutet wird (s. IV.2.1 und 2.2). Diese Selektivität würde bedeuten, dass die 2-BT-Gabe zu höheren Besetzungsquoten im mesolimbischen DA-System führt als im nigrostriatalen. Aus diesem Grund kann nur gesagt werden, dass die Besetzung der striatalen D_2R vermutlich geringer als 80 % ist. Um einen genauen Wert zu erhalten, wären Rezeptorbindungsstudien an Hirnschnitten nötig.

Neben der dopaminergen Beeinflussung des mesolimbischen DA-Systems können auch nicht-dopaminerge Wirkungen die Aktivität dieses DA-Systems verändern, die *avoidance*-Rate beeinflussen und so das Dosisfenster verschieben (*Natesan et al., 2006; Wadenberg, 2010*). Ein Review fasst die Rezeptoreffekte gut zusammen, die gemeinsam mit einem D_2R-Antagonismus die Effekte im *CAR test* beeinflussen können (*Wadenberg, 2010*). Die Kombination einer subeffektiven Dosis eines D_2R-Antagonisten und eines $5\text{-}HT_{2A/C}R$- bzw. α_2R–Antagonisten reduzierte die *avoidance*-Rate selektiv (*Hertel et al., 1999; Linner et al., 2002; Wadenberg et al., 2001a; Wadenberg et al., 1998; Wadenberg et al., 1996; Wadenberg et al., 2007*). $5\text{-}HT_{1A}R$- und $5\text{-}HT_{2C}R$-Agonisten können allein und gemeinsam mit subeffektiven AP-Dosen ebenfalls die Rate selektiv reduzieren (*Grauer et al., 2009; Marquis et al., 2007; Siuciak et al., 2007a*). Der Naturstoff *L*-Stepholidin besitzt einen zusätzlichen D_1R-Agonismus (*Jin et al., 2002*) und konnte ebenfalls eine positive Wirkung im *CAR test* bedingen (*Natesan et al., 2008*). Die Besetzung der striatalen Rezeptoren lag nach Gabe von 1 mg/kg *L*-Stepholidin (ED_{50}: 0.27 mg/kg) nur bei ~ 50 % (D_2R) bzw. 12 % (D_1R) (*Natesan et al., 2008*). Da scheinbar zu wenige D_2R gebunden wurden, um einen Effekt im *CAR test* auszulösen (s. oben), kann der Einfluss eines D_1R-Agonismus nicht ausgeschlossen werden. Weiterhin konnte ein $D_{2/3}R$-Antagonist, dessen Affinität zum D_3R höher ist als die zum D_2R, eine selektive Reduktion im *CAR test* zeigen (*Gyertyan et al., 2008*). Da zudem viele AP eine relevante D_3R-Affinität besitzen (*Stahl, 2013*), kann man vermuten, dass ein D_3R-

Antagonismus ebenfalls zu einem positiven Ergebnis im *CAR test* beitragen könnte. Ferner konnte die bereits durch die D_2R-Antagonisten Risperidon bzw. Racloprid verminderte *avoidance*-Rate durch Galantamin, einen Acetylcholin-Esterase-Hemmer und allosterischen Modulator des nikotinergen nα_7R, weiter reduziert werden (*Wadenberg et al., 2011; Wiker et al., 2008*). Wie Versuche mit $mGlu_{2/3}$R-Agonisten, allosterischen $mGlu_5$R-Modulatoren, AMPAR-Antagonisten und Inhibitoren der Phosphodiesterase (PDE) 4B zeigten, können entsprechende Verbindungen ebenfalls eine selektive Reduktion im *CAR test* verursachen (*Liu et al., 2008; Mathe et al., 1999; Patil et al., 2007; Rorick-Kehn et al., 2007; Siuciak et al., 2007b; Svensson & Mathe, 2000*). Inhibitoren der PDE 4B und 10A konnten in einer anderen Variante des *CAR tests* (*pole jumping paradigm*) ebenfalls ihr antipsychotisches Potential beweisen (*Becker & Grecksch, 2008; Siuciak et al., 2006*). Wenn man die Befunde der anderen Arbeitsgruppen mit den nachgewiesenen 2-BT-Wirkungen vergleicht, kann konstatiert werden, dass der gemeinsame Antagonismus am D_2R, α_{2C}R und 5-HT_{2A}R (s. I.2.3 und IV.1.2) zur selektiven Reduktion der *avoidance*-Rate im *CAR test* beigetragen haben könnte. Darüber hinaus wurde noch nicht untersucht, ob 2-BT auch Wirkungen über D_1R, D_3R, 5-HT_{2C}R oder GluR vermittelt. Gleiches gilt für Rezeptoren des cholinergen Systems und die PDE. Der schwache H_1R-Antagonismus (s. I.2.3) scheint *in vivo* keine Sedierung hervorgerufen zu haben, die zu einer Zunahme der *failures* hätte führen können. Das hier diskutierte Ergebnis, genauer der fehlende Anstieg der *failures* nach 2-BT-Gabe, passt gut zu seinem fehlenden kataleptischen Potential (s. IV.2.1).

Durch den CAR *test* konnte erneut gezeigt werden, dass 2-BT antipsychotisches Potential besitzen könnte. Die selektive Reduktion der *avoidance*-Rate wurde möglicherweise durch den gemeinsamen Antagonismus am D_2R, α_{2C}R- und 5-HT_{2A}R bedingt. Zur besseren Beurteilung muss das Ergebnis im Zusammenhang mit den Resultaten des AIL-Tests (s. IV.2.2) und denen der Untersuchung der neuronalen Aktivität (c-fos) (s. IV.2.4) diskutiert werden. Das Ergebnis des AIL-Tests wurde zwar bestätigt. Da der AIL- und *CAR test* jedoch nur bedingt geeinigt sind, zwischen D_2R-Partialagonisten zu unterscheiden, die antipsychotisch wirksam bzw. unwirksam sind, sollte das Ergebnis durch eine Bestimmung der c-fos-Expression untermauert werden (*Natesan et al., 2011*). Diese Bestimmung ist besser imstande den Gleichgewichtszustand zwischen agonistischer und antagonistischer Aktivität zu bestimmen, den die Partialagonisten in den untersuchten ZNS-Arealen vermitteln (*Natesan et al., 2011*).

2.4 Untersuchung der neuronalen Aktivität (c-fos)

Nach zellulärer Stimulation wird das Protein c-fos zeitnah aus dem *immediate early gene c-fos* gebildet und kann mittel- und langfristig zu zellulären Veränderungen beitragen (s. I.3.3.4). Da das c-fos relativ früh innerhalb der Signalkaskade gebildet wird, kann es als Marker für neuronale Aktivität genutzt werden. Die typischen AP verursachen verstärkte Signale im NAc und im dorsalen Striatum, während die atypischen AP die c-fos-Konzentration im NAc und mPFC erhöhen (*Robertson et al., 1994*). Eine Unterscheidung der AP-Klassen anhand der Expressionsmuster ist möglich (*Sumner et al., 2004*). Der c-fos-Anstieg im NAc bzw. im dorsalen Striatum korreliert mit einer antipsychotischen Wirksamkeit bzw. einem Auftreten therapiebegleitender EPS (*Robertson & Fibiger, 1992*). Nach 2-BT-Gabe können daher zusätzliche Hinweise hinsichtlich seiner gewünschten und unerwünschten Wirkungen erhalten werden.

Das Auftreten der Positivsymptome ist mit der erhöhten dopaminergen Aktivität im NAc assoziiert, während ein DA-Mangel im mPFC ein essentieller Faktor für das Entstehen der Negativsymptome und kognitiven Defizite sein soll (*Howes & Kapur, 2009*). Im Bezug auf AP und deren (funktionellen) D_2R-

Antagonismus ist die c-fos-Expression ein molekularer Marker, der innerhalb eines funktionellen Systems den Gleichgewichtszustand aus Antagonismus und intrinsischer Aktivität widerspiegelt, die von einer Substanz bei einer bestimmten Dosis vermittelt wird (*Natesan et. al., 2011*). Obwohl die Verknüpfung zwischen Aktivitätsänderung und gewünschter bzw. unerwünschter Wirkung eher vage und spekulativ ist, können nichtsdestotrotz Hinweise erhalten werden, die für oder gegen eine bestimmte Wirkung sprechen und im Zusammenhang mit anderen Untersuchungen diskutiert werden sollten, die eine ähnliche Fragestellung haben (s. IV.2.1 – 2.3 und 2.5).

Die 2-BT-Gabe steigerte im mPFC und NAc die c-fos-Expression. Die Positivkontrolle Halo (0.5 mg/kg) zeigte einen c-fos-Anstieg im NAc, aber nicht im mPFC, was im Einklang mit vielzähligen Studien ist (0.5 - 2.0 mg/kg; *Deutch & Duman, 1996; Dragunow et al., 1990; Semba et al., 1996; Wan et al., 1995*). Der Effekt von 2-BT auf den NAc ist erneut ein Indiz für sein antipsychotisches Potential. Für D_2R-Partialagonisten ist die Bestimmung der neuronalen Aktivität (c-fos) im NAc, im Gegensatz zum AIL- und *CAR test,* nicht nur geeignet, um klinische AP zu identifizieren, sondern auch um eine Unterscheidung zwischen wirksamen und unwirksamen Verbindungen zu treffen (*Natesan et. al., 2011*). Als Grund wird angegeben, dass die Bestimmung der c-fos-Expression geeignet sein könnte, partialagonistische Verbindungen zu identifizieren, die das richtige Maß aus funktionellen Antagonismus und intrinsischer Aktivität besitzen. Exemplarisch für die atypischen AP löste CLZ nicht nur im NAc, sondern auch im mPFC eine *c-fos*-Induktion aus (*Deutch & Duman, 1996*), weshalb neben den Positivsymptomen auch die Negativsymptome und kognitiven Defizite mit CLZ behandelbar sein sollen (*Deutch & Duman, 1996*). Daher deutet die Aktivitätssteigerung im mPFC daraufhin, dass 2-BT die Eigenschaften eines atypischen AP besitzen könnte, d.h., dass eine Wirkung gegen Negativsymptome und kognitive Defizite möglich ist (*Robertson et. al. 1994, 1996*). Der Vergleich mit den Ergebnissen für ARI, das in anderen Studien ebenfalls die c-fos-Expression im NAc und mPFC erhöhte (*Natesan et al., 2011; Park et al., 2011*), verstärkt diese Vermutung noch einmal.

Der Effekt im NAc tritt bei allen klinisch zugelassenen AP auf und wird als Maß für den *in-vivo*-Antagonismus an den dortigen D_2R gesehen (*Natesan et. al., 2011*). Interessanterweise wurden nach Gabe des typischen AP Halo und des atypischen AP CLZ ähnlich viele c-fos-positive Zellen im NAc gefunden. Allerdings unterschied sich die Lokalisation der Zellen. Nach Halo-Behandlung waren die Zellen über den gesamten rostrokaudalen NAc verteilt, während nach CLZ-Gabe die angefärbten Zellen eher homogen im anterioren NAc lagen und sich im kaudalen Teil des medialen NAc konzentrierten (*Robertson & Fibiger, 1992*). Die typischen AP sind v.a. starke D_2R-Antagonisten, während sich die atypischen AP durch ihren *multi-target-drug*-Charakter und moderaten D_2R-Antagonismus auszeichnen. Dieser Befund zeigt daher, dass der Effekt auf die *c-fos*-Induktion nicht auf einzelne Rezeptorwirkungen heruntergebrochen werden kann, sondern dass neben dem D_2R-Antagonismus auch eine Wirkung an nicht-dopaminergen Rezeptoren Einfluss auf die antipsychotische Wirkung hat. Da in diesem Versuch homogenisierte Gehirnareale semiquantitativ mit *western-blot*-Analysen untersucht wurden und keine intakten Gewebe immunhistochemisch, kann an dieser Stelle keine Aussage getroffen werden, ob das Verteilungsmuster der c-fos-positiven Zellen im NAc vermuten lässt, dass die 2-BT-Wirkung denen der atypischen AP ähnelt.

Studien, die sich mit den Effekten beschäftigen, die CLZ im mPFC auslöst, liefern widersprüchliche Resultate. Sowohl der alleinige D_2R-Antagonismus (Halo, Racloprid, Sulpirid) als auch der zusätzliche Antagonismus an 5-HTR, Muskarin-Rezeptoren oder Adrenozeptoren lösten keine Erhöhung der *c-fos*-

Induktion aus (*Deutch & Duman, 1996*). Im selben Versuch lösten nur die D_2R-Agonisten APO und Quinpirol einen Anstieg der c-fos-Expression im mPFC aus, der mit der CLZ-Wirkung vergleichbar ist. Daher soll die Wirkung mit der D_{2S}R-ausgelösten Erhöhung der kortikalen DA-Freisetzung zusammenhängen. Andererseits wurde gezeigt, dass die CLZ-Wirkung unverändert blieb, nachdem die dopaminerge Innervierung des PFC zerstört wurde, weshalb die verantwortlichen Forschergruppen vermutet, dass dopaminerge Mechanismen inkl. einer D_3R- und D_4R-Blockade nicht für die Wirkung des CLZ verantwortlich sind (*Robertson & Fibiger, 1992*; *Wan et. al., 1995*). Daher liegt die Schlussfolgerung nahe, dass der CLZ-Effekt eher synergistisch aus seinem breiten Rezeptorbindungsprofil resultiert, als dass er durch einzelne Rezeptorwirkungen hervorgerufen wird.

Neben den vorgestellten Effekten auf Hirnbereiche, die mit erwünschten Wirkungen assoziiert sind, kann die induzierte Aktivität in bestimmten ZNS-Arealen auch mit unerwünschten Wirkungen korreliert werden. Allen voran führen AP, die in der klinischen Anwendung häufig motorische Störungen hervorrufen, zu einer erhöhten c-fos-Konzentration im dorsolateralen Striatum. Die Zahl der c-fos-positiven Zellen im dorsalen Striatum nahm von rostral nach kaudal ab (*Dragunow et al., 1990*; *Robertson & Fibiger, 1992; Wan et al., 1995*), wobei das Verteilungsmuster dieser Zellen mit der Literaturangabe über die D_2R-Verteilung übereinstimmt (*Boyson et al., 1986; Joyce et al., 1985*). Daher wird ein Effekt angenommen, der vorwiegend über die striatalen D_2R vermittelt wird. Anhand des Effekts auf die c-fos-Expression im dorsalen Striatum werden typische von atypischen AP unterschieden (*Robertson et al., 1994; Sumner et al., 2004*). Das Referenz-AP Halo (0.5 mg/kg) führte zu einer verstärkten Expression des c-fos im dorsalen Striatum. Daher passt dieses Ergebnis gut zu den Ergebnissen anderer Studien (*Dragunow et al., 1990; Fink-Jensen & Kristensen, 1994; Semba et al., 1996; Wan et al., 1995*), zu seinem klinischen Profil (*Leucht et al., 2013*) und zum kataleptischen Verhalten in unseren Katalepsie-Tests (s. IV.2.1). Unerwarteterweise führte die Gabe der geringen aber nicht der hohen 2-BT-Dosis zu einem c-fos-Anstieg im dorsalen Striatum. Ausgehend von diesem Ergebnis könnte man vermuten, dass 2-BT in geringer Dosierung motorische Störungen bedingt, während die Motorik nach Gabe einer hohen Dosierung unbeeinflusst bleibt. Da in den Katalepsie-Tests nach akuter (s. IV.2.1) und chronischer Gabe (s. IV.2.5) gezeigt wurde, dass das Hervorrufen motorischer Störungen nach Gabe beider 2-BT-Dosen eher unwahrscheinlich ist, passt nur das Ergebnis für die hohe Dosierung zu den anderen Versuchsergebnissen. ARI, der antipsychotisch wirksame D_2R-Partialagonist, mit dem man die längste klinische Erfahrung hat, hatte ebenfalls keinen Effekt auf die c-fos-Konzentration in den Zellen des dorsalen Striatums (*Natesan et al., 2011; Semba et al., 1996*). Der beschriebene Unterschied zwischen den 2-BT-Gruppen ist physiologisch nur schwer zu erklären. Neben einer D_2R-Wirkung sind auch 5-HT_{2A}R- oder D_1R-vermittelte Effekte denkbar, die erst nach Gabe der hohen 2-BT-Dosis in relevantem Maße die Expression des c-fos verändert. Da c-fos-Expression nicht durch einen einzelnen Rezeptor bzw. durch eine überschaubare Gruppe von Rezeptoren gesteuert wird, kann es sein, dass die Wirkung an einem bisher ungenannten Rezeptor für die Ergebnisse der 2-BT-Gruppen verantwortlich ist. Der Gedanke, dass dem Ergebnis methodische Fehler unterliegen, ist weitestgehend von der Hand zu weisen, da die Proben aller randomisierten Versuchsgruppen für die *western-blot*-Analysen immer heterogen auf die Gele aufgetragen wurden und somit etwaige Messfehler auf alle Gruppen übertragen worden wären.

Neben dem Einfluss auf die c-fos-Expression im mPFC, NAc und dorsalen Striatum wurde auch der 2-BT-Effekt auf die neuronale Aktivität im Hypothalamus-Hypophysen-System (HHS) untersucht. Der

fehlende Effekt von 2-BT und Halo im HHS spricht für eine nicht maßgebliche Besetzung der dortigen Rezeptoren. Das im HHS liegende tuberoinfundibuläre DA-System steuert die Sekretion des Prolaktins in das (hypophysäre) Blutgefäßsystem, wobei sich die Freisetzung nach Gabe von D_2R-Agonisten verringert bzw. nach Gabe von D_2R-Antagonisten erhöht (*Bostwick et al., 2009; Compton & Miller, 2002; Petty, 1999)*. Die Folgen einer Hyperprolaktinämie reichen von sexueller Dysfunktion bis zu Menstruationsstörungen und Gynäkomastie (*Bostwick et al., 2009; Compton & Miller, 2002; Petty, 1999; Reymond & Porter, 1985*). Daher ist es evident, dass die durch die Gabe von typischen AP hervorgerufene Hyperprolaktinämie zu einer verstärkten Aktivität im HHS führt. Die an unserem Institut durchgeführten *ex-vivo*-Folgeversuche zeigten, dass 2-BT die Prolaktin-Spiegel im Serum nicht beeinflusste (unveröffentlichte Daten), womit sich das Ergebnis mit dem hier diskutierten deckt. Neben der bisher angenommenen Lesart der Ergebnisse zeigen andere Forschergruppen, dass die c-fos-Expression in ausgewählten Kernen des HHS auch im Hinblick auf den Einfluss auf bestimmte metabolische Parameter (u.a. Nahrungsaufnahme und Körpermasse (KM)) diskutiert werden kann (*Kiss et al., 2010; Rajkumar et al., 2013*). Der fehlende 2-BT-Effekt auf die c-fos-Expression im HHS kann daher vielfältig gedeutet werden und müsste durch gezielte Experimente bewertet werden. Allerdings deuteten die bisherigen *in-vivo*- und *ex-vivo*-Versuche an, dass 2-BT weder die Nahrungsaufnahme und die Entwicklung der KM beeinflusst (s. IV.2.5) noch Einfluss auf die Prolaktin-Freisetzung hat (unveröffentlichte Daten).

Die Ergebnisse der semiquantitativen Bestimmung der c-fos-Expression sind im Einklang mit den Resultaten der anderen Versuche. Es konnte erneut gezeigt werden, dass 2-BT antipsychotisch wirksam sein könnte, ohne dass es motorische Störungen bedingt oder Einfluss auf die Prolaktin-Freisetzung hat. Der Verdacht, dass 2-BT keinen Einfluss auf bestimmte metabolische Parameter hat, wird auch durch den nachfolgend diskutierten Versuch bestätigt (s. IV.2.5). Eine Diskussion darüber, durch welche Rezeptorwirkung die *c-fos*-Induktion in den einzelnen ZNS-Arealen bedingt wurde, ist an dieser Stelle eher sekundär. Im Rahmen anderer Versuche kann dem Zusammenhang zwischen der Rezeptorbindung und der Beeinflussung bestimmter Hirnareale z.T. besser nachgegangen werden.

2.5 Einfluss der chronischen Gabe von 2-Bromtergurid auf metabolische Parameter sowie auf das Verhalten im *open field* und den Katalepsie-Tests

Einfluss auf ausgewählte metabolische Parameter

Die antipsychotische Therapie kann mit einer vermehrten Zunahme der KM und des viszeralen Fetts assoziiert sein und so das Entstehen bestimmter metabolischer Störungen begünstigen (s. I.3.3.5). Insbesondere nach Gabe eines atypischen AP können die erwähnten Wirkungen auftreten (*Leucht, 2013*). Durch Studien wurde gezeigt, dass allen voran ein H_1R-Antagonismus für die Wirkungen verantwortlich ist (*Deng et al., 2010; Kroeze et al., 2003*). Allerdings wird einem Antagonismus bzw. inversen Agonismus am 5-HT_{2C}R eine zunehmend größere Bedeutung zugesprochen (*Kirk et al., 2009*). Infolge der chronischen Behandlung kann beurteilt werden, ob 2-BT die untersuchten metabolischen Parameter beeinflusst.

2-BT hatte während der chronischen Behandlung keinen Einfluss auf die relative Zunahme der KM und den prozentualen Anteil der untersuchten Fettgewebe an der gesamten KM. Die Futter- bzw. Wasseraufnahme wurde ebenfalls nicht beeinflusst. Das atypische AP OLZ diente als Positivkontrolle und führte erwartungsgemäß zu einer Hyperphagie, beschleunigte die KM-Zunahme und erhöhte den Anteil

bestimmter Fettgewebe (viszeral und subkutan). Die OLZ-Ergebnisse decken sich hinsichtlich der KM-Entwicklung und der Nahrungsaufnahme mit Versuchsresultaten anderer Arbeitsgruppen (*Davey et al., 2012; He et al., 2014*)

Neben der prädisponierenden Wirkung bestimmter Genallele (u.a. des *MC4R, HTR2C, NPY*), der Modulation hormoneller Signale (u.a. Ghrelin und Leptin) und der veränderten Produktion von Zytokinen (z.B. TNFα) und Adipokinen (z.B. Adiponektin; *Himmerich et al., 2015*) sind v.a. Wirkungen an Rezeptoren des Histamin-, 5-HT- und DA-Systems wichtig (s. I.3.3.5), um die hier untersuchten Effekte auszulösen: Allen voran wird der H_1R-Antagonismus eines AP als Ursache für Veränderungen der KM und der Nahrungsaufnahme auf klinischer und präklinischer Ebene genannt (*Deng et al., 2010*; *Himmerich et al., 2015*). Zusätzlich korreliert die Affinität eines AP zum H_1R mit dem Umfang der KM-Zunahme während der Kurzzeittherapie (*Kroeze et al., 2003*). Darüber hinaus wird auch dem 5-HT_{2A}R und 5-HT_{2C}R eine Bedeutung zugesprochen (*Coccurello & Moles, 2010; Kirk et al., 2009*). Die beiden 5-HTR sind an der Regulation des Essverhaltens und der Vermittlung von Sättigungssignalen beteiligt (s. I.3.3.5). Interessanterweise führen die beiden inversen 5-HT_{2C}R-Agonisten CLZ und OLZ klinisch und präklinisch zu den stärksten KM-Zunahmen (*Correll et al., 2011; Leucht et al., 2013*). Genetische und pharmakologische Studien bestätigten den Einfluss des 5-HT_{2C}R (*De Luca et al., 2007; Kirk et al., 2009; Nonogaki et al., 1998*). Es wird vermutet, dass der Anstieg der KM nach OLZ-Gabe durch den simultanen D_2R-Antagonismus und inversen 5-HT_{2C}R-Agonismus bedingt ist (*Kirk et al., 2009*). Dem D_2R wird eine nachrangige Bedeutung bei der Entstehung der untersuchten UAW zugeordnet. Der D_2R-Antagonismus soll jedoch zu einem relevanten Faktor für das UAW-Profil werden, wenn während der AP-Therapie eine Leptin-/Insulin-Rezeptorresistenz oder Hyperprolaktinämie entsteht (*Coccurello & Moles, 2010*). Dieselben Autoren vermuten auch, dass die gemeinsame Blockade des 5-HT_{2A}R bzw. 5-HT_{2C}R und des D_2R die initiale Kaskade auslöst, die zu der verstärkten Energieaufnahme führt.

In den Rezeptorbindungsprofilen von 2-BT und OLZ lassen sich Gründe finden, warum OLZ Effekte verursachte, aber 2-BT nicht. Beide Verbindungen wirken mit relevanter Affinität als Antagonist (OLZ) bzw. als Antagonist/Partialagonist (2-BT) am D_2R (s. I.2.3; *Jantschak et al., 2013; Kirk et al., 2009*). Jedoch zeigen sich Unterschiede hinsichtlich der Affinität zum H_1R: OLZ löste als starker Antagonist (*Correll et al., 2011; He et al., 2014; Kroeze et al., 2003*) deutliche Effekte aus, während 2-BT mit einer vernachlässigbaren Affinität (s. I.3.2) kaum Veränderungen bedingte. Daher lassen sich die Ergebnisse gut mit dem postulierten Einfluss des H_1R zusammenbringen. Wie bereits erwähnt, wird der Antagonismus bzw. inverse Agonismus am 5-HT_{2C}R zunehmend als wichtiger Faktor für die Entstehung der untersuchten Wirkungen betrachtet. Da die Affinität von 2-BT zu diesem Rezeptor noch nicht bestimmt wurde, ist bisher keine Aussage möglich. OLZ bindet hoch affin an den 5-HT_{2C}R und wirkt als inverser Agonist (*Kirk et al., 2009; Kroeze et al., 2003*). Daher bietet diese Rezeptorwirkung gemeinsam mit dem D_2R-Antagonismus eine schlüssige Erklärung, warum OLZ Effekte auf die KM und das viszerale Fettgewebe hatte. Analog kann anhand des 2-BT-Ergebnisses vermutet werden, dass 2-BT keine relevante Affinität zum 5-HT_{2C}R besitzt. Ferner soll der 5-HT_{1A}R-Antagonismus den untersuchten Veränderungen entgegenwirken, wohingegen ein 5-HT_{2A}R-Antagonismus die Veränderungen begünstigen soll (*Coccurello & Moles, 2010*). Allerdings besitzt 2-BT keine nachweisbare 5-HT_{1A}R-Affinität und wirkt funktionell antagonistisch am 5-HT_{2A}R (s. IV.1.2), während OLZ ebenfalls ein 5-HT_{2A}R-Antagonist ist, der mit sehr schwacher Affinität an den 5-HT_{1A}R bindet (*Kroeze et al., 2003*). Die Unterschiede zwischen beiden Substanzen sind an diesen 5-HTR vernachlässigbar. Daher können die

unterschiedlichen Ergebnissen nicht über die 5-HT_{2A}R-Wirkung erklärt werden. Abschließend kann vermutet werden, dass die Zunahme der KM und des viszeralen Fetts nach OLZ-Gabe vermutlich eine Konsequenz der Hyperphagie ist, die über die antagonistische Aktivität am H_1R und 5-HT_{2C}R vermittelt wird. Allerdings wurde eine Zunahme des viszeralen Fetts auch ohne Änderung der KM oder des Essverhaltens beobachtet (*Cooper et al., 2008; Cooper et al., 2007; Davey et al., 2013; Victoriano et al., 2009*). Eine andere Forschergruppe führte einen chronischen Versuch unter ähnlichen Bedingungen wie der hier diskutierte (*He et al., 2014*): Weibliche Sprague-Dawley-Ratten wurden für 8, 16 oder 36 Tage dreimal täglich mit 1.0 mg/kg OLZ behandelt (vgl. II.2.5: 2 x 2 mg/kg pro Tag). Die zitierte Quelle unterstreicht noch einmal die wichtige Rolle des H_1R und dessen nachgeschalteter Signaltransmission für die untersuchten Effekte (*He et al., 2014*). Aufgrund der Ergebnisse schlussfolgerte diese Arbeitsgruppe, dass es drei distinkte Phasen gibt, die sich durch eine veränderte Nahrungsaufnahme und KM-Entwicklung sowie durch eine quantitative Änderung der H_1R-mRNA-Expression und Phosphorylierung der AMPK (AMP-aktivierte Proteinkinase) unterscheiden. Die AMPK ist eine Kinase im *second-messenger*-System des H_1R (*He et al., 2014*). Da sich die KM-Entwicklung und Nahrungsaufnahme der OLZ-behandelten Ratten in der vorliegenden Studie und in der von *He et al., 2014* für eine vergleichbare Zeitdauer signifikant von der jeweiligen Vehikel-Gruppe unterschied, deuten sich auch in unserer Studie die unterschiedlichen Phasen des OLZ-Effekts an. Eine Aussage über den Einfluss des OLZ auf die hypothalamische H_1R-Signaltransmission kann anhand der vorliegenden Ergebnisse nicht getroffen werden.

Ein Vergleich der Effekte von 2-BT mit denen des D_2R-partialagonistischen AP ARI (s. I.2.3) hilft bei einer validen Einordnung der 2-BT-Resultate. ARI besitzt nur eine geringe klinische Inzidenz für die untersuchten Effekte (*Leucht et al., 2013*). Die wenigen präklinischen Studien für ARI wurden mit Ratten und einer ähnlichen Versuchsdauer durchgeführt. Da für ARI allerdings Effekte auf die Nahrungsaufnahme und die KM-Entwicklung nachgewiesen werden konnten (*Kalinichev et al., 2005; Skrede et al., 2012*), zeigt sich hierbei ein Unterschied zu 2-BT. Insbesondere der stärkere H_1R-Antagonismus von ARI könnte das bessere Ergebnis für 2-BT erklären. Es gibt auch Unterschiede hinsichtlich der Affinität zum 5-HT_{2A}R, 5-HT_{1A}R und evtl. auch zum 5-HT_{2C}R (*Jantschak et al., 2013; Shapiro et al., 2003*), wobei deren Einfluss auf das Versuchsergebnis eher zu vernachlässigen ist. In diesem Test könnte der fehlende 2-BT-Effekt auf die Untersuchungsparameter als Überlegenheit gegenüber ARI gesehen werden.

Einfluss auf das Verhalten im open field und den Katalepsie-Tests

Neben den bereits erwähnten Untersuchungen wurde auch der Einfluss einer chronischen Behandlung auf die lokomotorische Aktivität und das kataleptische Potential bestimmt, wodurch ein Vergleich mit der akuten Behandlung möglich ist (s. IV.1.1 und 2.1). 2-BT reduzierte auch nach chronischer Gabe die lokomotorische Aktivität und wies kein kataleptisches Potential auf. Im Hinblick auf beide Untersuchungsparameter riefen die akute und die chronische 2-BT-Gabe vergleichbare Effekte hervor (s. IV.1.1 und 2.1). Eine Habituation/ an bzw. Sensibilisierung gegenüber den Substanzwirkungen kann daher nicht konstatiert werden. Wie bereits erläutert (s. IV.1.1), resultiert der dämpfende Effekt auf die lokomotorische Aktivität vermutlich aus der Beeinflussung des mesolimbischen DA-Systems. Die Schlussfolgerung, dass 2-BT eine gewisse selektive Wirkung auf das mesolimbische DA-System besitzt (s. IV.2.2), könnte auch für die chronische Gabe gelten. Die Vermutung, dass die ähnlichen Ergebnisse

nach akuter und chronischer Gabe durch eine zu kurze Halbwertzeit verursacht sind, stellt sich in Anbetracht der bisherigen Versuchsresultate (s. IV.1.1 – 2.4) als nicht haltbar dar. Die Ergebnisse deuten darauf hin, dass die Bromierung die kurze Halbwertzeit der Muttersubstanz Tergurid verlängerte (*Krause & Humpel, 1988; Krause et al., 1990*). Allen voran sind der *CAR* und die Katalepsie-Tests zu nennen, da in diesen Tests nach 150 bzw. 270 min noch signifikante Effekte festgestellt wurden (s. III.2.1 und 2.3). Eine Halbwertzeit von 2-BT könnte mithilfe von Blutspiegelkurven genauer bestimmt werden.

Die chronische OLZ-Gabe verringerte ähnlich wie 2-BT die lokomotorische Aktivität im *OF test* und erhöhte die Latenzzeiten in den Katalepsie-Tests, ohne kataleptisches Verhalten zu verursachen. Aus präklinischen Studien mit akuter OLZ-Gabe ist bekannt, dass OLZ eine Hypolokomotion im *OF test* senken kann (*Ninan & Kulkarni, 1999*). Da keine Studien für eine chronische OLZ-Gabe gefunden werden konnten, ist unser Ergebnis für die chronische OLZ-Gabe im Einklang mit der beobachteten Hypolokomotion nach akuter Gabe. Für die klinische OLZ-Gabe wurde kein erhöhtes Risiko für motorische Störungen gefunden (*Leucht et al., 2013*). Daher resultieren die verlängerten Latenzzeiten vermutlich durch die dämpfende Wirkung des OLZ auf die motorische Aktivität oder dessen sedativen Effekt (*Nowakowska et al., 1999*).

3. Schlussfolgerungen und Ausblick

Die Diskussion der *in-vivo*-Ergebnisse zeigt, dass 2-BT ein vielversprechender Kandidat für ein zukünftiges AP ist. Durch den AIL- und *CAR test* sowie die Bestimmung der neuronalen Aktivität (c-fos) konnten Indizien für ein antipsychotisches Potential geliefert werden (s. IV.2.2 - 2.4). Der Anstieg der c-fos-Expression im mPFC deutet an, dass 2-BT eventuell die Eigenschaften eines atypischen AP besitzen könnte, weshalb eine Wirkung gegen Negativsymptome und kognitive Defizite möglich sind. Bei der Bewertung des UAW-Profils zeigte 2-BT nach akuter und chronischer Gabe kein kataleptisches Potential (s. IV.2.1 und 2.5). Der fehlende Einfluss des 2-BT auf die Stereotypien im AIS-Test und die c-fos-Expression im dorsalen Striatum sprechen ebenfalls dafür, dass das nigrostriatale DA-System nur schwach beeinflusst wird und bestärken die Schlussfolgerung, dass 2-BT ein vernachlässigbares kataleptisches Potential besitzt (s. IV.2.2 und 2.4). Weiterhin konnte gezeigt werden, dass 2-BT nach chronischer Applikation keinen Einfluss auf die KM, die Körperfettanteile und den Nahrungskonsum hatte (s. IV.2.5), was z.T. durch das Fehlen eines relevanten H_1R-Antagonismus bedingt ist (s. I.3.3). Die zuvor genannten, guten 2-BT-Ergebnisse resultieren vermutlich auch aus den bereits bekannten Rezeptorwirkungen. Aus den *in-vitro*-Studien ist bekannt, dass 2-BT ein Antagonist/Partialagonist am D_2R ist und antagonistisch am 5-$HT_{2A}R$ und $\alpha_{2C}R$ wirkt (s. I.3.3). Die bisher einzige unerwünschte 2-BT-Wirkung ist die lokomotionsdämpfende Wirkung, die im u.a. *OF test* (s. IV.1.1) festgestellt wurde und vermutlich durch seinen funktionellen D_2R-Antagonismus bedingt ist. Das Ergebnis kann daher als eine Bestätigung der *in-vitro*-Wirkung gesehen werden. Ferner wurde durch den *wet dog shakes test* (s. IV.1.2) die bereits *in vitro* festgestellte antagonistische 5-$HT_{2A}R$-Wirkung *in vivo* bestätigt. Die 2-BT-Wirkung auf den präsynaptischen D_2R wurde zwar untersucht, aber es konnte keine klare Schlussfolgerung gezogen werden. Sowohl die alleinige APO-Gabe als auch die Kombination mit 2-BT führten zu vergleichbaren lokomotorischen Aktivitäten. Es kann daher angenommen werden, dass die ausgelöste 2-BT-Wirkung am $D_{2S}R$ durch seine postsynaptische Wirkung am $D_{2L}R$ überdeckt wurde.

Neben den bereits erwähnten Schlussfolgerungen lassen die Versuchsergebnisse vermuten, dass 2-BT eine gewisse selektive Wirkung auf das mesolimbische DA-System hat. Der AIL- und AIS-Test sowie die Katalepsie-Tests zeigten, dass 2-BT in den gewählten Dosierungen die Aktivität des mesolimbischen DA-Systems beeinflusste, während sein Effekt auf das nigrostriatale DA-System unwesentlich war. Die mesolimbische Selektivität wurde auch für CLZ festgestellt (*Castagne et al., 2009; O'Neill et al., 1999*) und wird als wichtiger Indikator für die Eigenschaften der atypischen AP und v.a. für deren verringerte EPS-Inzidenz betrachtet (*Moller, 2003; Porsolt et al., 2010*).

Die Diskussion der Ergebnisse ergab nicht nur schlüssige Ergebnisse. Einige Versuche konnten die gestellten Fragestellungen nicht zufriedenstellend beantworten oder es ergaben sich Ungereimtheiten, die noch nicht beantwortet werden können. Wie bereits erwähnt, konnte die Untersuchung der 2-BT-Wirkung auf den präsynaptischen D_2R kein eindeutiges Resultat liefern. Daher ist es nötig, z.B. eine Mikrodialyse-Studie durchzuführen, um die Wirkung von 2-BT auf den $D_{2S}R$ anhand der Veränderung der DA-Freisetzung in den synaptischen Spalt näher beschreiben zu können. Zusätzliche Bindungsstudien könnten das Rezeptorbindungsprofil umfassender beschreiben und eventuell eine Erklärung für die Wirkung der 2-BT-Dosierungen auf die c-fos-Expression im dorsalen Striatum bereitstellen. Zur Untersuchung würden sich z.B. der D_1R, D_3R, D_4R und der 5-$HT_{2C}R$ anbieten, da diese Rezeptoren eine Relevanz für die Therapie der SZ haben können.

Nachdem durch die vorliegende Arbeit das UAW- und Rezeptorbindungsprofil sowie das antipsychotische Potential, also die Wirkung gegen die Positivsymptome, *in vivo* näher untersucht wurden, sollte in weiteren Studien die 2-BT-Wirkung auf kognitive Defizite und die Negativsymptome der SZ bewertet werden. Hierfür eignen sich der *novel object recognition test* und der *social interaction test* zur Bewertung der 2-BT-Wirkung auf beeinträchtigte Gedächtnisleistungen bzw. das gestörte Sozialverhalten (*Porsolt et al., 2010*). Mithilfe der Präpulsinhibition der akustisch ausgelösten Schreckreaktion kann zudem der Einfluss von 2-BT auf die gestörte sensomotorische Integrationsleistung evaluiert werden (*Koch, 2006*), einem Endophänotyp, der einigen Symptomen der SZ zugrunde liegt. Des Weiteren sollte geprüft werden, ob 2-BT eine Hyperprolaktinämie induziert, eine charakteristische UAW einiger typischer AP. Der Einsatz von biochemischen Analysemethoden, wie z.B. eines ELISA, ermöglicht eine Untersuchung des 2-BT-Einflusses auf die Prolaktin-Freisetzung.

Vom jetzigen Kenntnisstand aus betrachtet, besitzt 2-BT ein hervorragendes pharmakologisches Profil: Es zeigte in den bisher durchgeführten Studien wiederholt, dass es antipsychotisch wirksam sein könnte und in vernachlässigbaren Umfang UAW hervorruft, die üblicherweise mit der pharmakologischen Therapie der SZ verbunden sind. Bestätigt sich diese Tendenz auch in den oben erwähnten Nachfolgeversuchen könnte 2-BT eine wirkliche Ergänzung für die Therapie der SZ sein.

LITERATURVERZEICHNIS V.

Abbasi, S. H., Behpournia, H., Ghoreshi, A., Salehi, B., Raznahan, M., Rezazadeh, S. A., Rezaei, F., & Akhondzadeh, S. (2010). The effect of mirtazapine add on therapy to risperidone in the treatment of schizophrenia: a double-blind randomized placebo-controlled trial. Schizophr Res, 116(2-3), 101-106

Adityanjee, Aderibigbe, Y. A., Theodoridis, D., & Vieweg, V. R. (1999). Dementia praecox to schizophrenia: the first 100 years. Psychiatry Clin Neurosci, 53(4), 437-448

Ahlenius, S. (1999). Clozapine: dopamine D1 receptor agonism in the prefrontal cortex as the code to decipher a Rosetta stone of antipsychotic drugs. Pharmacol Toxicol, 84(5), 193-196

Ahlenius, S., & Hillegaart, V. (1986). Involvement of extrapyramidal motor mechanisms in the suppression of locomotor activity by antipsychotic drugs: a comparison between the effects produced by pre- and post-synaptic inhibition of dopaminergic neurotransmission. Pharmacol Biochem Behav, 24(5), 1409-1415

Albaugh, V. L., Henry, C. R., Bello, N. T., Hajnal, A., Lynch, S. L., Halle, B., & Lynch, C. J. (2006). Hormonal and metabolic effects of olanzapine and clozapine related to body weight in rodents. Obesity (Silver Spring), 14(1), 36-51

Alexander, G. E., & Crutcher, M. D. (1990). Functional architecture of basal ganglia circuits: neural substrates of parallel processing. Trends Neurosci, 13(7), 266-271

Allison, D. B., & Casey, D. E. (2001). Antipsychotic-induced weight gain: a review of the literature. J Clin Psychiatry, 62 Suppl 7, 22-31

Allison, D. B., Fontaine, K. R., Heo, M., Mentore, J. L., Cappelleri, J. C., Chandler, L. P., Weiden, P. J., & Cheskin, L. J. (1999). The distribution of body mass index among individuals with and without schizophrenia. J Clin Psychiatry, 60(4), 215-220

Allison, D. B., Loebel, A. D., Lombardo, I., Romano, S. J., & Siu, C. O. (2009). Understanding the relationship between baseline BMI and subsequent weight change in antipsychotic trials: effect modification or regression to the mean? Psychiatry Res, 170(2-3), 172-176

Amargos-Bosch, M., Bortolozzi, A., Puig, M. V., Serrats, J., Adell, A., Celada, P., Toth, M., Mengod, G., & Artigas, F. (2004). Co-expression and in vivo interaction of serotonin1A and serotonin2A receptors in pyramidal neurons of prefrontal cortex. Cereb Cortex, 14(3), 281-299

Andersen, P. H., & Jansen, J. A. (1990). Dopamine receptor agonists: selectivity and dopamine D1 receptor efficacy. Eur J Pharmacol, 188(6), 335-347

Aoki, C., Go, C. G., Venkatesan, C., & Kurose, H. (1994). Perikaryal and synaptic localization of alpha 2A-adrenergic receptor-like immunoreactivity. Brain Res, 650(2), 181-204

Aoki, C., Venkatesan, C., Go, C. G., Forman, R., & Kurose, H. (1998). Cellular and subcellular sites for noradrenergic action in the monkey dorsolateral prefrontal cortex as revealed by the immunocytochemical localization of noradrenergic receptors and axons. Cereb Cortex, 8(3), 269-277

Aouizerate, B., Guehl, D., Cuny, E., Rougier, A., Bioulac, B., Tignol, J., & Burbaud, P. (2004). Pathophysiology of obsessive-compulsive disorder: a necessary link between phenomenology, neuropsychology, imagery and physiology. Prog Neurobiol, 72(3), 195-221

Archer, J. (1973). Tests for emotionality in rats and mice: a review. Anim Behav, 21(2), 205-235

Ariano, M. A., Wang, J., Noblett, K. L., Larson, E. R., & Sibley, D. R. (1997). Cellular distribution of the rat D4 dopamine receptor protein in the CNS using anti-receptor antisera. Brain Res, 752(1-2), 26-34

Arnt, J. (1985). Antistereotypic effects of dopamine D-1 and D-2 antagonists after intrastriatal injection in rats. Pharmacological and regional specificity. Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol, 330(2), 97-104

Arzneiverordnungsreport 2014. (2014). Berlin; Heidelberg; New York Springer Verlag.

Backus, L. I., Sharp, T., & Grahame-Smith, D. G. (1990). Behavioural evidence for a functional interaction between central 5-HT2 and 5-HT1A receptors. Br J Pharmacol, 100(4), 793-799

Bagney, A., Dompablo, M., Santabarbara, J., Moreno-Ortega, M., Lobo, A., Jimenez-Arriero, M. A., Palomo, T., & Rodriguez-Jimenez, R. (2015). Are negative symptoms really related to cognition in schizophrenia? Psychiatry Res

Bah, J., Westberg, L., Baghaei, F., Henningsson, S., Rosmond, R., Melke, J., Holm, G., & Eriksson, E. (2010). Further exploration of the possible influence of polymorphisms in HTR2C and 5HTT on body weight. Metabolism, 59(8), 1156-1163

Bailey, J. M., Dunne, M. P., & Martin, N. G. (2000). Genetic and environmental influences on sexual orientation and its correlates in an Australian twin sample. J Pers Soc Psychol, 78(3), 524-536

Baldessarini, R. J., & Frankenburg, F. R. (1991). Clozapine. A novel antipsychotic agent. N Engl J Med, 324(11), 746-754

Baptista, T., Araujo de Baptista, E., Ying Kin, N. M., Beaulieu, S., Walker, D., Joober, R., Lalonde, J., & Richard, D. (2002). Comparative effects of the antipsychotics sulpiride or risperidone in rats. I: bodyweight, food intake, body composition, hormones and glucose tolerance. Brain Res, 957(1), 144-151

Baptista, T., Parada, M., & Hernandez, L. (1987). Long term administration of some antipsychotic drugs increases body weight and feeding in rats. Are D2 dopamine receptors involved? Pharmacol Biochem Behav, 27(3), 399-405

Barrot, M., Olivier, J. D., Perrotti, L. I., DiLeone, R. J., Berton, O., Eisch, A. J., Impey, S., Storm, D. R., Neve, R. L., Yin, J. C., Zachariou, V., & Nestler, E. J. (2002). CREB activity in the nucleus accumbens shell controls gating of behavioral responses to emotional stimuli. Proc Natl Acad Sci U S A, 99(17), 11435-11440

Baumann, M. H., Williams, Z., Zolkowska, D., & Rothman, R. B. (2011). Serotonin (5-HT) precursor loading with 5-hydroxy-l-tryptophan (5-HTP) reduces locomotor activation produced by (+)-amphetamine in the rat. Drug Alcohol Depend, 114(2-3), 147-152

Bayer, T. A., Falkai, P., & Maier, W. (1999). Genetic and non-genetic vulnerability factors in schizophrenia: the basis of the "two hit hypothesis". J Psychiatr Res, 33(6), 543-548

Beaulieu, J. M., Sotnikova, T. D., Marion, S., Lefkowitz, R. J., Gainetdinov, R. R., & Caron, M. G. (2005). An Akt/beta-arrestin 2/PP2A signaling complex mediates dopaminergic neurotransmission and behavior. Cell, 122(2), 261-273

Beaumont, G. (2000). Antipsychotics--the future of schizophrenia treatment. Curr Med Res Opin, 16(1), 37-42

Becker, A., & Grecksch, G. (2008). Phosphodiesterase inhibitors--are they potential neuroleptic drugs? Behav Brain Res, 186(2), 155-160

Bedard, P., & Pycock, C. (1977). The 'wet dog shake" behaviour in the rat and 5-hydroxytryptamine [proceedings]. Br J Pharmacol, 59(3), 450P-451P

Benoit-Marand, M., Borrelli, E., & Gonon, F. (2001). Inhibition of dopamine release via presynaptic D2 receptors: time course and functional characteristics in vivo. J Neurosci, 21(23), 9134-9141

Bjorklund, A., & Dunnett, S. B. (2007). Dopamine neuron systems in the brain: an update. Trends Neurosci, 30(5), 194-202

Bortolozzi, A., Diaz-Mataix, L., Scorza, M. C., Celada, P., & Artigas, F. (2005). The activation of 5-HT receptors in prefrontal cortex enhances dopaminergic activity. J Neurochem, 95(6), 1597-1607

Bortolozzi, A., Masana, M., Diaz-Mataix, L., Cortes, R., Scorza, M. C., Gingrich, J. A., Toth, M., & Artigas, F. (2010). Dopamine release induced by atypical antipsychotics in prefrontal cortex requires 5-HT(1A) receptors but not 5-HT(2A) receptors. Int J Neuropsychopharmacol, 13(10), 1299-1314

Bostwick, J. R., Guthrie, S. K., & Ellingrod, V. L. (2009). Antipsychotic-induced hyperprolactinemia. Pharmacotherapy, 29(1), 64-73

Boulay, D., Depoortere, R., Perrault, G., Borrelli, E., & Sanger, D. J. (1999a). Dopamine D2 receptor knock-out mice are insensitive to the hypolocomotor and hypothermic effects of dopamine D2/D3 receptor agonists. Neuropharmacology, 38(9), 1389-1396

Boulay, D., Depoortere, R., Rostene, W., Perrault, G., & Sanger, D. J. (1999b). Dopamine D3 receptor agonists produce similar decreases in body temperature and locomotor activity in D3 knock-out and wild-type mice. Neuropharmacology, 38(4), 555-565

Boyda, H. N., Tse, L., Procyshyn, R. M., Honer, W. G., & Barr, A. M. (2010). Preclinical models of antipsychotic drug-induced metabolic side effects. Trends Pharmacol Sci, 31(10), 484-497

Boyson, S. J., McGonigle, P., & Molinoff, P. B. (1986). Quantitative autoradiographic localization of the D1 and D2 subtypes of dopamine receptors in rat brain. J Neurosci, 6(11), 3177-3188

Braff, D. L. (2015). The importance of endophenotypes in schizophrenia research. Schizophr Res, 163(1-3), 1-8

Braga, P. Q., Dias, F. R., Carey, R. J., & Carrera, M. P. (2009). Low dose apomorphine induces context-specific sensitization of hypolocomotion without conditioning: support for a new state dependent retrieval hypothesis of drug conditioning and sensitization. Pharmacol Biochem Behav, 93(2), 128-133

Breakefield, X. O., Blood, A. J., Li, Y., Hallett, M., Hanson, P. I., & Standaert, D. G. (2008). The pathophysiological basis of dystonias. Nat Rev Neurosci, 9(3), 222-234

Bromel, T., Blum, W. F., Ziegler, A., Schulz, E., Bender, M., Fleischhaker, C., Remschmidt, H., Krieg, J. C., & Hebebrand, J. (1998). Serum leptin levels increase rapidly after initiation of clozapine therapy. Mol Psychiatry, 3(1), 76-80

Brosda, J., Jantschak, F., & Pertz, H. H. (2014). alpha2-Adrenoceptors are targets for antipsychotic drugs. Psychopharmacology (Berl), 231(5), 801-812

Brown, A. S., Begg, M. D., Gravenstein, S., Schaefer, C. A., Wyatt, R. J., Bresnahan, M., Babulas, V. P., & Susser, E. S. (2004). Serologic evidence of prenatal influenza in the etiology of schizophrenia. Arch Gen Psychiatry, 61(8), 774-780

Bucheler, M. M., Hadamek, K., & Hein, L. (2002). Two alpha(2)-adrenergic receptor subtypes, alpha(2A) and alpha(2C), inhibit transmitter release in the brain of gene-targeted mice. Neuroscience, 109(4), 819-826

Burris, K. D., Molski, T. F., Xu, C., Ryan, E., Tottori, K., Kikuchi, T., Yocca, F. D., & Molinoff, P. B. (2002). Aripiprazole, a novel antipsychotic, is a high-affinity partial agonist at human dopamine D2 receptors. J Pharmacol Exp Ther, 302(1), 381-389

Canales, J. J., & Graybiel, A. M. (2000). A measure of striatal function predicts motor stereotypy. Nat Neurosci, 3(4), 377-383

Carey, R. J., DePalma, G., Damianopoulos, E., Hopkins, A., Shanahan, A., Muller, C. P., & Huston, J. P. (2004). Dopaminergic and serotonergic autoreceptor stimulation effects are equivalent and additive in the suppression of spontaneous and cocaine induced locomotor activity. Brain Res, 1019(1-2), 134-143

Carman, J., Peuskens, J., & Vangeneugden, A. (1995). Risperidone in the treatment of negative symptoms of schizophrenia: a meta-analysis. Int Clin Psychopharmacol, 10(4), 207-213

Carr, D. B., & Sesack, S. R. (2000). Projections from the rat prefrontal cortex to the ventral tegmental area: target specificity in the synaptic associations with mesoaccumbens and mesocortical neurons. J Neurosci, 20(10), 3864-3873

Castagne, V., Moser, P. C., & Porsolt, R. D. (2009). Preclinical behavioral models for predicting antipsychotic activity. Adv Pharmacol, 57, 381-418

Celada, P., Puig, M. V., Diaz-Mataix, L., & Artigas, F. (2008). The hallucinogen DOI reduces low-frequency oscillations in rat prefrontal cortex: reversal by antipsychotic drugs. Biol Psychiatry, 64(5), 392-400

Chaperon, F., Tricklebank, M. D., Unger, L., & Neijt, H. C. (2003). Evidence for regulation of body temperature in rats by dopamine D2 receptor and possible influence of D1 but not D3 and D4 receptors. Neuropharmacology, 44(8), 1047-1053

Chintoh, A. F., Mann, S. W., Lam, L., Lam, C., Cohn, T. A., Fletcher, P. J., Nobrega, J. N., Giacca, A., & Remington, G. (2008). Insulin resistance and decreased glucose-stimulated insulin secretion after acute olanzapine administration. J Clin Psychopharmacol, 28(5), 494-499

Cho, S. J., Yook, K., Kim, B., Choi, T. K., Lee, K. S., Kim, Y. W., Lee, J. E., Suh, S., Yook, K. H., & Lee, S. H. (2011). Mirtazapine augmentation enhances cognitive and reduces negative symptoms in schizophrenia patients treated with risperidone: a randomized controlled trial. Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry, 35(1), 208-211

Choi, W. S., Machida, C. A., & Ronnekleiv, O. K. (1995). Distribution of dopamine D1, D2, and D5 receptor mRNAs in the monkey brain: ribonuclease protection assay analysis. Brain Res Mol Brain Res, 31(1-2), 86-94

Citrome, L. (2015). The ABC's of dopamine receptor partial agonists - aripiprazole, brexpiprazole and cariprazine: the 15-min challenge to sort these agents out. Int J Clin Pract, 69(11), 1211-1220

Clark, D., Furmidge, L. J., Petry, N., Tong, Z. Y., Ericsson, M., & Johnson, D. (1991). Behavioural profile of partial D2 dopamine receptor agonists. 1. Atypical inhibition of d-amphetamine-induced locomotor hyperactivity and stereotypy. Psychopharmacology (Berl), 105(3), 381-392

Coccurello, R., & Moles, A. (2010). Potential mechanisms of atypical antipsychotic-induced metabolic derangement: clues for understanding obesity and novel drug design. Pharmacol Ther, 127(3), 210-251

Cohen, B. M., Ennulat, D. J., Centorrino, F., Matthysse, S., Konieczna, H., Chu, H. M., & Cherkerzian, S. (1999). Polymorphisms of the dopamine D4 receptor and response to antipsychotic drugs. Psychopharmacology (Berl), 141(1), 6-10

Collins, G. T., Newman, A. H., Grundt, P., Rice, K. C., Husbands, S. M., Chauvignac, C., Chen, J., Wang, S., & Woods, J. H. (2007). Yawning and hypothermia in rats: effects of dopamine D3 and D2 agonists and antagonists. Psychopharmacology (Berl), 193(2), 159-170

Collins, G. T., Witkin, J. M., Newman, A. H., Svensson, K. A., Grundt, P., Cao, J., & Woods, J. H. (2005). Dopamine agonist-induced yawning in rats: a dopamine D3 receptor-mediated behavior. J Pharmacol Exp Ther, 314(1), 310-319

Compton, M. T., & Miller, A. H. (2002). Antipsychotic-induced hyperprolactinemia and sexual dysfunction. Psychopharmacol Bull, 36(1), 143-164

Cooper, G. D., Harrold, J. A., Halford, J. C., & Goudie, A. J. (2008). Chronic clozapine treatment in female rats does not induce weight gain or metabolic abnormalities but enhances adiposity: implications for animal models of antipsychotic-induced weight gain. Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry, 32(2), 428-436

Cooper, G. D., Pickavance, L. C., Wilding, J. P., Harrold, J. A., Halford, J. C., & Goudie, A. J. (2007). Effects of olanzapine in male rats: enhanced adiposity in the absence of hyperphagia, weight gain or metabolic abnormalities. J Psychopharmacol, 21(4), 405-413

Cornea-Hebert, V., Riad, M., Wu, C., Singh, S. K., & Descarries, L. (1999). Cellular and subcellular distribution of the serotonin 5-HT2A receptor in the central nervous system of adult rat. J Comp Neurol, 409(2), 187-209

Correll, C. U., Lencz, T., & Malhotra, A. K. (2011). Antipsychotic drugs and obesity. Trends Mol Med, 17(2), 97-107

Correll, C. U., Manu, P., Olshanskiy, V., Napolitano, B., Kane, J. M., & Malhotra, A. K. (2009). Cardiometabolic risk of second-generation antipsychotic medications during first-time use in children and adolescents. JAMA, 302(16), 1765-1773

Costall, B., Fortune, D. H., Hui, S. C., & Naylor, R. J. (1980). Neuroleptic antagonism of the motor inhibitory effects of apomorphine within the nucleus accumbens: drug interaction at presynaptic receptors? Eur J Pharmacol, 63(4), 347-358

Costall, B., & Naylor, R. J. (1976). Dissociation of stereotyped biting responses and oro-bucco-lingual dyskinesias. Eur J Pharmacol, 36(2), 423-429

Coyle, J. T., Balu, D., Benneyworth, M., Basu, A., & Roseman, A. (2010). Beyond the dopamine receptor: novel therapeutic targets for treating schizophrenia. Dialogues Clin Neurosci, 12(3), 359-382

Creese, I., & Iversen, S. D. (1972). Amphetamine response in rat after dopamine neurone destruction. Nat New Biol, 238(86), 247-248

Currie, P. J., Coiro, C. D., Niyomchai, T., Lira, A., & Farahmand, F. (2002). Hypothalamic paraventricular 5-hydroxytryptamine: receptor-specific inhibition of NPY-stimulated eating and energy metabolism. Pharmacol Biochem Behav, 71(4), 709-716

Dampney, R. A., Li, Y. W., Hirooka, Y., Potts, P., & Polson, J. W. (1995). Use of c-fos functional mapping to identify the central baroreceptor reflex pathway: advantages and limitations. Clin Exp Hypertens, 17(1-2), 197-208

Davey, K. J., Cotter, P. D., O'Sullivan, O., Crispie, F., Dinan, T. G., Cryan, J. F., & O'Mahony, S. M. (2013). Antipsychotics and the gut microbiome: olanzapine-induced metabolic dysfunction is attenuated by antibiotic administration in the rat. Transl Psychiatry, 3, e309

Davey, K. J., O'Mahony, S. M., Schellekens, H., O'Sullivan, O., Bienenstock, J., Cotter, P. D., Dinan, T. G., & Cryan, J. F. (2012). Gender-dependent consequences of chronic olanzapine in the rat: effects on body weight, inflammatory, metabolic and microbiota parameters. Psychopharmacology (Berl), 221(1), 155-169

Davidson, M., Galderisi, S., Weiser, M., Werbeloff, N., Fleischhacker, W. W., Keefe, R. S., Boter, H., Keet, I. P., Prelipceanu, D., Rybakowski, J. K., Libiger, J., Hummer, M., Dollfus, S., Lopez-Ibor, J. J., Hranov, L. G., Gaebel, W., Peuskens, J., Lindefors, N., Riecher-Rossler, A., & Kahn, R. S. (2009). Cognitive effects of antipsychotic drugs in first-episode schizophrenia and schizophreniform disorder: a randomized, open-label clinical trial (EUFEST). Am J Psychiatry, 166(6), 675-682

Davoodi, N., Kalinichev, M., Korneev, S. A., & Clifton, P. G. (2009). Hyperphagia and increased meal size are responsible for weight gain in rats treated sub-chronically with olanzapine. Psychopharmacology (Berl), 203(4), 693-702

de Almeida, J., & Mengod, G. (2007). Quantitative analysis of glutamatergic and GABAergic neurons expressing 5-HT(2A) receptors in human and monkey prefrontal cortex. J Neurochem, 103(2), 475-486

de Almeida, J., & Mengod, G. (2008). Serotonin 1A receptors in human and monkey prefrontal cortex are mainly expressed in pyramidal neurons and in a GABAergic interneuron subpopulation: implications for schizophrenia and its treatment. J Neurochem, 107(2), 488-496

de Bartolomeis, A., Tomasetti, C., & Iasevoli, F. (2015). Update on the Mechanism of Action of Aripiprazole: Translational Insights into Antipsychotic Strategies Beyond Dopamine Receptor Antagonism. CNS Drugs

de Geus, E. J. C. (2002). Introducing genetic psychobiology Biological psychology (pp. 1-20).

De Luca, V., Mueller, D. J., de Bartolomeis, A., & Kennedy, J. L. (2007). Association of the HTR2C gene and antipsychotic induced weight gain: a meta-analysis. Int J Neuropsychopharmacol, 10(5), 697-704

De Mei, C., Ramos, M., Iitaka, C., & Borrelli, E. (2009). Getting specialized: presynaptic and postsynaptic dopamine D2 receptors. Curr Opin Pharmacol, 9(1), 53-58

DeLong, M. R., & Wichmann, T. (2007). Circuits and circuit disorders of the basal ganglia. Arch Neurol, 64(1), 20-24

Deng, C., Weston-Green, K., & Huang, X. F. (2010). The role of histaminergic H1 and H3 receptors in food intake: a mechanism for atypical antipsychotic-induced weight gain? Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry, 34(1), 1-4

Deutch, A. Y., Lee, M. C., & Iadarola, M. J. (1992). Regionally specific effects of atypical antipsychotic drugs on striatal Fos expression: The nucleus accumbens shell as a locus of antipsychotic action. Mol Cell Neurosci, 3(4), 332-341

Deutch, A. Y., & Duman, R. S. (1996). The effects of antipsychotic drugs on Fos protein expression in the prefrontal cortex: cellular localization and pharmacological characterization. Neuroscience, 70(2), 377-389

Devoto, P., & Flore, G. (2006). On the origin of cortical dopamine: is it a co-transmitter in noradrenergic neurons? Curr Neuropharmacol, 4(2), 115-125

Di Chiara, G., Bassareo, V., Fenu, S., De Luca, M. A., Spina, L., Cadoni, C., Acquas, E., Carboni, E., Valentini, V., & Lecca, D. (2004). Dopamine and drug addiction: the nucleus accumbens shell connection. Neuropharmacology, 47 Suppl 1, 227-241

Di Forti, M., Lappin, J. M., & Murray, R. M. (2007). Risk factors for schizophrenia--all roads lead to dopamine. Eur Neuropsychopharmacol, 17 Suppl 2, S101-107

Dickinson, S. D., Sabeti, J., Larson, G. A., Giardina, K., Rubinstein, M., Kelly, M. A., Grandy, D. K., Low, M. J., Gerhardt, G. A., & Zahniser, N. R. (1999). Dopamine D2 receptor-deficient mice exhibit decreased dopamine transporter function but no changes in dopamine release in dorsal striatum. J Neurochem, 72(1), 148-156

Dilts, R. P., Jr., Helton, T. E., & McGinty, J. F. (1993). Selective induction of Fos and FRA immunoreactivity within the mesolimbic and mesostriatal dopamine terminal fields. Synapse, 13(3), 251-263

Dragunow, M., Robertson, G. S., Faull, R. L., Robertson, H. A., & Jansen, K. (1990). D2 dopamine receptor antagonists induce fos and related proteins in rat striatal neurons. Neuroscience, 37(2), 287-294

Duinkerke, S. J., Botter, P. A., Jansen, A. A., van Dongen, P. A., van Haaften, A. J., Boom, A. J., van Laarhoven, J. H., & Busard, H. L. (1993). Ritanserin, a selective 5-HT2/1C antagonist, and negative symptoms in schizophrenia. A placebo-controlled double-blind trial. Br J Psychiatry, 163, 451-455

Dunlop, J., & Brandon, N. J. (2015). Schizophrenia drug discovery and development in an evolving era: are new drug targets fulfilling expectations? J Psychopharmacol, 29(2), 230-238

Dursun, S. M., & Handley, S. L. (1993). The effects of alpha 2-adrenoceptor antagonists on the inhibition of 1-(2,5-dimethoxy-4-iodophenyl)-2-aminopropane (DOI)-induced head shakes by 5-HT1A receptor agonists in the mouse. Br J Pharmacol, 109(4), 1046-1052

Dursun, S. M., & Handley, S. L. (1996). Similarities in the pharmacology of spontaneous and DOI-induced head-shakes suggest 5HT2A receptors are active under physiological conditions. Psychopharmacology (Berl), 128(2), 198-205

Eichhammer, P., Albus, M., Borrmann-Hassenbach, M., Schoeler, A., Putzhammer, A., Frick, U., Klein, H. E., & Rohrmeier, T. (2000). Association of dopamine D3-receptor gene variants with neuroleptic induced akathisia in schizophrenic patients: a generalization of Steen's study on DRD3 and tardive dyskinesia. Am J Med Genet, 96(2), 187-191

Ellenbroek, B. A. (2012). Psychopharmacological treatment of schizophrenia: what do we have, and what could we get? Neuropharmacology, 62(3), 1371-1380

Fagerholm, V., Rokka, J., Nyman, L., Sallinen, J., Tiihonen, J., Tupala, E., Haaparanta, M., & Hietala, J. (2008). Autoradiographic characterization of alpha(2C)-adrenoceptors in the human striatum. Synapse, 62(7), 508-515

Farde, L., Nordstrom, A. L., Wiesel, F. A., Pauli, S., Halldin, C., & Sedvall, G. (1992). Positron emission tomographic analysis of central D1 and D2 dopamine receptor occupancy in patients treated with classical neuroleptics and clozapine. Relation to extrapyramidal side effects. Arch Gen Psychiatry, 49(7), 538-544

Feigenson, K. A., Kusnecov, A. W., & Silverstein, S. M. (2014). Inflammation and the two-hit hypothesis of schizophrenia. Neurosci Biobehav Rev, 38, 72-93

Fibiger, H. C., Fibiger, H. P., & Zis, A. P. (1973). Attenuation of amphetamine-induced motor stimulation and stereotypy by 6-hydroxydopamine in the rat. Br J Pharmacol, 47(4), 683-692

Figlewicz, D. P., Evans, S. B., Murphy, J., Hoen, M., & Baskin, D. G. (2003). Expression of receptors for insulin and leptin in the ventral tegmental area/substantia nigra (VTA/SN) of the rat. Brain Res, 964(1), 107-115

Fink-Jensen, A., & Kristensen, P. (1994). Effects of typical and atypical neuroleptics on Fos protein expression in the rat forebrain. Neurosci Lett, 182(1), 115-118

Fog, R. (1972). On stereotypy and catalepsy: studies on the effect of amphetamines and neuroleptics in rats. Acta Neurol Scand Suppl, 50, 3-66

Foussias, G., Agid, O., Fervaha, G., & Remington, G. (2014). Negative symptoms of schizophrenia: clinical features, relevance to real world functioning and specificity versus other CNS disorders. Eur Neuropsychopharmacol, 24(5), 693-709

Foussias, G., & Remington, G. (2010). Negative symptoms in schizophrenia: avolition and Occam's razor. Schizophr Bull, 36(2), 359-369

Fremeau, R. T., Jr., Duncan, G. E., Fornaretto, M. G., Dearry, A., Gingrich, J. A., Breese, G. R., & Caron, M. G. (1991). Localization of D1 dopamine receptor mRNA in brain supports a role in cognitive, affective, and neuroendocrine aspects of dopaminergic neurotransmission. Proc Natl Acad Sci U S A, 88(9), 3772-3776

Friedman, J. H. (2014). Viewpoint: challenges in our understanding of neuroleptic induced parkinsonism. Parkinsonism Relat Disord, 20(12), 1325-1328

Fulton, S., Pissios, P., Manchon, R. P., Stiles, L., Frank, L., Pothos, E. N., Maratos-Flier, E., & Flier, J. S. (2006). Leptin regulation of the mesoaccumbens dopamine pathway. Neuron, 51(6), 811-822

Fusar-Poli, P., Papanastasiou, E., Stahl, D., Rocchetti, M., Carpenter, W., Shergill, S., & McGuire, P. (2014). Treatments of Negative Symptoms in Schizophrenia: Meta-Analysis of 168 Randomized Placebo-Controlled Trials. Schizophr Bull

Gabbott, P. L., Warner, T. A., Jays, P. R., Salway, P., & Busby, S. J. (2005). Prefrontal cortex in the rat: projections to subcortical autonomic, motor, and limbic centers. J Comp Neurol, 492(2), 145-177

Gaebel, W., Janner, M., Frommann, N., Pietzcker, A., Kopcke, W., Linden, M., Muller, P., Muller-Spahn, F., & Tegeler, J. (2000). Prodromal states in schizophrenia. Compr Psychiatry, 41(2 Suppl 1), 76-85

Gamzu, E. (1985). Animal behavioral models in the discovery of compounds to treat memory dysfunction. Ann N Y Acad Sci, 444, 370-393

Gaspar, P., Bloch, B., & Le Moine, C. (1995). D1 and D2 receptor gene expression in the rat frontal cortex: cellular localization in different classes of efferent neurons. Eur J Neurosci, 7(5), 1050-1063

Gebhardt, S., Haberhausen, M., Heinzel-Gutenbrunner, M., Gebhardt, N., Remschmidt, H., Krieg, J. C., Hebebrand, J., & Theisen, F. M. (2009). Antipsychotic-induced body weight gain: predictors and a systematic categorization of the long-term weight course. J Psychiatr Res, 43(6), 620-626

George, M., Amrutheshwar, R., Rajkumar, R. P., Kattimani, S., & Dkhar, S. A. (2013). Newer antipsychotics and upcoming molecules for schizophrenia. Eur J Clin Pharmacol, 69(8), 1497-1509

Gerfen, C. R. (1992). The neostriatal mosaic: multiple levels of compartmental organization in the basal ganglia. Annu Rev Neurosci, 15, 285-320

Gerfen, C. R. (2000). Molecular effects of dopamine on striatal-projection pathways. Trends Neurosci, 23(10 Suppl), S64-70

Gilles, M., Wilke, A., Kopf, D., Nonell, A., Lehnert, H., & Deuschle, M. (2005). Antagonism of the serotonin (5-HT)-2 receptor and insulin sensitivity: implications for atypical antipsychotics. Psychosom Med, 67(5), 748-751

Goff, D. C., Midha, K. K., Brotman, A. W., McCormick, S., Waites, M., & Amico, E. T. (1991). An open trial of buspirone added to neuroleptics in schizophrenic patients. J Clin Psychopharmacol, 11(3), 193-197

Goldman-Rakic, P. S., Castner, S. A., Svensson, T. H., Siever, L. J., & Williams, G. V. (2004). Targeting the dopamine D1 receptor in schizophrenia: insights for cognitive dysfunction. Psychopharmacology (Berl), 174(1), 3-16

Gorzalka, B. B., Hill, M. N., & Sun, J. C. (2005). Functional role of the endocannabinoid system and AMPA/kainate receptors in 5-HT2A receptor-mediated wet dog shakes. Eur J Pharmacol, 516(1), 28-33

Gottesman, II, & Gould, T. D. (2003). The endophenotype concept in psychiatry: etymology and strategic intentions. Am J Psychiatry, 160(4), 636-645

Gould, T. D., & Gottesman, II. (2006). Psychiatric endophenotypes and the development of valid animal models. Genes Brain Behav, 5(2), 113-119

Grauer, S. M., Graf, R., Navarra, R., Sung, A., Logue, S. F., Stack, G., Huselton, C., Liu, Z., Comery, T. A., Marquis, K. L., & Rosenzweig-Lipson, S. (2009). WAY-163909, a 5-HT2C agonist, enhances the preclinical potency of current antipsychotics. Psychopharmacology (Berl), 204(1), 37-48

Green, I. W., & Glausier, J. R. (2015). Different Paths to Core Pathology: The Equifinal Model of the Schizophrenia Syndrome. Schizophr Bull

Grunder, G., Hippius, H., & Carlsson, A. (2009). The 'atypicality' of antipsychotics: a concept re-examined and re-defined. Nat Rev Drug Discov, 8(3), 197-202

Grunder, G., & Wong, D. F. (2003). [The next generation of "atypical" antipsychotics: the role of positron emission tomography]. Fortschr Neurol Psychiatr, 71(8), 415-420

Gurevich, E. V., & Joyce, J. N. (1999). Distribution of dopamine D3 receptor expressing neurons in the human forebrain: comparison with D2 receptor expressing neurons. Neuropsychopharmacology, 20(1), 60-80

Gyertyan, I., Saghy, K., Laszy, J., Elekes, O., Kedves, R., Gemesi, L. I., Pasztor, G., Zajer-Balazs, M., Kapas, M., Agai Csongor, E., Domany, G., Kiss, B., & Szombathelyi, Z. (2008). Subnanomolar dopamine D3 receptor antagonism coupled to moderate D2 affinity results in favourable antipsychotic-like activity in rodent models: II. behavioural characterisation of RG-15. Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol, 378(5), 529-539

Haber, S. N., Fudge, J. L., & McFarland, N. R. (2000). Striatonigrostriatal pathways in primates form an ascending spiral from the shell to the dorsolateral striatum. J Neurosci, 20(6), 2369-2382

Haddad, P. M., Hellewell, J. S., & Wieck, A. (2001). Antipsychotic induced hyperprolactinaemia: a series of illustrative case reports. J Psychopharmacol, 15(4), 293-295

Hall, H., Halldin, C., Dijkstra, D., Wikstrom, H., Wise, L. D., Pugsley, T. A., Sokoloff, P., Pauli, S., Farde, L., & Sedvall, G. (1996). Autoradiographic localisation of D3-dopamine receptors in the human brain using the selective D3-dopamine receptor agonist (+)-[3H]PD 128907. Psychopharmacology (Berl), 128(3), 240-247

He, M., Zhang, Q., Deng, C., Wang, H., Lian, J., & Huang, X. F. (2014). Hypothalamic histamine H1 receptor-AMPK signaling time-dependently mediates olanzapine-induced hyperphagia and weight gain in female rats. Psychoneuroendocrinology, 42, 153-164

Henderson, D. C. (2001). Clozapine: diabetes mellitus, weight gain, and lipid abnormalities. J Clin Psychiatry, 62 Suppl 23, 39-44

Herdegen, T., & Leah, J. D. (1998). Inducible and constitutive transcription factors in the mammalian nervous system: control of gene expression by Jun, Fos and Krox, and CREB/ATF proteins. Brain Res Brain Res Rev, 28(3), 370-490

Hertel, P., Fagerquist, M. V., & Svensson, T. H. (1999). Enhanced cortical dopamine output and antipsychotic-like effects of raclopride by alpha2 adrenoceptor blockade. Science, 286(5437), 105-107

Heydebrand, G., Weiser, M., Rabinowitz, J., Hoff, A. L., DeLisi, L. E., & Csernansky, J. G. (2004). Correlates of cognitive deficits in first episode schizophrenia. Schizophr Res, 68(1), 1-9

Himmerich, H., Minkwitz, J., & Kirkby, K. C. (2015). Weight Gain and Metabolic Changes During Treatment with Antipsychotics and Antidepressants. Endocr Metab Immune Disord Drug Targets, 15(4), 252-260

Holmberg, M., Fagerholm, V., & Scheinin, M. (2003). Regional distribution of alpha(2C)-adrenoceptors in brain and spinal cord of control mice and transgenic mice overexpressing the alpha(2C)-subtype: an autoradiographic study with [(3)H]RX821002 and [(3)H]rauwolscine. Neuroscience, 117(4), 875-898

Homel, P., Casey, D., & Allison, D. B. (2002). Changes in body mass index for individuals with and without schizophrenia, 1987-1996. Schizophr Res, 55(3), 277-284

Hommel, J. D., Trinko, R., Sears, R. M., Georgescu, D., Liu, Z. W., Gao, X. B., Thurmon, J. J., Marinelli, M., & DiLeone, R. J. (2006). Leptin receptor signaling in midbrain dopamine neurons regulates feeding. Neuron, 51(6), 801-810

Hong, C. J., Liou, Y. J., Bai, Y. M., Chen, T. T., Wang, Y. C., & Tsai, S. J. (2010). Dopamine receptor D2 gene is associated with weight gain in schizophrenic patients under long-term atypical antipsychotic treatment. Pharmacogenet Genomics, 20(6), 359-366

Hooks, M. S., & Kalivas, P. W. (1995). The role of mesoaccumbens--pallidal circuitry in novelty-induced behavioral activation. Neuroscience, 64(3), 587-597

Howes, & Kapur. (2009). The dopamine hypothesis of schizophrenia: version III--the final common pathway. Schizophr Bull, 35(3), 549-562

Howes, O., McCutcheon, R., & Stone, J. (2015). Glutamate and dopamine in schizophrenia: an update for the 21st century. J Psychopharmacol, 29(2), 97-115

Howes, O. D., Montgomery, A. J., Asselin, M. C., Murray, R. M., Valli, I., Tabraham, P., Bramon-Bosch, E., Valmaggia, L., Johns, L., Broome, M., McGuire, P. K., & Grasby, P. M. (2009). Elevated striatal dopamine function linked to prodromal signs of schizophrenia. Arch Gen Psychiatry, 66(1), 13-20

Huang, X. F., Han, M., Huang, X., Zavitsanou, K., & Deng, C. (2006). Olanzapine differentially affects 5-HT2Aand2C receptor mRNA expression in the rat brain. Behav Brain Res, 171(2), 355-362

Hughes, A. J., Daniel, S. E., Kilford, L., & Lees, A. J. (1992). Accuracy of clinical diagnosis of idiopathic Parkinson's disease: a clinico-pathological study of 100 cases. J Neurol Neurosurg Psychiatry, 55(3), 181-184

Hwang, J., Lyoo, I. K., Dager, S. R., Friedman, S. D., Oh, J. S., Lee, J. Y., Kim, S. J., Dunner, D. L., & Renshaw, P. F. (2006). Basal ganglia shape alterations in bipolar disorder. Am J Psychiatry, 163(2), 276-285

Ikemoto, S., & Panksepp, J. (1999). The role of nucleus accumbens dopamine in motivated behavior: a unifying interpretation with special reference to reward-seeking. Brain Res Brain Res Rev, 31(1), 6-41

Imaki, J., Mae, Y., Shimizu, S., & Ohno, Y. (2009). Therapeutic potential of alpha2 adrenoceptor antagonism for antipsychotic-induced extrapyramidal motor disorders. Neurosci Lett, 454(2), 143-147

Ince, E., Ciliax, B. J., & Levey, A. I. (1997). Differential expression of D1 and D2 dopamine and m4 muscarinic acetylcholine receptor proteins in identified striatonigral neurons. Synapse, 27(4), 357-366

Irifune, M., Nomoto, M., & Fukuda, T. (1995). Effects of GBR 12909 on locomotor activity and dopamine turnover in mice: comparison with apomorphine. Eur J Pharmacol, 272(1), 79-85

Jantschak, F., Brosda, J., Franke, R. T., Fink, H., Moller, D., Hubner, H., Gmeiner, P., & Pertz, H. H. (2013). Pharmacological profile of 2-bromoterguride at human dopamine D2, porcine serotonin 5-hydroxytryptamine 2A, and alpha2C-adrenergic receptors, and its antipsychotic-like effects in rats. J Pharmacol Exp Ther, 347(1), 57-68

Jin, G. Z., Zhu, Z. T., & Fu, Y. (2002). (-)-Stepholidine: a potential novel antipsychotic drug with dual D1 receptor agonist and D2 receptor antagonist actions. Trends Pharmacol Sci, 23(1), 4-7

Jin, H., Meyer, J. M., Mudaliar, S., & Jeste, D. V. (2008). Impact of atypical antipsychotic therapy on leptin, ghrelin, and adiponectin. Schizophr Res, 100(1-3), 70-85

Joel, D., & Weiner, I. (1994). The organization of the basal ganglia-thalamocortical circuits: open interconnected rather than closed segregated. Neuroscience, 63(2), 363-379

Jones, B. E., Halaris, A. E., McIlhany, M., & Moore, R. Y. (1977). Ascending projections of the locus coeruleus in the rat. I. Axonal transport in central noradrenaline neurons. Brain Res, 127(1), 1-21

Jordan, S., Koprivica, V., Chen, R., Tottori, K., Kikuchi, T., & Altar, C. A. (2002). The antipsychotic aripiprazole is a potent, partial agonist at the human 5-HT1A receptor. Eur J Pharmacol, 441(3), 137-140

Jorgensen, E. A., Vogelsang, T. W., Knigge, U., Watanabe, T., Warberg, J., & Kjaer, A. (2006). Increased susceptibility to diet-induced obesity in histamine-deficient mice. Neuroendocrinology, 83(5-6), 289-294

Joyce, J. N., Loeschen, S. K., & Marshall, J. F. (1985). Dopamine D-2 receptors in rat caudate-putamen: the lateral to medial gradient does not correspond to dopaminergic innervation. Brain Res, 338(2), 209-218

Jurado, J., Fuentes-Almagro, C. A., Prieto-Alamo, M. J., & Pueyo, C. (2007). Alternative splicing of c-fos pre-mRNA: contribution of the rates of synthesis and degradation to the copy number of each transcript isoform and detection of a truncated c-Fos immunoreactive species. BMC Mol Biol, 8, 83

Kahn, R. S., Fleischhacker, W. W., Boter, H., Davidson, M., Vergouwe, Y., Keet, I. P., Gheorghe, M. D., Rybakowski, J. K., Galderisi, S., Libiger, J., Hummer, M., Dollfus, S., Lopez-Ibor, J. J., Hranov, L. G., Gaebel, W., Peuskens, J., Lindefors, N., Riecher-Rossler, A., & Grobbee, D. E. (2008). Effectiveness of antipsychotic drugs in first-episode schizophrenia and schizophreniform disorder: an open randomised clinical trial. Lancet, 371(9618), 1085-1097

Kalinichev, M., Rourke, C., Daniels, A. J., Grizzle, M. K., Britt, C. S., Ignar, D. M., & Jones, D. N. (2005). Characterisation of olanzapine-induced weight gain and effect of aripiprazole vs olanzapine on body weight and prolactin secretion in female rats. Psychopharmacology (Berl), 182(2), 220-231

Kalkman, H. O., & Loetscher, E. (2003). alpha2C-Adrenoceptor blockade by clozapine and other antipsychotic drugs. Eur J Pharmacol, 462(1-3), 33-40

Kametani, H. (1988). Analysis of age-related changes in stress-induced grooming in the rat. Differential behavioral profile of adaptation to stress. Ann N Y Acad Sci, 525, 101-113

Kapur, S. (2003). Psychosis as a state of aberrant salience: a framework linking biology, phenomenology, and pharmacology in schizophrenia. Am J Psychiatry, 160(1), 13-23

Kapur, S., & Seeman, P. (2001). Does fast dissociation from the dopamine d(2) receptor explain the action of atypical antipsychotics?: A new hypothesis. Am J Psychiatry, 158(3), 360-369

Kapur, S., Zipursky, R., Jones, C., Remington, G., & Houle, S. (2000). Relationship between dopamine D(2) occupancy, clinical response, and side effects: a double-blind PET study of first-episode schizophrenia. Am J Psychiatry, 157(4), 514-520

Kapur, S., Zipursky, R. B., & Remington, G. (1999). Clinical and theoretical implications of 5-HT2 and D2 receptor occupancy of clozapine, risperidone, and olanzapine in schizophrenia. Am J Psychiatry, 156(2), 286-293

Karl, T., & Arnold, J. C. (2014). Schizophrenia: a consequence of gene-environment interactions? Front Behav Neurosci, 8, 435

Kawakami, Y., Kitamura, Y., Araki, H., Kitagawa, K., Suemaru, K., Shibata, K., & Gomita, Y. (2005). Effects of monoamine reuptake inhibitors on wet-dog shakes mediated by 5-HT2A receptors in ACTH-treated rats. Pharmacol Biochem Behav, 81(1), 65-70

Kebabian, J. W., & Calne, D. B. (1979). Multiple receptors for dopamine. Nature, 277(5692), 93-96

Kelly, P. H., & Iversen, S. D. (1976). Selective 6OHDA-induced destruction of mesolimbic dopamine neurons: abolition of psychostimulant-induced locomotor activity in rats. Eur J Pharmacol, 40(1), 45-56

Kenakin, T. (2009). Quantifying biological activity in chemical terms: a pharmacology primer to describe drug effect. ACS Chem Biol, 4(4), 249-260

Kim, B. J., Sohn, J. W., Park, C. S., Hahn, G. H., Koo, J., Noh, Y. D., & Lee, C. S. (2008). Body weight and plasma levels of ghrelin and leptin during treatment with olanzapine. J Korean Med Sci, 23(4), 685-690

Kim, S. F., Huang, A. S., Snowman, A. M., Teuscher, C., & Snyder, S. H. (2007). From the Cover: Antipsychotic drug-induced weight gain mediated by histamine H1 receptor-linked activation of hypothalamic AMP-kinase. Proc Natl Acad Sci U S A, 104(9), 3456-3459

Kirk, S. L., Glazebrook, J., Grayson, B., Neill, J. C., & Reynolds, G. P. (2009). Olanzapine-induced weight gain in the rat: role of 5-HT2C and histamine H1 receptors. Psychopharmacology (Berl), 207(1), 119-125

Kiss, A., Bundzikova, J., Pirnik, Z., & Mikkelsen, J. D. (2010). Different antipsychotics elicit different effects on magnocellular oxytocinergic and vasopressinergic neurons as revealed by Fos immunohistochemistry. J Neurosci Res, 88(3), 677-685

Kiss, B., Horvath, A., Nemethy, Z., Schmidt, E., Laszlovszky, I., Bugovics, G., Fazekas, K., Hornok, K., Orosz, S., Gyertyan, I., Agai-Csongor, E., Domany, G., Tihanyi, K., Adham, N., & Szombathelyi, Z. (2010). Cariprazine (RGH-188), a dopamine D(3) receptor-preferring, D(3)/D(2) dopamine receptor antagonist-partial agonist antipsychotic candidate: in vitro and neurochemical profile. J Pharmacol Exp Ther, 333(1), 328-340

Kluge, M., Schuld, A., Himmerich, H., Dalal, M., Schacht, A., Wehmeier, P. M., Hinze-Selch, D., Kraus, T., Dittmann, R. W., & Pollmacher, T. (2007). Clozapine and olanzapine are associated with food craving and binge eating: results from a randomized double-blind study. J Clin Psychopharmacol, 27(6), 662-666

Koch, M. (1999). The neurobiology of startle. Prog Neurobiol, 59(2), 107-128

Koch, M. (2006). Animal models of neuropsychiatric diseases. London: Imperial College Press.

Koch, M., Pilz, P. K. D., & Schnitzler, H. U. (1998). Mechanismen sensomotorischer Integration bei Säugetieren: Die Schreckreaktion der Ratte als Modell. Neuroforum, 4, 260-266

Kohnomi, S., Suemaru, K., Kawasaki, H., & Araki, H. (2008). Effect of aripiprazole on 5-HT2 receptor-mediated wet-dog shake responses and disruption of prepulse inhibition in rats. J Pharmacol Sci, 106(4), 645-650

Krause, W., & Humpel, M. (1988). Pharmacokinetics of the dopamine partial agonist, terguride, in the rat and rhesus monkey. Eur J Drug Metab Pharmacokinet, 13(3), 185-194

Krause, W., Trager, H., Kuhne, G., Sauerbrey, N., Graf, K. J., & Dorow, R. (1990). Pharmacokinetics and endocrine effects of terguride in healthy subjects. Eur J Clin Pharmacol, 38(6), 609-615

Kreitzer, A. C. (2009). Physiology and pharmacology of striatal neurons. Annu Rev Neurosci, 32, 127-147

Kroeze, W. K., Hufeisen, S. J., Popadak, B. A., Renock, S. M., Steinberg, S., Ernsberger, P., Jayathilake, K., Meltzer, H. Y., & Roth, B. L. (2003). H1-histamine receptor affinity predicts short-term weight gain for typical and atypical antipsychotic drugs. Neuropsychopharmacology, 28(3), 519-526

Lahti, R. A., Evans, D. L., Stratman, N. C., & Figur, L. M. (1993). Dopamine D4 versus D2 receptor selectivity of dopamine receptor antagonists: possible therapeutic implications. Eur J Pharmacol, 236(3), 483-486

Lawler, C. P., Prioleau, C., Lewis, M. M., Mak, C., Jiang, D., Schetz, J. A., Gonzalez, A. M., Sibley, D. R., & Mailman, R. B. (1999). Interactions of the novel antipsychotic aripiprazole (OPC-14597) with dopamine and serotonin receptor subtypes. Neuropsychopharmacology, 20(6), 612-627

Lecklin, A., Etu-Seppala, P., Stark, H., & Tuomisto, L. (1998). Effects of intracerebroventricularly infused histamine and selective H1, H2 and H3 agonists on food and water intake and urine flow in Wistar rats. Brain Res, 793(1-2), 279-288

Lehmann, J., Smith, R. V., & Langer, S. Z. (1983). Stereoisomers of apomorphine differ in affinity and intrinsic activity at presynaptic dopamine receptors modulating [3H]dopamine and [3H]acetylcholine release in slices of cat caudate. Eur J Pharmacol, 88(1), 81-88

Lencz, T., Robinson, D. G., Napolitano, B., Sevy, S., Kane, J. M., Goldman, D., & Malhotra, A. K. (2010). DRD2 promoter region variation predicts antipsychotic-induced weight gain in first episode schizophrenia. Pharmacogenet Genomics, 20(9), 569-572

Lerer, B., Segman, R. H., Fangerau, H., Daly, A. K., Basile, V. S., Cavallaro, R., Aschauer, H. N., McCreadie, R. G., Ohlraun, S., Ferrier, N., Masellis, M., Verga, M., Scharfetter, J., Rietschel, M., Lovlie, R., Levy, U. H., Meltzer, H. Y., Kennedy, J. L., Steen, V. M., & Macciardi, F. (2002). Pharmacogenetics of tardive dyskinesia: combined analysis of 780 patients supports association with dopamine D3 receptor gene Ser9Gly polymorphism. Neuropsychopharmacology, 27(1), 105-119

Leucht, S., Cipriani, A., Spineli, L., Mavridis, D., Orey, D., Richter, F., Samara, M., Barbui, C., Engel, R. R., Geddes, J. R., Kissling, W., Stapf, M. P., Lassig, B., Salanti, G., & Davis, J. M. (2013). Comparative efficacy and tolerability of 15 antipsychotic drugs in schizophrenia: a multiple-treatments meta-analysis. Lancet, 382(9896), 951-962

Levine, S. Z., Lurie, I., Kohn, R., & Levav, I. (2011). Trajectories of the course of schizophrenia: from progressive deterioration to amelioration over three decades. Schizophr Res, 126(1-3), 184-191

Li, M., He, W., & Munro, R. (2008). Amphetamine selectively enhances avoidance responding to a less salient stimulus in rats. J Neural Transm, 115(5), 773-776

Li, M., Parkes, J., Fletcher, P. J., & Kapur, S. (2004). Evaluation of the motor initiation hypothesis of APD-induced conditioned avoidance decreases. Pharmacol Biochem Behav, 78(4), 811-819

Li, M. L., Hu, X. Q., Li, F., & Gao, W. J. (2015). Perspectives on the mGluR2/3 agonists as a therapeutic target for schizophrenia: Still promising or a dead end? Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry, 60, 66-76

Lidow, M. S., Elsworth, J. D., & Goldman-Rakic, P. S. (1997). Down-regulation of the D1 and D5 dopamine receptors in the primate prefrontal cortex by chronic treatment with antipsychotic drugs. J Pharmacol Exp Ther, 281(1), 597-603

Lieberman, J. A., & Stroup, T. S. (2011). The NIMH-CATIE Schizophrenia Study: what did we learn? Am J Psychiatry, 168(8), 770-775

Lieberman, J. A., Stroup, T. S., McEvoy, J. P., Swartz, M. S., Rosenheck, R. A., Perkins, D. O., Keefe, R. S., Davis, S. M., Davis, C. E., Lebowitz, B. D., Severe, J., & Hsiao, J. K. (2005). Effectiveness of antipsychotic drugs in patients with chronic schizophrenia. N Engl J Med, 353(12), 1209-1223

Linner, L., Wiker, C., Wadenberg, M. L., Schalling, M., & Svensson, T. H. (2002). Noradrenaline reuptake inhibition enhances the antipsychotic-like effect of raclopride and potentiates D2-blockage-induced dopamine release in the medial prefrontal cortex of the rat. Neuropsychopharmacology, 27(5), 691-698

Liu, F., Grauer, S., Kelley, C., Navarra, R., Graf, R., Zhang, G., Atkinson, P. J., Popiolek, M., Wantuch, C., Khawaja, X., Smith, D., Olsen, M., Kouranova, E., Lai, M., Pruthi, F., Pulicicchio, C., Day, M., Gilbert, A., Pausch, M. H., Brandon, N. J., Beyer, C. E., Comery, T. A., Logue, S., Rosenzweig-Lipson, S., & Marquis, K. L. (2008). ADX47273 [S-(4-fluoro-phenyl)-{3-[3-(4-fluoro-phenyl)-[1,2,4]-oxadiazol-5-yl]-piperidin-1- yl}-methanone]: a novel metabotropic glutamate receptor 5-selective positive allosteric modulator with preclinical antipsychotic-like and procognitive activities. J Pharmacol Exp Ther, 327(3), 827-839

Lovlie, R., Thara, R., Padmavathi, R., Steen, V. M., & McCreadie, R. G. (2001). Ser9Gly dopamine D3 receptor polymorphism and spontaneous dyskinesia in never-medicated schizophrenic patients. Mol Psychiatry, 6(1), 6-7

Lubow, R. E. (2005). Construct validity of the animal latent inhibition model of selective attention deficits in schizophrenia. Schizophr Bull, 31(1), 139-153

Maeda, K., Sugino, H., Akazawa, H., Amada, N., Shimada, J., Futamura, T., Yamashita, H., Ito, N., McQuade, R. D., Mork, A., Pehrson, A. L., Hentzer, M., Nielsen, V., Bundgaard, C., Arnt, J., Stensbol, T. B., & Kikuchi, T. (2014). Brexpiprazole I: in vitro and in vivo characterization of a novel serotonin-dopamine activity modulator. J Pharmacol Exp Ther, 350(3), 589-604

Mailman, R. B. (2007). GPCR functional selectivity has therapeutic impact. Trends Pharmacol Sci, 28(8), 390-396

Mailman, R. B., & Murthy, V. (2010). Third generation antipsychotic drugs: partial agonism or receptor functional selectivity? Curr Pharm Des, 16(5), 488-501

Manoach, D. S., Gollub, R. L., Benson, E. S., Searl, M. M., Goff, D. C., Halpern, E., Saper, C. B., & Rauch, S. L. (2000). Schizophrenic subjects show aberrant fMRI activation of dorsolateral prefrontal cortex and basal ganglia during working memory performance. Biol Psychiatry, 48(2), 99-109

Marcus, M. M., Wiker, C., Franberg, O., Konradsson-Geuken, A., Langlois, X., Jardemark, K., & Svensson, T. H. (2010). Adjunctive alpha2-adrenoceptor blockade enhances the antipsychotic-like effect of risperidone and facilitates cortical dopaminergic and glutamatergic, NMDA receptor-mediated transmission. Int J Neuropsychopharmacol, 13(7), 891-903

Marinissen, M. J., & Gutkind, J. S. (2001). G-protein-coupled receptors and signaling networks: emerging paradigms. Trends Pharmacol Sci, 22(7), 368-376

Marquis, K. L., Sabb, A. L., Logue, S. F., Brennan, J. A., Piesla, M. J., Comery, T. A., Grauer, S. M., Ashby, C. R., Jr., Nguyen, H. Q., Dawson, L. A., Barrett, J. E., Stack, G., Meltzer, H. Y., Harrison, B. L., & Rosenzweig-Lipson, S. (2007). WAY-163909 [(7bR,10aR)-1,2,3,4,8,9,10,10a-octahydro-7bH-cyclopenta-[b][1,4]diazepino[6,7,1hi]indole]: A novel 5-hydroxytryptamine 2C receptor-selective agonist with preclinical antipsychotic-like activity. J Pharmacol Exp Ther, 320(1), 486-496

Masaki, T., Chiba, S., Yasuda, T., Noguchi, H., Kakuma, T., Watanabe, T., Sakata, T., & Yoshimatsu, H. (2004). Involvement of hypothalamic histamine H1 receptor in the regulation of feeding rhythm and obesity. Diabetes, 53(9), 2250-2260

Masaki, T., Yoshimatsu, H., Chiba, S., Watanabe, T., & Sakata, T. (2001a). Central infusion of histamine reduces fat accumulation and upregulates UCP family in leptin-resistant obese mice. Diabetes, 50(2), 376-384

Masaki, T., Yoshimatsu, H., Chiba, S., Watanabe, T., & Sakata, T. (2001b). Targeted disruption of histamine H1-receptor attenuates regulatory effects of leptin on feeding, adiposity, and UCP family in mice. Diabetes, 50(2), 385-391

Mathe, J. M., Fagerquist, M. V., & Svensson, T. H. (1999). Antipsychotic-like effect of the AMPA receptor antagonist LY326325 as indicated by suppression of conditioned avoidance response in the rat. J Neural Transm (Vienna), 106(9-10), 1003-1009

McDonald, C., & Murray, R. M. (2000). Early and late environmental risk factors for schizophrenia. Brain Res Brain Res Rev, 31(2-3), 130-137

McEvoy, J. P., Lieberman, J. A., Perkins, D. O., Hamer, R. M., Gu, H., Lazarus, A., Sweitzer, D., Olexy, C., Weiden, P., & Strakowski, S. D. (2007). Efficacy and tolerability of olanzapine, quetiapine, and risperidone in the treatment of early psychosis: a randomized, double-blind 52-week comparison. Am J Psychiatry, 164(7), 1050-1060

McGrath, J. J. (2006). Variations in the incidence of schizophrenia: data versus dogma. Schizophr Bull, 32(1), 195-197

McIntyre, R. S., & Jerrell, J. M. (2008). Metabolic and cardiovascular adverse events associated with antipsychotic treatment in children and adolescents. Arch Pediatr Adolesc Med, 162(10), 929-935

McIntyre, R. S., Mancini, D. A., Basile, V. S., Srinivasan, J., & Kennedy, S. H. (2003). Antipsychotic-induced weight gain: bipolar disorder and leptin. J Clin Psychopharmacol, 23(4), 323-327

Meltzer, H. Y. (1989). Clinical studies on the mechanism of action of clozapine: the dopamine-serotonin hypothesis of schizophrenia. Psychopharmacology (Berl), 99 Suppl, S18-27

Meltzer, H. Y., & Huang, M. (2008). In vivo actions of atypical antipsychotic drug on serotonergic and dopaminergic systems. Prog Brain Res, 172, 177-197

Meltzer, H. Y., Massey, B. W., & Horiguchi, M. (2012). Serotonin receptors as targets for drugs useful to treat psychosis and cognitive impairment in schizophrenia. Curr Pharm Biotechnol, 13(8), 1572-1586

Meltzer, H. Y., Matsubara, S., & Lee, J. C. (1989). Classification of typical and atypical antipsychotic drugs on the basis of dopamine D-1, D-2 and serotonin2 pKi values. J Pharmacol Exp Ther, 251(1), 238-246

Meyer, U., & Feldon, J. (2010). Epidemiology-driven neurodevelopmental animal models of schizophrenia. Prog Neurobiol, 90(3), 285-326

Middleton, F. A., & Strick, P. L. (2000). Basal ganglia output and cognition: evidence from anatomical, behavioral, and clinical studies. Brain Cogn, 42(2), 183-200

Mittal, V. A., Walker, E. F., Bearden, C. E., Walder, D., Trottman, H., Daley, M., Simone, A., & Cannon, T. D. (2010). Markers of basal ganglia dysfunction and conversion to psychosis: neurocognitive deficits and dyskinesias in the prodromal period. Biol Psychiatry, 68(1), 93-99

Mocci, G., Jimenez-Sanchez, L., Adell, A., Cortes, R., & Artigas, F. (2014). Expression of 5-HT2A receptors in prefrontal cortex pyramidal neurons projecting to nucleus accumbens. Potential relevance for atypical antipsychotic action. Neuropharmacology, 79, 49-58

Mogenson, G. J., Jones, D. L., & Yim, C. Y. (1980). From motivation to action: functional interface between the limbic system and the motor system. Prog Neurobiol, 14(2-3), 69-97

Moghaddam, B., & Javitt, D. (2012). From revolution to evolution: the glutamate hypothesis of schizophrenia and its implication for treatment. Neuropsychopharmacology, 37(1), 4-15

Moller, H. J. (2003). Amisulpride: limbic specificity and the mechanism of antipsychotic atypicality. Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry, 27(7), 1101-1111

Morrison, J. H., Molliver, M. E., Grzanna, R., & Coyle, J. T. (1981). The intra-cortical trajectory of the coeruleo-cortical projection in the rat: a tangentially organized cortical afferent. Neuroscience, 6(2), 139-158

Moutoussis, M., Williams, J., Dayan, P., & Bentall, R. P. (2007). Persecutory delusions and the conditioned avoidance paradigm: towards an integration of the psychology and biology of paranoia. Cogn Neuropsychiatry, 12(6), 495-510

Natesan, S., Reckless, G. E., Barlow, K. B., Nobrega, J. N., & Kapur, S. (2008). Amisulpride the 'atypical' atypical antipsychotic--comparison to haloperidol, risperidone and clozapine. Schizophr Res, 105(1-3), 224-235

Natesan, S., Reckless, G. E., Barlow, K. B., Nobrega, J. N., & Kapur, S. (2011). Partial agonists in schizophrenia--why some work and others do not: insights from preclinical animal models. Int J Neuropsychopharmacol, 14(9), 1165-1178

Natesan, S., Reckless, G. E., Barlow, K. B., Odontiadis, J., Nobrega, J. N., Baker, G. B., George, S. R., Mamo, D., & Kapur, S. (2008). The antipsychotic potential of l-stepholidine--a naturally occurring dopamine receptor D1 agonist and D2 antagonist. Psychopharmacology (Berl), 199(2), 275-289

Natesan, S., Reckless, G. E., Nobrega, J. N., Fletcher, P. J., & Kapur, S. (2006). Dissociation between in vivo occupancy and functional antagonism of dopamine D2 receptors: comparing aripiprazole to other antipsychotics in animal models. Neuropsychopharmacology, 31(9), 1854-1863

Neill, J. C., Barnes, S., Cook, S., Grayson, B., Idris, N. F., McLean, S. L., Snigdha, S., Rajagopal, L., & Harte, M. K. (2010). Animal models of cognitive dysfunction and negative symptoms of schizophrenia: focus on NMDA receptor antagonism. Pharmacol Ther, 128(3), 419-432

Neill, J. C., Grayson, B., Marsh, S., Harte, M. K., & Large, C. (2013). A novel Kv3 ion channel modulator restores cognitive function in an animal model of cognitive impairment in schizophrenia. Congress of the European College of Neuropsychopharmacology (2013), Poster presentation (P.3.e.001)

Nguyen, T. V., Kosofsky, B. E., Birnbaum, R., Cohen, B. M., & Hyman, S. E. (1992). Differential expression of c-fos and zif268 in rat striatum after haloperidol, clozapine, and amphetamine. Proc Natl Acad Sci U S A, 89(10), 4270-4274

Nicholas, A. P., Hokfelt, T., & Pieribone, V. A. (1996). The distribution and significance of CNS adrenoceptors examined with in situ hybridization. Trends Pharmacol Sci, 17(7), 245-255

Nicola, S. M., Surmeier, J., & Malenka, R. C. (2000). Dopaminergic modulation of neuronal excitability in the striatum and nucleus accumbens. Annu Rev Neurosci, 23, 185-215

Ninan, I., & Kulkarni, S. K. (1999). Preferential inhibition of dizocilpine-induced hyperlocomotion by olanzapine. Eur J Pharmacol, 368(1), 1-7

Nonogaki, K., Strack, A. M., Dallman, M. F., & Tecott, L. H. (1998). Leptin-independent hyperphagia and type 2 diabetes in mice with a mutated serotonin 5-HT2C receptor gene. Nat Med, 4(10), 1152-1156

Nordquist, R. E., Risterucci, C., Moreau, J. L., von Kienlin, M., Kunnecke, B., Maco, M., Freichel, C., Riemer, C., & Spooren, W. (2008). Effects of aripiprazole/OPC-14597 on motor activity, pharmacological models of psychosis, and brain activity in rats. Neuropharmacology, 54(2), 405-416

Nowakowska, E., Chodera, A., & Kus, K. (1999). Influence of olanzapine on cognitive functions and catalepsy in rats after single and chronic administration. Pol J Pharmacol, 51(4), 295-300

Olbrich, R., & Schanz, H. (1988). The effect of the partial dopamine agonist terguride on negative symptoms in schizophrenics. Pharmacopsychiatry, 21(6), 389-390

Olbrich, R., & Schanz, H. (1991). An evaluation of the partial dopamine agonist terguride regarding positive symptoms reduction in schizophrenics. J Neural Transm Gen Sect, 84(3), 233-236

O'Neill, M. F., & Shaw, G. (1999). Comparison of dopamine receptor antagonists on hyperlocomotion induced by cocaine, amphetamine, MK-801 and the dopamine D1 agonist C-APB in mice. Psychopharmacology (Berl), 145(3), 237-250

Pai, N., Deng, C., Vella, S. L., Castle, D., & Huang, X. F. (2012). Are there different neural mechanisms responsible for three stages of weight gain development in anti-psychotic therapy: temporally based hypothesis. Asian J Psychiatr, 5(4), 315-318

Park, J. I., Zhao, T., Huang, G. B., Sui, Z. Y., Li, C. R., Han, E. H., & Chung, Y. C. (2011). Effects of Aripiprazole and Haloperidol on Fos-like Immunoreactivity in the Prefrontal Cortex and Amygdala. Clin Psychopharmacol Neurosci, 9(1), 36-43

Patil, S. T., Zhang, L., Martenyi, F., Lowe, S. L., Jackson, K. A., Andreev, B. V., Avedisova, A. S., Bardenstein, L. M., Gurovich, I. Y., Morozova, M. A., Mosolov, S. N., Neznanov, N. G., Reznik, A. M., Smulevich, A. B., Tochilov, V. A., Johnson, B. G., Monn, J. A., & Schoepp, D. D. (2007). Activation of mGlu2/3 receptors as a new approach to treat schizophrenia: a randomized Phase 2 clinical trial. Nat Med, 13(9), 1102-1107

Pavlov, I. P. (1927). Conditioned reflexes: an investigation of the physiological activity of the cerebral cortex. . London: Oxford University Press.

Pazos, A., & Palacios, J. M. (1985). Quantitative autoradiographic mapping of serotonin receptors in the rat brain. I. Serotonin-1 receptors. Brain Res, 346(2), 205-230

Perrault, G., Depoortere, R., Morel, E., Sanger, D. J., & Scatton, B. (1997). Psychopharmacological profile of amisulpride: an antipsychotic drug with presynaptic D2/D3 dopamine receptor antagonist activity and limbic selectivity. J Pharmacol Exp Ther, 280(1), 73-82

Pertz, H., & Eich, E. (1999). Ergot alkaloids and their derivatives as ligands for serotoninergic, dopaminergic, and adrenergic receptors. In V. Křen & L. Cvak (Eds.), Ergot The Genus Claviceps (pp. 411–440). Amsterdam, the Netherlands: Harwood academic publishers.

Petty, R. G. (1999). Prolactin and antipsychotic medications: mechanism of action. Schizophr Res, 35 Suppl, S67-73

Pijnenburg, A. J., Honig, W. M., & Van Rossum, J. M. (1975). Inhibition of d-amphetamine-induced locomotor activity by injection of haloperidol into the nucleus accumbens of the rat. Psychopharmacologia, 41(2), 87-95

Pompeiano, M., Palacios, J. M., & Mengod, G. (1992). Distribution and cellular localization of mRNA coding for 5-HT1A receptor in the rat brain: correlation with receptor binding. J Neurosci, 12(2), 440-453

Pompeiano, M., Palacios, J. M., & Mengod, G. (1994). Distribution of the serotonin 5-HT2 receptor family mRNAs: comparison between 5-HT2A and 5-HT2C receptors. Brain Res Mol Brain Res, 23(1-2), 163-178

Porsolt, R. D., Moser, P. C., & Castagne, V. (2010). Behavioral indices in antipsychotic drug discovery. J Pharmacol Exp Ther, 333(3), 632-638

Pratt, J., Winchester, C., Dawson, N., & Morris, B. (2012). Advancing schizophrenia drug discovery: optimizing rodent models to bridge the translational gap. Nat Rev Drug Discov, 11(7), 560-579

Prut, L., & Belzung, C. (2003). The open field as a paradigm to measure the effects of drugs on anxiety-like behaviors: a review. Eur J Pharmacol, 463(1-3), 3-33

Puig, M. V., Artigas, F., & Celada, P. (2005). Modulation of the activity of pyramidal neurons in rat prefrontal cortex by raphe stimulation in vivo: involvement of serotonin and GABA. Cereb Cortex, 15(1), 1-14

Rabinowitz, J., Levine, S. Z., Garibaldi, G., Bugarski-Kirola, D., Berardo, C. G., & Kapur, S. (2012). Negative symptoms have greater impact on functioning than positive symptoms in schizophrenia: analysis of CATIE data. Schizophr Res, 137(1-3), 147-150

Rajkumar, R., See, L. K., & Dawe, G. S. (2013). Acute antipsychotic treatments induce distinct c-Fos expression patterns in appetite-related neuronal structures of the rat brain. Brain Res, 1508, 34-43

Reininghaus, U., Dutta, R., Dazzan, P., Doody, G. A., Fearon, P., Lappin, J., Heslin, M., Onyejiaka, A., Donoghue, K., Lomas, B., Kirkbride, J. B., Murray, R. M., Croudace, T., Morgan, C., & Jones, P. B. (2015). Mortality in schizophrenia and other psychoses: a 10-year follow-up of the SOP first-episode cohort. Schizophr Bull, 41(3), 664-673

Reymond, M. J., & Porter, J. C. (1985). Involvement of hypothalamic dopamine in the regulation of prolactin secretion. Horm Res, 22(3), 142-152

Ring, H. A., & Serra-Mestres, J. (2002). Neuropsychiatry of the basal ganglia. J Neurol Neurosurg Psychiatry, 72(1), 12-21

Robertson, A., & MacDonald, C. (1984). Atypical neuroleptics clozapine and thioridazine enhance amphetamine-induced stereotypy. Pharmacol Biochem Behav, 21(1), 97-101

Robertson, A., & MacDonald, C. (1985). Opposite effects of sulpiride and metoclopramide on amphetamine-induced stereotypy. Eur J Pharmacol, 109(1), 81-89

Robertson, G. S., & Fibiger, H. C. (1992). Neuroleptics increase c-fos expression in the forebrain: contrasting effects of haloperidol and clozapine. Neuroscience, 46(2), 315-328

Robertson, G. S., Matsumura, H., & Fibiger, H. C. (1994). Induction patterns of Fos-like immunoreactivity in the forebrain as predictors of atypical antipsychotic activity. J Pharmacol Exp Ther, 271(2), 1058-1066

Rorick-Kehn, L. M., Johnson, B. G., Knitowski, K. M., Salhoff, C. R., Witkin, J. M., Perry, K. W., Griffey, K. I., Tizzano, J. P., Monn, J. A., McKinzie, D. L., & Schoepp, D. D. (2007). In vivo pharmacological characterization of the structurally novel, potent, selective mGlu2/3 receptor agonist LY404039 in animal models of psychiatric disorders. Psychopharmacology (Berl), 193(1), 121-136

Rosenbaum, D. M., Rasmussen, S. G., & Kobilka, B. K. (2009). The structure and function of G-protein-coupled receptors. Nature, 459(7245), 356-363

Roth, B. L., Sheffler, D. J., & Kroeze, W. K. (2004). Magic shotguns versus magic bullets: selectively non-selective drugs for mood disorders and schizophrenia. Nat Rev Drug Discov, 3(4), 353-359

Roth, R. H. (1979). Dopamine Autoreceptors - Pharmacology, Function and Comparison with Post-Synaptic Dopamine-Receptors. Communications in Psychopharmacology, 3(6), 429-445

Rouge-Pont, F., Usiello, A., Benoit-Marand, M., Gonon, F., Piazza, P. V., & Borrelli, E. (2002). Changes in extracellular dopamine induced by morphine and cocaine: crucial control by D2 receptors. J Neurosci, 22(8), 3293-3301

Rung, J. P., Rung, E., Helgeson, L., Johansson, A. M., Svensson, K., Carlsson, A., & Carlsson, M. L. (2008). Effects of (-)-OSU6162 and ACR16 on motor activity in rats, indicating a unique mechanism of dopaminergic stabilization. J Neural Transm (Vienna), 115(6), 899-908

Sakata, T., Fukagawa, K., Ookuma, K., Fujimoto, K., Yoshimatsu, H., Yamatodani, A., & Wada, H. (1990). Hypothalamic neuronal histamine modulates ad libitum feeding by rats. Brain Res, 537(1-2), 303-306

Salamone, J. D., Cousins, M. S., & Snyder, B. J. (1997). Behavioral functions of nucleus accumbens dopamine: empirical and conceptual problems with the anhedonia hypothesis. Neurosci Biobehav Rev, 21(3), 341-359

Samii, A., Nutt, J. G., & Ransom, B. R. (2004). Parkinson's disease. Lancet, 363(9423), 1783-1793

Sanna, F., Succu, S., Melis, M. R., & Argiolas, A. (2012). Dopamine agonist-induced penile erection and yawning: differential role of D(2)-like receptor subtypes and correlation with nitric oxide production in the paraventricular nucleus of the hypothalamus of male rats. Behav Brain Res, 230(2), 355-364

Santana, N., Bortolozzi, A., Serrats, J., Mengod, G., & Artigas, F. (2004). Expression of serotonin1A and serotonin2A receptors in pyramidal and GABAergic neurons of the rat prefrontal cortex. Cereb Cortex, 14(10), 1100-1109

Sarkar, D. K., Gottschall, P. E., & Meites, J. (1982). Damage to hypothalamic dopaminergic neurons is associated with development of prolactin-secreting pituitary tumors. Science, 218(4573), 684-686

Scharfetter, J., Chaudhry, H. R., Hornik, K., Fuchs, K., Sieghart, W., Kasper, S., & Aschauer, H. N. (1999). Dopamine D3 receptor gene polymorphism and response to clozapine in schizophrenic Pakastani patients. Eur Neuropsychopharmacol, 10(1), 17-20

Scheinin, M., Lomasney, J. W., Hayden-Hixson, D. M., Schambra, U. B., Caron, M. G., Lefkowitz, R. J., & Fremeau, R. T., Jr. (1994). Distribution of alpha 2-adrenergic receptor subtype gene expression in rat brain. Brain Res Mol Brain Res, 21(1-2), 133-149

Schmidt, W. J. (2000a). Zur Verhaltensbiologie der Parkinson-Krankheit. Neuroforum 3, 229-234

Schmidt, W. J. (2000b). Zur Verhaltensbiologie der Parkinson-Krankheit In: Neuroforum 3 (pp. 229-234).

Schmidt, W. J., & Kretschmer, B. D. (1997). Behavioural pharmacology of glutamate receptors in the basal ganglia. Neurosci Biobehav Rev, 21(4), 381-392

Schmitz, Y., Schmauss, C., & Sulzer, D. (2002). Altered dopamine release and uptake kinetics in mice lacking D2 receptors. J Neurosci, 22(18), 8002-8009

Schoemaker, H., Claustre, Y., Fage, D., Rouquier, L., Chergui, K., Curet, O., Oblin, A., Gonon, F., Carter, C., Benavides, J., & Scatton, B. (1997). Neurochemical characteristics of amisulpride, an atypical dopamine D2/D3 receptor antagonist with both presynaptic and limbic selectivity. J Pharmacol Exp Ther, 280(1), 83-97

Schwartz, J. C., Diaz, J., Pilon, C., & Sokoloff, P. (2000). Possible implications of the dopamine D(3) receptor in schizophrenia and in antipsychotic drug actions. Brain Res Brain Res Rev, 31(2-3), 277-287

Sellings, L. H., & Clarke, P. B. (2003). Segregation of amphetamine reward and locomotor stimulation between nucleus accumbens medial shell and core. J Neurosci, 23(15), 6295-6303

Semba, J., Sakai, M., Miyoshi, R., Mataga, N., Fukamauchi, F., & Kito, S. (1996). Differential expression of c-fos mRNA in rat prefrontal cortex, striatum, N. accumbens and lateral septum after typical and atypical antipsychotics: an in situ hybridization study. Neurochem Int, 29(4), 435-442

Semba, J., Watanabe, A., Kito, S., & Toru, M. (1995). Behavioural and neurochemical effects of OPC-14597, a novel antipsychotic drug, on dopaminergic mechanisms in rat brain. Neuropharmacology, 34(7), 785-791

Sentissi, O., Grouselle, D., Viala, A., Bourdel, M. C., Olie, J. P., Epelbaum, J., & Poirier, M. F. (2009). Ghrelin and leptin levels in schizophrenic patients treated with antipsychotic monotherapy. J Clin Psychopharmacol, 29(3), 304-306

Sentissi, O., Epelbaum, J., Olie, J. P., & Poirier, M. F. (2008). Leptin and ghrelin levels in patients with schizophrenia during different antipsychotics treatment: a review. Schizophr Bull, 34(6), 1189-1199

Sesack, S. R., Deutch, A. Y., Roth, R. H., & Bunney, B. S. (1989). Topographical organization of the efferent projections of the medial prefrontal cortex in the rat: an anterograde tract-tracing study with Phaseolus vulgaris leucoagglutinin. J Comp Neurol, 290(2), 213-242

Setler, P., Sarau, H., & McKenzie, G. (1976). Differential attenuation of some effects of haloperidol in rats given scopolamine. Eur J Pharmacol, 39(1), 117-126

Shaikh, S., Collier, D. A., Sham, P. C., Ball, D., Aitchison, K., Vallada, H., Smith, I., Gill, M., & Kerwin, R. W. (1996). Allelic association between a Ser-9-Gly polymorphism in the dopamine D3 receptor gene and schizophrenia. Hum Genet, 97(6), 714-719

Shapiro, D. A., Renock, S., Arrington, E., Chiodo, L. A., Liu, L. X., Sibley, D. R., Roth, B. L., & Mailman, R. (2003). Aripiprazole, a novel atypical antipsychotic drug with a unique and robust pharmacology. Neuropsychopharmacology, 28(8), 1400-1411

Sharp, T., Zetterstrom, T., Ljungberg, T., & Ungerstedt, U. (1987). A direct comparison of amphetamine-induced behaviours and regional brain dopamine release in the rat using intracerebral dialysis. Brain Res, 401(2), 322-330

Sheng, M., & Greenberg, M. E. (1990). The regulation and function of c-fos and other immediate early genes in the nervous system. Neuron, 4(4), 477-485

Shorter, K. R., & Miller, B. H. (2015). Epigenetic mechanisms in schizophrenia. Prog Biophys Mol Biol, 118(1-2), 1-7

Simon, V., van Winkel, R., & De Hert, M. (2009). Are weight gain and metabolic side effects of atypical antipsychotics dose dependent? A literature review. J Clin Psychiatry, 70(7), 1041-1050

Siuciak, J. A., Chapin, D. S., McCarthy, S. A., Guanowsky, V., Brown, J., Chiang, P., Marala, R., Patterson, T., Seymour, P. A., Swick, A., & Iredale, P. A. (2007a). CP-809,101, a selective 5-HT2C agonist, shows activity in animal models of antipsychotic activity. Neuropharmacology, 52(2), 279-290

Siuciak, J. A., Chapin, D. S., McCarthy, S. A., & Martin, A. N. (2007b). Antipsychotic profile of rolipram: efficacy in rats and reduced sensitivity in mice deficient in the phosphodiesterase-4B (PDE4B) enzyme. Psychopharmacology (Berl), 192(3), 415-424

Siuciak, J. A., Chapin, D. S., Harms, J. F., Lebel, L. A., McCarthy, S. A., Chambers, L., Shrikhande, A., Wong, S., Menniti, F. S., & Schmidt, C. J. (2006). Inhibition of the striatum-enriched phosphodiesterase PDE10A: a novel approach to the treatment of psychosis. Neuropharmacology, 51(2), 386-396

Skinner, B. F. (1938). The behavior of organisms. New York: Appleton-Century-Crofts

Skrede, S., Ferno, J., Vazquez, M. J., Fjaer, S., Pavlin, T., Lunder, N., Vidal-Puig, A., Dieguez, C., Berge, R. K., Lopez, M., & Steen, V. M. (2012). Olanzapine, but not aripiprazole, weight-independently elevates serum triglycerides and activates lipogenic gene expression in female rats. Int J Neuropsychopharmacol, 15(2), 163-179

Soares-Weiser, K., Maayan, N., Bergman, H., Davenport, C., Kirkham, A. J., Grabowski, S., & Adams, C. E. (2015). First rank symptoms for schizophrenia. Cochrane Database Syst Rev, 1, CD010653

Sohn, M., Talbert, J., Blumenschein, K., & Moga, D. C. (2015). Atypical antipsychotic initiation and the risk of type II diabetes in children and adolescents. Pharmacoepidemiol Drug Saf

Spurlock, G., Williams, J., McGuffin, P., Aschauer, H. N., Lenzinger, E., Fuchs, K., Sieghart, W. C., Meszaros, K., Fathi, N., Laurent, C., Mallet, J., Macciardi, F., Pedrini, S., Gill, M., Hawi, Z., Gibson, S., Jazin, E. E., Yang, H. T., Adolfsson, R., Pato, C. N., Dourado, A. M., & Owen, M. J. (1998). European Multicentre Association Study of Schizophrenia: a study of the DRD2 Ser311Cys and DRD3 Ser9Gly polymorphisms. Am J Med Genet, 81(1), 24-28

Stahl, S. M. (2013). Stahl's essential psychopharmacology : neuroscientific basis and practical application (4th ed.). Cambridge ; New York: Cambridge University Press.

Stark, A. D., Jordan, S., Allers, K. A., Bertekap, R. L., Chen, R., Mistry Kannan, T., Molski, T. F., Yocca, F. D., Sharp, T., Kikuchi, T., & Burris, K. D. (2007). Interaction of the novel antipsychotic aripiprazole with 5-HT1A and 5-HT 2A receptors: functional receptor-binding and in vivo electrophysiological studies. Psychopharmacology (Berl), 190(3), 373-382

Steen, V. M., Lovlie, R., MacEwan, T., & McCreadie, R. G. (1997). Dopamine D3-receptor gene variant and susceptibility to tardive dyskinesia in schizophrenic patients. Mol Psychiatry, 2(2), 139-145

Strange, P. G. (2007). Mechanisms underlying agonist efficacy. Biochem Soc Trans, 35(Pt 4), 733-736

Strassnig, M., Miewald, J., Keshavan, M., & Ganguli, R. (2007). Weight gain in newly diagnosed first-episode psychosis patients and healthy comparisons: one-year analysis. Schizophr Res, 93(1-3), 90-98

Sumiyoshi, T., Matsui, M., Nohara, S., Yamashita, I., Kurachi, M., Sumiyoshi, C., Jayathilake, K., & Meltzer, H. Y. (2001). Enhancement of cognitive performance in schizophrenia by addition of tandospirone to neuroleptic treatment. Am J Psychiatry, 158(10), 1722-1725

Sumner, B. E., Cruise, L. A., Slattery, D. A., Hill, D. R., Shahid, M., & Henry, B. (2004). Testing the validity of c-fos expression profiling to aid the therapeutic classification of psychoactive drugs. Psychopharmacology (Berl), 171(3), 306-321

Svensson, K., Ekman, A., Piercey, M. F., Hoffmann, W. E., Lum, J. T., & Carlsson, A. (1991). Effects of the partial dopamine receptor agonists SDZ 208-911, SDZ 208-912 and terguride on central monoamine receptors. A behavioral, biochemical and electrophysiological study. Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol, 344(3), 263-274

Svensson, T. H., & Mathe, J. M. (2000). Atypical antipsychotic-like effect of AMPA receptor antagonists in the rat. Amino Acids, 19(1), 221-226

Swanson, L. W., & Hartman, B. K. (1975). The central adrenergic system. An immunofluorescence study of the location of cell bodies and their efferent connections in the rat utilizing dopamine-beta-hydroxylase as a marker. J Comp Neurol, 163(4), 467-505

Szekeres, G., Keri, S., Juhasz, A., Rimanoczy, A., Szendi, I., Czimmer, C., & Janka, Z. (2004). Role of dopamine D3 receptor (DRD3) and dopamine transporter (DAT) polymorphism in cognitive dysfunctions and therapeutic response to atypical antipsychotics in patients with schizophrenia. Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet, 124B(1), 1-5

Tadori, Y., Forbes, R. A., McQuade, R. D., & Kikuchi, T. (2009). Receptor reserve-dependent properties of antipsychotics at human dopamine D2 receptors. Eur J Pharmacol, 607(1-3), 35-40

Tadori, Y., Miwa, T., Tottori, K., Burris, K. D., Stark, A., Mori, T., & Kikuchi, T. (2005). Aripiprazole's low intrinsic activities at human dopamine D2L and D2S receptors render it a unique antipsychotic. Eur J Pharmacol, 515(1-3), 10-19

Takai, K., Inoue, Y., Konishi, Y., Suwa, A., Uruno, Y., Matsuda, H., Nakako, T., Sakai, M., Nishikawa, H., Hashimoto, G., Enomoto, T., Kitamura, A., Uematsu, Y., Kiyoshi, A., & Sumiyoshi, T. (2014). Discovery of N-substituted 7-azaindoline derivatives as potent, orally available M1 and M4 muscarinic acetylcholine receptors selective agonists. Bioorg Med Chem Lett, 24(14), 3189-3193

Tan, S., Hermann, B., & Borrelli, E. (2003). Dopaminergic mouse mutants: investigating the roles of the different dopamine receptor subtypes and the dopamine transporter. Int Rev Neurobiol, 54, 145-197

Tandon, R., Gaebel, W., Barch, D. M., Bustillo, J., Gur, R. E., Heckers, S., Malaspina, D., Owen, M. J., Schultz, S., Tsuang, M., Van Os, J., & Carpenter, W. (2013). Definition and description of schizophrenia in the DSM-5. Schizophr Res, 150(1), 3-10

Tecott, L. H., Sun, L. M., Akana, S. F., Strack, A. M., Lowenstein, D. H., Dallman, M. F., & Julius, D. (1995). Eating disorder and epilepsy in mice lacking 5-HT2c serotonin receptors. Nature, 374(6522), 542-546

Tschanz, J. T., & Rebec, G. V. (1988). Atypical antipsychotic drugs block selective components of amphetamine-induced stereotypy. Pharmacol Biochem Behav, 31(3), 519-522

Uhlen, S., Lindblom, J., Johnson, A., & Wikberg, J. E. (1997). Autoradiographic studies of central alpha 2A- and alpha 2C-adrenoceptors in the rat using [3H]MK912 and subtype-selective drugs. Brain Res, 770(1-2), 261-266

Urban, J. D., Vargas, G. A., von Zastrow, M., & Mailman, R. B. (2007). Aripiprazole has functionally selective actions at dopamine D2 receptor-mediated signaling pathways. Neuropsychopharmacology, 32(1), 67-77

van den Buuse, M. (2010). Modeling the positive symptoms of schizophrenia in genetically modified mice: pharmacology and methodology aspects. Schizophr Bull, 36(2), 246-270

van der Staay, F. J. (2006). Animal models of behavioral dysfunctions: basic concepts and classifications, and an evaluation strategy. Brain Res Rev, 52(1), 131-159

Van Ree, J. M., & Wolterink, G. (1981). Injection of low doses of apomorphine into the nucleus accumbens of rats reduces locomotor activity. Eur J Pharmacol, 72(1), 107-111

Van Tol, H. H., Wu, C. M., Guan, H. C., Ohara, K., Bunzow, J. R., Civelli, O., Kennedy, J., Seeman, P., Niznik, H. B., & Jovanovic, V. (1992). Multiple dopamine D4 receptor variants in the human population. Nature, 358(6382), 149-152

Vauquelin, G., Van Liefde, I., Birzbier, B. B., & Vanderheyden, P. M. (2002). New insights in insurmountable antagonism. Fundam Clin Pharmacol, 16(4), 263-272

Ventura, J., Hellemann, G. S., Thames, A. D., Koellner, V., & Nuechterlein, K. H. (2009). Symptoms as mediators of the relationship between neurocognition and functional outcome in schizophrenia: a meta-analysis. Schizophr Res, 113(2-3), 189-199

Verge, D., Daval, G., Marcinkiewicz, M., Patey, A., el Mestikawy, S., Gozlan, H., & Hamon, M. (1986). Quantitative autoradiography of multiple 5-HT1 receptor subtypes in the brain of control or 5,7-dihydroxytryptamine-treated rats. J Neurosci, 6(12), 3474-3482

Verge, D., Daval, G., Patey, A., Gozlan, H., el Mestikawy, S., & Hamon, M. (1985). Presynaptic 5-HT autoreceptors on serotonergic cell bodies and/or dendrites but not terminals are of the 5-HT1A subtype. Eur J Pharmacol, 113(3), 463-464

Vickers, S. P., Clifton, P. G., Dourish, C. T., & Tecott, L. H. (1999). Reduced satiating effect of d-fenfluramine in serotonin 5-HT(2C) receptor mutant mice. Psychopharmacology (Berl), 143(3), 309-314

Victoriano, M., Hermier, D., Even, P. C., Fromentin, G., Huneau, J. F., Tome, D., & de Beaurepaire, R. (2009). Early perturbation in feeding behaviour and energy homeostasy in olanzapine-treated rats. Psychopharmacology (Berl), 206(1), 167-176

Vimaleswaran, K. S., Zhao, J. H., Wainwright, N. W., Surtees, P. G., Wareham, N. J., & Loos, R. J. (2010). Association between serotonin 5-HT-2C receptor gene (HTR2C) polymorphisms and obesity- and mental health-related phenotypes in a large population-based cohort. Int J Obes (Lond), 34(6), 1028-1033

von Wilmsdorff, M., Bouvier, M. L., Henning, U., Schmitt, A., Schneider-Axmann, T., & Gaebel, W. (2013). The sex-dependent impact of chronic clozapine and haloperidol treatment on characteristics of the metabolic syndrome in a rat model. Pharmacopsychiatry, 46(1), 1-9

Wadenberg, M. L., Fjallstrom, A. K., Federley, M., Persson, P., & Stenqvist, P. (2011). Effects of adjunct galantamine to risperidone, or haloperidol, in animal models of antipsychotic activity and extrapyramidal side-effect liability: involvement of the cholinergic muscarinic receptor. Int J Neuropsychopharmacol, 14(5), 644-654

Wadenberg, M. L. (2010). Conditioned avoidance response in the development of new antipsychotics. Curr Pharm Des, 16(3), 358-370

Wadenberg, M. L., Wiker, C., & Svensson, T. H. (2007). Enhanced efficacy of both typical and atypical antipsychotic drugs by adjunctive alpha2 adrenoceptor blockade: experimental evidence. Int J Neuropsychopharmacol, 10(2), 191-202

Wadenberg, M. G., Browning, J. L., Young, K. A., & Hicks, P. B. (2001a). Antagonism at 5-HT(2A) receptors potentiates the effect of haloperidol in a conditioned avoidance response task in rats. Pharmacol Biochem Behav, 68(3), 363-370

Wadenberg, M. L., Soliman, A., VanderSpek, S. C., & Kapur, S. (2001b). Dopamine D(2) receptor occupancy is a common mechanism underlying animal models of antipsychotics and their clinical effects. Neuropsychopharmacology, 25(5), 633-641

Wadenberg, M. L., Kapur, S., Soliman, A., Jones, C., & Vaccarino, F. (2000). Dopamine D2 receptor occupancy predicts catalepsy and the suppression of conditioned avoidance response behavior in rats. Psychopharmacology (Berl), 150(4), 422-429

Wadenberg, M. L., & Hicks, P. B. (1999). The conditioned avoidance response test re-evaluated: is it a sensitive test for the detection of potentially atypical antipsychotics? Neurosci Biobehav Rev, 23(6), 851-862

Wadenberg, M. L., Hicks, P. B., Richter, J. T., & Young, K. A. (1998). Enhancement of antipsychoticlike properties of raclopride in rats using the selective serotonin2A receptor antagonist MDL 100,907. Biol Psychiatry, 44(6), 508-515

Wadenberg, M. L., Salmi, P., Jimenez, P., Svensson, T., & Ahlenius, S. (1996). Enhancement of antipsychotic-like properties of the dopamine D2 receptor antagonist, raclopride, by the additional treatment with the 5-HT2 receptor blocking agent, ritanserin, in the rat. Eur Neuropsychopharmacol, 6(4), 305-310

Wadenberg, M. L., & Ahlenius, S. (1991). Antipsychotic-like profile of combined treatment with raclopride and 8-OH-DPAT in the rat: enhancement of antipsychotic-like effects without catalepsy. J Neural Transm Gen Sect, 83(1-2), 43-53

Wan, W., Ennulat, D. J., & Cohen, B. M. (1995). Acute administration of typical and atypical antipsychotic drugs induces distinctive patterns of Fos expression in the rat forebrain. Brain Res, 688(1-2), 95-104

Weinshenker, D., & Schroeder, J. P. (2007). There and back again: a tale of norepinephrine and drug addiction. Neuropsychopharmacology, 32(7), 1433-1451

Werry, T. D., Gregory, K. J., Sexton, P. M., & Christopoulos, A. (2005). Characterization of serotonin 5-HT2C receptor signaling to extracellular signal-regulated kinases 1 and 2. J Neurochem, 93(6), 1603-1615

WHO. (2002). The World health report : 2001 : Mental health : new understanding, new hope. Isr J Psychiatry Relat Sci, 39(1), 50-56

Wiker, C., Schilstrom, B., Sandback, C., Wadenberg, M. L., & Svensson, T. H. (2008). Adjunctive galantamine, but not donepezil, enhances the antipsychotic-like effect of raclopride in rats. Int J Neuropsychopharmacol, 11(6), 845-850

Williams, J., Spurlock, G., Holmans, P., Mant, R., Murphy, K., Jones, L., Cardno, A., Asherson, P., Blackwood, D., Muir, W., Meszaros, K., Aschauer, H., Mallet, J., Laurent, C., Pekkarinen, P., Seppala, J., Stefanis, C. N., Papadimitriou, G. N., Macciardi, F., Verga, M., Pato, C., Azevedo, H., Crocq, M. A., Gurling, H., Owen, M. J., & et al. (1998). A meta-analysis and transmission disequilibrium study of association between the dopamine D3 receptor gene and schizophrenia. Mol Psychiatry, 3(2), 141-149

Wolgin, D. L. (2012). Amphetamine stereotypy, the basal ganglia, and the "selection problem". Behav Brain Res, 231(2), 297-308

Wong, A. H., & Josselyn, S. A. (2015). Caution When Diagnosing Your Mouse with Schizophrenia: The Use and Misuse of Model Animals for Understanding Psychiatric Disorders. Biol Psychiatry

Wood, M. D., Reavill, C., Trail, B., Wilson, A., Stean, T., Kennett, G. A., Lightowler, S., Blackburn, T. P., Thomas, D., Gager, T. L., Riley, G., Holland, V., Bromidge, S. M., Forbes, I. T., & Middlemiss, D. N. (2001). SB-243213; a selective 5-HT2C receptor inverse agonist with improved anxiolytic profile: lack of tolerance and withdrawal anxiety. Neuropharmacology, 41(2), 186-199

Wu, E. Q., Birnbaum, H. G., Shi, L., Ball, D. E., Kessler, R. C., Moulis, M., & Aggarwal, J. (2005). The economic burden of schizophrenia in the United States in 2002. J Clin Psychiatry, 66(9), 1122-1129

Wu, R. R., Zhao, J. P., Liu, Z. N., Zhai, J. G., Guo, X. F., Guo, W. B., & Tang, J. S. (2006). Effects of typical and atypical antipsychotics on glucose-insulin homeostasis and lipid metabolism in first-episode schizophrenia. Psychopharmacology (Berl), 186(4), 572-578

Yao, J., Pan, Y. Q., Ding, M., Pang, H., & Wang, B. J. (2015). Association between DRD2 (rs1799732 and rs1801028) and ANKK1 (rs1800497) polymorphisms and schizophrenia: a meta-analysis. Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet, 168B(1), 1-13

Yokoi, F., Grunder, G., Biziere, K., Stephane, M., Dogan, A. S., Dannals, R. F., Ravert, H., Suri, A., Bramer, S., & Wong, D. F. (2002). Dopamine D2 and D3 receptor occupancy in normal humans treated with the antipsychotic drug aripiprazole (OPC 14597): a study using positron emission tomography and [11C]raclopride. Neuropsychopharmacology, 27(2), 248-259

Zhang, C., & Marek, G. J. (2008). AMPA receptor involvement in 5-hydroxytryptamine2A receptor-mediated pre-frontal cortical excitatory synaptic currents and DOI-induced head shakes. Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry, 32(1), 62-71

ANHANG VI.

A. Zusammenfassung

Schizophrenie (SZ) ist eine chronische psychische Erkrankung, an der ca. 1 % der Bevölkerung weltweit leiden. Die momentan verfügbaren Antipsychotika (AP) können zwar Symptome abmildern, aber nicht alle Patienten sprechen auf die Therapie an und nicht alle Symptome können (langfristig) behandelt werden. Die therapiebegleitenden unerwünschten Arzneimittelwirkungen (UAW) können sich auch negativ auf den Therapieerfolg auswirken. Die typischen AP agieren v.a. als Antagonisten am Dopamin D_2-Rezeptor (D_2R), lindern nur die Positivsymptome und können motorische Störungen bedingen. Es wird momentan diskutiert, ob die atypischen AP aufgrund der Bindung an einer Vielzahl von Rezeptoren und Rezeptorsubtypen zusätzlich die Negativsymptome und kognitive Defizite lindern können, und daher den typischen AP klinisch überlegen sind. Das breite Rezeptorbindungsprofil der atypischen AP kann allerdings auch zu metabolischen Störungen führen.

Aufgrund der präklinischen und klinischen Erfahrungen mit dem D_2R-Partialagonisten Aripiprazol (ARI) wird vermutet, dass D_2R-Partialagonisten einen Fortschritt für die Therapie der SZ bieten könnten. 2-Bromtergurid (2-BT) zeigte in *in-vitro*-Studien eine ähnliche Affinität zum und intrinsische Aktivität am D_2R wie ARI und band aber mit einer höheren Affinität an Serotonin 5-$HT_{2A}R$ und α_{2C}-Adrenozeptoren. Im Allgemeinen sollen AP, die die drei genannten Rezeptoren blockieren, Positiv-, Negativsymptome und kognitive Defizite lindern können. Tergurid, die Muttersubstanz von 2-BT, konnte in klinischen Studien die Negativsymptome abschwächen, zeigte aber keine Wirkung gegen die Positivsymptome. Die *in-vitro*-Studien, die mit Tergurid und seinen Derivaten durchgeführt worden waren, zeigten auch, dass 2-BT dem Tergurid überlegen sein könnte. Daher war 2-BT für erste *in-vivo*-Tests ausgewählt worden, die im Rahmen der vorliegenden Promotion durchgeführt wurden.

Mit etablierten, prädiktiven Tests der präklinischen SZ-Forschung wurden das antipsychotische Potential und das Auftreten von UAW untersucht. Sowohl die Ergebnisse des AIL- und *CAR tests* als auch die Resultate der Untersuchung der neuronalen Aktivität (c-fos) lassen vermuten, dass 2-BT antipsychotische Wirksamkeit besitzen könnte. Aufgrund der Bewertung nach akuter und chronischer Gabe sind extrapyramidal-motorische Störungen, für 2-BT eher unwahrscheinlich. Die chronische 2-BT-Gabe zeigte zudem, dass keine Veränderungen der untersuchten metabolischen Parameter auftraten, weshalb assoziierte metabolische Störungen ebenfalls unwahrscheinlich sind.

Darüber hinaus wurde eine allgemeine 2-BT-Wirkung auf das Verhalten *in vivo* genauso bestätigt wie eine funktionell antagonistische Wirkung am 5-$HT_{2A}R$. Inwiefern 2-BT eine Wirkung über den präsynaptischen D_2R vermittelt, kann im Detail nicht beantwortet werden, da die postsynaptische D_2R-Wirkung der gewählten 2-BT-Dosen scheinbar die präsynaptischen Effekte überdecken.

Die bisherigen Ergebnisse zeigen konsistent, dass 2-BT antipsychotisches Potential besitzen könnte und vermutlich kaum UAW hervorruft. Weiterführende Studien sollten sich mit der Wirksamkeit bei Negativsymptomen und kognitiven Defiziten sowie dem Hervorrufen bestimmter unerwünschter Wirkungen beschäftigen, um das Wirkprofil von 2-BT besser zu charakterisieren und die vielversprechende Entwicklung dieses potentiellen Arzneistoffs voranzutreiben.

B. Abstract

Schizophrenia is a chronic mental disorder which affects about 1 % of the population worldwide. The antipsychotics (AP) currently available have the potential to alleviate symptoms, but not all patients respond to drug therapy and the relevant AP do not guarantee an effective (long-term) treatment for all patients. The adverse effects occasionally arising from treatment can jeopardize the success of a treatment, as well. Typical AP mainly act as antagonists at dopamine D_2 receptors (D_2R), and they are thus able to alleviate positive symptoms, and trigger extra-pyramidal adverse effects. There is an ongoing debate if atypical AP can alleviate negative symptoms and cognitive deficits due to their action at various receptors and receptor subtypes (multi target drugs), which would give them clinical superiority. Because of this broad receptor binding profile, metabolic parameters can be altered.

Due to the successful preclinical and clinical application of the D_2R partial agonist aripiprazole, other D_2R partial agonists may potentially offer a similar, favourable clinical profile. Like aripiprazole, the ergoline 2-bromoterguride (2-BT) has been shown in in vitro studies to have a similar affinity to and intrinsic activity at D_2R. However, compared to aripiprazole, its affinity to serotonergic 5-$HT_{2A}R$ and adrenergic $\alpha_{2C}R$ is higher. In general, AP with a (functional) antagonistic activity at these three receptors are supposed to be able to alleviate all symptoms and deficits of schizophrenia. Terguride, the parent substance of 2-BT, is a D_2R partial agonist which has preclinically and clinically been tested but has interestingly only shown an effect against negative symptoms. The in vitro studies mentioned above had also provided evidence of 2-BT being probably superior to terguride. Therefore, 2-BT was tested for the first time in in vivo studies, which are basis of the Ph.D. thesis at hand.

Firstly, established and predictive tests of preclinical schizophrenia research were run in order to evaluate the antipsychotic potential and the likelihood of triggering adverse effects, which are characteristic for AP. The CAR and AIL test conducted, and the investigation regarding neuronal activity (c-fos) provided substantial evidence in favour of the possible antipsychotic effects of 2-BT. Furthermore, due to the assessment of acute and prolonged treatment, 2-BT is unlikely to induce motor adverse effects, a side effect distinctive for typical AP. During prolonged treatment, no alterations in body weight development, body fat proportion and food consumption have been observed. Hence, the metabolic disturbances associated with long-term application are unlikely, as well.

Secondly, 2-BT has been shown affecting behaviour in general and acting in vivo as a functional antagonist at 5-$HT_{2A}R$. However, its ability to act at the presynaptic $D_{2S}R$ could not be determined at all. The antagonism of 2-BT at the postsynaptic $D_{2L}R$ possibly concealed its effect at the $D_{2S}R$.

The results gained so far sufficiently prove that 2-BT may possess antipsychotic potential and causes only negligible adverse effects. Therefore, it is worth conducting further studies on its effect on negative symptoms and cognitive deficits as well as on other adverse effects connected to antipsychotic treatment.

C. Lebenslauf

Der Lebenslauf ist aus Gründen des Datenschutzes in der Online-Version nicht verfügbar.

D. Wissenschaftliche Veröffentlichungen

Wissenschaftliche Publikationen

Tarland AE, **Franke RT,** Fink H, Pertz HH, Brosda J
„Effects of the dopamine D_2 receptor partial agonist 2-bromoterguride in rat models of cognitive dysfunction and negative symptoms of schizophrenia“ (Arbeitstitel), in Bearbeitung

Franke RT, Tarland AE, Fink H, Pertz HH, & Brosda J (2016)
„2-Bromoterguride-a potential atypical antipsychotic drug without metabolic effects in rats”. Psychopharmacology (Berl), 233(15-16), 3041-3050

Jantschak F, Brosda J, **Franke RT**, Fink H, Moller D, Hubner H, Gmeiner P, & Pertz HH (2013).
“**Pharmacological profile of 2-bromoterguride at human dopamine D2, porcine serotonin 5-hydroxytryptamine 2A, and alpha2C-adrenergic receptors, and its antipsychotic-like effects in rats.”** J Pharmacol Exp Ther, 347(1), 57-68

Wissenschaftliche Vorträge

Franke RT, Tarland AE ,Pertz HH, Fink H, Brosda J
“Antipsychotic-like effects of the dopamine D_2 receptor partial agonist 2-bromo-terguride in rats”; VetPharm-Symposium 2015 in Hannover

Franke RT, Pertz HH, Fink H, Brosda J
„Side effect profile of the potential atypical antipsychotic 2-bromoterguride“; Doktoranden-Symposium des DRS-Studiengangs *Biomedical Science*; März 2015

Franke RT, Pertz HH, Fink H, Brosda J
„2-Bromoterguride - a candidate for therapy of schizophrenia? “; Doktoranden-Symposium des DRS-Studiengangs *Biomedical Science*; Juli 2013

Wissenschaftliche Poster

Franke RT, Pertz HH, Fink H, Brosda J
„Chronic treatment with the D2 receptor partial agonist 2-bromoterguride does not induce changes in body weight and body fat composition in rats”; *Society for Neuroscience*-Jahrestagung in Washington, D.C., USA; 2014

Franke RT, Pertz HH, Fink H, Brosda J
„The D_2 receptor partial agonist 2-bromoterguride does not affect body weight and body fat composition of rats“; Berlin Neuroscience Forum in Liebenwalde, 2014

Franke RT, Pertz HH, Fink H, Brosda J
„Effects of the D_2 receptor partial agonist 2-bromoterguride on body weight and body fat composition after chronic administration in rats”; DGPT-Tagung in Hannover; 2014

Brosda J, **Franke RT,** Pertz HH, Fink H
„Effects of chronic administration of the D_2 receptor partial agonist 2-bromo-terguride on body weight and body fat composition in female rats“; 17. World Congress of Basic & Clinical Pharmacology in Kapstadt, Südafrika; 2014

Brosda J, **Franke R,** Pertz HH, Fink H
„2-Bromoterguride - an atypical antipsychotic?”; 11. World-Federation-of-Societies-of-Biological-Psychiatry-Tagung in Kyoto; 2013

Brosda J**, Franke RT**, Pertz HH, Fink H
„2-Bromoterguride - an antipsychotic drug?”; 4. European Conference on Schizophrenia Research in Berlin; 2013

Brosda, J, **Franke, R**, Jantschak, F, Pertz, HH, Fink, H
„Antipsychotic-like effect and cataleptogenic potential of the dopamine D_2 receptor partial agonist 2-bromoterguride”; DGPT-Tagung in Halle (Saale); 2013

E. Selbständigkeitserklärung

Hiermit versichere ich, dass ich die vorliegende Dissertation selbstständig und nur unter Verwendung der angegebenen Literatur und Hilfsmittel angefertigt habe.

Berlin, den 13.09.2016
Robert Thomas Franke