

**Funktionelle Bedeutung von P-Glykoprotein für Wirkungen und
Nebenwirkungen von Antipsychotika**

Dissertation

zur Erlangung des Grades

„Doktor der Naturwissenschaften“

am Fachbereich Chemie, Pharmazie und Geowissenschaften
der Johannes Gutenberg-Universität Mainz

Katrin Margareta Kirschbaum

geb. in Soest, Westfalen

Mainz, 2007

Dekan:

1. Berichterstatter:

2. Berichterstatter:

Tag der mündlichen Prüfung: 29.01.2008

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung	1
1.1	Schizophrenie	1
1.1.1	Neurobiologische Grundlagen der Schizophrenie	2
1.1.1.1	Bedeutung von Dopamin	2
1.1.1.2	Bedeutung von Serotonin	3
1.1.1.3	Bedeutung von Glutamat	4
1.1.2	Therapie der Schizophrenie	4
1.1.2.1	Pharmakotherapie der Schizophrenie	5
1.2	Extrapyramidalmotorische Symptome als typische Nebenwirkung der Antipsychotika	13
1.3	Kognition	15
1.4	Therapeutisches Drug Monitoring (TDM)	19
1.5	Blut-Hirn-Schranke	20
1.5.1	P-Glykoprotein (P-gp, ABCB1)	22
1.6	Zielsetzung der Arbeit	26
2	Methoden	28
2.1	Chemikalien	28
2.1.1	Arzneistoffe	28
2.1.2	Chemikalien	28
2.1.3	Fertigarzneimittel	29
2.2	Geräte und Materialien	29
2.2.1	Laborgeräte	29
2.2.2	Verbrauchsmaterialien	30
2.3	Software	30
2.4	Lösungen für die HPLC-Analyse	30
2.5	Lösungen zur i.p. Injektion	31
2.5.1	Stammlösungen	31
2.5.2	Fertigarzneimittellösungen	32
2.6	HPLC Methoden	33
2.6.1	Probenaufbereitung von Plasma und Serum zur HPLC Analyse	33
2.6.2	Apparatur HPLC	33
2.6.3	Übersicht HPLC Methoden	34

2.7	TDM unter Behandlung von Aripiprazol	38
2.7.1	Patienten	38
2.7.2	Serumproben	38
2.7.3	Statistik	39
2.8	Tiere	39
2.9	Kinetikuntersuchungen	40
2.9.1	Gewebepräparation	40
2.9.2	Gewebeaufarbeitung	40
2.9.3	Auswertung Kinetikuntersuchungen	41
2.10	Quantifizierung der mdr1 mRNA	41
2.11	Verhaltensuntersuchungen	41
2.11.1	Katalepsie	41
2.11.1.1	Ring Test	42
2.11.1.2	Bar Test	42
2.11.2	Rotarod	42
2.11.2.1	Apparatur Rotarod	42
2.11.2.2	Durchführung des Rotarod Tests	43
2.11.2.3	Auswertung von Katalepsie und Rotarod	44
2.11.3	Radial Arm Water Maze (RAWM)	45
2.11.3.1	Apparatur der RAWM	45
2.11.3.2	Etablierung des RAWM Tests	46
2.11.3.3	Durchführung des RAWM Tests	47
2.11.3.4	Auswertung des RAWM Tests	47
2.11.3.5	Statistische Auswertung der Ergebnisse in der RAWM	49
2.11.4	Schwimmgeschwindigkeit	49
2.11.4.1	Apparatur zum Test der Schwimmgeschwindigkeit	49
2.11.4.2	Durchführung des Tests der Schwimmgeschwindigkeit	50
2.11.4.3	Auswertung des Tests der Schwimmgeschwindigkeit	50
3	Ergebnisse	52
3.1	Entwicklung einer HPLC Methode für den Nachweis von Aripiprazol	52
3.1.1	Eigene Methode: HPLC Analyse von Aripiprazol	52
3.1.1.1	Stammlösungen Aripiprazol	52
3.1.1.2	Chromatographische Durchführung am Beispiel von Aripiprazol	52
3.1.1.3	Durchführung Validierung	53

3.1.1.4	Auswertung Validierung	53
3.1.2	Ergebnisse Validierung	54
3.2	Anwendung der Nachweismethode von Aripiprazol für Therapeutisches Drug Monitoring	57
3.2.1	Pharmakokinetische Parameter	57
3.2.2	Pharmakodynamische Parameter	59
3.3	Tierexperimentelle Kinetikuntersuchungen	63
3.4	Tierexperimentelle Verhaltensuntersuchungen	79
3.4.1	Vergleich Katalepsie - Rotarod	79
3.4.2	Auswirkungen von P-gp auf die motorische Aktivität auf dem Rotarod	85
3.4.3	Vergleich von FVB Mäusen und Mäusen der F1-Generation	92
3.4.3.1	Genexpression von P-gp quantifiziert anhand der mdr1a mRNA	92
3.4.3.2	Kinetikuntersuchung	93
3.4.3.3	Verhaltensuntersuchung auf dem Rotarod	95
3.4.3.4	Vergleich von FVB Mäusen und Mäusen der F1-Generation	95
3.4.4	Verhaltensuntersuchung in der RAWM	97
3.4.4.1	Etablierung des RAWM Tests	97
3.4.4.2	Ergebnisse des RAWM Tests	100
3.4.4.3	Schwimmgeschwindigkeit	117
4	Diskussion	120
4.1	Validierung der HPLC Methode zur Bestimmung von Aripiprazol	120
4.2	Klinische Anwendung Aripiprazol	121
4.3	Vergleich Katalepsie – Rotarod	124
4.4	Auswirkung von P-gp auf die motorische Aktivität auf dem Rotarod unter Berücksichtigung der Hirnkinetik	126
4.5	Auswirkungen von P-gp auf das räumliches Lernen und Gedächtnis in der RAWM	133
4.6	Zusammenfassung der Diskussion	143
5	Zusammenfassung	147
5.1	Zusammenfassung	147
5.2	Summary	148
6	Anhang	150
6.1	Literaturverzeichnis	150

6.2	Abkürzungsverzeichnis	173
6.3	Veröffentlichungen	176

1 Einleitung

1.1 Schizophrenie

Die Schizophrenie ist eine der schwerwiegendsten psychiatrischen Erkrankungen, und bis heute ist ihre Therapie in vielerlei Hinsicht problematisch. Auch die Pathophysiologie psychiatrischer Erkrankungen war lange Zeit unklar. Bis zum Ende des 19. Jahrhunderts wurden sie in vier große Gruppen ohne genauere medizinische Bedeutung eingeteilt. Diese Kategorien waren 1) Störungen der Kognition, 2) der Stimmung, 3) des Lernens, des Gedächtnisses und der Intelligenz und 4) des sozialen Verhaltens. Der Heidelberger Psychiater Emil Kraepelin begann Krankheiten, die den mentalen Bereich betreffen, nach spezifischen Krankheitsprozessen zu erforschen. 1896 gelang es ihm, das Krankheitsbild, das heute als Schizophrenie bekannt ist und bis dahin unter einer Vielzahl von Erscheinungsbildern als Geisteskrankheit, Irresein oder Wahnsinn bezeichnet wurde, von den manisch-depressiven Krankheiten abzugrenzen und als *Dementia praecox* zu benennen. Er wählte den Begriff aufgrund des beobachteten früh beginnenden Verfalls des Intellekts. Eugen Bleuler fasste 1911 das Krankheitskonzept neu zusammen und erkannte, dass es sich nicht um eine homogene Krankheit handelt, sondern vielmehr um eine Gruppe eng verwandter Störungen der Kognition. Diese sei von dem Willen, dem Verhalten und der Emotion abgetrennt, weshalb Bleuler den bis heute gültigen Begriff der Schizophrenie, Spaltung der Seele, wählte (Tölle und Windgassen, 2003; Kandel, et al 2000).

Bis heute ist es nicht gelungen, das Krankheitsbild genau zu definieren und die Symptomatik abzugrenzen, es stellt eher eine heterogene Gruppe von Psychosen dar. Die Prävalenz liegt bei etwa 1 % und die Erstdiagnose wird bei Männern häufig zwischen dem 20. und 25. und bei Frauen zwischen dem 25. und 30. Lebensjahr gestellt. Hauptsymptome der chronischen Erkrankung sind positive Symptome, wie Wahnvorstellungen, Halluzinationen, Ich-Erlebnisstörungen und katatone Symptome, negative Symptome, wie Affektverflachung, Apathie, Anhedonie und Asozialität, kognitive Symptome, wie Zerfahrenheit, Alogie, Aufmerksamkeitsstörungen und Spracharmut, und affektive Symptome, wie Depression, Angst und Affektverflachung. Diese können unterschiedlich stark ausgeprägt sein, so dass nach ICD-10 verschiedene Subtypen unterschieden werden mit den häufigsten Ausprägungen der paranoiden Schizophrenie (F20.0), der hebephrenen Schizophrenie (F20.2) und der katatonen Schizophrenie (F20.3).

1.1.1 Neurobiologische Grundlagen der Schizophrenie

1.1.1.1 Bedeutung von Dopamin

Arvid Carlsson stellte in den 60er Jahren die Dopamin-Hypothese der Schizophrenie auf (Carlsson, 1963). Er postulierte, dass die positiven Symptome durch eine Überaktivität des mesolimbischen Systems hervorgerufen werden (Abbildung 1.1). Auch konnte beobachtet werden, dass Psychostimulantien, die die Dopaminausschüttung steigern, wie z.B. Amphetamin, bei Probanden Psychosen induzieren und bei Patienten mit Schizophrenie psychotische Symptome verstärken (Lieberman, et al 1987). Laruelle und Mitarbeiter (1996) beobachteten in einer Untersuchung mit Single-Photon-Emissionscomputertomographie (SPECT), dass Amphetamin bei schizophrenen Patienten, die in psychotischen Phasen waren, zu einer stärkeren Dopaminausschüttung führte verglichen mit gesunden Probanden und sahen dies als weitere Bestätigung der Dopamin-Hypothese. Bei Patienten mit Morbus Parkinson führt eine zu hohe Dosis von Levodopa ebenso zu psychotischen Symptomen (Willner, 1997). Typische Antipsychotika, die vor allem gegen positive Symptome der Schizophrenie wirken, haben eine hohe Affinität zum dopaminergen D₂-Rezeptor und es besteht eine ausgeprägte Korrelation zwischen ihrer klinischen Wirksamkeit und der Bindungsaffinität zu diesem Rezeptorsubtyp (Lieberman, 2004). Neben dem D₂-Rezeptor gehören auch D₃- und D₄-Rezeptoren zur Familie der D₂-artigen Rezeptoren. Diese Rezeptorgruppe wirkt inhibitorisch über G-Proteine der G_i-Familie auf die Adenylylcyclase. D₁- und D₅-Rezeptoren (D₁-artige Rezeptoren) wirken hingegen über G_s stimulierend auf die Adenylylcyclase (Aktories, et al 2005).

Daniel Weinberger ergänzte die Hypothese von Carlsson und vertrat die Auffassung, dass auch das mesokortikale System an der Schizophrenie beteiligt sei. Dopaminerge Bahnen ziehen in diesem System vom ventralen tegmental Gebiet zum präfrontalen Kortex, der bei der Organisation von Verhalten, Motivation, Planung, Aufmerksamkeit und sozialem Verhalten eine Rolle spielt (Abbildung 1.1). Eine verminderte Aktivität dieser Bahn führt nach Weinberger zu den negativen Symptomen und kognitiven Störungen der Schizophrenie. Im gesunden Zustand inhibiert die mesokortikale Bahn den mesolimbischen Weg durch Feedback-Mechanismen. Eine Aktivitätsminderung dieser Bahn führt somit zu Enthemmung und Überaktivität im mesolimbischen Gebiet. Dies sei nach Weinberger die eigentliche Ursache der Erkrankung (Heinz, et al 2003; Kandel, et al 2000). Bis heute ist aber noch nicht endgültig bewiesen, ob die Dopamin-Hypothese und die Ergänzung von Weinberger vollkommen zutreffend sind.

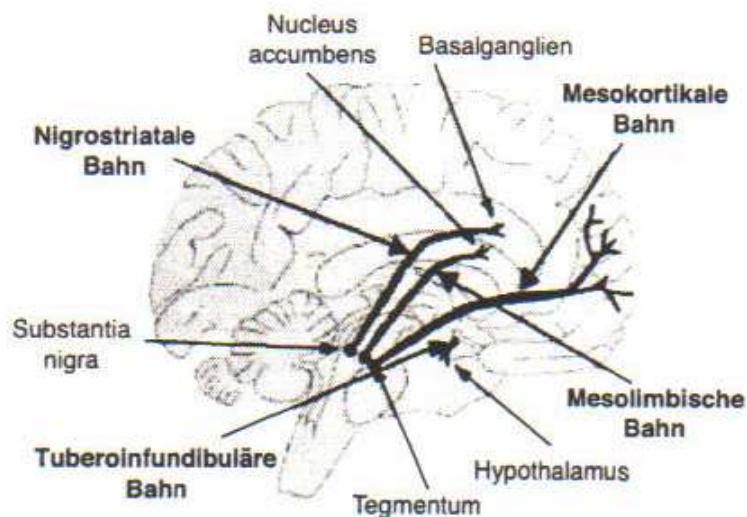


Abbildung 1.1: Vier dopaminerge Bahnen. (Lieberman, 2004)

1.1.1.2 Bedeutung von Serotonin

Es wird angenommen, dass Serotonin hauptsächlich modulierend auf andere Neurotransmittersysteme, wie Dopamin und möglicherweise Glutamat, wirkt und das Serotoninsystem selbst nicht primär bei der Schizophrenie gestört ist (Lieberman, et al 1998). M-Chlorophenylpiperazin (mCPP), ein 5-HT_{2B/2C}-Serotoninagonist, konnte in einer Studie die positiven Symptome bei nicht-medikamentös behandelten Patienten mit Schizophrenie verstärken, nicht jedoch bei Probanden auslösen (Krystal, et al 1993). Serotonerge Neurone im medianen und dorsalen Raphekern innervieren dopaminerge Neurone in der Substantia nigra und im ventralen tegmentalalen Bereich. Weiterhin interagieren sie mit synaptischen Endigungen dopaminergener Neurone im Striatum, Nucleus accumbens, medialen präfrontalen Kortex und in der Amygdala. Agonisten an 5-HT_{1B}-, 5-HT₃- und 5-HT₄-Rezeptoren haben eine erhöhte Freisetzung von Dopamin zur Folge, serotonerge Aktivität über 5-HT_{2C}-Rezeptoren führt jedoch zu einer verminderten dopaminergen Signalübertragung (Iyer und Bradberry, 1996; Barnes und Sharp, 2003). Über 5-HT_{1A} und 5-HT_{2A} Rezeptoren kann die Freisetzung von Glutamat moduliert werden (Lieberman, 2004). Belege für die Bedeutung von Serotonin in der Schizophrenie ergeben sich weiterhin hauptsächlich aus der pharmakologischen Wirkung der atypischen Antipsychotika.

1.1.1.3 Bedeutung von Glutamat

Antagonisten am glutamatergen NMDA-Rezeptor, wie Phencyclidin (PCP) und Ketamin bewirken bei gesunden Probanden insbesondere nach mehrmaliger Einnahme Veränderungen in der Kognition und im Verhalten, die mit denen bei der Schizophrenie auftretenden Symptomen, vergleichbar sind. Verminderter Affekt, Zurückgezogenheit, psychomotorische Verlangsamung und Störungen der Kognition sowie Misstrauen, Desorganisiertheit und visuelle oder akustische Halluzinationen wurden nach intravenöser Gabe von Ketamin bei Probanden beobachtet. Auch konnte bei Positronen-Emissions-Tomographie- (PET-) Untersuchungen nach chronischer Einnahme eine verminderte Aktivität in frontalen Gehirnbereichen beobachtet werden (Hertzmann, et al 1990). In Affen zeigte sich nach subchronischer Gabe von PCP eine verminderte dopaminerge Aktivität im frontalen Kortex, die mit kognitiven Defiziten einherging (Jentsch, et al 1997); Gabe von NMDA-Rezeptor Agonisten und Ko-Agonisten, wie Glycin, D-Cycloserin und D-Serin, bei schizophrenen Patienten verbessern die negativen Symptome der Erkrankung und zum Teil die Kognition (Goff und Coyle, 2001; Lieberman 2004; Laruelle, et al 2003). Kegeles und Mitarbeiter (2000) zeigten in Untersuchungen mit SPECT, dass die Amphetamin-induzierte Dopaminausschüttung durch Gabe von Ketamin erhöht wird. Dieser Befund liefert ein Modell, wie eine gestörte Funktion des NMDA-Rezeptors für eine geschädigte kortikale – subkortikale Verbindung verantwortlich sein könnte, die zur Hypothese der Pathophysiologie der Schizophrenie nach Weinberger beiträgt.

1.1.2 Therapie der Schizophrenie

Die Behandlung der Schizophrenie erfolgt nach einem Gesamtbehandlungsplan, der neben der Pharmakotherapie psychoedukative, familientherapeutische und kognitiv-verhaltenstherapeutische Ansätze verbindet. In der Akutphase liegt der Schwerpunkt auf der antipsychotischen Pharmakotherapie. In der Stabilisierungsphase und der Phase der Rezidivprophylaxe sind psychosoziale Maßnahmen von zunehmender Bedeutung. Dabei sollen Medikamente, die vom jeweiligen Patienten gut vertragen werden, in einer niedrigen noch hinreichend wirksamen Dosis, eingesetzt werden (Tölle und Windgassen, 2003; Benkert, et al 2007).

1.1.2.1 Pharmakotherapie der Schizophrenie

Die pharmakologischen Ansatzpunkte zur Behandlung der Schizophrenie stützen sich hauptsächlich auf die Dopamin-Hypothese. Im Jahre 1952 wurde Chlorpromazin als erstes wirksames Medikament zur Behandlung dieser Erkrankung entdeckt. Wie die später entwickelten anderen Antipsychotika der ersten Generation, die sogenannten „typischen“ Antipsychotika, wirkt es als Antagonist an dopaminergen D₂-Rezeptoren. Diese Gruppe von Arzneistoffen zeigt eine mäßig gute Wirksamkeit gegen Positivsymptome, da die dopaminerge Überaktivität der mesolimbischen Bahn reduziert wird, auf Negativsymptome und Störungen der Kognition haben die typischen Antipsychotika hingegen kaum Einfluss. Typische Nebenwirkungen dieser Medikamente sind vor allem extrapyramidalmotorische Symptome (EPS). Die Motorik wird von der dopaminergen nigrostriatalen Bahn beeinflusst (Abbildung 1.1). Bei einer Hemmung der dopaminergen Aktivität in dieser Bahn kommt es, ähnlich wie bei Patienten mit Morbus Parkinson, zu Bewegungsstörungen, wie Parkinsonismus, Akathisie und Dystonie und nach Langzeittherapie auch zu tardiver Dyskinesie (Abbildung 1.3). Die vierte dopaminerge Bahn, der tuberoinfundibuläre Weg (Abbildung 1.1), kann ebenso beeinflusst werden. Dabei kommt es zu einem Anstieg der Prolaktinspiegel und in Folge kann es zu Amenorrhö und Galaktorrhö bei Frauen und Gynäkomastie bei Männern kommen (Lieberman, 2004; De Oliveira und Juruena, 2006).

In Bildgebungsstudien mit Positronen-Emissions-Tomographie (PET) wurde beobachtet, dass die Wahrscheinlichkeit für ein klinisches Ansprechen bei einer D₂-Rezeptorbesetzung von mehr als 65 – 70 % höher ist und das Risiko für Hyperprolaktinämie und EPS bei einer Besetzung von mehr als 72 % bzw. 78 % deutlich ansteigt (Farde, et al 1992; Nordström, et al 1993; Kapur, et al 2000). Somit ergibt sich nur ein relativ enger Bereich, in dem Antipsychotika wirksam sind, ohne Nebenwirkungen zu verursachen.

Neben der Dopamin-Hypothese festigte sich in den 60er Jahren die Meinung, dass die antipsychotische Wirkung eng mit auftretenden EPS verbunden und sogar Bedingung für die therapeutische Wirkung sei. Mit Einführung des ersten Antipsychotikums der zweiten Generation, Clozapin, wurde dieses wegen der fehlenden Nebenwirkungen auf die Motorik als „atypisch“ bezeichnet (Weiden, 2007; Hippus, 1999). Es erhöht Prolaktin nicht übermäßig und ist auch bei Patienten wirksam, die nicht auf typische Antipsychotika ansprechen. Der pharmakodynamische Unterschied liegt im Rezeptorprofil; Clozapin zeigt neben der Affinität zu dopaminergen Rezeptoren, auch antagonistische Eigenschaften am serotonergen 5-HT_{2A}-Rezeptor und bindet an Rezeptoren weiterer Neurotransmitter. Der Antagonismus am 5-HT_{2A}-Rezeptor hemmt die Freisetzung von Serotonin und hat damit

einen Anstieg der Dopaminkonzentration vor allem im Striatum zur Folge, so dass das Risiko für EPS reduziert wird (Lieberman, 1998). Nachdem der klinische Vorteil dieses Rezeptorprofils bekannt war, versuchte man weitere Antipsychotika mit diesen „atypischen“ Eigenschaften zu entwickeln, die vor allem antagonistische Wirkungen an serotonergen und dopaminergen Rezeptoren gemeinsam haben (Stahl, 1999). Sie binden zusätzlich zum Teil an dopaminerge D₁-, D₃- und D₄-Rezeptoren, an serotonerge 5-HT_{1A}-, 5-HT_{2C}-, 5-HT₃-, 5-HT₆- und 5-HT₇-Rezeptoren, an adrenerge α_1 - und α_2 -Rezeptoren, an Histamin- H₁ Rezeptoren und an muskarinische Rezeptoren (Stahl, 1998), wobei die Affinität der atypischen Antipsychotika zu den einzelnen Rezeptoren sehr unterschiedlich sein kann (Richelson, 1999). Der genaue Wirkmechanismus der Antipsychotika ist heute noch nicht vollständig bekannt. Neben den beschriebenen Erklärungsansätzen gibt es auch eine neuere Hypothese, die davon ausgeht, dass die Dissoziationskonstanten der Medikamente vom dopaminergen D₂-Rezeptor eine wesentliche Rolle spielen. „Loose Binders“, wie Clozapin und Quetiapin, binden im Vergleich zu endogenem Dopamin und insbesondere im Vergleich mit Haloperidol nur kurz an den Rezeptor und sollen dadurch ihre atypische Wirkung vermitteln (Kapur und Seeman, 2001).

Durch die immer noch unzureichende Wirkung der atypischen Antipsychotika und die auftretenden Nebenwirkungen, wie z.B. Sedierung, Gewichtszunahme, anticholinerge Effekte und bei einigen Antipsychotika EPS, die bei 42 % der Patienten zu therapeutischen Konsequenzen führen (Benkert, et al 2007), ist die Pharmakotherapie der Schizophrenie auch mit der zweiten Generation von Wirkstoffen unbefriedigend. Eine große Meta-Regressions-Analyse fand keinen signifikanten Unterschied zwischen typischen und atypischen Antipsychotika in Bezug auf klinische Effektivität und Verträglichkeit, wenn Studien mit einer täglichen Dosis von bis zu 12 mg Haloperidol oder einer äquivalenten Dosis eines anderen Typikums durchgeführt wurden. Nur EPS traten unter atypischen Antipsychotika signifikant seltener auf (Geddes, et al 2000). Eine neuere große Studie (CATIE) verglich systematisch atypische Antipsychotika mit dem Typikum Perphenazin. Sie konnte ebenfalls keine deutliche Überlegenheit der neueren Wirkstoffe in Bezug auf Wirksamkeit, Nebenwirkungen und Abbruchrate der Therapie zeigen. Nur Olanzapin war in seiner Wirksamkeit und der Dauer, in der es von den Patienten eingenommen wurde, Perphenazin überlegen, die deutliche Gewichtszunahme, sowie eine Verschlechterung der Lipidwerte schränkt diese Überlegenheit in der klinischen Anwendung jedoch ein (Lieberman, et al 2005). Die Ergebnisse dieser Studie werden aufgrund der niedrigen Dosis von Perphenazin als Referenzsubstanz für typische Antipsychotika auch kritisch betrachtet.

Weitere Forschung zeigte, dass partielle Agonisten, die in der mesolimbischen Bahn, in der eine übermäßige Dopamin-Aktivität vorliegt, als Antagonisten am D₂-Rezeptor wirken, und in der mesokortikalen Bahn, in der die Dopamin-Aktivität vermindert ist, als Agonisten wirken, eine möglicherweise überlegene Wirkung auf positive und negative Symptome der Schizophrenie haben, sowie keine EPS und Erhöhung der Prolaktinspiegel hervorrufen (Lahti, et al 1998; Lieberman, 2004). Auch ein partieller Agonismus an serotonergen 5-HT_{1A}-Rezeptoren soll zu einer Verbesserung der Negativsymptome, Stimmung und kognitiven Funktionen beitragen, da er eine optimale Kombination aus Aktivierung präsynaptischer Rezeptoren und Blockade postsynaptischer Rezeptoren darstellt (Millan, 2000). Als Folge dieser Überlegungen wurde 2002 in den USA und 2004 in Deutschland der partielle D₂- und 5-HT_{1A}-Agonist Aripiprazol als erstes Antipsychotikum der dritten Generation zugelassen. Im Folgenden werden die Substanzen, die in dieser Arbeit untersucht wurden, näher vorgestellt. Es sind jeweils Beispiele aus den drei Generationen der Antipsychotika (Abbildung 1.2).

1.1.2.1.1 Antipsychotika der ersten Generation

Haloperidol

Haloperidol, ein Butyrophenonderivat, ist seit Ende der 50er Jahre als Antipsychotikum auf dem Markt. Es blockiert vor allem dopaminerge D₂-Rezeptoren, aber auch α₁-Rezeptoren. Sehr geringe Affinität besteht zu muskarinischen Acetylcholin- (mACh-), H₁- und 5-HT₂-Rezeptoren (Benkert, et al 2007). Es gehört zu den weltweit am häufigsten verschriebenen Antipsychotika, da es hochpotent und kostengünstig ist. In vielen klinischen Studien wird Haloperidol als Vergleichsmedikament eingesetzt (Joy, et al 2006). Aufgrund seiner hohen Potenz besitzt es eine gute Wirksamkeit insbesondere bei akut psychotischen Symptomen und wird auch in Deutschland insbesondere in Notfallsituationen eingesetzt. Die intensive D₂-Rezeptorblockade führt jedoch häufig zu Nebenwirkungen. EPS treten dosisabhängig auf, weiterhin kommt es gelegentlich zu Müdigkeit, orthostatischer Dysregulation und Tachykardie.

Übliche klinische Dosen sind 5 bis 10 mg/d. Für einen Plasmaspiegelsbereich von 5 bis 17 ng/ml ist die therapeutische Wirksamkeit in Studien belegt worden. Haloperidol besitzt eine Halbwertszeit von 12 bis 36 h und wird durch Cytochrom P450 (CYP)3A4 und CYP2D6 vor allem zum reduzierten Haloperidol mit geringer antidopaminergem Aktivität abgebaut (Benkert, et al 2007).

1.1.2.1.2 Antipsychotika der zweiten Generation

Amisulprid

Amisulprid bindet selektiv an D₂-artige Rezeptoren, wobei die Affinität zum D₂- und D₃-Rezeptor ähnlich groß ist und zum D₄-Rezeptor schwächer (Schoemaker, et al 1997; Benkert, et al. 2007). D₃- und D₄-Rezeptoren sind insbesondere im limbischen System und nicht im Striatum lokalisiert, so dass das Benzamid Amisulprid eine gute antipsychotische Wirkung mit geringem Risiko für EPS besitzt (Perrault, et al 1997). Vor allem bei niedrigen Dosen blockiert es dopaminerge D₂- und D₃-Autorezeptoren (Schoemaker, et al 1997) und ist dadurch in diesem Dosisbereich besonders wirksam gegen Negativsymptome.

In einer Studie mit Therapeutischem Drug Monitoring (TDM) ermittelten Müller und Mitarbeiter (2007), dass ein Plasmaspiegel von ≥ 100 ng/ml als Schwellenwert für klinisches Ansprechen und eine Konzentration von > 320 ng/ml als Risiko für das Auftreten von EPS gesehen werden kann. Die üblichen klinischen Dosen liegen täglich bei 400 bis 800 mg und können auf maximal 1200 mg erhöht werden, für die primäre Behandlung von Negativsymptomen wird eine Dosis von 50 bis 300 mg/d empfohlen. Nebenwirkungen sind unter niedrigen Dosen generell gering, unter höheren Dosen treten neben EPS, häufig Schlaflosigkeit, Angst, Agitiertheit und vermehrter Speichelfluss häufig auf, gelegentlich kann es zu Prolaktinerhöhungen kommen. Die Halbwertszeit der Substanz liegt bei 12 bis 20 h. Da Amisulprid zum Großteil unverändert renal ausgeschieden wird, besitzt es ein geringes Interaktionsrisiko (Benkert, et al 2007).

Clozapin

Das Dibenzodiazepin Clozapin wurde als erstes atypisches Antipsychotikum, wie oben beschrieben, eingesetzt. Es besitzt hohe Affinität zu D₄-, H₁-, α_1 -, 5-HT_{2A}-, 5-HT_{2C}- und mACh- (M₁ und M₄) Rezeptoren, sowie niedrige Affinität zu D₁-, D₂-, D₃-, D₅-, 5-HT_{1A}-, 5-HT₃-, α_2 - und mACh- (M₂) Rezeptoren (Benkert, et al 2007). Es ist effektiv wirksam in der Therapie der Schizophrenie ohne EPS zu verursachen und zeigt eine Überlegenheit gegenüber typischen und wahrscheinlich auch anderen atypischen Antipsychotika bei therapieresistenten Patienten. Weiterhin gibt es Hinweise für eine antisuizidale und antiaggressive Wirksamkeit. Das geringe Risiko für EPS wird auf das Rezeptorprofil und insbesondere die Präferenz für D₄-Rezeptoren, die vor allem im limbischen System vorkommen, zurückgeführt. Unter der Behandlung mit Clozapin kommt es bei 1-2 % der Patienten, deutlich öfter als unter anderen Antipsychotika, zu Agranulozytose. Wegen mehrerer Todesfälle in Finnland wurde es nach seiner Einführung 1971 in einigen Ländern wieder vom Markt genommen und z.B. in den

USA erst 1990 wieder eingeführt; in Deutschland wurden spezielle Regelungen für die Verordnung getroffen (Hippius, 1999). Die Anwendung ist beschränkt auf schizophrene Patienten, die auf andere Antipsychotika nicht ansprechen oder diese nicht vertragen (Novartis Pharmaceuticals Corporation, 2005). Weiterhin müssen regelmäßige Blutbildkontrollen durchgeführt werden. Weitere Nebenwirkungen sind vor allem zu Beginn sehr häufig auftretende Sedierung, sowie orthostatische Dysregulation mit Tachykardie und Hypotonie, häufig kommt es auch zu persistierender Hypersalivation, Gewichtszunahme und Hyperglykämie.

Die tägliche Erhaltungsdosis liegt zwischen 100 bis 400 mg, als Höchstdosis kann in Einzelfällen 900 mg/d gegeben werden. Erwartete Plasmaspiegel unter diesen Dosen, die ausreichend für die Wirksamkeit sind, liegen bei 350 bis 600 ng/ml. Clozapin wird über CYP1A2 und CYP3A4, weniger über CYP2D6, mit einer Halbwertszeit von 12 bis 16 h zu den Hauptmetaboliten N-Desmethylclozapin und Clozapin-N-oxid abgebaut (Benkert, et al 2007). N-Desmethylclozapin ist pharmakologisch schwach aktiv (Novartis Pharmaceuticals Corporation, 2005).

Olanzapin

Olanzapin ist Clozapin als Thienobenzodiazepin relativ ähnlich und besitzt ein vergleichbares Rezeptorprofil mit Blockade von vor allem mACh-, 5-HT₂- und D₁₋₅-Rezeptoren sowie α₁- und H₁-Rezeptoren (Conley, et al 1998; Bymaster, et al 1996; Benkert, et al 2007). Es besitzt jedoch höhere Affinität zum dopaminergen D₂-Rezeptor als zu anderen Dopaminrezeptorsubtypen. Eine Dosis von 5 bis 20 mg/d reicht für die antipsychotische Wirksamkeit aus und es konnte ein besserer Effekt für die Behandlung von Negativsymptomen sowie ein geringes Risiko für EPS im Vergleich zu Haloperidol gezeigt werden (Tollefson, et al 1997). Kessler beobachtete eine geringere Blockade von dopaminergen D₂- und D₃-Rezeptoren in der Substantia nigra und dem ventralen tegmentalen Areal verglichen mit Haloperidol bei sonst ähnlicher Besetzung dieser Rezeptoren in anderen Hirnregionen. Auch eine Besetzung von mehr als 80 % der serotonergen 5-HT_{2A}-Rezeptoren im Kortex bei therapeutischen Dosen unterschied Olanzapin deutlich von Haloperidol (Kessler, et al 2005). Die niedrige tägliche Dosis könnte ebenfalls dazu beitragen, dass weniger Nebenwirkungen und ein geringeres Interaktionspotential unter Olanzapin auftreten (Bymaster, et al 1996). Unter Olanzapin kommt es häufig zu einer Gewichtszunahme, des Weiteren kommen Sedierung, Hypotonie, vorübergehende anticholinerge Effekte und dosisabhängig auch EPS vor (Benkert, et al 2007).

Die Halbwertszeit von Olanzapin liegt bei 30 bis 60 h. Es wird über Glucuronyltransferasen, Flavinmonooxygenasen, CYP1A2 und geringfügig über CYP2D6 abgebaut. Plasmaspiegel im Bereich von 20 bis 80 ng/ml gelten als ausreichend für die Behandlung (Benkert, et al 2007).

Quetiapin

Das Dibenzothiazepin Quetiapin blockiert in erster Linie 5-HT₂-, D₂-, und α₁-Rezeptoren, es besitzt außerdem Affinität zu 5-HT₁-, D₁-, D₃-, α₂- und H₁-Rezeptoren. Hierbei ist es Clozapin relativ ähnlich, besitzt jedoch eine geringere Affinität als dieses zu D₁-, D₂- und 5-HT₂-Rezeptoren (Saller und Salama, 1993). Auch das Risiko für EPS ist bei Quetiapin zusammen mit Clozapin wahrscheinlich am geringsten verglichen mit den übrigen atypischen Antipsychotika (Benkert, et al 2007) und liegt auf Placeboniveau (Arvanitis und Miller, 1997). Kapur begründet dies mit der nur kurz andauernden Bindung der beiden Arzneistoffe an den D₂-Rezeptor (Kapur und Seeman, 2001). Der Effekt auf positive Symptome der Schizophrenie war im Dosisbereich von 150 bis 750 mg/d vergleichbar mit Haloperidol und bei 300 mg/d wurden gute Effekte gegen Negativsymptome erreicht (Arvanitis und Miller, 1997). Bei einem Plasmaspiegelbereich >70 ng/ml zeigt Quetiapin seine klinische Wirkung. Zu Beginn der Behandlung treten sehr häufig Sedierung und Schläfrigkeit, orthostatische Hypotonie und Kopfschmerzen auf, häufig auch Leukopenie, Rhinitis, Mundtrockenheit und Gewichtszunahme (Benkert, et al 2007). Quetiapin wird extensiv über CYP3A4 zu 20 meist inaktiven Metaboliten abgebaut. Seine Halbwertszeit liegt bei 7 h.

Risperidon

Risperidon ist ein Benzisoxazolderivat und bindet vor allem an 5-HT_{2A}-, 5-HT_{2C}-, 5-HT₇-, D₂-, α₁- und α₂-Rezeptoren. Zu H₁-Rezeptoren besitzt es nur eine geringe Affinität (Benkert, et al 2007). Marder und Meibach (1994) zeigten seine Wirksamkeit gegen positive und negative Symptome unter 6, 10 und 16 mg/d bzw. 6 mg/d in einer klinischen Studie verglichen mit Haloperidol und Placebo. Zwischen Dosen von 0,5 bis 16 mg/d wurde eine signifikante lineare Korrelation mit dem Auftreten von EPS beobachtet. Bei einer Dosis von mehr als 6 mg/d ist diese Nebenwirkung so stark ausgeprägt, dass sie zum Teil mit Anticholinergika behandelt wird. Bis zu einer Dosis von 12 mg/d treten EPS jedoch insgesamt geringer auf als unter hohen Dosen typischer Antipsychotika (Weiden, 2007). Häufige Nebenwirkungen sind Schlaflosigkeit, Unruhe, Angstzustände und Kopfschmerzen. Risperidon besitzt eine kurze Halbwertszeit von 3 h und wird unter Beteiligung von CYP2D6 und CYP3A4 metabolisiert. Über CYP2D6 wird der aktive Metabolit 9-Hydroxyrisperidon

gebildet. Beide Substanzen bilden im Plasma die aktive Fraktion, die bei 20 bis 60 ng/ml im therapeutisch üblichen Bereich liegt. Der Metabolit besitzt mit 24 h eine längere Halbwertszeit und ist seit Sommer 2007 als Antipsychotikum unter dem Namen Paliperidon auf dem Markt. Er zeigt ein vergleichbares Rezeptorprofil wie Risperidon, führt jedoch aufgrund der langen Halbwertszeit und der speziellen Galenik des Fertigarzneimittels als OROS[®]-Tablette, einem patentierten System zur retardierten Freisetzung des Wirkstoffs aus einer oralen Arzneiform, zu ausgeglichenen Plasmaspiegeln. Somit kommt es nicht zu Spiegelspitzen, die für Nebenwirkungen verantwortlich sind. Paliperidon unterliegt keinem ausgeprägten hepatischen Metabolismus, so dass das Risiko für pharmakokinetische Interaktionen mit anderen Arzneimitteln als gering angesehen werden kann (Kramer, et al 2007).

1.1.2.1.3 Antipsychotika der dritten Generation

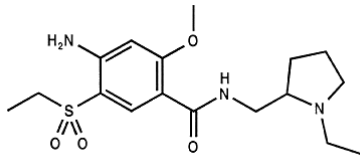
Aripiprazol

Aripiprazol, CCOC1CCN(C1)C2=CC=C(C=C2)Cl-3,4-dihydro-2(1H)-chinolinon, wurde im Juni 2004 als atypisches Antipsychotikum in Deutschland für die Behandlung der Schizophrenie zugelassen, in den USA ist es zusätzlich für die Behandlung akuter manischer und gemischter Episoden im Rahmen von bipolaren Störungen im Handel. Biochemisch konnte gezeigt werden, dass Aripiprazol sich von anderen Antipsychotika durch seinen partiellen Agonismus an D₂- und D₃-Rezeptoren unterscheidet (Inoue, et al 1996; Lawler, et al 1999). Unter hyperdopaminergen Bedingungen verhält sich Aripiprazol in vivo im Rattenmodell als Antagonist am dopaminergen D₂-Rezeptor, da es z.B. durch Apomorphin induzierte Stereotypen, wie Lecken und Schnüffeln, unterdrückt (Kikuchi, et al 1995; Fujikawa, et al 1996). Unter hypodopaminergen Verhältnissen agiert es als Agonist am dopaminergen D₂-Rezeptor, wie Kikuchi und Mitarbeiter 1995 in einem Modell mit Reserpin behandelten Ratten zeigen konnten. Diese Ergebnisse des partiellen Agonismus an D₂-Rezeptoren decken sich mit in vitro Untersuchungen von Lawler (1999) und Burris (2002). Aripiprazol wird deshalb auch als „Dopamin-System Stabilisierer“ bezeichnet (Stahl, 2001 a, b). Jordan und Koautoren konnten 2002 an geklonten humanen Rezeptoren (Jordan, et al 2002 a) und an Rezeptoren der Ratte (Jordan, et al 2002 b) zeigen, dass Aripiprazol auch partielle agonistische Aktivität an 5-HT_{1A}-Rezeptoren aufweist. Weiterhin ist es ein 5-HT_{2A}-Rezeptor Antagonist (McQuade, et al 2002). Es besitzt keine nennenswerte Affinität zu anderen Neurotransmitter-Rezeptoren. Durch dieses neuartige Rezeptorprofil soll Aripiprazol sowohl gegen positive als auch besser, im Vergleich zu bisherigen atypischen Antipsychotika, gegen

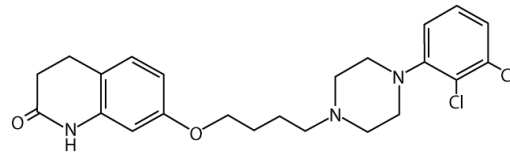
negative Symptome der Schizophrenie und Kognitionsbeeinträchtigungen wirken, sowie ein geringes Nebenwirkungsprofil aufweisen. Extrapiramidalmotorische Nebenwirkungen, Gewichtszunahme, Sedierung, Prolaktinerhöhungen oder QTc-Zeit Verlängerungen sollen unter Behandlung mit diesem Medikament, wenn überhaupt, nur gering ausgeprägt sein (Carson, et al 2000; Kane, et al 2002). Aripiprazol wird über CYP3A4 und CYP2D6 abgebaut, wobei der aktive Hauptmetabolit Dehydroaripiprazol gebildet wird. Diese Substanz zeigt dieselbe Affinität zu dopaminergen D₂-Rezeptoren, wie Aripiprazol. Die Fachinformation empfiehlt eine tägliche Dosis von 10 bis 30 mg Aripiprazol (Bristol-Myers Squibb Company, 2006). Wie hoch Plasma- und Serumkonzentrationen unter diesen Dosen sind und inwieweit therapeutische Effekte und Nebenwirkungen von Aripiprazol- und Dehydroaripiprazolspiegeln abhängen ist noch nicht untersucht worden.

1.1.2.1.4 Kontrollsubstanz Domperidon

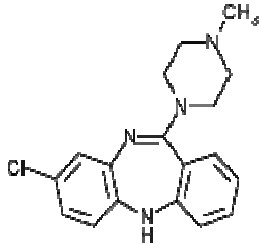
Für die Untersuchungen in dieser Arbeit wurde als Kontrollsubstanz Domperidon gewählt. Das Benzimidazol ist ebenfalls ein Antagonist an dopaminergen D₂-Rezeptoren, es wirkt jedoch aufgrund seiner hohen Affinität zu dem Effluxtransporter P-Glykoprotein (P-gp) in der Blut-Hirn-Schranke nur peripher (Schinkel, et al 1996). Domperidon löst in klinisch üblichen Dosen somit keine zentralnervösen Nebenwirkungen aus und wird als peripher wirksames Prokinetikum eingesetzt (Tsuji-kawa, et al 2003). In einer Studie führte es in Dosen von 20, 40 und 80 mg/kg bei P-gp defizienten *mdr1a(-/-)* Mäusen zu motorischen Nebenwirkungen, wie dem Fehlen spontaner Bewegungen (Schinkel, et al 1996). Bei gleichzeitiger Gabe des P-gp-Inhibitors Cyclosporin A wurden in Mäusen erhöhte Domperidonkonzentrationen im Gehirn sowie Katalepsie beobachtet (Tsuji-kawa, et al 2003). Aufgrund dieser Ergebnisse erscheint Domperidon als geeignete Kontrollsubstanz für die Untersuchungen in der vorliegenden Arbeit.



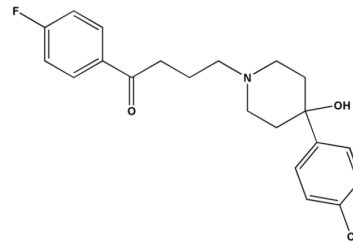
Amisulprid



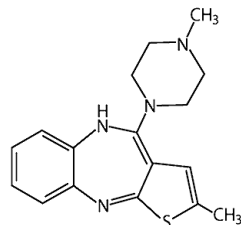
Aripiprazol



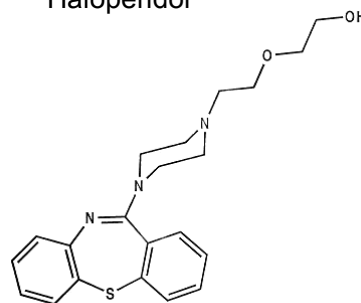
Clozapin



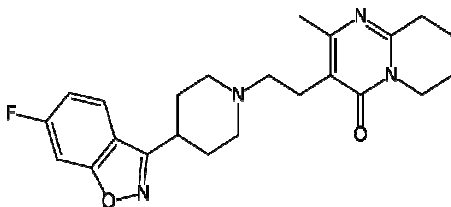
Haloperidol



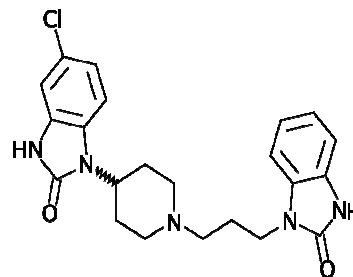
Olanzapin



Quetiapin



Risperidon



Domperidon

Abbildung 1.2: Strukturformeln, der in dieser Arbeit untersuchten Antipsychotika und der nicht antipsychotisch wirksamen antidopaminergen Kontrollsubstanz Domperidon.

1.2 Extrapyramidalmotorische Symptome als typische Nebenwirkung der Antipsychotika

Durch eine verminderte dopaminerge Aktivität im Striatum, ausgelöst durch den D₂-Rezeptor Antagonismus der Antipsychotika, kommt es, ähnlich wie bei Morbus Parkinson, zu einer Enthemmung der cholinergen Interneurone (Abbildung 1.3). Eine ebenfalls resultierende

erhöhte Aktivität GABAerger Neurone führt zu einer vermehrten Hemmung im Thalamus, die eine verminderte Aktivität glutamaterger Neurone, die zum Kortex projizieren zur Folge hat, so dass die Filterfunktion des Thalamus für sensomotorische Meldungen zum Kortex verstärkt wird und zu Parkinson-ähnlichen Symptomen führt (Aktories, et al 2005). Farde und Mitarbeiter konnten 1992 zum ersten Mal einen quantitativen Zusammenhang zwischen zentraler dopaminergem D₂-Rezeptor-Blockade durch Antipsychotika und EPS beim Menschen mittels einer PET-Untersuchung zeigen. Eine Rezeptorbesetzung von mehr als 80 % ist mit erhöhtem Auftreten von EPS verbunden (Farde, et al 1992; Kapur, et al 2000). Wadenberg und Mitarbeiter (2000; 2001) konnten zeigen, dass ein kataleptischer Zustand bei Nagern ebenfalls bei einer dopaminergen D₂-Rezeptorbesetzung von mehr als 80 % als Schwellenwert ausgelöst wird, und dass die Mechanismen für diese Nebenwirkung zwischen den Spezies somit vergleichbar sind. Der Zusammenhang zwischen Katalepsie und Rezeptorblockade korrelierte signifikant sowohl über die Zeit als auch über die Dosis (Wadenberg, et al 2000). Durch die ursprüngliche Hypothese, dass antipsychotische Aktivität eng mit EPS einhergeht, wurde der Test auf Katalepsie bei Ratten und Mäusen in Screeningtests als Prädiktor für die antipsychotische Wirkung beim Menschen gesehen (Worms und Lloyd, 1979). Heute gilt er als valide Vorhersage für das Auftreten von EPS Nebenwirkungen in der antipsychotischen Therapie. Als Maß für die Intensität der Katalepsie gilt die Zeit, die das Tier in einer für es ungewöhnlichen Position verbleibt. Trotz des intensiven und langen Einsatzes dieses Tests in der Arzneimittelforschung gibt es keine einheitlichen Methodik- und Beurteilungsvorgaben (Sanberg, et al 1988). Zentral wirksame Medikamente beeinflussen jedoch auch die Motorik in Dosen die nicht EPS oder Katalepsie auslösen. Hierbei spielt in Hirnregionen, die für den Bewegungsbeginn, die Zeit in Bewegung und die horizontale Wegstrecke zuständig sind, ebenfalls der dopaminerge D₂-Rezeptor eine wesentliche Rolle (Kelly, et al 1998). Als Test für Motoroordination bei Nagern gilt das Rotarod als gut etablierte Methode. Ahlenius und Hillegaard (1986) zeigten, dass sowohl Katalepsie als auch Beeinträchtigungen auf dem Rotarod auf dopaminerge Beeinflussung in derselben Hirnregion zurückgeführt werden können. Auf dem akzelerierenden Rotarod können nach Jones und Roberts (1969) auch Effekte bei niedrigeren Dosen zentral aktiver Substanzen erkannt werden im Vergleich zu einem Rotarod mit gleich bleibender Geschwindigkeit, ebenso sei die Leistung medikamentennaiver Mäuse auf einem Rotarod mit linearer Beschleunigung sehr viel konstanter.

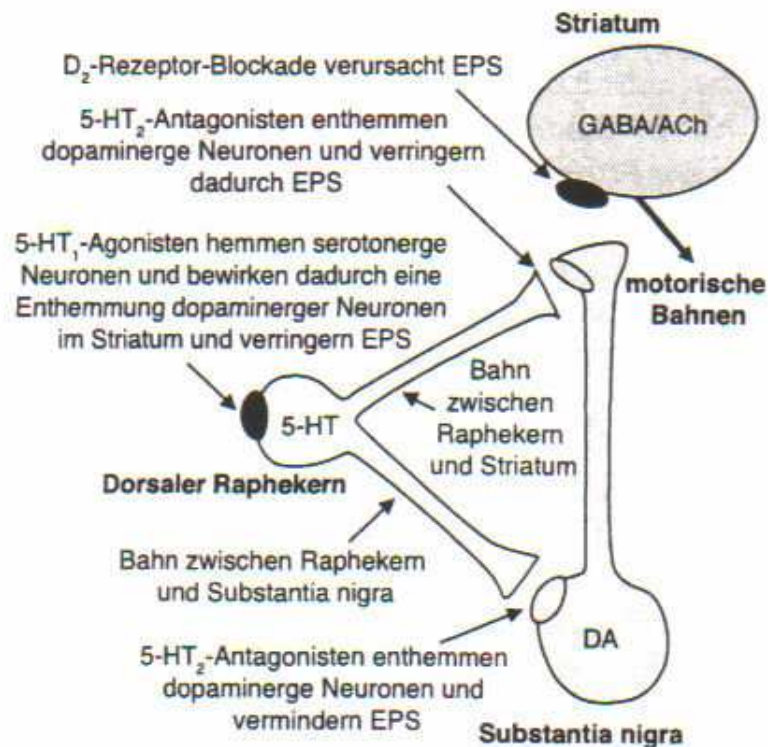


Abbildung 1.3: Schematische Darstellung der funktionellen Wechselwirkungen zwischen dem dopaminergen und dem serotonergen System, die die Induktion von EPS durch Antipsychotika beeinflussen (Lieberman, 2004)

1.3 Kognition

Gedächtnisstörungen bei schizophrenen Patienten unterscheiden sich von Kognitionseinschränkungen bei Patienten mit Morbus Alzheimer. Bei der Schizophrenie liegt eine Dysfunktion der Neurone vor, keine Neuronendegeneration oder Verminderung der Neuronenaktivität (Tamminga, 2006). Die daraus resultierenden Beeinträchtigungen lassen sich in sieben Gruppen einteilen. Dies sind: verbales Lernen und Gedächtnis, Verarbeitungsgeschwindigkeit, Arbeitsgedächtnis, logisches Denken und Problemlösung, Aufmerksamkeit und Wachsamkeit, räumliches Lernen und Gedächtnis und soziales Lernen (Nuechterlein, et al 2004). Störungen des Gedächtnisses treten schon zu Beginn der Erkrankung auf bevor positive Symptome in den Vordergrund treten. Auch konnte gezeigt werden, dass positive Symptome und Störungen der Kognition unabhängig voneinander sind und nicht korrelieren (Gold, 2004). Die kognitive Leistung liegt in verschiedenen Tests bei schizophrenen Patienten im Mittel ein bis zwei Standardabweichungen unter der Leistung von gesunden Kontrollen (Kasper und Resinger, 2003). Da diese Funktionen eng mit dem

beruflichen und sozialen Funktionsniveau der Patienten assoziiert sind, spielen sie für den Langzeitverlauf der Erkrankung eine bedeutende Rolle (Green, et al 2004; Green, 2007).

Viele Hirnregionen sind an kognitiven Funktionen, die bei der Schizophrenie beeinträchtigt sein können, beteiligt. Für das deklarative Gedächtnis spielen der präfrontale, der parietale und der anteriore cinguläre Kortex, der Hippocampus und die Basalganglien eine wichtige Rolle. Lern- und Gedächtnissysteme und Regionen, die für Exekutivfunktionen, sowie Aufmerksamkeit zuständig sind, liegen hauptsächlich im präfrontalen und anterioren cingulären Kortex, sowie im medialen Temporallappen (Tamminga, 2006).

Vor allem das glutamaterge, cholinerge und dopaminerge System sind an kognitiven Funktionen beteiligt, serotonerge und GABA-Rezeptoren spielen ebenfalls eine Rolle. Die genauen Mechanismen, die an kognitiven Funktionen beteiligt sind, und wie Störungen der Kognition durch Medikamente behoben werden können, ist unklar. Die nach derzeitigem Kenntnisstand wichtigsten Neurotransmittersysteme, sowie eventuelle Angriffspunkte für eine Pharmakotherapie werden im Folgenden kurz beschrieben.

Dopamin

Dopaminerge D₁-Rezeptoren kommen im Gegensatz zu D₂-Rezeptoren in großer Dichte im präfrontalen Kortex vor. mRNA von D₂-ähnlichen Rezeptoren wurde vor allem im Hippocampus gefunden, mRNA von D₁-ähnlichen Rezeptoren jedoch kaum (Von Huben, et al 2006; Tamminga, 2006). Goldman-Rakic und Mitarbeiter (2004) konnten zeigen, dass D₁-Rezeptoren im präfrontalen Kortex für das Arbeitsgedächtnis wichtig sind und Agonisten die Leistung im Tierversuch verbessern. Diese Substanzen haben starke hypotensive Eigenschaften, so dass sie sich nicht für den Einsatz beim Menschen als Medikamente zur Kognitionsverbesserung eignen.

Serotonin

Durch Blockade von serotonergen 5-HT_{2A}-Rezeptoren und schwache Blockade der D₂-Rezeptoren wird ebenfalls die Freisetzung von kortikalem Dopamin erhöht (Westerink, et al 2001). Der Effekt wird von der Aktivität serotonerger 5-HT_{1A}-Rezeptoren mit beeinflusst (Ichikawa, et al 2001). 5-HT_{1A}-Rezeptoren kommen auch im Hippocampus vor und werden mit dem deklarativen Gedächtnis in Zusammenhang gebracht. Für Antagonisten und partielle Agonisten wurde ein positiver Effekt auf die Kognition beobachtet (Tamminga, 2006). 5-HT_{1A}- zusammen mit 5-HT_{2A}-Rezeptoren modulieren neben Dopamin auch die Freisetzung von Glutamat von Pyramidenneuronen des frontalen Kortex.

5-HT₆-Rezeptoren, die bislang wenig untersucht sind, kommen in großer Zahl im Neokortex, limbischen System und dem Hippocampus vor. Inverse Agonisten an diesem Rezeptor, wie Clozapin und Olanzapin erhöhen die Acetylcholin-Freisetzung und sollen somit eventuell auch bei kognitiven Störungen der Schizophrenie positive Effekte haben.

Glutamat

Glutamat ist an der Langzeit-Potenzierung beteiligt und scheint somit an der Neuronenplastizität und spezifischen Mechanismen der Kognition beteiligt zu sein. Geringe Aktivierung der NMDA-abhängigen Glutamattransmission scheint die Kognition positiv zu beeinflussen, stärkere synaptische Aktivierung führt jedoch zu Neuronendegeneration (Tamminga, 2006).

Acetylcholin

Auch Acetylcholin-Rezeptoren spielen eine bedeutende Rolle bei Kognitionsvorgängen. **Nicotinerge Acetylcholin-Rezeptoren** liegen in hoher Dichte im Hippocampus vor und scheinen wichtig für dessen Aktivität zu sein. Jedoch zeigte eine klinische Studie, dass Nicotin nur bei einmaliger Gabe die Kognition verbesserte (Tamminga, 2006).

Auch **muskarinische Acetylcholin-Rezeptoren**, die vor allem im basalen cholinergen Komplex und um den Nukleus in der kortikalen Meynert-Bahn vorkommen, sind an Lernvorgängen beteiligt. Über die Meynert-Bahn wird Acetylcholin zum Neokortex gebracht. Bei Alzheimer Patienten liegen Störungen in dieser Bahn vor, die durch die Gabe von Acetylcholinesterase-Hemmern vermindert werden. Bei schizophrenen Patienten ist die Anzahl muskarinischer Acetylcholin-Rezeptoren im präfrontalen Kortex vermindert, Acetylcholinesterase-Hemmer haben nur einen leichten positiven Effekt bei schizophrenen Patienten (Tamminga, 2006).

Die beschriebenen Neurotransmittersysteme, insbesondere das dopaminerge und serotonerge System werden von Antipsychotika beeinflusst. Klinische Studien zeigen, dass atypische Antipsychotika, die auf mehrere Transmittersysteme wirken, bessere Effekte auf die Kognition haben als typische Antipsychotika (Keefe, et al 1999; Meltzer und McGurk, 1999; Harvey und Keefe, 2001). Der Effekt in vielen dieser Studien ist jedoch gering und deren Durchführung nicht immer optimal. Patienten werden häufig in der Anfangsphase auf typische Antipsychotika eingestellt, um den Ausgangswert der kognitiven Leistung zu testen, nach Umstellung auf ein atypisches Antipsychotikum wird die Testung unter diesem

Medikament wiederholt. Hierbei wird jedoch der Wiederholungseffekt nicht berücksichtigt. Patienten haben bei der zweiten Testung bereits eine gewisse Übung, die Situation ist ihnen nicht mehr fremd und die Aufmerksamkeit und Motivation daher oft größer. Bei gesunden Probanden wird allein bei einer solchen Wiederholung des Tests eine Verbesserung von einer halben bis ganzen Standardabweichung beobachtet (Carpenter und Gold, 2002). Eine neue Studie zeigte für die atypischen Antipsychotika Olanzapin und Risperidon keine Verbesserung in verschiedenen neurokognitiven Tests, die über die bei gesunden Kontrollen durch den Wiederholungseffekt beobachtete Verbesserung hinausgeht (Goldberg, et al 2007). Die Dosis der als Referenzsubstanz eingesetzten typischen Antipsychotika ist oft relativ hoch, so dass Nebenwirkungen, wie verminderte Motivation und Wachheit sowie Verlangsamung, die Testung beeinflussen können; ebenso werden häufig anticholinerge Komedikamente zur Linderung der Nebenwirkungen gegeben, die sich ebenfalls negativ auf die Kognition auswirken. Neuere Studien, die eine geringere jedoch therapeutisch übliche Dosis der typischen Referenzmedikamente einsetzen, konnten keine Überlegenheit der atypischen Antipsychotika beobachten (Geddes, et al 2000; Green, et al 2002; Keefe, et al 2007). Es wird daher diskutiert, inwieweit Nebenwirkungen bei typischen Antipsychotika bzw. diese Medikamente selbst die Ergebnisse negativ beeinflussen, so dass häufig keine Verbesserung zum Ausgangswert eintritt, wie sie allein durch den Wiederholungseffekt zu erwarten wäre; atypische Antipsychotika somit jedoch durch ein Fehlen dieser Nebenwirkungen im Vergleich mit den eingesetzten typischen Antipsychotika positiver in der Testung abschneiden ohne einen direkten Effekt auszuüben (Green, et al 2002; Carpenter und Gold, 2002).

Im Tiermodell wird häufig die Morris Water Maze eingesetzt, um Lernen und Gedächtnis von Nagern unter dem Einfluss von Medikamenten zu untersuchen. In diesem Test zur Überprüfung des räumlichen Lernens soll das Tier eine Plattform in einem Wasserbecken suchen und sich durch optische Hinweise orientieren (Morris, 1984). Hierbei ist insbesondere der Hippocampus von Bedeutung. Nager mit Läsionen in diesem Gehirnbereich sind unfähig den Test erfolgreich auszuführen (Morris, 1982). Ein weiterer Test zur Untersuchung des räumlichen Lernens und Gedächtnisses bei Nagern ist die Radial-Arm Maze (Olton und Samuelson, 1976). Das natürliche Verhalten der Tiere sich Orte mit Futter räumlich zu merken und wieder zu finden wird hierbei ausgenutzt. Der Testaufbau ist variabel, häufig gehen von einem Zentrum sternförmig Gänge ab, an deren Ende sich Futter oder Wasser befindet. Zur Erfüllung der Aufgabe ist die Funktion des Hippocampus und des frontalen Kortex von entscheidender Bedeutung. Der Test ermöglicht die Differenzierung von Arbeits- und Referenzgedächtnis, indem zum einen beobachtet wird, wie häufig Nager wiederholt in

einen Arm laufen, in dem sie schon einmal waren, und zum anderen, ob sie in Arme laufen, die nie Belohnungen enthalten. Ein Nachteil dieses Tests ist, dass Nagetiere Futter oder Wasser depriviert sein müssen, um die nötige Motivation zur Erfüllung des Tests zu besitzen. Auch können Gerüche von Futter oder anderen Tieren, die zuvor in der Maze waren, den Weg der Tiere beeinflussen. Bei der Morris Water Maze besteht dieses Problem nicht und die Motivation wird durch die natürliche Aversion von Nagetieren gegenüber Wasser erzeugt. Somit können Untersuchungen in der Morris Water Maze im Gegensatz zur Radial Arm Maze mehrmals nacheinander durchgeführt werden.

Burescova und Mitarbeiter (1985) entwickelten eine Kombination aus beiden Tests, die Radial Maze in einem Wasserbecken. Diese wurde später weiterentwickelt zur „Water Version of the radial-arm maze“ (Hyde, et al 1997). Die Methode verbindet die Vorteile der Morris Water Maze mit der Möglichkeit das Arbeits- und Referenzgedächtnis bei räumlichem Lernen auf einfache Weise bei Nagetieren zu untersuchen.

1.4 Therapeutisches Drug Monitoring (TDM)

Mit Hilfe des Therapeutischen Drug Monitorings lässt sich durch analytische Bestimmung eines Plasma- oder Serumspiegels in einem Patienten und der aus dem Ergebnis abgeleiteten Dosisfortsetzung, ein gewünschter, therapeutisch günstiger Effekt erzielen. Somit dient TDM der Dosisindividualisierung (Baumann, et al 2004).

Das Therapieansprechen unter Antipsychotikabehandlung ist trotz Einführung der atypischen Antipsychotika unbefriedigend. 20 % bis 30 % der schizophrenen Patienten sprechen auf die Medikation nicht an (Conley und Buchanan 1997) oder Nebenwirkungen, wie EPS, erschweren die Behandlung. Dies führt oft zu Dosisänderungen, Medikamentenwechsel und Kombinationsbehandlungen (Hiemke, 2004 a). Ursachen können pharmakokinetische oder pharmakodynamische Gründe sein, doch auch die Compliance ist bei 20 % bis 80 % der psychiatrischen Patienten unzureichend. Durch TDM kann die Einnahme der Medikamente überprüft werden und individuelle pharmakokinetische Besonderheiten aufgedeckt werden. Weiterhin soll das Therapieansprechen verbessert und das Auftreten von Nebenwirkungen, wie EPS, vermieden werden (Baldessarini, et al 1988), indem Patienten auf Spiegel eines definierten therapeutischen Fensters oder Zielbereiche von Blutspiegeln, die im Mittel bei therapeutischen Dosen erreicht werden, eingestellt werden.

Verschiedene Studien konnten mittels Bildgebung (Farde, et al 1992) und in Tieruntersuchungen (Aravagiri, et al 1999) zeigen, dass Gehirnspiegel, die für die Wirkung essentiell sind, besser mit Blutspiegeln als mit der Dosis korrelieren. Farde (1988)

beobachtete, dass Antipsychotika in klinischen Dosen eine mit PET messbare Blockade der dopaminergen D₂-Rezeptoren im Gehirn verursachen. Weitere PET-Studien zeigten deutlich den Zusammenhang zwischen dopaminergem D₂-Rezeptorblockade und der therapeutischen Wirkung von atypischen Antipsychotika (Kapur, et al 2001; Seeman, et al 2002; Gründer, et al 2003). Blutspiegel sind jedoch nach Gabe einer festen Dosis hoch variabel zwischen Patienten (Hiemke, et al 2004 b) und können somit durch die Dosis nicht vorhergesagt werden. Gründe hierfür sind interindividuelle Variationen im Metabolismus durch hepatische und extrahepatische Enzyme, Transporter, die die Absorption, die Distribution, den Metabolismus und die Elimination beeinflussen, und Complianceprobleme. Für Amisulprid, das nahezu ausschließlich renal ohne vorherige hepatische Metabolisierung eliminiert wird (Curran und Perry 2001), wurden ebenso starke Variationen im Blutspiegel beobachtet, wie bei Antipsychotika, die einer ausgeprägten hepatischen Elimination unterliegen (Hiemke, et al 2004 b). Somit scheinen vor allem Unterschiede bei Transportern bei der individuellen Verteilung von Medikamenten im Körper eine große Rolle zu spielen. Doch auch zwischen Blutspiegeln und korrespondierender dopaminergem D₂-Rezeptorbesetzung, wie für Amisulprid (Vernaleken, et al 2004; Gründer, et al 2003), Aripiprazol (Yokoi, et al 2002) und Olanzapin (Kapur, et al 1998) gezeigt, treten hochvariable Schwankungen zwischen Patienten auf. Diese Variation ist am ehesten durch die unterschiedliche Durchlässigkeit der Blut-Hirn-Schranke zu erklären, die, wie im Folgenden beschrieben, in hohem Maß ebenfalls von Transportern abhängig ist. TDM ist somit zur schnellen und leicht zugänglichen Bestimmung des Arzneimittelspiegels im Körper, insbesondere zur Überprüfung der Compliance, bei Nebenwirkungen und Kombinationsbehandlungen sinnvoll. Auch regelmäßige Verlaufskontrollen zur Vermeidung von Rückfällen, deren Risiko beim Absinken von Plasmaspiegeln dramatisch zunimmt (Gaertner, et al 2001) sind von großem Nutzen. Doch die Untersuchung und Berücksichtigung von Transportmechanismen insbesondere in der Blut-Hirn Schranke, die den Wirkort vom Blut trennt, ist für das weitere Verständnis der Verteilungsvorgänge und zur Therapieoptimierung unerlässlich.

1.5 Blut-Hirn-Schranke

Das Zentrale Nervensystem (ZNS) ist vor endogenen und exogenen Stoffen, die aus dem Blut in dieses Kompartiment gelangen könnten, durch die Blut-Hirn-Schranke und die Blut-Cerebrospinalflüssigkeits-Schranke gut geschützt. Die Homöostase im ZNS und insbesondere im Gehirn wird somit aufrechterhalten. Anfang des 20. Jahrhunderts konnten Paul Ehrlich und sein Schüler Edwin Goldmann die Existenz einer Barriere zwischen dem Blutkreislauf und

dem ZNS zum ersten Mal zeigen. Bei Ratten, denen Anilin-Farbstoffe ins Blut injiziert wurden, färbten sich alle Organe mit Ausnahme des Gehirns. Bei Injektion der Farbstoffe ins Rückenmark wurde nur das ZNS gefärbt, der restliche Körper nicht. Diese Barriere wird durch die Endothelzellen der Blutkapillaren im Gehirn gebildet. Sie liegen eng beieinander und Tight junctions (Zonulae occludentes) verhindern den Stoffaustausch zwischen den Kompartimenten. Endothelzellen im Choroid Plexus sind von einer durchgehenden Schicht epithelialer Zellen umgeben, die ebenfalls den parazellulären Stoffaustausch weitgehend verhindern (Sun, et al 2003; Johanson, et al 2005). Nur kleinere lipophile Substanzen können die Zellen durch transzelluläre Passage durchdringen, doch auch weitere Mechanismen beeinflussen den Stofftransport (Abbott und Romero, 1996). Dies sind insbesondere Auswärtstransporter in den Membranen der Endothelzellen, die die Blutkapillaren umgeben. Bislang ist messenger RNA (mRNA) von 15 Transportern, wie Organischen Anionentransportern (OAT), Multidrug Resistenz assoziierten Proteinen (MRP), Multidrug Resistenz Proteinen (MDR), Organischen Anionen Transportierenden Polypeptiden (OATP), Organischen Kationentransportern (OCT), Konzentrativen Natriumabhängigen Nucleosidtransportern (concentrative Nucleotidtransporter; CNT) und Adenosin Transportern (equilibrativen Nucleosidtransportern; ENT) in der Blut-Hirn Schranke gefunden worden (Bauer, et al 2005). Auf der luminalen Seite sind die für den Medikamententransport wichtigen ATP-abhängigen Transporter P-Glykoprotein (P-gp), *Breast Cancer Resistance Protein* (BCRP), MRP2 und MRP4, sowie OATP2 lokalisiert. Auch auf der basolateralen Seite befinden sich Proteine, die Arzneistoffe aus dem Gehirn heraustransportieren. Dazu gehören MRP1, OATP2 und OAT3 (Bauer, et al 2005) (Abbildung 1.4). P-gp gilt zurzeit als einer der wichtigsten Transporter für Arzneimittel in der Blut-Hirn-Schranke und spielt auch bei der Elimination von psychotropen Substanzen aus dem Gehirn eine große Rolle (Linnet und Ejsing, 2007). Im folgenden Kapitel wird auf dieses Protein deshalb näher eingegangen.

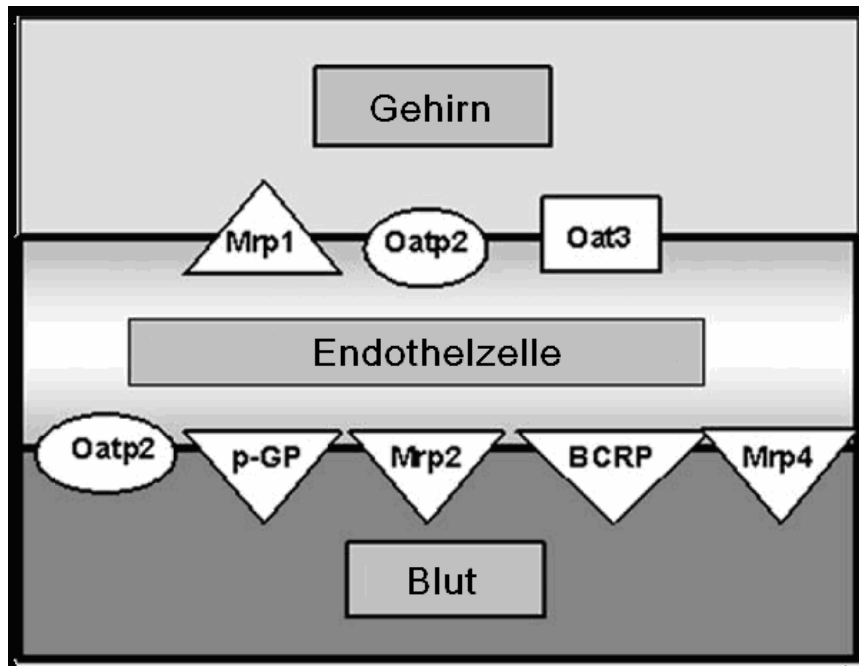


Abbildung 1.4: Einige wichtige Transporter in der Blut-Hirn-Schranke von denen die Lokalisation in den Endothelzellen bekannt ist (nach Bauer, et al 2005).

1.5.1 P-Glykoprotein (P-gp, ABCB1)

1976 entdeckten Juliano und Ling in Colchicin resistenten Zellen von Ovarien des chinesischen Hamsters ein Glykoprotein von 170000 Dalton, das in nicht resistenten Wildtyp Zellen nicht vorhanden war. Die Menge des Proteins korrelierte mit dem Ausmaß an Medikamentenresistenz. Da das Glykoprotein mit einer veränderten Permeabilität in den mutierten Zellen assoziiert war, nannten sie es P-Glykoprotein. Bereits 1973 war von Dano zum ersten Mal ein aktiver auswärtsgerichteter Transport von Daunomycin aus resistenten Ehrlich Tumorzellen berichtet worden.

P-gp gilt zurzeit als einer der wichtigsten Effluxtransporter für Arzneistoffe. Es wird in vielen Blut-Gewebeschränken exprimiert. Thiebaut (1987) lokalisierte es in den Gallenkanälchen zwischen Leberhepatozyten und auf der apikalen Seite von Epithelzellen in den kleinen Leberkanälen und Pankreaskanälen, in der Niere auf der apikalen Seite der Epithelzellen des Proximalen Tubulus und im Kolon und Jejunum auf der apikalen Oberfläche der Darmepithelzellen. Diese Ergebnisse zeigen, dass P-gp an der Sekretion von Substraten in die Galle, Urin und in den Darm beteiligt ist. Weiterhin ist es an der luminalen Membran der Endothelzellen der Kapillaren der Blut-Hirn-Schranke, und in Zellen der Blut-Testes-Schranke und Plazenta zu finden (Cordon-Cardo, et al 1989, Lin 2003, Tanabe, et al 2001).

Das Glykoprotein besteht aus 1280 Aminosäuren und gehört zur ATP-binding cassette (ABC) Superfamilie. Bis heute konnten 49 Mitglieder der humanen ABC-Familie identifiziert werden, die in sieben Untergruppen, ABCA bis ABCG, differenziert werden (Higgins 1992; Dean, et al 2001; Giardin 2006). Es sind membranständige Proteine, die ihre Energie zum Transport von Stoffen, oft gegen einen hohen Konzentrationsgradienten, durch Hydrolyse von ATP beziehen (Horio, et al 1988). Typische ABC Transporter, wie auch das P-gp, bestehen aus zwei Transmembrandomänen, welche die Membran sechsfach durchlaufen und die durch ihre unterschiedliche Aminosäuresequenz für die Substratspezifität verantwortlich sind. Diese bilden einen Kanal durch den Substrate transportiert werden. Zwei Nukleotidbindungsstellen, die an der zyttoplasmatischen Seite der Membran lokalisiert sind, enthalten die Walker A und B Motive, die für die Bindung von Adenosintriphosphat (ATP) und dessen Hydrolyse essentiell sind. Ein zusätzliche C Signatur spielt ebenfalls eine Rolle bei der ATP-Hydrolyse (Deeley 2006, Stefkova 2004) (Abbildung 1.5).

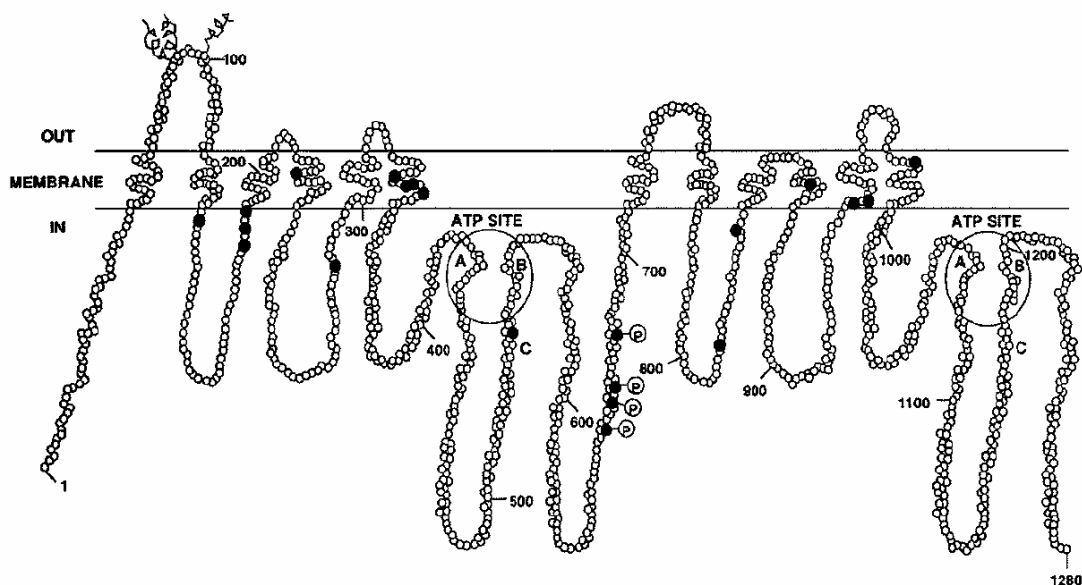


Abbildung 1.5: Struktur des P-gp mit zwei homologen Hälften, die aus je sechs Transmembranhelices und einer Nukleotidbindungsdomäne bestehen (Ambudkar, et al 1999).

P-gp ist das Produkt des MDR1 Gens (Ueda, et al 1986), das beim Menschen auf Chromosom 7, Bande 7q21.1 liegt (Callen, et al 1987); Mäuse besitzen zwei Gene, *mdr1a*, das auch als *mdr3* bezeichnet wird und *mdr1b*, ein weiterer Name ist *mdr1*, die auf Chromosom 5 liegen (Borst, et al 1994; Devault und Gros, 1990). *Mdr1a* ist vor allem an der Expression von P-gp in intestinalen Epithelzellen, der Blut-Hirn-Schranke und der Blut-Testes-Schranke beteiligt, *mdr1b* hauptsächlich an der Expression in der Nebenniere und den Ovarien (Schinkel, et al

1997). Es wird angenommen, dass die funktionellen Proteine der Maus vergleichbar sind mit dem menschlichen P-gp (Bosch und Croop, 1998).

Im MDR1 Gen des Menschen wurden verschiedene Single Nucleotide Polymorphismen (SNPs) identifiziert, die mit der Expression von P-gp und verschiedenen Konzentrationen von Substraten, wie z.B. Digoxin, im Plasma assoziiert sind (Hoffmeyer, et al 2000). Doch auch Inhibitoren, wie Verapamil, oder Induktoren, wie Johanniskraut, können die Pharmakokinetik komedizierter Arzneistoffe über die Funktion von P-gp verändern (Nakagami, et al 2005; Pfrunder et al 2003). Da neben Immunsuppressiva, wie Cyclosporin A, kardialen Wirkstoffen, wie Digoxin, Steroiden, wie Dexamethason, und vielen anderen peripher wirkenden Arzneistoffen auch ZNS-wirksame Medikamente Substrate von P-gp sind, die für ihre Wirkung über die Blut-Hirn-Schranke gelangen müssen, kommt dem Transporter gerade hier eine besondere Bedeutung in der Psychopharmakotherapie zu. Uhr und Mitarbeiter (2000; 2003) konnten für einige Antidepressiva, wie Amitriptylin und Citalopram, Substrateigenschaften nachweisen, indem sie Konzentrationen der Arzneistoffe in Gehirn und Blut von *mdr1a/1b* Doppelknockout Mäusen von Schinkel (1997) im Vergleich zu Wildtyp (WT) Mäusen verglichen. Auch andere Arbeitsgruppen zeigten im Tiermodell oder *in vitro*, dass Antipsychotika, wie Amisulprid (Abou El Ela, et al 2004; Schmitt, et al 2006) und Risperidon (Wang, et al 2004; Doran, et al 2005) Substrate des Effluxtransporters sind, dass Clozapin (Doran, et al 2005; Maines, et al 2005; Henning, et al 2002; Abou El Ela, et al 2004) nicht transportiert wird, im Gegensatz zu seinem aktiven Metaboliten N-Desmethylclozapin (Abou El Ela, et al 2004) und dass Haloperidol, wenn überhaupt, nur ein schwaches Substrat ist (Schinkel, et al 1996; Doran, et al 2005). Für Quetiapin gibt es widersprüchliche Ergebnisse, Boulton (2002) identifizierte es als gutes Substrat, Grimm (2006) und Abou El Ela (2004) fanden keine Bestätigung, dass das Antipsychotikum von P-gp transportiert wird. Auch bei Olanzapin ist die Datenlage unklar. Wang und Mitarbeiter (2006) fanden 1 h nach Gabe des Antipsychotikums unterschiedliche Konzentrationen in Gehirnen von P-gp Knockout und WT Mäusen, Abou El Ela (2004) und Boulton (2002) sahen keine eindeutigen Ergebnisse für Substrateigenschaften in ihren Studien. Aripiprazol und sein aktiver Metabolit Dehydroaripiprazol sind noch nicht auf ihre Affinität zu P-gp untersucht worden.

Welche Auswirkungen Substrateigenschaften von Antipsychotika für die Therapie der Schizophrenie haben wurde bislang erst in wenigen Studien untersucht. Nach Hoffmeyer (2000) und Tanabe (2001) ist die P-gp Expression im Mensch niedriger, wenn ein TT-Genotyp bei den zur Zeit häufig untersuchten und mit der P-gp Expression in Zusammenhang gebrachten SNPs C3435T in Exon 26 und G2677T in Exon 21 vorliegt und höher, wenn C

bzw. G im SNP vorhanden sind. Bozina und Mitarbeiter (2006) untersuchten in einer Studie mit schizophrenen Patienten, die mit Olanzapin behandelt wurden inwieweit die beiden SNPs assoziiert sind und welchen Einfluss sie auf die Therapie haben. Sie fanden eine signifikante Assoziation zwischen den Polymorphismen und konnten zeigen, dass ein signifikanter Zusammenhang zwischen dem TT-Genotyp im SNP G2677T in Exon 21 und der Verbesserung auf der positiven Subskala der *Positive and Negative Syndrome Scale* (PANSS) besteht. Ein Trend zeigte sich auch beim TT-Genotyp im SNP C3435T in Exon 26 und dem Therapieansprechen. Lin und Mitarbeiter (2006) untersuchten ebenfalls Patienten unter der Behandlung mit Olanzapin. Sie fanden einen Zusammenhang bei TT-Genotypen zwischen Plasmakonzentrationen von Olanzapin und einer Reduktion der positiven Symptome auf der *Brief Psychiatric Rating Scale* (BPRS). Ein Trend war ebenso für negative Symptome zu erkennen. Diese Assoziation fanden sie für die oben genannten SNPs G2677T und C3435T, sowie für C1236T, einem Polymorphismus in Exon 12. Dies ist eine stille Mutation, so dass vermutet wird, dass sie mit einem noch unbekanntem funktionellen MDR1 Polymorphismus im Zusammenhang steht (Xing, et al 2006).

Xing und Mitarbeiter untersuchten schizophrene Patienten unter der Behandlung mit Risperidon. Auch in dieser Arbeit wurden die drei oben genannten SNPs untersucht. Die Autoren fanden keinen Zusammenhang zwischen dem Therapieansprechen und den Polymorphismen C3435T und G2677T. Sie zeigten jedoch, dass der SNP C1236T in Exon 12 bei TT-Genotypen mit signifikant höherem Therapieansprechen, gemessen mit der BPRS Skala, assoziiert ist (Xing, et al 2006).

Die Ergebnisse dieser Studien stimmen mit dem Befund, dass das T-Allel in den genannten Polymorphismen mit einer geringeren Expression von P-gp assoziiert ist, gut überein. Ein daraus resultierender höherer Spiegel der Medikamente im Gehirn könnte für die klinische Verbesserung der Patienten verantwortlich sein. Jedoch sind diese Studien durch ihre geringe Zahl an Patienten limitiert und lassen aufgrund der Methodik nur vermuten, dass die beobachteten Effekte mit erhöhten Konzentrationen im Gehirn zusammenhängen. Da Konzentrationen in diesem Wirkort beim Mensch nicht gemessen werden können, kann über den genauen Zusammenhang nur spekuliert werden.

Schmitt und Mitarbeiter (2006) beobachteten einen verstärkten Effekt durch Komedikation des P-gp Inhibitors Cyclosporin A auf die Reduktion von Apomorphin-induzierter Hyperlokomotion durch Amisulprid in Ratten. Dies zeigt, dass die Beeinflussung der Expression von P-gp einen Einfluss auf die Pharmakodynamik haben könnte. Ob pharmakodynamische Veränderungen durch eine direkte Beeinflussung der P-gp Expression

und daraus resultierenden unterschiedlichen Konzentrationen von Antipsychotika im Gehirn bedingt sind, ist bislang noch nicht gezeigt worden. Diese Zusammenhänge können am besten im Tiermodell, z.B. in der *mdr1a/1b* Doppelknockout Maus, durch Konzentrationsmessungen in Geweben und Verhaltenstests untersucht werden.

1.6 Zielsetzung der Arbeit

Mit Hilfe des TDM kann die Therapie der Schizophrenie mit Antipsychotika gesteuert werden. Für das neueste Antipsychotikum Aripiprazol gab es jedoch noch keinerlei Studien über die Anwendung von TDM. In der vorliegenden Arbeit wurde als Grundlage für die Anwendung von TDM eine HPLC-Methode entwickelt, die die quantitative Bestimmung von Aripiprazol und seinem aktiven Metaboliten Dehydroaripiprazol für die Routineanwendung in Patienten ermöglicht. Es sollte ein möglicher Zusammenhang zwischen der täglichen Dosis und den Serumspiegeln beider Substanzen durch Konzentrationsmessungen von Serum schizophrener Patienten, die mit Aripiprazol in klinischen Dosen behandelt wurden, untersucht werden. Weiterhin sollte ein für die klinische Anwendung hilfreicher therapeutischer Bereich identifiziert werden, indem Zusammenhänge zwischen Serumkonzentrationen und dem therapeutischen Effekt bzw. dem Auftreten von Nebenwirkungen ausgewertet wurden.

Wie beschrieben müssen Antipsychotika, um wirken zu können, in einer bestimmten Konzentration im Gehirn vorhanden sein. Spiegel in diesem Kompartiment können beim TDM nicht betrachtet werden. Es wird jedoch vermutet, dass viele durch die alleinige Messung der Serumspiegel noch ungeklärte individuelle Unstimmigkeiten zwischen Serumkonzentrationen und dem Therapieansprechen oder Nebenwirkungen über variable Konzentrationen im Gehirn, verursacht durch Variabilitäten im Transport in dieses Kompartiment durch die Blut-Hirn-Schranke, erklärt werden können.

In der vorliegenden Arbeit wurden deshalb die wichtigsten zurzeit klinisch eingesetzten Antipsychotika in klinisch üblichen Dosen am Modell der Maus auf ihre Affinität zu P-gp, welches für den Arzneistofftransport als einer der bedeutendsten Effluxtransporter in der Blut-Hirn-Schranke gilt, untersucht. Als Kontrollsubstanz wurde in allen Versuchen Domperidon, ein bekanntes P-gp Substrat und daher nur peripher wirkender D₂-Rezeptor Antagonist (Schinkel, et al 1996), eingesetzt. Für einige Antipsychotika ist bereits ein aktiver Auswärtstransport aus Zellen oder aus dem Gehirn von Mäusen beschrieben worden, indem P-gp Knockout Mäuse mit Wildtyp (WT) Mäusen verglichen wurden. Dieser Zusammenhang sollte in der vorliegenden Arbeit genauer untersucht werden.

Durch pharmakokinetische Messungen der Hirn- und Serumkonzentrationen im Vergleich von WT und P-gp defizienten Mäusen des Stamms FVB/N wurden die Spiegel der Antipsychotika direkt im Wirkkompartiment mittels HPLC-Analyse untersucht und ermöglichten eine Identifizierung von P-gp Substraten und eine Beurteilung der Stärke der Affinität zum Effluxtransporter.

Um zu überprüfen, ob beobachtete pharmakokinetische Unterschiede zu pharmakodynamischen Auswirkungen führen, wurden Verhaltensuntersuchungen mit Mäusen unter der Behandlung mit Antipsychotika durchgeführt.

Zum einen wurden typische durch den Antagonismus an dopaminergen D₂-Rezeptoren ausgelöste motorische Nebenwirkungen betrachtet, indem ein Test auf Katalepsie und, als sensitivere Untersuchung für die Beurteilung motorischer Effekte, das Rotarod verwendet wurde. Beim Vergleich von FVB/N WT und FVB/N *mdr1a/1b*(-/-, -/-) Mäusen wurden verschiedene Dosen der Antipsychotika gegeben und pharmakodynamische Unterschiede auf dem Rotarod untersucht.

Des Weiteren wurden Effekte der Antipsychotika in verschiedenen Dosen auf Gedächtnisfunktionen und Lernen in Mäusen untersucht. Hierfür wurde die von Burescova (1985) und Hyde (1997) entwickelte Kombination von Morris Water Maze mit Radial Arm Maze, die „Radial Arm Water Maze“ (RAWM), verwendet, die eine Untersuchung des räumlichen Gedächtnisses mit Differenzierung in Referenz- und Arbeitsgedächtnis ermöglicht. Es wurde zum einen der Einfluss der Antipsychotika auf das Lernen allgemein überprüft sowie im Hinblick auf unterschiedliche P-gp Expression der Mäuse, um auch auf diesem Gebiet pharmakodynamische Veränderungen zu untersuchen. Dabei sollte auch herausgefunden werden, inwieweit sich die antipsychotische Behandlung positiv oder negativ auf die Kognition auswirkt. Antipsychotika werden diesbezüglich bei ihrem therapeutischen Einsatz unterschiedlich beurteilt. Die Durchführung dieses Tests mit Mäusen des Stamms FVB/N war aufgrund des bekannten Lerndefizits dieser Tiere in der Water Maze nicht möglich (Upchurch, et al 1988; Royle, et al 1999). Für die Untersuchung wurden deshalb FVB/N *mdr1a/1b*(-/-, -/-) Mäuse sowie zur Kontrolle FVB/N WT Mäuse mit Mäusen vom Stamm C57BL/6J gekreuzt und die F1-Generation dieser beiden Kreuzungen in der RAWM untersucht.

Die somit heterozygoten *mdr1a/1b* und wildtypischen Mäuse der F1-Generation wurden mit *mdr1a/1b* Doppelknockout und WT Mäusen des Stamms FVB/N auf ihre Expression von P-gp in der Blut-Hirn-Schranke verglichen, um die Effekte in der RAWM bei den heterozygoten Mäusen beurteilen zu können.

2 Methoden

2.1 Chemikalien

2.1.1 Arzneistoffe

9-Hydroxyrisperidon	Janssen Pharmaceutica N.V., Beerse (Belgien)
Amisulprid	Sanofi-Synthelabo GmbH, Berlin
Aripiprazol	Bristol-Myers Squibb GmbH & Co. KGaA, München
Clozapin	Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Steinheim
Domperidon	Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Steinheim
Dehydroaripiprazol	Institut für Kernchemie, Johannes Gutenberg- Universität, Mainz
Desmethylozapin	Sandoz AG, Basel (Schweiz)
Haloperidol	Janssen Pharmaceutica N.V., Beerse (Belgien)
Olanzapin	Mikromol GmbH, Luckenwalde
Quetiapin	Astra Zeneca, London (Großbritannien)
Risperidon	MP Biomedicals, Illkirch (Frankreich)
Perphenazin	Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Taufkirchen

2.1.2 Chemikalien

Acetonitril (HPLC-Qualität)	Merck KGaA, Darmstadt
Di-Kaliumhydrogenphosphat-Trihydrat	Merck KGaA, Darmstadt
Dimethylsulfoxid (DMSO)	Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Steinheim
Essigsäure	Merck KGaA, Darmstadt
Methanol (HPLC-Qualität)	Merck KGaA, Darmstadt
N,N,N,N-Tetramethylethylendiamin (TEMED)	Merck KGaA, Darmstadt
1-Propanol	Karl Roth GmbH + Co, Karlsruhe
Phosphorsäure	Merck KGaA, Darmstadt
Reinstwasser	Membrapure GmbH, Bodenheim Millipore GmbH, Schwalbach

2.1.3 Fertigarzneimittel

Forene [®] (Isofluran) Inhalationslösung	Abbott GmbH & Co. KG, Wiesbaden
Haldol Janssen [®] (Haloperidol) Ampullen	Janssen-Cilag GmbH, Neuss
Isotone Kochsalzlösung 0,9% Braun	B. Braun Melsungen AG, Melsungen
Motilium Tropfen [®] (Domperidon) Suspension	Altana Pharma Deutschland GmbH, Konstanz
Risperdal Lösung 1mg/ml [®] (Risperidon) Lösung	Janssen-Cilag GmbH, Neuss
Solian Lösung [®] (Amisulprid) Lösung	Sanofi-Aventis Deutschland GmbH, Bad Soden
Tween [®] 80 (Polysorbat 80)	Fluka-Chemie AG, Buchs (Schweiz)

2.2 Geräte und Materialien

2.2.1 Laborgeräte

Analysenwaage (MC1)	Sartorius AG, Göttingen
CCTV Kamera WV-BP330	Panasonic Deutschland, Hamburg
Gefrierschrank (economic – no frost)	Robert Bosch Hausgeräte GmbH, München
Homogenisator (Potter S)	B. Braun Biotech International GmbH, Melsungen
HPLC-Anlage (Agilent 1100 Series)	Bio-Rad Laboratories GmbH, München
HPLC-Säulen (s. Tabelle 2.2)	MZ-Analysentechnik GmbH, Mainz
Kühlschrank (Bosch automatic)	Robert Bosch Hausgeräte GmbH, München
Magnetrührer (IKAMAG [®] RCT)	IKA [®] Laborgeräte, Staufen i. Br.
pH-Meter (CG837)	SCHOTT Instruments GmbH, Mainz
Pipetten (Reference [®])	Eppendorf AG, Hamburg
RotaRod für Mäuse	TSE, Bad Homburg
Standzentrifuge (Rotina 48R)	Andreas Hettich GmbH & Co. KG, Tuttlingen
Tischzentrifuge (Biofuge pico)	Heraeus [®] Laborgeräte, Kendro Laboratory Products GmbH, Langenselbold
Ultraschallbad (Sonorex RK510S)	BANDELIN electronic · GmbH & Co. KG, Berlin

2.2.2 Verbrauchsmaterialien

Messpipetten 10 ml Costar® Stripette	Corning Incorporated, Corning, NY, USA
pH-Papier	Macherey-Nagel GmbH & Co. KG, Düren
Pasteur-Pipetten	Hirschmann Laborgeräte GmbH & Co., Eberstadt
Pipettenspitzen 2 – 200 µl (epT.I.P.S.)	Eppendorf AG, Hamburg
Pipettenspitzen 1000 µl	Sarstedt AG & Co, Nümbrecht
Reagenzgläser	Chromacol LTD, Welwyn Garden City, Großbritannien
Reagiergefäße 1,5 ml	Sarstedt AG & Co, Nümbrecht
Röhren 13 ml	Sarstedt AG & Co, Nümbrecht
Rollrandflaschen 500µl	Chromacol LTD, Welwyn Garden City, Großbritannien

2.3 Software

HPLC-Chromatogramme für die Methodenetablierung und klinische Anwendung von Aripiprazol sowie für die Kinetikuntersuchungen wurden mit der Software HP ChemStation for LC 3D (Version Rev. A.08.03 [847]) Copyright© 1990 – 2000 und HP ChemStation for LC 3D (Version Rev. A.10.02 [1757]) Copyright© 1990 – 2003 der Firma Agilent Technologies (Waldbronn) ausgewertet.

Zur automatischen Aufzeichnung der Ergebnisse auf dem Rotarod wurde das Programm TSE RotaRod V3.5 (07-2004) und V4.0 (07-2005) der Firma TSE (Bad Homburg) verwendet.

Die Versuche in der RAWM und zur Erfassung der Schwimmggeschwindigkeit wurden mit Hilfe der Software EthoVision Pro Version 3.1.16 Copyright© 1993 – 2005 der Firma Noldus Information Technology bv (Wageningen, Niederlande) aufgezeichnet und ausgewertet.

Die statistische Auswertung erfolgte mit dem Programm SPSS Version 12.0.1 Copyright© 1989 – 2003 der Firma SPSS Inc. (Chicago, USA).

2.4 Lösungen für die HPLC-Analyse

Aripiprazol wurde in 15 % Acetonitril gelöst und mit Reinstwasser und Zugabe von wenig Salzsäure auf 500 µg/ml verdünnt.

Dehydroaripiprazol wurde in 3 Teilen 1-Propanol gelöst und mit 1 Teil Reinstwasser auf 1 mg/ml verdünnt.

Domperidon wurde in 1 Teil DMSO gelöst und mit 9 Teilen Methanol zu 1 mg/ml verdünnt.

Amisulprid, Clozapin, Desmethylclozapin, Haloperidol, Olanzapin, Quetiapin, Risperidon und **9-Hydroxyrisperidon** wurden in Methanol zu Stammlösungen mit 1 mg/ml gelöst.

2.5 Lösungen zur i.p. Injektion

Zur Herstellung von Lösungen zur intra peritonealen (i.p.) Injektion der Mäuse für die Verhaltensuntersuchungen und für die Kinetikstudien wurden die Arzneistoffe wie im Folgenden angegeben zu Stammlösungen gelöst, bzw. die angegebenen Fertigarzneimittellösungen verwendet. Diese Ausgangslösungen wurden mit physiologischer Kochsalzlösung (0,9 %) weiter zu den in Tabelle 2.1 angegebenen Konzentrationen verdünnt. Fertige Injektionslösungen wurden in einem Volumen von 1 ml je Maus appliziert. Ihr pH-Wert lag in einem Bereich von 6 bis 7. Eine Hälfte der Kontrollmäuse erhielt in allen Tests physiologische Kochsalzlösung, die andere Hälfte der Tiere wurde nicht behandelt. Der im Folgenden verwendete Begriff „unbehandelte Kontrollmäuse“ bezieht sich auf alle Kontrolltiere.

2.5.1 Stammlösungen

Aripiprazol wurde in physiologischer Kochsalzlösung unter Zugabe von 0,1 % Tween 80 und etwas Essigsäure (100 %) zu einer Konzentration von 0,6 mg/ml gelöst.

Dehydroaripiprazol wurde in 1-Propanol gelöst und mit dem gleichen Volumenanteil physiologischer Kochsalzlösung zu 1 mg/ml verdünnt.

Clozapin wurde in 3 % Ethanol (96 %) angelöst und mit physiologischer Kochsalzlösung unter Zusatz von 1 % Tween 80 und etwas Salzsäure (1M) zu 1 mg/ml gelöst.

Olanzapin Schmelztabletten (Zyprexa velotab[®]) wurden in physiologischer Kochsalzlösung zu einer Konzentration von 1 mg/ml aufgelöst.

Quetiapin wurde mit physiologischer Kochsalzlösung und etwas Essigsäure zu einer Konzentration von 20 mg/ml gelöst.

2.5.2 Fertigarzneimittellösungen

Haloperidol (Haldol-Janssen[®]) Lösung (5 mg/ml)

Risperidon (Risperdal[®]) Lösung (1 mg/ml)

Amisulprid (Solian[®]) Lösung (100 mg/ml)

Domperidon (Motilium[®]) Lösung (10 mg/ml)

Diazepam (Diazepam-ratiopharm[®]) Lösung (10 mg/2ml)

Tabelle 2.1: Konzentrationen (mg/kg) der verwendeten Arzneistofflösungen zur i.p. Injektion von Mäusen

Arzneistoff	Verhaltensuntersuchungen					Kinetikstudien	
	Kata- lepsie	Rotarod		RAWM		KO	WT
	WT	KO	WT	+/-	WT		
Amisulprid	3	3	3	3	3	30	30
	10	10	10	10	10		
	30		30				
Aripiprazol	1	1	1	0,3	0,3	10	10
	5	5	5	1	1		
	10		10				
Dehydro- aripiprazol		1	1	1	1		
Clozapin		2	2	2	2	10	10
		10	10				
Haloperidol	0,3	0,3	0,3	0,1	0,1	3	3
	1		1	0,3	0,3		
	3		3				
Olanzapin		0,5	0,5	0,5	0,5	2	2
		2	2	2	2		
Quetiapin		10	10	10	10	30	30
		30	30				
Risperidon	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	3	3
	1		1	1	1		
	3		3				

Tabelle 2.1: (Fortsetzung)

Arzneistoff	Verhaltensuntersuchungen					Kinetikstudien	
	Kata- leptie	Rotarod		RAWM			
	WT	KO	WT	+/-	WT	KO	WT
Domperidon	20	20	20	20	20	50	50
	50	50	50				
	80		80				
Diazepam	3		3				
	5		5				

2.6 HPLC Methoden

2.6.1 Probenaufbereitung von Plasma und Serum zur HPLC Analyse

Die Proben wurden im Labor bei 3000 x g für 10 min zentrifugiert und das überstehende Serum im Kühlschrank bzw. Gefrierschrank bei -20 °C bis zur Analyse aufbewahrt. Unmittelbar vor der HPLC-Analyse wurden die Serumproben bei 13000 x g für 5 min zentrifugiert, um eventuelle Verunreinigungen sowie Lipide weitgehend vom Serum zu trennen.

2.6.2 Apparatur HPLC

Für die HPLC Analysen wurde eine Anlage der Agilent 1100 Serie von Bio-Rad verwendet. Diese bestand aus einem automatischen Probengeber mit Probenteller für 100 Rollrandflaschen, einem thermostatisierten Säulenraum mit elektrischem 6-Wege Schaltventil, das an den Probengeber und an zwei Pumpen angeschlossen war (Abbildung 2.1). Die erste Pumpe transportierte die Probe mit einem Spüleluenten auf die Extraktionssäule. Hier wurden weitgehend störende Plasmabestandteile, wie Proteine und Lipide, vom Analyten getrennt und zum Abfall geleitet. Nach einigen Minuten, je nach zu detektierender Substanz, schaltete das 6-Wege Ventil und in einem Back-Flush-Verfahren wurde die Probe mit Hilfe des analytischen Eluenten, transportiert von der zweiten Pumpe, von der Extraktionssäule in umgekehrter Richtung auf die analytische Säule gepumpt. Nach einigen Minuten schaltete das Ventil wieder in die Ausgangsposition zurück, um die Analyse

zu beenden. Ein Wellenlängendetektor mit UV-Lampe, der je nach Analyt auf die optimale Wellenlänge eingestellt war, detektierte die aufgetrennten Probenbestandteile. Die Datenauswertung wurde mit der Software HP ChemStation für LC 3D (Version Rev. A.08.03 [847] und Version Rev. A.10.02 [1757]) durchgeführt.

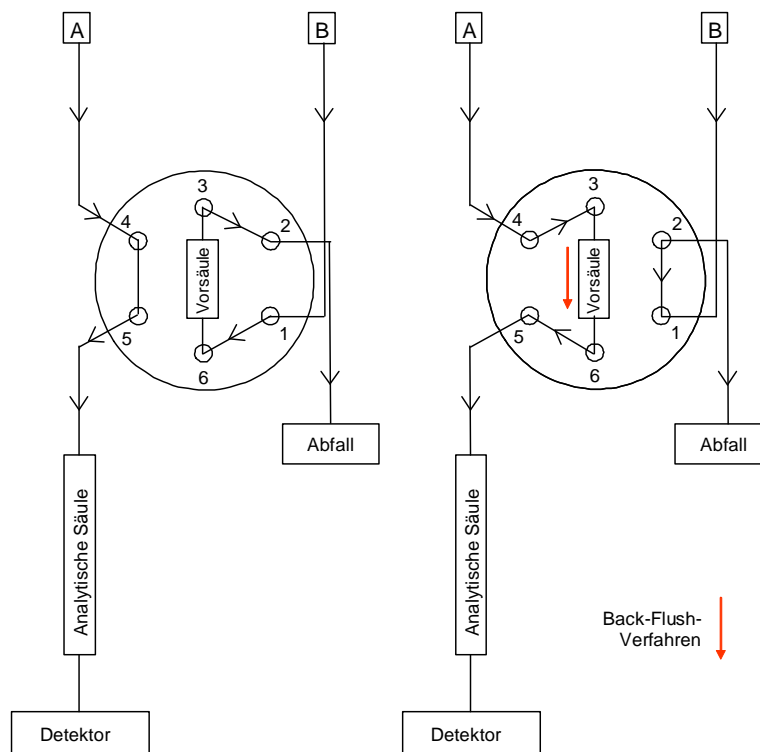


Abbildung 2.1: Schematische Darstellung des Aufbaus der HPLC Anlage mit Säulenschaltung.

2.6.3 Übersicht HPLC Methoden

Die quantitative Analyse von Antipsychotika in Blut, Hirn und Milz der behandelten Mäuse erfolgte mit derselben HPLC Apparatur und ähnlicher Durchführung, wie für die Analyse von Aripiprazol in Kapitel 3.1.1.2 „Chromatographische Durchführung am Beispiel von Aripiprazol“ beschrieben. Es wurden unterschiedliche Säulen mit verschiedenen Längen und Füllmaterialien sowie unterschiedliche Eluentenzusammensetzungen verwendet. Zum Teil variierten auch die Schaltzeiten des 6-Wege-Ventils sowie die Temperatur. Diese Parameter sind in Tabelle 2.2 für alle untersuchten Antipsychotika aufgeführt. (Nach der Validierung von Aripiprazol wurde die Füllung der LiCrospher-Säulen leicht verändert, dies führte zu einer schnelleren RT von Aripiprazol und Dehydroaripiprazol. Bei den zu einem späteren

Zeitpunkt durchgeführten Gewebsmessungen behandelter Mäuse variieren somit die in Tabelle 2.2 angegebenen RT von den in der Validierung angegebenen Werten.)

Die verwendeten Methoden wurden nach internationalen Richtlinien (*Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI) (1992), früher NCCLS) validiert (Sachse, et al 2003; Sachse, et al 2006). Sie werden im Rahmen des im Neurochemischen Labor routinemäßig durchgeführten TDM angewendet und unterliegen ständigen externen Kontrollen, wie den Ringversuchen von Cardiff Bioanalytical Services Ltd., Cardiff, UK. Mit einer täglich mitlaufenden Kalibratorprobe wird für jeden Lauf vor der jeweiligen Auswertung kalibriert und mit zwei Qualitätskontrollproben die Genauigkeit überprüft.

Tabelle 2.2: Übersicht über Parameter für die Analyse von Antipsychotika mittels HPLC

Arzneistoff	Säulen		Eluent		Schaltzeiten des 6-Wege- Ventils (min)	Temperatur (°C)	Wellen- länge (nm)	Retentions- Zeit (ungefähr) (min)	Gesamt- Laufzeit (min)
	Extraktions- säule	Analytische Säule	Spüleluent, Flussrate	Analytischer Eluent, Flussrate					
Amisulprid, Aripiprazol, Dehydro- aripiprazol, Domperidon	CN 20µm (10 x 4 mm)	LiCrospher CN 5 µm (250 x 4,6 mm)	8% Acetonitril in Reistwasser, 0,8 ml/min	1:1 Acetonitril : Phosphatpuffer (1,825 HK ₂ PO ₄ • 3H ₂ O in Reistwasser, pH6,4), 1,2 ml/min	5 und 15	25	210	13,4 12,8 11,7 12,2	23
Haloperidol	CN 20µm (10 x 4 mm)	ODS Hypersil C18 5 µm (150 x 3 mm)	10% Acetonitril in Reistwasser 1,5 ml/min	40 % Acetonitril, 0,4 % TEMED in Reinstwasser, pH 6,5, 0,6 ml/min	7 und 17	40	252	12,4	20

Tabelle 2.2: (Fortsetzung)

Arzneistoff	Säulen		Eluent		Schaltzeiten des 6-Wege- Ventils (min)	Temperatur (°C)	Wellen- länge (nm)	Retentions- Zeit (ungefähr) (min)	Gesamt- Laufzeit (min)
	Extraktions- säule	Analytische Säule	Spüleluent, Flussrate	Analytischer Eluent, Flussrate					
Risperidon 9-Hydroxy- risperidon	CN 20µm (10 x 4 mm)	ODS Hypersil C18 5 µm (150 x 3 mm)	8% Acetonitril in Reistwasser, 0,8 ml/min	38 % Acetonitril, 0,4 % TEMED in Reinstwasser, pH 6,5, 0,8 ml/min	8 und 18	40	285	10,4 10,0	20
Clozapin, N-Desmethyl- clozapin Olanzapin, Quetiapin	C8 20 µm (10 x 4 mm)	ODS Hypersil C18 5 µm (250 x 4,6 mm)	8% Acetonitril in Reistwasser, 1,5 ml/min	38 % Acetonitril, 0,4 % TEMED in Reinstwasser, pH 6,8, 1,5 ml/min	7 und 10	25	254	15,9 12,1 10,4 15,1	20

2.7 TDM unter Behandlung von Aripiprazol

2.7.1 Patienten

Im Rahmen des TDM wurden Aripiprazolkonzentrationen im Blut psychiatrischer Patienten mit der beschriebenen HPLC-Methode bestimmt. Diese klinische Untersuchung erfolgte im Einverständnis mit der lokalen Ethikkommission.

Neben der Diagnose wurden weitere Informationen wie Alter und Geschlecht der Patienten, die Dosis von Aripiprazol sowie Komedikamente und klinische Daten, die von den behandelnden Ärzten beurteilt wurden, zum Therapieeffekt, Schweregrad der Erkrankung, Nebenwirkungen und Schweregrad der Nebenwirkungen erfasst. Hierzu wurde die *Clinical Global Impressions Scale* (CGI) verwendet, deren Item 1 den Schweregrad der Erkrankung auf einer Skala von 2 = nicht krank bis 8 = sehr schwer krank angibt, und Item 2 über den Therapieeffekt von 1 = sehr gut bis 4 = unverändert oder verschlechtert Auskunft gibt. Nach einer Arbeit von Leucht und Koautoren (2005) entspricht die Einschätzung 2 = mäßiger Therapieeffekt dieser Skala einer Verbesserung von 50 % gegenüber dem Ausgangswert auf der *Brief Psychiatric Rating Scale* (BPRS) sowie 1 = sehr guter Therapieeffekt einer Verbesserung von 70 %. In Übereinstimmung der Vorgaben zur Anwendung der CGI Rating Skalen (Guy, et al 1997) wurde Item 1 auf die vorangehende Woche und Item 2 auf den Beginn der Medikation bezogen.

Eine Kurzversion der *Utvalg for Kliniske Undersogelser* (UKU) Nebenwirkungsskala (Lingjærde et al. 1987) wurde zur Erfassung des Schweregrades der Nebenwirkungen mit 0 = keine bis 3 = schwere Nebenwirkungen herangezogen.

2.7.2 Serumproben

Patienten, die seit mindestens 14 Tagen auf eine konstante Dosis Aripiprazol eingestellt waren und deren Blutkonzentration von Aripiprazol sich somit im Steady-State befand, wurde venöses Blut zur Bestimmung der Arzneimittelkonzentration entnommen. Diese Blutentnahme folgte im Abstand von mindestens 12 h nach der letzten Medikamenteneinnahme, üblicherweise morgens vor Gabe der Tagesdosis. Das Blut von Patienten aus der Klinik für Psychiatrie in Mainz wurde direkt in das Neurochemische Labor gebracht, Blutproben von Patienten anderer Kliniken wurden per Post ohne weitere Kühlung innerhalb weniger Tage zugeschickt.

Die Proben wurden, wie im Abschnitt 2.6.1 „Probenaufbereitung von Plasma und Serum zur HPLC Analyse“ beschrieben, vorbereitet.

Konzentrationen von Aripiprazol und Dehydroaripiprazol im Serum wurden mittels einer im Rahmen dieser Dissertation entwickelten und validierten HPLC-Methode gemessen (s. Kapitel 3.1.1 „Eigene Methode: HPLC Analyse von Aripiprazol“).

2.7.3 Statistik

Die Auswertung der statistischen Berechnungen erfolgte mit der Software SPSS (Version 12.0.1).

Für pharmakokinetische Berechnungen, wie die Korrelation von Dosis zu Serum, wurden alle 523 Serumproben herangezogen. Hierbei wurden weiterhin Mittelwerte, Standardabweichungen und Variationskoeffizienten (C.V.) sowie lineare Korrelationskoeffizienten berechnet. Zur Auswertung von Konzentration zu Dosis Verhältnissen wurde jeweils der Wert, von der ersten an das Labor gesandten Probe eines Patienten, verwendet.

Pharmakodynamische Berechnungen hinsichtlich Dosis, Komedikation und Schweregrad der Erkrankung wurden anhand aller ersten Proben schizophrener Patienten berechnet. Für Auswertungen bezüglich Therapieeffekt und Nebenwirkungen wurde nur die jeweils erste Serumprobe schizophrener Patienten verwendet, die neben Aripiprazol kein weiteres Antipsychotikum erhielten.

Eine statistische Signifikanz bezüglich eines Unterschiedes wurde bei einem p-Wert von $p \leq 0,05$ angenommen.

2.8 Tiere

Für die Kinetikuntersuchungen und Rotarod-Studien wurden männliche Mäuse vom Stamm FVB/N verwendet. Mdr1a/1b(-/-, -/-) Tiere (Taconic, Germantown, USA) und Wildtyp Mäuse stammten aus der Zucht des Tierlabors des Universitätsklinikums Mainz und wurden frühestens im Alter von vier Wochen nach dem Absetzen von der Mutter in den Tierstall der Klinik für Psychiatrie gebracht. Die Tiere wurden ab einem Alter von mindestens sieben Wochen in den Versuchen verwendet. Dabei wurde der Großteil der FVB/N Mäuse zuerst auf dem Rotarod untersucht, anschließend, nach einem Abstand von mindestens sieben Tagen, wurden die Tiere für die Kinetikuntersuchungen verwendet. Sie waren somit im Mittel für Rotarod-Studien etwas leichter (20 - 30 g) als für Kinetikuntersuchungen (25 - 40 g).

Für Tests in der Radial Arm Water Maze wurden männliche Tiere von der im Tierstall der Klinik für Psychiatrie gezüchteten F1-Generation aus FVB/N Weibchen (Wildtyp und *mdr1a/1b(-/-, -/-)*) und C57BL/6J Männchen verwendet.

Alle Mäuse lebten nach dem Absetzen zwischen der dritten und vierten Lebenswoche in Gruppen von zwei bis fünf Tieren in einem Käfig (Makrolonkäfig Typ II) mit freiem Zugang zu Wasser und Standardfutter. Licht war zwölf Stunden am Tag, von 6:00 h bis 18:00 h, angeschaltet. Die Raumtemperatur betrug im Mittel 22°C und die Luftfeuchtigkeit im Durchschnitt 60 %.

2.9 Kinetikuntersuchungen

2.9.1 Gewebepräparation

Die Mäuse wurden 1, 3, 6, 9 und 24 h nach i.p. Injektion mit Isofluran narkotisiert und mit Hilfe einer Guillotine dekapitiert. Blut aus dem Körper der Maus wurde direkt in einem Reagenzglas aufgefangen. Das Gehirn wurde nach Präparation durch einen Sagittalschnitt geteilt. Eine Hälfte wurde direkt aufgearbeitet (s. Abschnitt 2.9.2 „Gewebeaufarbeitung“), die andere Hälfte in einem Reagiergefäß auf Trockeneis schockgefroren und anschließend bei -40°C tiefgekühlt. Die Milz wurde nach Präparation ebenfalls direkt aufgearbeitet.

2.9.2 Gewebeaufarbeitung

Serum, gewonnen durch 10 min Zentrifugation des Blutes bei 3000 x g, wurde bei -40 °C tiefgefroren oder direkt mittels der entsprechenden HPLC-Methode analysiert.

Gehirn und Milz der Mäuse wurden auf der Analysenwaage gewogen und mit vier entsprechenden Volumenteilen Lösungsmittel versetzt. Für Gewebe von Mäusen, denen Amisulprid, Clozapin, Haloperidol, Olanzapin, Quetiapin oder Risperidon verabreicht worden war, wurde Methanol als Lösungsmittel verwendet und die Zellen über 20 Stöße mit einem Homogenisator bei 1100 U/min aufgeschlossen. Hirn und Milz der mit Domperidon behandelten Tiere wurden zuerst über fünf Stöße mit 1/8 Volumenteil DMSO zerkleinert und anschließend nach Zugabe von 7/8 Volumenteilen Methanol über 15 Stöße homogenisiert. Gewebe von Mäusen, die eine i.p. Injektion mit Aripiprazol erhalten hatten, wurde zuerst mit zwei Volumenteilen 1-Propanol und mit anschließender Zugabe von zwei Volumenteilen Reinstwasser aufgearbeitet. Je eine Milz und eine Hirnhälfte einer unbehandelten Maus wurde mit Lösungsmittel, dem ein jeweiliger Arzneistoff in mittlerer zu detektierender Konzentration zugesetzt war, aufbereitet. Diese Proben, jeweils einer WT und einer

mdr1a/1b(-/-, -/-) Mäusen, dienten als Kontrolle zur Wiederfindungsrate der Arzneistoffe im Gewebe. Nach Zellaufschluss mittels Homogenisator wurden die Proben in ein Reagiergefäß überführt und bei 13000 x g für 5 min zentrifugiert. Der Überstand wurde bei -40 °C tiefgefroren oder direkt mit HPLC-Methoden analysiert.

2.9.3 Auswertung Kinetikuntersuchungen

Es wurden jeweils Mittelwerte und Standardfehler (SEM) der Konzentrationen von Hirn, Serum und Milz von fünf Mäusen eines Genotyps unter jeder Behandlung und zu jedem Zeitpunkt ermittelt. Zur statistischen Beurteilung der Unterschiede für jeden Zeitpunkt wurde zwischen den Genotypen unter gleicher Behandlung ein zweiseitiger t-Test für unabhängige Stichproben gerechnet. Eine statistische Signifikanz wurde bei einem p-Wert von $p \leq 0,05$ angenommen. Die *Area under the Curve* (AUC) wurde für Hirn-, Serum- und Milzkonzentrationen zwischen 1 h und 24 h nach der Trapez-Methode berechnet.

Aufgrund der Studien von Uhr und Mitarbeitern (2000; 2003), bei denen Hirn und Serumwerte auf die Milz als Referenzorgan, die kein P-gp exprimiert, bezogen wurde, wurden auch in dieser Arbeit die Arzneistoffkonzentrationen in der Milz bestimmt. Da hier jedoch die Konzentrationen über mehrere und nicht nur zu einem Zeitpunkt, wie bei den Arbeiten von Uhr, gemessen wurden und die Absolutkonzentrationen in Hirn und Serum zur Beurteilung der Unterschiede zwischen den Genotypen als ausreichend und ausdrucksstärker erachtet wurden, wurde auf eine Einbeziehung der Milzkonzentrationen verzichtet.

2.10 Quantifizierung der mdr1 mRNA

Mdr1a mRNA wurde am Institut für Klinische Pharmakologie und Toxikologie der Universitätsklinik in Basel, Schweiz, in der Blut-Hirn-Schranke von FVB mdr1a/1b(-/-, -/-) und FVB WT Mäusen sowie von heterozygoten mdr1a/b und WT Mäusen der F1-Generation quantifiziert.

2.11 Verhaltensuntersuchungen

2.11.1 Katalepsie

WT FVB Mäusen wurde am Versuchstag eine i.p. Injektion von den in Tabelle 2.1 angegebenen Konzentrationen Amisulprid, Aripiprazol, Haloperidol, Risperidon, Domperidon oder Diazepam gegeben. Nach 0,5, 2, 4, 6, 8, 10 und 12 h wurden die behandelten Tiere sowie

unbehandelte Kontrollmäuse auf kataleptisches Verhalten mit dem Ring Test und dem Bar Test untersucht.

2.11.1.1 Ring Test

Bei diesem Versuch, der in Anlehnung an die beschriebene Methode von Pertwee (1972) durchgeführt wurde, werden die Mäuse am Fell zwischen Nacken und Schultern sowie am Schwanz hochgehoben und diagonal auf ein Quadrat von 4 x 4 cm eines Reagenzglasständers gesetzt. Diese Position, bei der die Tiere Vorder- und Hinterpfoten weiter vom Körper wegstrecken müssen als bei der natürlichen Körperhaltung, kann als ungewöhnliche und unkomfortable Position betrachtet werden, aus der sich eine unbeeinflusste Maus sofort wieder löst. In den ersten 30 s waren drei Versuche erlaubt das Tier derart zu platzieren. Nach Positionierung der Maus wurde eine Stoppuhr gestartet und die Zeit bis zur Bewegung einer Pfote und damit dem Lösen aus der unnatürlichen Körperhaltung gemessen. Die maximale Versuchszeit betrug 180 s.

2.11.1.2 Bar Test

Bei diesem Test wird eine Maus ebenfalls am Fell zwischen Nacken und Schultern sowie am Schwanz hochgehoben und leicht gestreckt mit den Vorderpfoten auf einen Kasten von 2,5 cm Höhe gestellt. Unbehandelte Tiere klettern sofort mit dem ganzen Körper auf oder neben die Erhöhung. Eine Stellung mit schräger Körperhaltung, wie in diesem Fall, ist eine unnatürliche Position aus der sich das Tier unbehandelt sofort wieder löst. Hier waren ebenfalls drei Versuche innerhalb der ersten 30 s erlaubt, die Maus zu platzieren. Dann wurde eine Stoppuhr gestartet und die Zeit bis zur Bewegung einer Pfote gemessen bei einer maximalen Versuchszeit von 180 s.

2.11.2 Rotarod

2.11.2.1 Apparatur Rotarod

Das RotaRod Advanced (TSE) für fünf Mäuse bestand aus einer Stange von 3 cm Durchmesser, die mit insgesamt sechs Querwänden in fünf Abschnitte von je 5,8 cm eingeteilt war und von einem Elektromotor angetrieben wurde (Abbildung 2.2). Die Stange war mit einem längsgeriffelten schwarzen Hartgummi überzogen, das den Mäusen den Halt erleichterte. Sie befand sich, vom höchsten Punkt gemessen, 16 cm über der Bodenplatte. In

der Mitte jedes Abschnitts war eine Lichtschranke im Abstand von 3 cm über dem Boden angebracht. Das Computerprogramm TSE RotaRod System V3.5 bzw. V4.0 ermöglichte die Programmierung eines Durchgangs mit mehreren Phasen verschiedener Geschwindigkeiten. Für die Untersuchung in dieser Arbeit wurde ein Profil gewählt bei dem sich die Stange zuerst über 10 s bei 2,5 Umdrehungen pro Minute (U/min) drehte und anschließend über 230 s linear auf 27,5 Umdrehungen pro Minute beschleunigt wurde (akzelerierender Rotarod-Test) (Abbildung 2.2). Bis zu fünf Tiere wurden auf die sich vor Beginn des Durchganges bereits bei 2,5 Umdrehungen pro Minute drehenden Stange gesetzt und das Profil sowie die Zeit am Computer gestartet. Fiel eine Maus herunter wurde dies automatisch mit Hilfe der beschriebenen Lichtschranken detektiert und die Zeit aufgezeichnet.

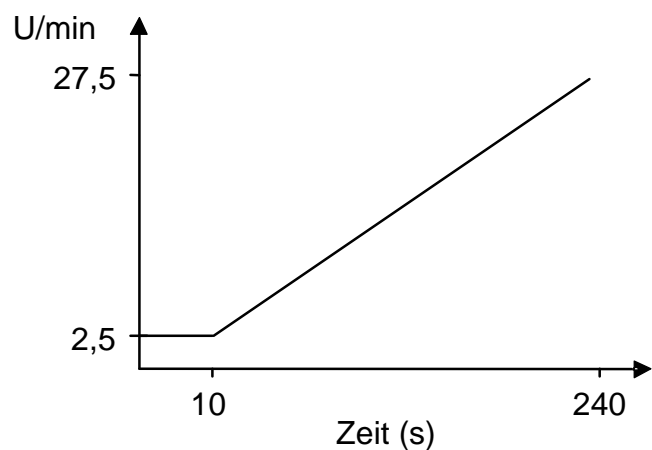


Abbildung 2.2: Apparatur Rotarod (links) und schematische Darstellung des verwendeten akzelerierenden Profils mit linearer Beschleunigung über insgesamt 240 s (rechts).

2.11.2.2 Durchführung des Rotarod Tests

Männliche FVB WT und *mdr1a/1b* Doppelknockout Mäuse wurden auf dem Rotarod zunächst über fünf Tage mit dem unter Abschnitt 2.11.2.1 „Apparatur Rotarod“ beschriebenen Profil unbehandelt trainiert, um vergleichbare Ausgangsbedingungen für den am sechsten Tag folgenden Verhaltenstest zu erreichen. Am ersten Tag wurden drei Durchgänge sowie an den folgenden vier Tagen vier Läufe je Maus durchgeführt. Der Mittelwert der acht Laufergebnisse der Tage vier und fünf wurde als sogenannter Kontrollwert für jede einzelne Maus berechnet.

Am folgenden Versuchstag wurden die Tiere mit den in Tabelle 2.1 angegebenen Arzneistofflösungen und jeweiligen Konzentrationen behandelt. 0,5, 2, 4, 6, 8, 10, 12 und 24 h nach der Injektion wurden die Mäuse auf dem Rotarod mit jeweils drei Durchgängen getestet. Im Vorversuch zum Vergleich des Tests auf Katalepsie und dem Verhalten auf dem Rotarod wurden die Mäuse nur bis zu 12 h untersucht, bei der anschließenden Untersuchung der P-gp Effekte bis zu 24 h.

2.11.2.3 Auswertung von Katalepsie und Rotarod

Aus den drei gemessenen Zeiten der Dauer der Katalepsie wurden Mittelwerte und Standardfehler (SEM) berechnet.

Die Einzelwerte der Trainingstage vier und fünf jeder Maus auf dem Rotarod wurden wie beschrieben zu einem Mittelwert, dem Kontrollwert der jeweiligen Maus, zusammengefasst. Die Mittelwerte der drei Läufe, die zu jedem einzelnen Zeitpunkt des Versuchstages auf dem Rotarod erzielt wurden, wurden auf den individuellen im Training erreichten Kontrollwert der jeweiligen Maus bezogen und in Prozent angegeben.

Die Ergebnisse einer Methode wurde zwischen den Genotypen bei gleicher Behandlung und zwischen den unbehandelten bzw. mit physiologischer Kochsalzlösung behandelten Kontrolltieren und den mit Antipsychotika behandelten Mäusen mittels MANOVA mit Messwiederholung und anschließendem zweiseitigem t-Test für unabhängige Stichproben berechnet. Die unbehandelten und mit NaCl-Lösung 0,9 % behandelten Kontrollmäuse unterschieden sich nicht voneinander und wurden für alle Auswertungen zu einer Gruppe von Kontrolltieren zusammengefasst. Die Prozentwerte der behandelten Mäuse auf dem Rotarod wurden mit den Ergebnissen dieser Kontrollmäuse zu jedem Zeitpunkt verglichen, da noch eine Verbesserung über die 24 h des Versuchstages zu beobachten war. Eine statistische Signifikanz wurde bei einem p-Wert von $p \leq 0,05$ angenommen. Die berechneten Mittelwerte der Katalepsieergebnisse und der Prozentergebnisse, die von den WT Mäusen auf dem Rotarod erreichten wurden, wurden miteinander korreliert.

2.11.3 Radial Arm Water Maze (RAWM)

2.11.3.1 Apparatur der RAWM

Für die Untersuchung der Auswirkung der Antipsychotika auf das räumliche Lernen von Mäusen wurde eine 8-Arm Radial Water Maze verwendet. Das verwendete Becken aus weißem Plastik besaß einen Durchmesser von 200 cm und eine Wandhöhe von 60 cm. Hierin wurden acht dreieckige Einsätze aus grauem Plastik so positioniert, dass sich ein Zentrum mit acht davon abgehenden „Armen“ ergab (Abbildung 2.3). Die Plastikeinsätze besaßen eine Höhe von 34 cm und eine Länge von 68 cm. Die resultierenden Arme waren 26 cm breit, ein Arm war etwas schmaler mit einer Breite von 20 cm; dieser wurde konstant als Startarm verwendet.

Das Becken war bis zu einer Höhe von 24 cm mit klarem Wasser mit einer Temperatur von 20 bis 22°C gefüllt. Eine runde Plattform aus durchsichtigem Plexiglas mit 17 cm Durchmesser befand sich am Ende eines der acht Arme. Mit einer Höhe von 23 cm war ihre Oberfläche 1 cm mit Wasser bedeckt. Der Abstand vom Rand der Plattform zur Außenwand des Beckens betrug 12 cm und zu den Seitenwänden im Mittel 4,5 cm.

Die RAWM war in einer Ecke des Versuchsraums so aufgestellt, dass sie von zwei Raumwänden sowie einer 150 cm hohen Wand umgeben war. An diesen drei Wänden waren jeweils optische Symbole in der Größe eines DIN A4-Blattes angebracht: ein schwarzes Dreieck, drei schwarze Punkte und schwarze Wellen auf weißem Grund. Weiterhin befanden sich an jedem Ende der Arme, außer im Startarm, optische Hinweise. Dies waren ebenfalls unterschiedliche schwarze Muster bzw. Symbole auf weißem Grund in einer Größe von 7 x 10 cm (Abbildung 2.3).

Über der RAWM war eine CCTV Kamera installiert, die Verbindung zum Computer zur Datenaufzeichnung mit dem Programm EthoVision® hatte (Abbildung 2.3).

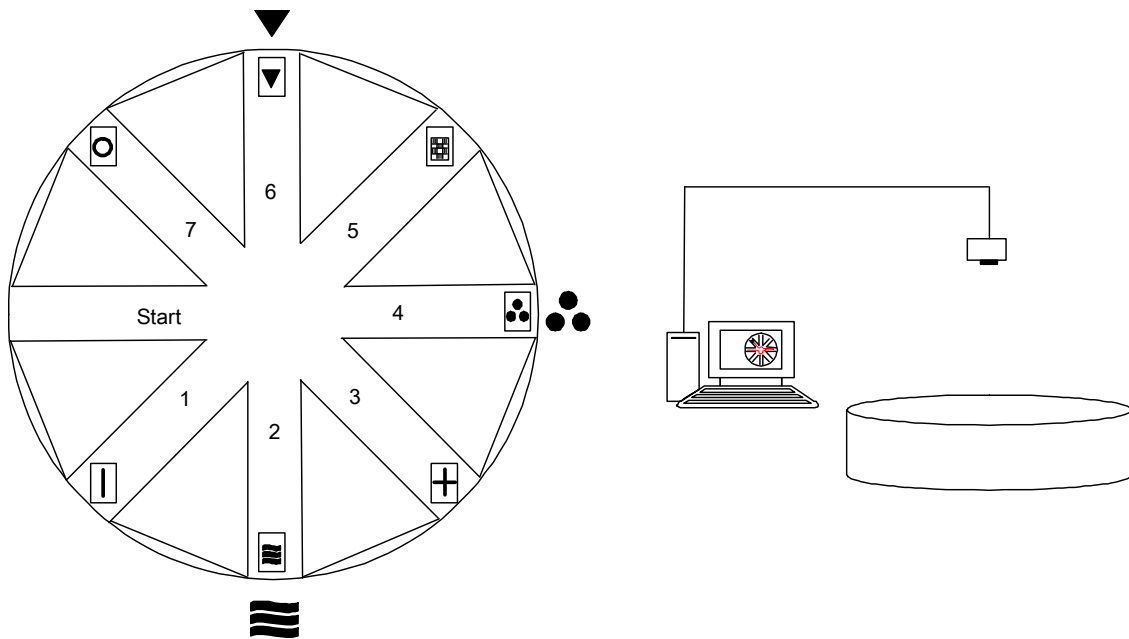


Abbildung 2.3: Radial Arm Water Maze (RAWM) mit Armbezeichnungen und optischen Markierungen am Ende jedes Arms und an den Raumwänden in Aufsicht dargestellt (links) und Aufbau der gesamten Apparatur mit Kamera und Computer zur Datenaufzeichnung (rechts).

2.11.3.2 Etablierung des RAWM Tests

Um möglichst optimale Parameter für die Testdurchführung der RAWM bei behandelten Mäusen zu finden, wurde der Testaufbau zuvor mit unbehandelten WT Mäusen überprüft. Hierbei sollte eine geeignete Testdauer in Bezug auf die einzelnen Durchgänge sowie eine optimale maximale Anzahl der Durchgänge gefunden werden. Weiterhin sollte ein Kriterium festgelegt werden, das den Lernerfolg einer Maus in der RAWM widerspiegelt. Es wurde ebenfalls untersucht, ob Mäuse bestimmte Arme bevorzugt anschwimmen, um dies bei der Reihenfolge der Positionen der Plattform zu berücksichtigen. Außerdem sollte untersucht werden, ob die zusätzlichen „optischen“ Hinweise in den Armen zu einem besseren Lernerfolg führen.

Es wurden zunächst bei konstanter Plattformlokalisierung zwei Gruppen von je acht Mäusen untersucht, wobei in der einen Gruppe die beschriebenen optischen Hinweise am Ende der Arme fehlten. Die Tiere wurden mit Blickrichtung zur Außenwand in den Startarm gesetzt und hatten je Durchgang 90 s Zeit um die Plattform zu finden und 30 s um sich von dort aus umzusehen und räumlich zu orientieren. Als Kriterium, um den Lernerfolg zu beurteilen, wurde dreimaliges Anschwimmen der Plattform innerhalb von 15 s gewertet.

Bei einer weiteren Voruntersuchung wurden zwei Gruppen von je vier Mäusen an acht Tagen getestet, wobei sich die Plattform an jedem Tag in einem anderen Arm befand und sich deren Position zwischen den Gruppen spiegelbildlich unterschied.

2.11.3.3 Durchführung des RAWM Tests

Die Durchführung in der RAWM mit behandelten Mäusen erfolgte auf Grundlage der Ergebnisse, die bei der Testetablierung beobachtet wurden und im Kapitel 3.4.4.1 „Etablierung des RAWM Tests“ beschrieben sind.

Heterozygoten und WT Mäusen wurde am Versuchstag morgens eine der in Tabelle 2.1 aufgeführten Arzneistofflösungen injiziert. 1, 5, 24 und 29 h nach Applikation wurden die Tiere in der RAWM auf ihre räumliche Lernfähigkeit untersucht. Zu jedem dieser Zeitpunkte befand sich die Plattform in einem anderen Arm, wobei sie nie in zwei benachbarten Armen zu aufeinander folgenden Zeitpunkten aufgestellt wurde. Die Reihenfolge der Arme in denen sich die Plattform befand war Arm 7 zum ersten Zeitpunkt 1 h nach Injektion, Arm 2 nach 5 h, Arm 4 nach 24 h und Arm 1 nach 29 h. Zu jedem der vier Zeitpunkte hatten die Mäuse 15 Versuche von je 60 s um ein vorgegebenes Kriterium zu erfüllen. Dies bestand darin, die Plattform innerhalb von 20 s in drei aufeinander folgenden Versuchen anzuschwimmen. Erreichte eine Maus die Plattform im 13. Versuch nicht innerhalb von 20 s, so war der Durchgang für diese Maus beendet, da sie nicht mehr in der Lage war das Kriterium innerhalb von 15 Versuchen zu erfüllen. Jeder Versuch begann im Startarm mit Blick der Maus in Richtung Außenwand. Fand eine Maus die Plattform nicht innerhalb von 60 s, wurde sie vom Experimentator auf direktem Weg zum Ziel geleitet. Dort blieb sie für 30 s bis sie aus dem Wasser genommen und auf ein Handtuch gesetzt wurde. Nach jedem fünften und zehnten Durchgang wurde die Maus für eine Minute sowie am Ende der jeweiligen Versuchsreihe für mehrere Minuten bis zur Trocknung ihres Fells unter eine wärmende Rotlichtlampe gesetzt. Zwischen den vier Versuchszeitpunkten befand sich die Maus in ihrem Käfig mit freiem Zugang zu Futter und Wasser.

2.11.3.4 Auswertung des RAWM Tests

Für die Auswertung der Ergebnisse in der RAWM von *mdr1a/1b* heterozygoten und WT Mäusen unter Behandlung mit Antipsychotika wurden verschiedene Parameter herangezogen, die die Beurteilung des räumlichen Gedächtnisses und die Differenzierung von Referenz- und Arbeitsgedächtnis, im Vergleich mit unbehandelten, bzw. mit NaCl-Lösung 0,9 %

behandelten, Kontrollmäusen, ermöglichen. Die Kontrolltiere unterschieden sich nicht voneinander und wurden für die Auswertung in einer Gruppe zusammengefasst.

Berechnet wurde die Latenz, d.h. die Zeit, die bis zum Erreichen der Plattform benötigt wurde, als Maß für die räumliche Orientierung innerhalb eines Versuchs. Es wurde der Mittelwert der Latenzen der ersten 13 Versuche von Mäusen einer Behandlungsgruppe für jeden der vier Zeitpunkte nach der *Last Observation Carried Forward-* (LOCF-) Methode berechnet und jeweils zwischen den gleichbehandelten Genotypen und mit der unbehandelten Kontrollgruppe verglichen.

Ein weiterer Parameter zur Beurteilung des räumlichen Lernens innerhalb eines der vier Untersuchungszeitpunkte war die Anzahl der Versuche, die die einzelne Maus bis zum Erreichen des beschriebenen Kriteriums benötigte. Wurde das Kriterium innerhalb der 15 erlaubten Versuche nicht erreicht, wurde das Ergebnis der Maus auf einen Wert von 16 Versuchen festgesetzt. Der Mittelwert der Anzahl der Versuche der jeweils zehn Mäuse je Behandlungsgruppe, bzw. der Mittelwert der insgesamt 30 Kontrolltiere, wurde zwischen den Behandlungsgruppen und jeweils mit der Kontrollgruppe verglichen.

Weiterhin wurde betrachtet, wie viele Mäuse aus einer Behandlungsgruppe das definierte Kriterium erfüllten und somit je Zeitpunkt erfolgreich waren.

Als Maß für die Intensität des Gelernten und des Erinnerungsvermögens wurde die Latenz bis zum Erreichen der Plattformposition, auf der sich die Plattform zum vorhergehenden Zeitpunkt befand, beim ersten Versuch des jeweils folgenden Zeitpunkts beurteilt. Dieser Versuch entspricht dem „Probe Trial“ in der klassischen Morris Water Maze und dient damit der Beurteilung der räumlichen Gedächtnisleistung.

Zur Beurteilung des Arbeitsgedächtnisses wurden wiederholte Eintritte in einen Arm, außer demjenigen, in dem sich die Plattform befand, als Fehler gewertet. Dabei wurde ein Armeintritt als solcher gewertet, wenn die Maus mit dem gesamten Körper in den Arm geschwommen war. Die Summe der Fehler aus dem zweiten bis 13. Versuch je Zeitpunkt wurde für die statistische Auswertung verwendet. Auf eine direkte Auswertung des Referenzgedächtnisses über die begangenen falschen Armeintritte wurde verzichtet, da die Beurteilung dieser Funktion aus den übrigen Parametern zum räumlichen Lernen, wie Anzahl der benötigten Versuche und Latenz bis zur Plattform möglich ist.

Die Schwimmgeschwindigkeit während der Untersuchung in der RAWM wurde als Quotient aus der geschwommenen Strecke je Versuch und der Latenz, also der benötigten Zeit bis zum Erreichen der Plattform, in cm/s berechnet.

2.11.3.5 Statistische Auswertung der Ergebnisse in der RAWM

Für die statistische Auswertung der Ergebnisse wurden, wie oben beschrieben, Mittelwerte und Standardfehler (SEM) der einzelnen Parameter berechnet. Die Beurteilung signifikanter Unterschiede in den Ergebnissen bezüglich Latenz, Anzahl der Versuche, Latenz bis zum Erreichen der zuvor gelernten Plattformposition, Arbeitsgedächtnis und Schwimmgeschwindigkeit erfolgte mittels MANOVA und anschließendem zweiseitigen t-Test für unabhängige Stichproben. Dieser Test wurde bei der Auswertung der Ergebnisse in dieser Untersuchung ausnahmsweise auch bei nicht signifikanten MANOVA-Ergebnissen angewendet, um trotz der methodischen Einschränkungen Hinweise bezüglich möglicher Unterschiede der Ergebnisse zu ermitteln. Eine statistische Signifikanz wurde bei einem p-Wert von $p \leq 0,05$ angenommen.

Die Anzahl der Mäuse, die das Kriterium unter Behandlung im Vergleich zu keiner bzw. zu einer Gabe von NaCl-Lösung erreichten, wurde statistisch mittels Chi-Quadrat-Test bewertet. Für die Auswertungen wurde das Programm SPSS Version 12.0.1 der Firma SPSS Inc. (Chicago, USA) verwendet.

2.11.4 Schwimmgeschwindigkeit

2.11.4.1 Apparatur zum Test der Schwimmgeschwindigkeit

Inwieweit die untersuchten Antipsychotika durch ihren Einfluss auf die Motorik auch die Schwimmaktivität beeinflussen, wurde mittels eines eigenen Tests zur Schwimmgeschwindigkeit untersucht. Hierfür wurde ein Becken aus weißem Plastik mit darin stehenden grauen Plastikwänden verwendet, die einen Gang von 15 cm Breite und 85 cm Länge bildeten. An einem Ende befand sich eine weiße sichtbare Plattform von 14,5 cm Höhe und 10 cm Durchmesser, die 1 cm aus dem klaren 20 bis 22 °C temperierten Wasser hinaus ragte, und somit für die Mäuse sichtbar war. Weiterhin war an der Plastikwand direkt hinter der Plattform eine optische Markierung von 7 x 10 cm angebracht (Abbildung 2.4). Durch diese Hilfestellungen für die Mäuse, möglichst schnell und einfach wieder dem Wasser entfliehen zu können, sollten Einflüsse z.B. auf die Motivation der Tiere weitestgehend ausgeschlossen werden.

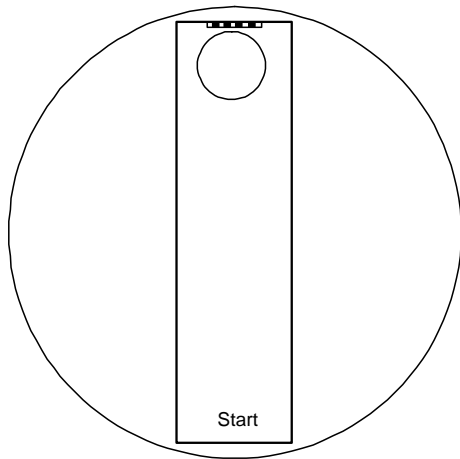


Abbildung 2.4: Apparatur zur Messung der Schwimgeschwindigkeit mit eingezeichneter Plattform und optischer Markierung am Ende Arms.

2.11.4.2 Durchführung des Tests der Schwimgeschwindigkeit

Heterozygote *mdr1a/1b* und WT Mäuse wurden zu Beginn der Untersuchung unbehandelt für 30 s auf die sichtbare Plattform gesetzt. Anschließend wurden sie mit Blick in Richtung Plattform am gegenüberliegenden Ende des Gangs in das Wasser gelassen. Die Zeit und die Wegstrecke bis zum Erreichen des Ziels wurden mittels eines videogestützten computergesteuerten Analysesystems ermittelt. Dieser Vorgang wurde fünfmal je Maus wiederholt und die Tiere anschließend unter einer Rotlichtlampe getrocknet. 20 min nach dem letzten Schwimmdurchgang erhielten die Tiere eine i.p. Injektion eines Antipsychotikums in den gleichen Konzentrationen wie sie für Untersuchungen in der RAWM verwendet wurden (Tabelle 2.1). 1 h nach Arzneimittelgabe wurden drei Durchgänge je Maus zur Messung der Schwimgeschwindigkeit unter der Behandlung mit Antipsychotika durchgeführt und die Tiere anschließend unter Rotlicht bis zum Trocknen des Fells gesetzt. Zeigten die Tiere 1 h nach Injektion eine deutlich verlangsamte Geschwindigkeit im Vergleich zum vorherigen Durchgang in unbehandeltem Zustand, wurden sie nach 5 h erneut wie beschrieben dreimal getestet.

2.11.4.3 Auswertung des Tests der Schwimgeschwindigkeit

Mittels der durch den Computer aufgenommenen Wegstrecke und der Zeit bis zum Erreichen der Plattform wurde die Schwimgeschwindigkeit in cm/s berechnet. Der Mittelwert für die Geschwindigkeit der letzten drei der fünf Schwimmdurchgänge in unbehandeltem Zustand wurde in einem t-Test für gepaarte Stichproben mit dem Mittelwert der drei Durchgänge nach Behandlung verglichen. Eine statistische Signifikanz wurde bei einem p-Wert von $p \leq 0,05$ angenommen. Die Differenz zwischen den Mittelwerten, die die jeweilige Maus unbehandelt

und unter Behandlung eines Antipsychotikums erreichte, wurde zwischen den Genotypen bei gleicher Behandlung in einem zweiseitigen t-Test für unabhängige Stichproben verglichen.

3 Ergebnisse

3.1 Entwicklung einer HPLC Methode für den Nachweis von Aripiprazol

Als erstes musste eine neue Methode für den Nachweis von Aripiprazol entwickelt und validiert werden. Es wurde ein HPLC-Verfahren mit Säulenschaltung und spektroskopischem Nachweis gewählt, das ähnlich wie bereits etablierte Verfahren, die für das therapeutische Drug Monitoring anderer Psychopharmaka genutzt wurden, aufgebaut war.

3.1.1 Eigene Methode: HPLC Analyse von Aripiprazol

3.1.1.1 Stammlösungen Aripiprazol

Zum Zeitpunkt der Entwicklung einer HPLC Methode für den Nachweis von Aripiprazol lag keine Reinsubstanz des Antipsychotikums vor. Aripiprazol (Abilify®) Tabletten 10 mg wurden daher in Methanol gelöst und zur Herstellung einer Stammlösung verwendet. Die Konzentration des klaren Überstands des Tablettenextrakts wurde nach Zentrifugation bei 13000 x g für 5 min an mehreren Tagen gemessen. Bei Messung gleich hoher Konzentrationen an zwei aufeinander folgenden Tagen wurde eine vollständige Auflösung des Wirkstoffes angenommen. Diese methanolische Lösung wurde mit medikamentenfreiem Plasma zu Kalibratorproben mit Konzentrationen von 10, 20, 100, 150, 200, 300, 350 und 500 ng/ml verdünnt. Qualitätskontrollproben wurden in Konzentrationen von 50, 250 und 400 ng/ml angesetzt. Eine methanolische Lösung mit 1,23 mg/ml Perphenazin wurde mit Reinstwasser auf 0,0615 mg/ml verdünnt und diente als interner Standard.

3.1.1.2 Chromatographische Durchführung am Beispiel von Aripiprazol

Nach der Vorbereitung der Plasmaproben, wie im Abschnitt 2.6.1 „Probenaufbereitung von Plasma und Serum zur HPLC Analyse“ beschrieben, wurden je 200 µl der Proben in Rollrandflaschen pipettiert und auf den Probenhalter der HPLC-Anlage gestellt. In Position 91 befand sich der interne Standard Perphenazin. Der automatische Probengeber saugte 99 µl einer zu analysierenden Probe sowie 1 µl des internen Standards an und injizierte die Flüssigkeit nach Durchmischung in die Kapillare der HPLC Anlage. Der Spüleluent, bestehend aus Reinstwasser mit 8 % (v/v) Acetonitril, transportierte die Probe mit einer Flussrate von 0,8 ml/min auf die Extraktionssäule, die mit CN 20 µm Partikeln gefüllt war (10 x 4 mm). Hier wurden, wie beschrieben, störende Plasmabestandteile abgetrennt. Nach 5 min

schaltete das 6-Wege-Ventil in eine andere Position und die Probe wurde im Back-Flush-Verfahren mit Hilfe des analytischen Eluenten mit einer Flussrate von 1,2 ml/min auf die analytische Säule (250 x 4,6 mm), die mit 5 µm großen Partikeln LiChrospher CN gefüllt war, transportiert. Dieser Eluent bestand aus Acetonitril und einem Phosphatpuffer, der 1,825 g Di-Kaliumhydrogenphosphat-Trihydrat pro Liter Reinstwasser enthielt und mit Phosphorsäure auf einen pH von 6,4 eingestellt war, im Verhältnis 1:1. Nach insgesamt 10 min war die Elution von der Vorsäule abgeschlossen und das 6-Wege-Ventil schaltete in die Ausgangsposition zurück. Die Auftrennung der Substanzen, die bei einer Temperatur von 25 °C erfolgte, war nach 23 min abgeschlossen und die Anlage bereitete sich auf die Analyse der nächsten Probe vor.

3.1.1.3 Durchführung Validierung

Für die Validierung der HPLC Methode zur Bestimmung von Aripiprazol wurden acht Kalibrator- und drei Qualitätskontrollproben an fünf Tagen jeweils zweimal analysiert. Ein Lauf bestand aus folgenden Proben in der angegebenen Reihenfolge: Leerplasma – Kalibratorprobe 1 (10 ng/ml) – Kalibratorprobe 2 (20 ng/ml) – mittlere Qualitätskontrollprobe (250 ng/ml) – niedrige Qualitätskontrollprobe (50 ng/ml) – Kalibratorprobe 3 (100 ng/ml) – hohe Qualitätskontrollprobe (400 ng/ml) – Kalibratorprobe 4 (150 ng/ml) – Kalibratorprobe 5 (200 ng/ml) – hohe Qualitätskontrollprobe (400 ng/ml) – mittlere Qualitätskontrollprobe (250 ng/ml) – Kalibratorprobe 6 (300 ng/ml) – niedrige Qualitätskontrollprobe (50 ng/ml) – Kalibratorprobe 7 (350 ng/ml) – hohe Qualitätskontrollprobe (400 ng/ml) – mittlere Qualitätskontrollprobe (250 ng/ml) – niedrige Qualitätskontrollprobe (50 ng/ml) – Kalibratorprobe 8 (500 ng/ml). Nach einer Stunde Pause wurde der Lauf ein zweites Mal pro Tag wiederholt.

3.1.1.4 Auswertung Validierung

Für die Quantifizierung der gemessenen Analyte wurde die Höhe der Peaks verwendet und auf die Höhe des Peaks des internen Standards bezogen. Korrelationskoeffizienten wurden über lineare Regressionsanalysen bestimmt. Zur Validierung der Methode wurden weitere Parameter untersucht und mit den Leitlinien des *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI (1992), früher NCCLS) beurteilt. Diese Parameter beinhalteten Linearität, Präzision, Genauigkeit, Wiederfindung, Quantifizierungsgrenze, Nachweisgrenze und Interferenzen. Linearität wurde in einem Bereich von 10 bis 1000 ng/ml bestimmt. Die Präzision innerhalb

eines Laufs, zwischen den zwei Läufen pro Tag und zwischen den fünf Validierungstagen wurde als Qualitätsparameter der Methode verwendet. Die Genauigkeit wurde über die Wiederfindungsrate durch Messung von Aripiprazol mit und ohne Extraktionssäule erfasst. Die Quantifizierungsgrenze wurde bei einer Präzision der analysierten Konzentration von mindestens 15 % akzeptiert, und die Nachweisgrenze war definiert als ein Signal-Rausch-Verhältnis >3 . Weiterhin wurde die Stabilität von Aripiprazol über 20 Wochen bei -20 °C und über 17 Tage bei Raumtemperatur jeweils bei Lichtexposition und im Dunkeln untersucht.

3.1.2 Ergebnisse Validierung

Die beschriebene Methode ermöglichte die Analyse von Aripiprazol und Dehydroaripiprazol mit einer Retentionszeit von 17,8 bzw. 16,0 min innerhalb von 25 min. Die Serumproben wurden durch die vorgeschaltete Extraktionssäule ausreichend von Matrixbestandteilen gereinigt und die Analyte sowie der interne Standard Perphenazin wurden gut voneinander getrennt.

Die Methode war im Bereich von 10 bis 1000 ng/ml linear mit einem Korrelationskoeffizienten von $R^2 > 0,998$ für Aripiprazol und mit $R^2 > 0,999$ für Dehydroaripiprazol.

Bei Aripiprazol enthaltenen Qualitätskontrollproben mit 50, 250 und 400 ng/ml wurden bei der Auswertung der Gesamtpräzision Werte von 121 ± 12 (SD), 101 ± 8 und 98 ± 9 % der Sollwerte erreicht. Die Präzision innerhalb eines Laufes lag für die drei angegebenen Konzentrationen bei 9,1, 8,1 und 7,8 %, zwischen zwei Läufen bei 8,0, 3,4 und 4,8 % und zwischen den fünf Tagen bei 7,0, 3,0 und 4,7 %.

Die Genauigkeit, gemessen mittels Wiederfindung mit und ohne Extraktionssäule, lag bei 111,5 % für 50 ng/ml, bei 94,7 % für 200 ng/ml und bei 94,8 % für 1000 ng/ml.

Die Quantifizierungsgrenze wurde mit 50 ng/ml Aripiprazol definiert. Bei dieser Konzentration lag die Präzision über 20 Messungen bei 99,7 %.

Ein Signal zu Rausch Verhältnis > 3 und somit die Nachweisgrenze wurde bei einer Konzentration von ≥ 10 ng/ml für beide Substanzen erreicht.

Überprüfung der Stabilität von Aripiprazol ergab keine Verluste bei -20 °C bei Messungen nach 2, 3, 4, 5, 7, 12, 18 und 20 Wochen. Der Endwert nach 20 Wochen lag bei einer Konzentration von 50 ng/ml bei 100,0 % verglichen mit dem Wert in Woche 0, bei einer Konzentration von 200 ng/ml bei 97,3 % und bei einer Konzentration von 400 ng/ml bei 98,6 %. Bei Raumtemperatur ergaben sich ebenfalls keine Verluste von Aripiprazol. Werte von 100,5 %, 101,3 %, 97,4 %, 98,5 % und 109,0 % bei Lichtexposition und Werte von 100,2

%, 118,0 %, 101,2 %, 94,8 % und 107,7 % bei Lagerung im Dunkeln wurden nach 1, 3, 7, 14 und 17 Tagen gemessen.

Die nachträgliche Überprüfung der Konzentration des zur Validierung eingesetzten Tablettenextrakts von Aripiprazol mit Reinsubstanz ergab folgende Werte: Die eingesetzte Tablettenlösung von 50 ng/ml entsprach 98,4 % der Reinsubstanz, 250 ng/ml 96,1 %, 500 ng/ml 97,6 % und 1000 ng/ml 99,4 %.

Anwendung dieser Methode auf 46 andere psychotrope Medikamente, die medikamentenfreiem Plasma zugesetzt waren, ergab, dass Reboxetin, Pipamperon und Desmethylclozapin ähnliche Retentionszeiten zeigten wie Aripiprazol (Tabelle 3.1).

Zur Überprüfung der Anwendbarkeit auf Serumproben von Patienten, die mit Aripiprazol behandelt werden, wurden 520 Proben von 283 Patienten gemessen. Die Ergebnisse sind im Kapitel 3.2 „Anwendung der Nachweismethode von Aripiprazol für Therapeutisches Drug Monitoring“ dargestellt.

Tabelle 3.1: Liste der getesteten möglichen Interferenzen

Substanz	Retentions- zeit (min)	Konzentration (ng/mL)	Peak Höhe (mAU/100ng)
Diazepam	9,77	1000	0,39
Sulpirid	13,46	1210	3,88
9-Hydroxyrisperidon	14,10	2000	0,26
Clozapin	15,48	750	1,28
Amisulpirid	16,06	500	1,22
Risperidon	16,31	1000	0,52
Reboxetin	17,04	400	0,37
Aripiprazol	17,61	500	0,98
Pipamperon	17,80	400	0,66
Norclozapin	18,03	500	1,45
Fluvoxamin	18,15	100	2,13
Perphenazin	19,05	615	0,82
Donepezil	21,17	1000	1,19
Norcitalopram	21,32	50	1,01
Citalopram	23,01	100	1,05
Melperon	23,26	1000	0,32
Nordoxepin	23,36	200	1,40

Tabelle 3.1: (Fortsetzung)

Substanz	Retentions- zeit (min)	Konzentration (ng/mL)	Peak Höhe (mAU/100ng)
Normaprotilin	23,85	200	0,68
Norfluoxetin	24,17	200	0,31
Paroxetin	24,22	100	0,46
Norperazin	24,56	200	0,28
Perazin	24,56	200	0,24
Doxepin	24,99	200	1,28
Norsertalin	25,35	100	0,83
Sertralin	25,35	100	1,01
Desipramin	25,79	200	0,53
Nortriptylin	26,97	135	0,75
Maprotilin	27,38	200	0,89
Fluoxetin	27,57	200	0,37
Imipramin	28,16	200	0,50
Nortrimipramin	28,23	270	0,27
Amitriptylin	29,18	180	0,54
Trimipramin	29,75	300	0,32
Clomipramin		200	n.d.
Norclomipramin		200	n.d.
Flunitrazepam		1000	n.d.
Haloperidol		105	n.d.
Lorazepam		1000	n.d.
N-Demethylvenlafaxin		100	n.d.
Nitrazepam		1000	n.d.
Nordazepam		1000	n.d.
O-Demethylenlafaxin		200	n.d.
Olanzapin		150	n.d.
Oxazepam		1110	n.d.
Quetiapin		212	n.d.
Temazepam		1000	n.d.
Tianeptin		1000	n.d.

Tabelle 3.1: (Fortsetzung)

Substanz	Retentions- zeit (min)	Konzentration (ng/mL)	Peak Höhe (mAU/100ng)
Venlafaxin		100	n.d.
Ziprasidon		500	n.d.
Zotepin		1050	n.d.

n.d. nicht detektierbar

3.2 Anwendung der Nachweismethode von Aripiprazol für Therapeutisches Drug Monitoring

Im Zeitraum von Juli 2004 bis Mai 2006 wurde für 283 Patienten aus Psychiatrischen Kliniken in Deutschland und der Schweiz, die mit Aripiprazol behandelt wurden, TDM im Neurochemische Labor der Klinik für Psychiatrie in Mainz angefordert. Insgesamt wurden 523 eingesandte Blutproben untersucht. Die Patienten waren 17 bis 84 Jahre alt und wurden chronisch mit Aripiprazol behandelt. 166 (59 %) von ihnen waren Männer, das mittlere Alter lag bei 35,1 (\pm 12,2) Jahren. Bei 57 % von ihnen (n = 164) war die Diagnose einer Schizophrenie (F20) nach ICD-10 gestellt worden. Die Anzahl der Blutproben dieser Patientengruppe lag bei 293. 16 Patienten (6 %) litten unter einer schizoaffektiven Störung (F25), 11 (4 %) unter einer affektiven Störung (F31-34) und 10 (4 %) unter einer emotional instabilen Persönlichkeitsstörung vom Borderline-Typ (F60.31). Weitere 18 Patienten (6 %) waren von verschiedenen anderen psychiatrischen Erkrankungen betroffen, unter anderem organischer wahnhafter Störung (F06.2), anhaltender wahnhafter Störung (F22) oder akuten vorübergehenden psychotischen Störungen (F23). Bei 64 Patienten (18 %) war keine Diagnose an das Labor mitgeteilt worden.

3.2.1 Pharmakokinetische Parameter

Spiegel – Dosis Korrelation

Die Auswertung aller 523 Serumproben ergab einen signifikanten Zusammenhang zwischen der täglichen Dosis von Aripiprazol und den gemessenen Spiegeln. Bei Betrachtung der Konzentrationen von Aripiprazol und der Dosis konnte ein Korrelationskoeffizient von $r = 0,419$ mit $p \leq 0,01$ berechnet werden. Konzentrationen von Dehydroaripiprazol

korrelierten mit der täglichen Dosis mit $r = 0,355$ ($p \leq 0,01$) und die Summe aus Muttersubstanz und Metabolit mit der Dosis mit $r = 0,482$ ($p \leq 0,01$) (Abbildung 3.1).

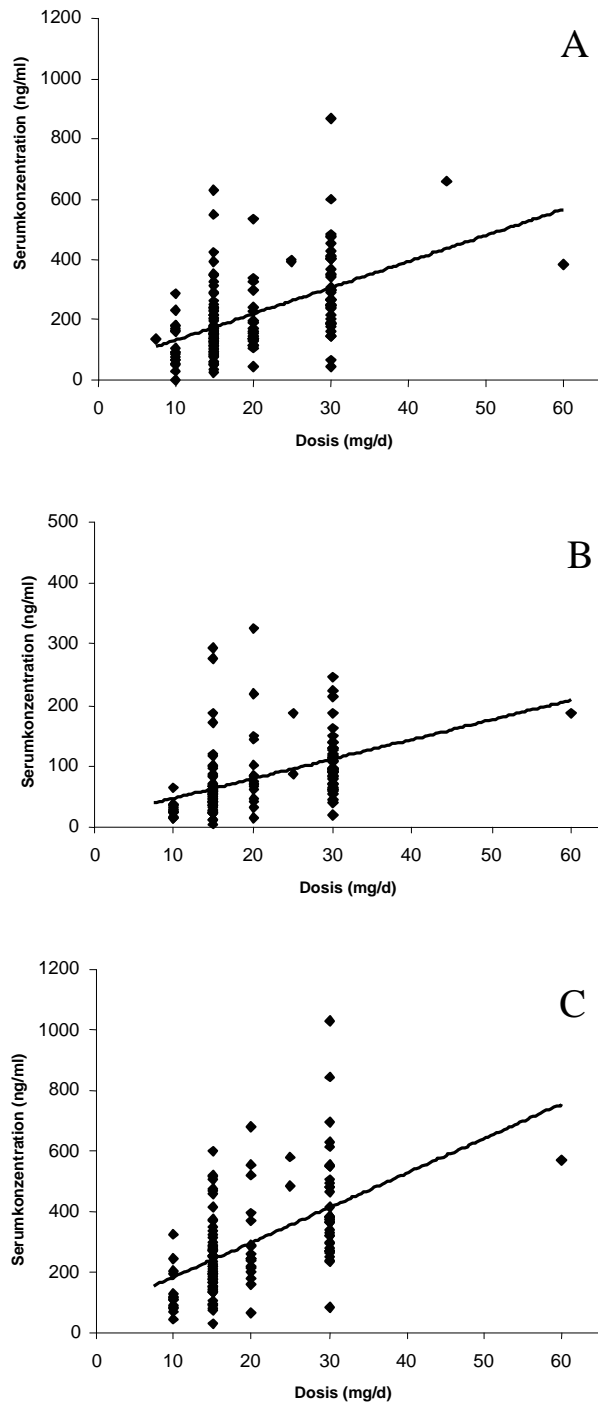


Abbildung 3.1: Serumkonzentrationen von Aripiprazol (A), Dehydroaripiprazol (B) und der Summe aus beiden Substanzen (C) bezogen auf die tägliche Dosis in Patienten unter Aripiprazol Behandlung.

Dehydroaripiprazol

Die Konzentration von Dehydroaripiprazol im Serum der Patienten lag im Mittel bei 40 % der Konzentration von Aripiprazol. Der interindividuelle Variationskoeffizient (C.V.) zwischen allen Behandelten lag bei 93 %, der intraindividuelle C.V., berechnet für 73 Patienten, deren Blut zwei- bis neunmal zur Spiegelbestimmung in das Neurochemische Labor geschickt worden war, jedoch nur bei 26 %.

CYP3A4 und CYP2D6 beeinflussende Komedikamente

Um zu untersuchen, inwieweit Komedikamente, die die Aripiprazol abbauenden Enzyme CYP3A4 und CYP2D6 beeinflussen, die Serumspiegel verändern, wurden Konzentration zu Dosis Verhältnisse (K/D) bestimmt. Die mittleren Werte bei Patienten, die keine CYP3A4 und CYP2D6 beeinflussenden Medikamente erhielten, lag bei $11,4 \pm 7,3$ ng/ml/mg für Aripiprazol und bei $4,0 \pm 4,0$ ng/ml/mg für Dehydroaripiprazol. Elf Patienten wurden mit dem Betablocker Metoprolol, einem Inhibitor von CYP2D6 behandelt; diese hatten einen 40 % höheren K/D – Wert für Aripiprazol ($p \leq 0,05$) und einen um 56 % erhöhten Wert für den aktiven Metaboliten. Zwei Patienten erhielten in Komedikation das Antidepressivum Fluvoxamin, welches Inhibitor von CYP1A2, CYP2C9, CYP2C19 und CYP3A4 ist. K/D – Werte dieser Patienten lagen um 51 % höher für Aripiprazol und um 120 % für Dehydroaripiprazol verglichen mit Patienten mit unbeeinflussten Leberenzymen. Auch das Antidepressivum Fluoxetin, Inhibitor von CYP2D6 und geringfügig von CYP3A4, das bei drei Patienten komediziert wurde, führte zu einer leichten Erhöhung der Aripiprazolspiegel um 18 % und zu einer Abnahme der Dehydroaripiprazolspiegel von 30 %.

Bei Patienten ($n = 3$), die mit Paroxetin, einem Inhibitor von CYP2D6, komediziert wurden, fand sich keine Veränderung gegenüber den Ausgangswerten für den Aripiprazolspiegel. Carbamazepin, das als Antiepileptikum und Stimmungsstabilisierer eingesetzt wird und die Enzyme CYP1A2, CYP2C9, CYP2C19 und CYP3A4 induziert, erniedrigte bei sechs Patienten die K/D – Werte von Aripiprazol um 36 %, hatte aber keinen signifikanten Einfluss auf Spiegel von Dehydroaripiprazol (Tabelle 3.2).

3.2.2 Pharmakodynamische Parameter

Pharmakodynamische Parameter wurden nur für die 164 schizophrenen Patienten, die in diese Studie eingeschlossen waren, ausgewertet, um eine möglichst homogene Gruppe zu erhalten. Dies waren 109 Männer und 55 Frauen im Alter von 19 bis 66 Jahren (Mittelwert $33,8 \pm 10,8$). 96 % der Patienten waren auf der CGI Skala für den Schweregrad der Erkrankung mit

einem Wert > 4 und somit als deutlich krank von den behandelnden Ärzten eingeschätzt worden. Für alle Patienten ergab sich ein mittlerer Wert von 6,0 (schwer krank) für den Schweregrad der Erkrankung.

Serumspiegel

Patienten wurden mit einer täglichen Dosis Aripiprazol im Bereich von 7,5 bis 60 mg/d (Median 15, Mittelwert $19,8 \pm 8,2$ mg/d) behandelt. Dabei waren die am häufigsten eingesetzten Dosen 15 und 30 mg/d (43,3 und 26,2 %). Hieraus resultierte ein mittlerer Aripiprazol Spiegel von 214 ± 140 ng/ml (25. bis 75. Perzentil 124 – 286 ng/ml; Median 179 ng/ml; Bereich 0 – 869 ng/ml) und ein mittlerer Dehydroaripiprazol Spiegel von 78 ± 59 ng/ml (25. bis 75. Perzentil 39 – 97 ng/ml; Median 63 ng/ml; Bereich 5 – 326 ng/ml). Für die Summe aus beiden aktiven Substanzen errechnete sich ein Mittelwert von 292 ± 172 ng/ml (25. bis 75. Perzentil 174 – 375 ng/ml; Median 262 ng/ml; Bereich 15 – 1031 ng/ml).

Komedikamente

73 % der schizophrenen Patienten erhielten außer Aripiprazol jeweils ein bis sieben weitere Medikamente. 54 % von ihnen wurden mit einem oder zwei weiteren Antipsychotika behandelt, wobei die atypischen Antipsychotika Clozapin (19,4 %), Olanzapin (18,5 %), Amisulprid (13,9 %) und Quetiapin (13,9 %) am häufigsten komediziert wurden. Typische Antipsychotika, wie Chlorprothixen (7,4 %), Pipamperon (6,5 %), Melperon (3,4 %) oder Haloperidol (1,9 %) wurden seltener mit Aripiprazol kombiniert. Ebenso kam die Kombination mit den neueren atypischen Antipsychotika Risperidon (6,5 %) und Ziprasidon (1,9 %) bei den wenigsten Patienten vor. 18 % der schizophrenen Patienten wurden zusätzlich mit Antidepressiva behandelt, 21 % erhielten Benzodiazepine, 8 % Stimmungsstabilisierer, 7 % weitere psychoaktive Medikamente, sowie 18 % nicht ZNS-wirksame Medikamente.

Therapieeffekt

74 schizophrene Patienten erhielten nur Aripiprazol als antipsychotische Therapie. Für diese Gruppe wurde im Mittel ein CGI Item 2 Wert von 2,2 und somit ein mäßiger Therapieeffekt berechnet. Die Behandlung mit Aripiprazol war von den behandelnden Ärzten bei 60 % der Patienten mit sehr gutem oder mäßigem Therapieeffekt beurteilt worden. Das 25. bis 75. Perzentil ihrer Serumspiegel lag im Bereich von 124 bis 286 ng/ml für Aripiprazol und von 173 bis 367 ng/ml für die Summe aus Muttersubstanz und Metabolit. Unter der Annahme, dass Patienten mit sehr gutem oder mäßigem Therapieeffekt als Responder definiert wurden,

lag der Anteil an Therapierespondern bei 68 % der Patienten, wenn Aripiprazolspiegel im Bereich von 150 bis 300 ng/ml lag. Die Anzahl der Responder mit einem Spiegel unterhalb oder oberhalb dieses Bereichs war geringer mit nur 57 % bzw. 50 %. Für Dehydroaripiprazol und die Summe beider aktiver Substanzen wurde kein derartiger Zusammenhang gefunden.

Nebenwirkungen

Bei 24 der 74 mit Aripiprazol monotherapierten Patienten (32 %) wurden Nebenwirkungen beobachtet. Innere Unruhe (8 %), Schläfrigkeit und Sedierung (7 %) und EPS-Nebenwirkungen (7 %) waren häufige Nebenwirkungen. Seltener wurde über gastrointestinale Störungen (3 %), kardiovaskuläre Störungen (3 %), Hauterscheinungen (1 %), Akkomodationsstörungen (1 %) und urogenitale Störungen (1 %) berichtet.

Aripiprazol-Serumspiegel von Patienten, die keine oder leichte Nebenwirkungen hatten und mit 0 oder 1 auf der UKU Skala bewertet wurden, lagen im Bereich des 25. und 75. Perzentils von 110 bis 249 ng/ml (Mittelwert 194 ± 125 ng/ml; Bereich 10 – 598 ng/ml). Serumspiegel von Dehydroaripiprazol lagen zwischen 43 und 100 ng/ml (25. bis 75. Perzentil; Mittelwert 80 ± 56 ng/ml; Bereich 5 – 246 ng/ml) und für die Summe zwischen 166 und 353 ng/ml (25. bis 75. Perzentil; Mittelwert 275 ± 173 ng/ml; Bereich 15 – 844 ng/ml). Patienten, bei denen die Schwere ihrer Nebenwirkungen mit mittel oder schwer (UKU 2 und 3) angegeben war, hatten höhere Serumspiegel. Für Aripiprazol lagen diese zwischen 210 und 335 ng/ml (25. bis 75. Perzentil; Mittelwert 292 ± 151 ng/ml; Bereich 95 – 535 ng/ml), für Dehydroaripiprazol zwischen 64 und 80 ng/ml (25. bis 75. Perzentil; Mittelwert 84 ± 35 ng/ml; Bereich 61 – 144 ng/ml) und für die Summe zwischen 245 und 375 ng/ml (25. bis 75. Perzentil; Mittelwert 364 ± 198 ng/ml; Bereich 156 – 679 ng/ml).

Tabelle 3.2: Demographische Daten, *Clinical Global Impressions* (CGI) Werte, tägliche Dosen und Serumkonzentrationen von Aripiprazol und seinem aktiven Metaboliten ohne und mit Komedikamenten von Patienten unter Behandlung mit Aripiprazol.

Anzahl der Patienten (total), n	283	
schizophrene Patienten, n	164	
Anzahl der Proben (total), n	523	
schizophrene Patienten, n	293	
Anzahl der schizophrenen Patienten unter Aripiprazol Monotherapie, n	75	
Geschlecht, n		
Männer	109	
Frauen	55	
Alter, Mittelwert (Bereich), Jahre	33,8 (19-66)	
CGI Item 1 (Schweregrad der Erkrankung)		
aller schizophrener Patienten	6,0	
mit Aripiprazol Monotherapie	5,9	
CGI Item 2 (Therapieeffekt)		
aller schizophrener Patienten	2,4	
mit Aripiprazol Monotherapie	2,2	
Aripiprazol Dosis, Mittelwert (Bereich), mg/d	19,8 (7,5-60,0)	
Serumspiegel, Mittelwert (25. – 75. Perzentil), ng/ml		
Aripiprazol	214 (124-286)	
Dehydroaripiprazol	78 (39-97)	
Summe	292 (174-375)	
Dehydroaripiprazol zu Aripiprazol Konzentration, Mittelwert (Bereich), %	40,2 (2,2-533,3)	
intraindividueller C.V. %	26,2	
interindividueller C.V. %	92,9	
Konzentration zu Dosis Verhältnisse (K/D), ng/ml/mg, ohne und mit Komedikation		
Aripiprazol		
ohne Komedikation (n)	11,4 ± 7,3 (221)	
mit Komedikation von		
Metoprolol (n)	16,0 ± 7,3 (11)	p<0,05
Fluvoxamin (n)	17,5 ± 1,3 (2)	
Fluoxetin (n)	13,5 ± 1,4 (3)	
Paroxetin (n)	11,4 ± 5,1 (3)	
Carbamazepin (n)	7,4 ± 3,3 (6)	
Dehydroaripiprazol		
ohne Komedikation (n)	4,0 ± 4,0 (186)	
mit Komedikation von		
Metoprolol (n)	6,3 ± 5,3 (9)	
Fluvoxamin (n)	8,8 ± 3,1 (2)	
Fluoxetin (n)	2,8 ± 1,7 (2)	
Paroxetin (n)	8,1 ± 7,8 (3)	
Carbamazepin (n)	4,0 ± 5,2 (6)	
Aripiprazol plus Dehydroaripiprazol		
ohne Komedikation (n)	15,6 ± 10,2 (186)	
mit Komedikation von		
Metoprolol (n)	20,7 ± 8,1 (9)	
Fluvoxamin (n)	26,3 ± 1,7 (2)	
Fluoxetin (n)	15,9 ± 3,4 (2)	
Paroxetin (n)	19,5 ± 10,8 (3)	
Carbamazepin (n)	11,4 ± 7,8 (6)	

3.3 Tierexperimentelle Kinetikuntersuchungen

Therapeutisches Drug Monitoring ist auf die Messung von Arzneistoffkonzentrationen im Blut der Patienten limitiert. Für eine Beurteilung der Konzentrationen von Antipsychotika in ihrem Wirkkompartiment, dem Gehirn, und eines möglichen Einflusses von P-gp auf die Verteilung in dieses Kompartiment, wurden Konzentrationen der in dieser Arbeit untersuchten Arzneistoffe im Blut, Gehirn und der Milz von WT und *mdr1a*(-/-, -/-) Mäusen (n = 5 je Genotyp und Dosis) gemessen (Tabellen 3.3, 3.4 und 3.5).

Amisulprid

Beim Vergleich der Gehirnkonzentrationen von Amisulprid zwischen *mdr1a/1b*(-/-, -/-) und WT Mäusen nach i.p. Gabe von 30 mg/kg konnten signifikante Unterschiede beobachtet werden ($p \leq 0,01$). Die Spiegel im Gehirn der P-gp defizienten Mäuse erreichten nach 1 h einen Wert von ca. 8000 ng/ml und wurden über die Zeit geringer. Im Gehirn von WT Tieren konnte nach der Injektion zu keinem Zeitpunkt eine messbare Konzentration von Amisulprid nachgewiesen werden.

Die AUC im Gehirn der *mdr1a/1b*(-/-, -/-) Mäuse gemessen im Zeitraum 1 h bis 24 h erreichte einen Absolutwert von 10361 ng/ml.

Serumkonzentrationen von Amisulprid lagen im Mittel bei den P-gp Doppelknockout Mäusen zweifach höher als bei WT Tieren.

Konzentrationen von Amisulprid in der Milz der WT Mäuse waren nur in den ersten 3 h messbar, in *mdr1a/1b*(-/-, -/-) Mäusen hingegen bis zu 24 h nach Injektion. Dabei lag der Wert der WT Tiere 1 h nach Injektion deutlich höher als in den P-gp defizienten Tieren, nach 3 h überstieg die Konzentration in den P-gp Doppelknockout Mäusen den Spiegel der WT Tiere 6,6-fach ($p \leq 0,01$). Die AUC beider Genotypen war ähnlich mit 91 % in *mdr1a/1b*(-/-, -/-) Mäusen in Bezug auf den Wert der WT Tiere.

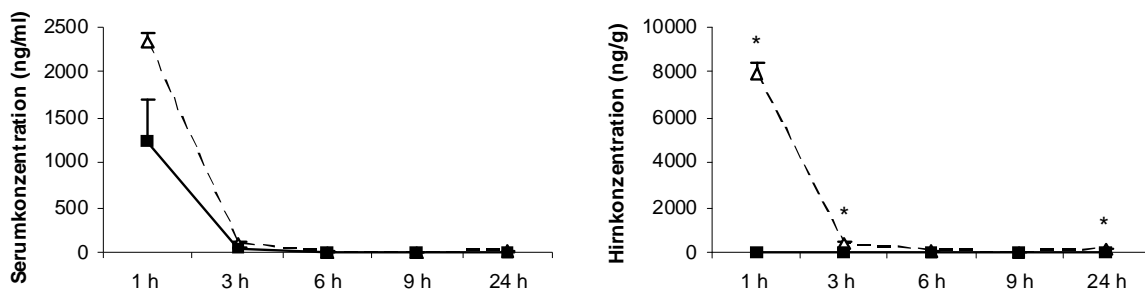


Abbildung 3.2: Mittelwerte \pm SEM der Konzentrationen von Amisulprid in Serum (ng/ml) und Gehirn (ng/g) von WT (durchgezogene Linie) und *mdr1a/1b*(*-/-*, *-/-*) Mäusen (gestrichelte Linie) nach i.p. Injektion von 30 mg/kg Amisulprid. * $p \leq 0,05$ zwischen Konzentrationen der Genotypen nach zweiseitigem t-Test.

Aripiprazol und Dehydroaripiprazol

Nach i.p. Injektion von 10 mg/kg Aripiprazol wurden signifikant unterschiedliche Gehirnkonzentrationen von Aripiprazol und Dehydroaripiprazol zwischen WT und *mdr1a/1b*(*-/-*, *-/-*) Mäusen zu verschiedenen Zeitpunkten gemessen. Die Gehirnkonzentrationen von Aripiprazol waren ca. vierfach höher in den P-gp defizienten Mäusen verglichen mit WT Tieren 3 h bis 9 h nach i.p. Injektion ($p \leq 0,01$). 1 h nach Gabe war der Spiegel im Gehirn 1,9-fach höher ($p \leq 0,05$), nach 24 h jedoch 17,7-fach ($p \leq 0,01$).

Dehydroaripiprazol wurde in den Mäusen nach i.p. Injektion der Muttersubstanz gebildet. Dabei erhöhte sich diese Konzentration mit der Zeit in Serum und Gehirn bis zu einem Maximum bei 9 h nach Gabe von Aripiprazol und lag zu diesem Zeitpunkt um 5,0-fach höher in P-gp defizienten Tieren als in WT Mäusen. 1 h nach Injektion lag der Spiegel in den *mdr1a/1b*(*-/-*, *-/-*) Mäusen im Gehirn um 3,4-fach höher und 24 h nach Gabe der Muttersubstanz 12,3-fach höher (3 h bis 24 h, $p \leq 0,01$).

Die AUC von Aripiprazol gemessen im Gehirn der P-gp Doppelknockout Mäuse betrug 402 % verglichen mit der AUC bei WT Tieren; die Gesamtkonzentration an Dehydroaripiprazol im Gehirn von *mdr1a/1b*(*-/-*, *-/-*) Mäusen lag bei 595 % bezogen auf den Wert der WT Mäuse.

Serumspiegel beider Substanzen waren ca. ein- bis zweifach höher in den P-gp defizienten Tieren. Dabei lag dieser Werte 1 h nach Injektion bei 0,8 für Aripiprazol bzw. bei 0,9 für den Metaboliten und vergrößerte sich über die Zeit bis auf 11,7 bzw. 3,3.

Konzentrationen von Aripiprazol in der Milz unterschieden sich in den ersten 9 h kaum zwischen den Genotypen, 24 h nach Injektion überstieg der Spiegel in den *mdr1a/1b*(*-/-*, *-/-*) Mäusen die Konzentration der WT Tiere 17,6-fach ($p \leq 0,05$). Konzentrationen von Dehydroaripiprazol in der Milz waren 3 h und 6 h nach Injektion in beiden Gruppen

vergleichbar. 1 h nach Aripiprazolgabe lag die Konzentration des Metaboliten in der Milz der *mdr1a/1b(-/-, -/-)* Mäusen 40 % niedriger als in WT Tieren. Nach 9 h überstieg sie ihn 1,4-fach ($p \leq 0,05$). Über den gesamten Zeitraum betrachtet lag die AUC der *mdr1a/1b(-/-, -/-)* Mäuse für Aripiprazol bei 96 %, für Dehydroaripiprazol bei 144 %.

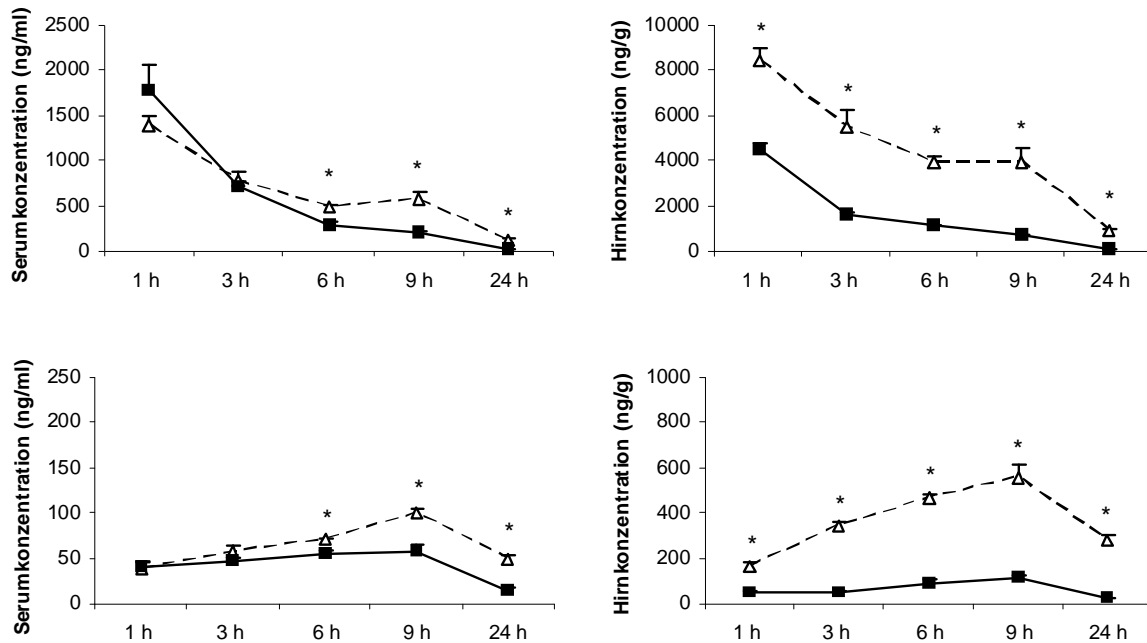


Abbildung 3.3: Mittelwerte \pm SEM der Konzentrationen von Aripiprazol (obere Abbildung) und Dehydroaripiprazol (untere Abbildung) in Serum (ng/ml) und Gehirn (ng/g) von WT (durchgezogene Linie) und *mdr1a/1b(-/-, -/-)* Mäusen (gestrichelte Linie) nach i.p. Injektion von 10 mg/kg Aripiprazol. * $p \leq 0,05$ zwischen Konzentrationen der Genotypen nach zweiseitigem t-Test.

Clozapin und N-Desmethylozapin

Gehirnkonzentrationen von Clozapin in *mdr1a/1b(-/-, -/-)* Mäusen, die mit 10 mg/kg behandelt wurden, lagen in den ersten 3 h nach i.p. Injektion niedriger als bei WT Mäusen, stiegen aber zu einem Zeitpunkt von 9 h nach Antipsychotikagabe auf eine 4,3-fach höhere Konzentration an. Die AUC der P-gp defizienten Mäuse lag somit bei 97 % verglichen mit WT Tieren.

Die Konzentration des Metaboliten N-Desmethylozapin, der nach i.p. Injektion von Clozapin gebildet wurde, lag im Mittel 8,8-fach höher in *mdr1a/1b(-/-, -/-)* Mäusen verglichen mit WT Tieren ($p \leq 0,01$). Nach 9 h war der Quotient zwischen den Genotypen mit 15,9 am größten.

Die AUC von N-Desmethylozapin in *mdr1a/1b(-/-, -/-)* Mäusen war mit einem Wert von 1104 % deutlich höher als die AUC der WT Mäuse.

Serumspiegel lagen für Clozapin um 1,8-fach höher in den P-gp defizienten Tieren. Für seinen Metaboliten lagen sie um 1,3-fach innerhalb der ersten 3 h höher und waren nach 24 h mit einem Faktor von 9,4 am höchsten.

Konzentrationen in der Milz lagen innerhalb der ersten 3 h bei beiden Substanzen bei den *mdr1a/1b(-/-, -/-)* Mäusen niedriger als bei den WT Tieren, nach 6 h und 9 h hingegen höher. Im Mittel war der Spiegel von Clozapin in der Milz bei P-gp defizienten Mäusen um den Faktor 1,3 höher, von N-Desmethylclozapin um 1,7. Die AUC betrug 56 % bzw. 119 % in *mdr1a/1b(-/-, -/-)* Mäusen verglichen mit WT Tieren.

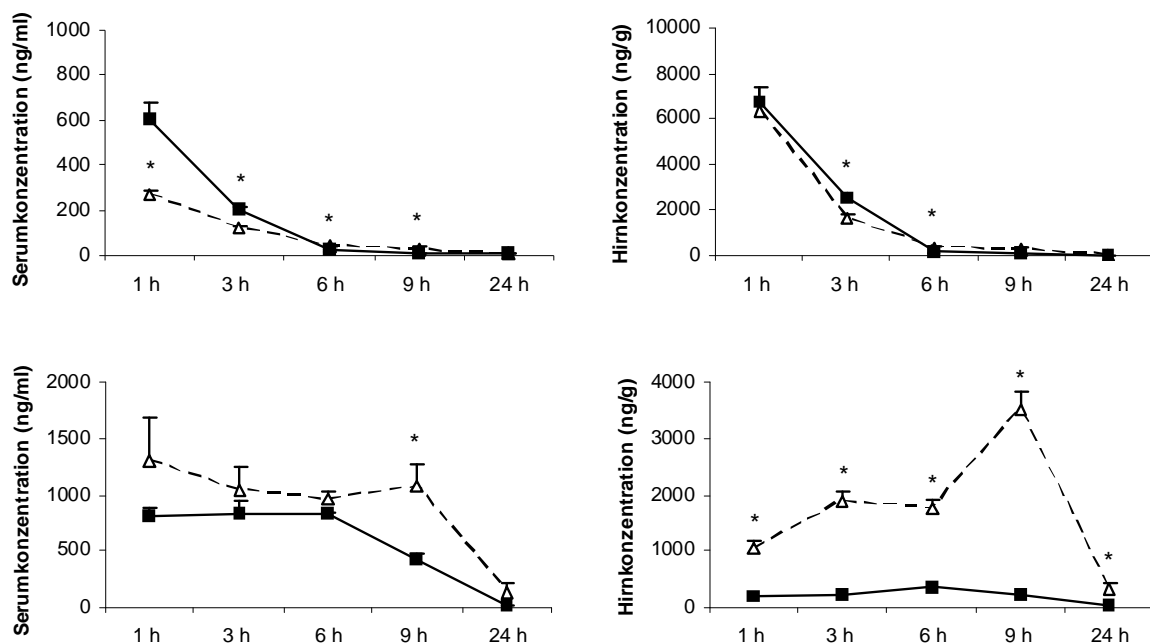


Abbildung 3.4: Mittelwerte \pm SEM der Konzentrationen von Clozapin (obere Abbildung) und N-Desmethylclozapin (untere Abbildung) in Serum (ng/ml) und Gehirn (ng/g) von WT (durchgezogene Linie) und *mdr1a/1b(-/-, -/-)* Mäusen (gestrichelte Linie) nach i.p. Injektion von 10 mg/kg Clozapin. * $p \leq 0,05$ zwischen Konzentrationen der Genotypen nach zweiseitigem t-Test.

Haloperidol

Gehirnkonzentrationen von Haloperidol in *mdr1a/1b(-/-, -/-)* und WT Mäusen, die mit 3 mg/kg behandelt waren, unterschieden sich nicht voneinander über den gesamten Zeitraum von 24 h.

Auch die AUC im Gehirn der P-gp Doppelknockout Tiere war mit der Gesamtkonzentration im Gehirn der WT Mäuse vergleichbar; der Wert lag bei 97 %.

Serumkonzentrationen waren hingegen in *mdr1a/1b(-/-, -/-)* Mäusen mit 0,5 bis 0,8-fachen Werten signifikant niedriger als in WT Tieren (1 h, $p \leq 0,05$; 3 h bis 9 h, $p \leq 0,01$).

Auch Konzentrationen in der Milz lagen um den Faktor 0,5 innerhalb der ersten 9 h signifikant niedriger in P-gp defizienten Mäusen ($p \leq 0,01$). Die AUC in diesen Tieren lag verglichen mit WT Mäusen bei 48 %.

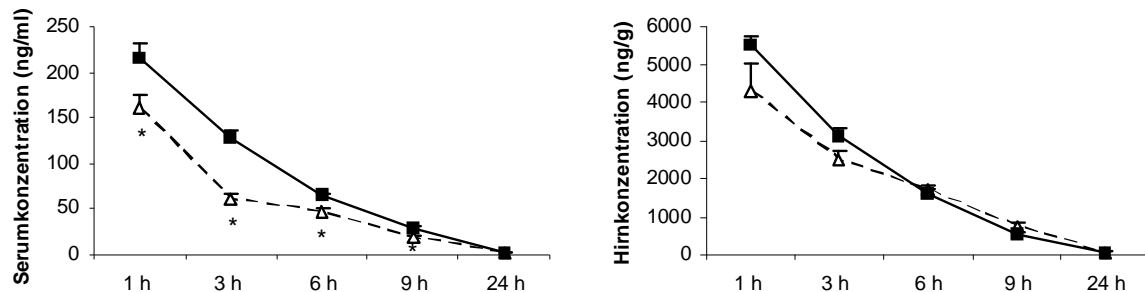


Abbildung 3.5: Mittelwerte \pm SEM der Konzentrationen von Haloperidol in Serum (ng/ml) und Gehirn (ng/g) von WT (durchgezogene Linie) und mdr1a/1b(-/-, -/-) Mäusen (gestrichelte Linie) nach i.p. Injektion von 3 mg/kg Haloperidol. * $p \leq 0,05$ zwischen Konzentrationen der Genotypen nach zweiseitigem t-Test.

Olanzapin

Gehirnspiegel von Olanzapin in mdr1a/1b(-/-, -/-) Mäusen, die mit 2 mg/kg behandelt waren, lagen nach 1 h und 6 h ($p \leq 0,01$) sowie nach 9 h ($p \leq 0,05$) signifikant höher als Konzentrationen der Substanz im Gehirn von WT Tieren. Sie unterschieden sich im Mittel jedoch nur um einen Faktor von 1,4.

Auch die AUC im Gehirn der P-gp defizienten Mäuse lag nur bei 93 % verglichen mit dem Wert der WT Tiere.

Serumspiegel von Olanzapin in P-gp Doppelknockout Mäusen erreichten im Mittel einen Faktor von 0,8 verglichen mit WT Mäusen.

Ebenso verhielten sich Konzentrationen von mdr1a/1b(-/-, -/-) Mäusen in der Milz, sie lagen im Mittel um den Faktor 0,7 niedriger als bei WT Tieren. Innerhalb der ersten 3 h waren sie deutlich niedriger (3 h, $p \leq 0,01$), nach 6 h und 9 h jedoch relativ ähnlich mit einem mittleren Faktor von 1,2 zwischen den Genotypen. Die AUC der mdr1a/1b(-/-, -/-) Mäuse lag mit 64 % deutlich unter dem Wert der WT Tiere.

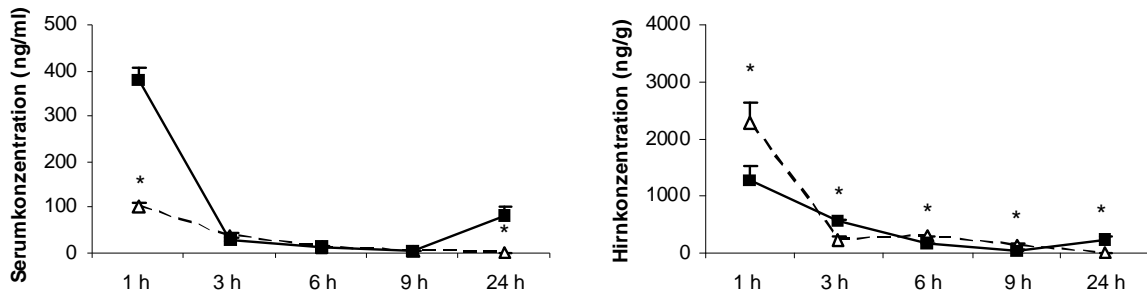


Abbildung 3.6: Mittelwerte \pm SEM der Konzentrationen von Olanzapin in Serum (ng/ml) und Gehirn (ng/g) von WT (durchgezogene Linie) und *mdr1a/1b*(*-/-*, *-/-*) Mäusen (gestrichelte Linie) nach i.p. Injektion von 2 mg/kg Olanzapin. * $p \leq 0,05$ zwischen Konzentrationen der Genotypen nach zweiseitigem t-Test.

Quetiapin

Gehirnspiegel von Quetiapin nach i.p. Injektion von 30 mg/kg waren bei WT Mäusen nur für die ersten 3 h messbar. In dieser Zeit lagen die Gehirnspiegel von *mdr1a/1b*(*-/-*, *-/-*) Mäusen 1,9-fach höher. In diesem Genotyp waren Quetiapinkonzentrationen bis zu 9 h nachweisbar.

Die AUC im Gehirn der P-gp Doppelknockout Mäuse betrug 169 % von der Konzentration, die in WT Tieren gemessen wurde.

Serumspiegel lagen um 1,6-fach innerhalb der ersten 9 h höher bei den *mdr1a/1b*(*-/-*, *-/-*) Mäusen verglichen mit WT Tieren.

Quetiapinkonzentrationen waren in der Milz von P-gp defizienten Tieren für die ersten 9 h messbar, bei WT Mäusen für die ersten 6 h. In diesem Zeitraum lagen die Spiegel der *mdr1a/1b*(*-/-*, *-/-*) Mäuse mit einem mittleren Faktor von 3,3 deutlich höher. Auch die AUC in diesem Genotyp überstieg die der WT Tiere mit einem Wert von 250 % deutlich.

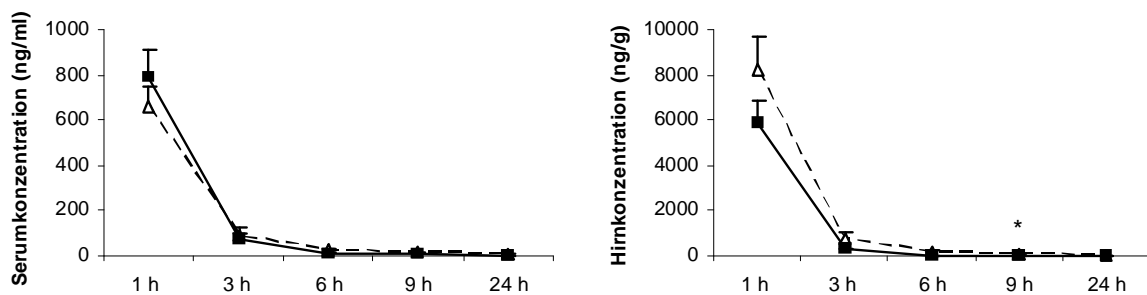


Abbildung 3.7: Mittelwerte \pm SEM der Konzentrationen von Quetiapin in Serum (ng/ml) und Gehirn (ng/g) von WT (durchgezogene Linie) und *mdr1a/1b*(*-/-*, *-/-*) Mäusen (gestrichelte Linie) nach i.p. Injektion von 30 mg/kg Quetiapin. * $p \leq 0,05$ zwischen Konzentrationen der Genotypen nach zweiseitigem t-Test.

Risperidon und 9-Hydroxyrisperidon

Nach i.p. Injektion von 3 mg/kg Risperidon unterschieden sich die Spiegel der Muttersubstanz und des gebildeten aktiven Metaboliten 9-Hydroxyrisperidon in Serum und Gehirn von *mdr1a/1b*(-/-, -/-) Mäusen signifikant von Konzentrationen, die in WT Tieren gemessen wurden. Die Risperidonspiegel gemessen im Gehirn von P-gp defizienten Tieren 10,4-fach nach 1 h ($p \leq 0,05$) bis 2,3-fach nach 24 h höher (3 h bis 6 h, $p \leq 0,01$; 24 h, $p \leq 0,05$).

Konzentrationen von 9-Hydroxyrisperidon waren in Tieren ohne P-gp 8,1-fach nach 1 h ($p \leq 0,05$) bis zu einem Maximum von 20,6-fach nach 9 h höher verglichen mit WT Mäusen (3 h bis 6 h, $p \leq 0,01$; 24 h, $p \leq 0,05$).

Die Konzentration der Summe aus beiden aktiven Substanzen war im Gehirn der *mdr1a/1b*(-/-, -/-) Mäuse 9,5-fach (1 h) bis 16,4-fach (9 h) erhöht (1 h, $p \leq 0,05$; 3 h bis 6 h, $p \leq 0,01$; 24 h, $p \leq 0,05$).

Die AUC lag in P-gp Doppelknockout Mäusen für Risperidon 705 %, für 9-Hydroxyrisperidon 1626 % und für die Summe aus beiden 1261 % höher als in WT Mäusen.

Serum Spiegel von *mdr1a/1b*(-/-, -/-) Mäusen lagen für Risperidon über den gesamten Zeitraum im Mittel um 1,8-fach höher als bei WT Tieren. Das Verhältnis der Konzentrationen von 9-Hydroxyrisperidon im Serum war bei beiden Genotypen zu den ersten beiden Messzeitpunkten gleich. Dann erhöhte sich die Serumkonzentration der P-gp defizienten Tiere bis zu einem Maximum von 19,2-fach erhöhten Werten 24 h nach Injektion verglichen mit WT Mäusen ($p \leq 0,05$).

Konzentrationen in der Milz lagen für Risperidon innerhalb der ersten 3 h und für den Metaboliten innerhalb der ersten 9 h mit jeweils einem mittleren Faktor von 0,6 deutlich niedriger bei *mdr1a/1b*(-/-, -/-) Mäusen (beide Substanzen 1 h bis 3 h, $p \leq 0,01$). Der Quotient erhöhte sich bei 9-Hydroxyrisperidon zwischen den P-gp Doppelknockout Mäusen und den WT Mäusen nach 24 h auf 9,7.

Die AUC in der Milz von *mdr1a/1b*(-/-, -/-) Mäusen ergab für Risperidon einen Wert von 56 % und für 9-Hydroxyrisperidon einen Wert von 72 % bezogen auf die WT Tiere.

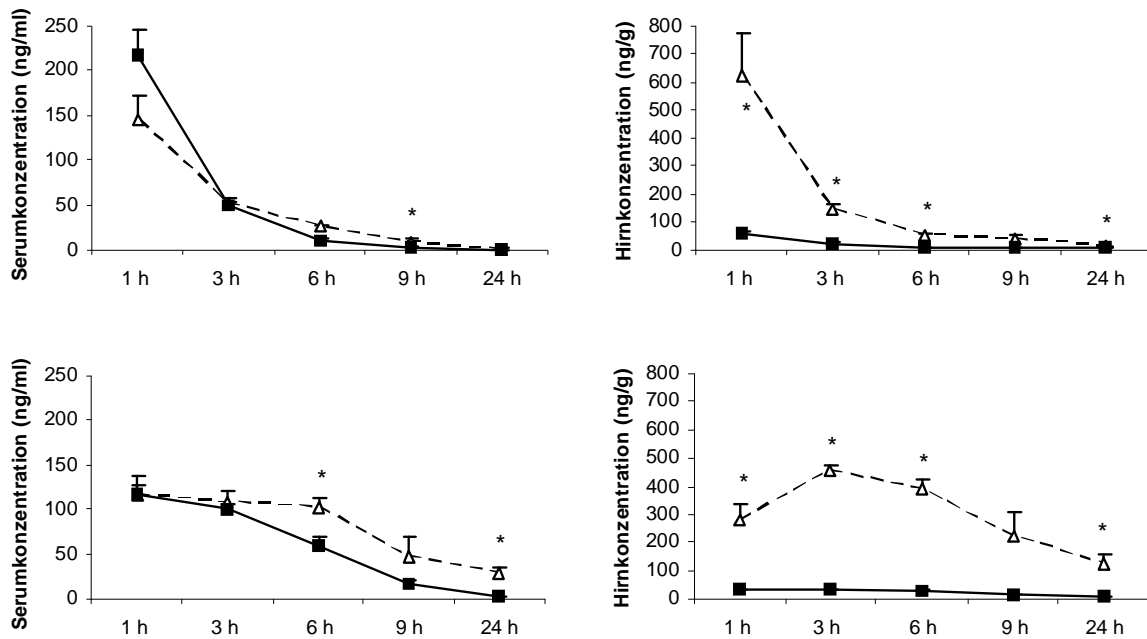


Abbildung 3.8: Mittelwerte \pm SEM der Konzentrationen von Risperidon (obere Abbildung) und 9-Hydroxyrisperidon (untere Abbildung) in Serum (ng/ml) und Gehirn (ng/g) von WT (durchgezogene Linie) und *mdr1a/1b(-/-, -/-)* Mäusen (gestrichelte Linie) nach i.p. Injektion von 3 mg/kg Risperidon. * $p \leq 0,05$ zwischen Konzentrationen der Genotypen nach zweiseitigem t-Test.

Domperidon

Konzentrationen von Domperidon im Gehirn der Mäuse stiegen nach i.p. Injektion von 50 mg/kg erst nach 3 h bei den *mdr1a/1b(-/-, -/-)* Mäusen und nach 6 h bei den WT Tieren auf messbare Werte an (3 h, $p \leq 0,01$). Danach verhielten sie sich bei beiden Genotypen ähnlich. In P-gp Doppelknockout Mäusen war jedoch nach 24 h noch ein dreifach höherer Wert im Vergleich zu WT Mäusen zu beobachten.

Die AUC lag mit 157 % bei P-gp defizienten Tieren deutlich höher als bei Mäusen mit funktionellem P-gp.

Serumspiegel der *mdr1a/1b(-/-, -/-)* Mäuse unterschieden sich insbesondere 3 h nach i.p. Injektion mit einem Faktor von 2,1 von den Werten der WT Tiere ($p \leq 0,05$). Diese Spiegel lagen aber im Mittel mit einem Quotienten von 1,3 in ähnlichen Bereichen.

Konzentrationen von Domperidon in der Milz schwankten über die Zeit mit einem Minimum nach 6 h und einem Maximum nach 9 h. Dieser Verlauf war bei beiden Genotypen vergleichbar.

Die AUC in diesem Gewebe war ebenfalls mit einem Wert von 93 % in den *mdr1a/1b(-/-, -/-)* Mäusen im Vergleich zu den WT Tieren ähnlich.

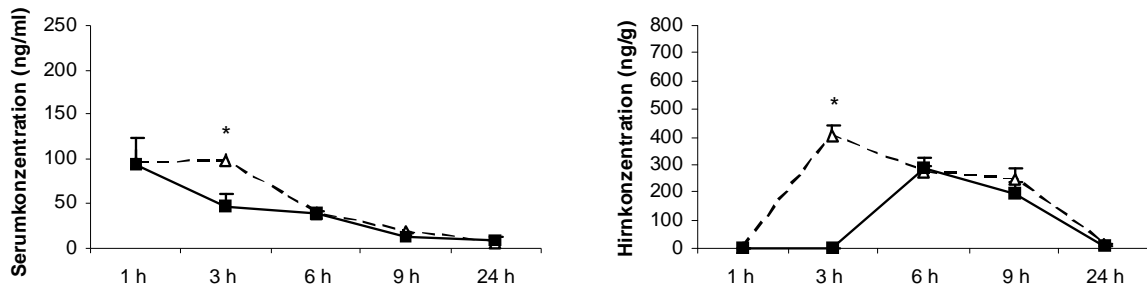


Abbildung 3.9: Mittelwerte \pm SEM der Konzentrationen von Domperidon in Serum (ng/ml) und Gehirn (ng/g) von WT (durchgezogene Linie) und *mdr1a/1b*(-/-, -/-) Mäusen (gestrichelte Linie) nach i.p. Injektion von 50 mg/kg Domperidon. * $p \leq 0,05$ zwischen Konzentrationen der Genotypen nach zweiseitigem t-Test.

Tabelle 3.3: Hirn \pm SEM, Serum \pm SEM und Milz \pm SEM Konzentrationen von mdr1a/1b (-/-, -/-) (KO) (n = 5) und FVB Wild-Typ (WT) Mäusen (n = 5) zu 5 Zeitpunkten nach i.p. Injektion.

Arzneistoff (mg/kg)	nach i.p. Injektion	Hirn (ng/g)		Serum (ng/ml)		Milz (ng/g)	
		KO	WT	KO	WT	KO	WT
Amisulprid 30 mg/kg	1h	7.968 \pm 505**	0 \pm 0	2.332 \pm 107	1.235 \pm 474	565 \pm 83	3.597 \pm 1508
	3h	444 \pm 34**	0 \pm 0	96 \pm 19	51 \pm 13	716 \pm 103**	109 \pm 46
	6h	57 \pm 3**	0 \pm 0	9 \pm 3	4 \pm 2	39 \pm 18	0 \pm 0
	9h	0 \pm 0	0 \pm 0	3 \pm 0	2 \pm 0	0 \pm 0	0 \pm 0
	24h	148 \pm 17**	0 \pm 0	17 \pm 1**	0 \pm 0	142 \pm 29**	0 \pm 0
Aripiprazol 10 mg/kg	1h	8.479 \pm 536*	4.470 \pm 1088	1.392 \pm 98	1.792 \pm 280	17.745 \pm 6.477	15.637 \pm 2.714
	3h	5.511 \pm 729**	1.644 \pm 209	773 \pm 110	713 \pm 58	4.750 \pm 365	5.436 \pm 515
	6h	3.928 \pm 219**	1.147 \pm 194	493 \pm 27**	296 \pm 33	3.736 \pm 175*	4.743 \pm 272
	9h	3.928 \pm 689**	729 \pm 118	575 \pm 89*	204 \pm 25	5.917 \pm 1.537	3.464 \pm 707
	24h	923 \pm 54**	52 \pm 9	132 \pm 8**	11 \pm 6	10.528 \pm 2.642*	597 \pm 205
Dehydro- aripiprazol ^a	1h	162 \pm 15	47 \pm 11	39 \pm 5	42 \pm 5	229 \pm 24	363 \pm 71
	3h	342 \pm 22**	47 \pm 8	58 \pm 4	48 \pm 4	373 \pm 13	347 \pm 37
	6h	465 \pm 17**	89 \pm 17	71 \pm 2*	54 \pm 5	476 \pm 10	529 \pm 30
	9h	557 \pm 58**	111 \pm 13	99 \pm 6**	58 \pm 7	843 \pm 111*	466 \pm 70
	24h	280 \pm 21**	23 \pm 4	50 \pm 3**	15 \pm 3	374 \pm 71	264 \pm 15

Tabelle 3.3: (Fortsetzung)

Arzneistoff (mg/kg)	nach i.p. Injektion	Hirn (ng/g)		Serum (ng/ml)		Milz (ng/g)	
		KO	WT	KO	WT	KO	WT
Clozapin 10 mg/kg	1h	6.334 ± 1.070	6.743 ± 677	267 ± 24**	605 ± 77	5.188 ± 638**	13.577 ± 382
	3h	1.619 ± 165*	2.530 ± 199	122 ± 7**	207 ± 5	1.768 ± 248**	4.111 ± 371
	6h	308 ± 60*	149 ± 22	37 ± 4*	22 ± 2	488 ± 117*	198 ± 24
	9h	238 ± 95	55 ± 6	29 ± 9*	7 ± 3	190 ± 94	78 ± 7
	24h	37 ± 3	28 ± 3	10 ± 2	5 ± 1	28 ± 28	32 ± 3
Desmethyl- clozapin ^a	1h	1.034 ± 124**	205 ± 41	1.305 ± 380	807 ± 66	4.010 ± 432	4.230 ± 578
	3h	1.899 ± 151**	227 ± 58	1.045 ± 212	834 ± 105	4.001 ± 290	4.672 ± 263
	6h	1.767 ± 144**	360 ± 61	953 ± 75	823 ± 29	4.016 ± 380*	2.416 ± 293
	9h	3.501 ± 399**	220 ± 13	1.068 ± 208*	439 ± 38	1.781 ± 112**	1.119 ± 113
	24h	324 ± 104*	33 ± 9	127 ± 91	14 ± 4	177 ± 177	49 ± 14
Haloperidol 3 mg/kg	1h	4.302 ± 725*	5.492 ± 278	161 ± 13	215 ± 18	5.710 ± 1.238**	10.599 ± 386
	3h	2.476 ± 251*	3.114 ± 206	62 ± 5**	128 ± 8	3.053 ± 515**	7.674 ± 384
	6h	1.721 ± 102	1.609 ± 77	47 ± 3**	66 ± 2	1.952 ± 193**	4.596 ± 290
	9h	745 ± 83	550 ± 38	18 ± 2**	29 ± 2	533 ± 62**	872 ± 73
	24h	63 ± 13	69 ± 28	2 ± 0	2 ± 1	154 ± 36	125 ± 54

Tabelle 3.3: (Fortsetzung)

Arzneistoff (mg/kg)	nach i.p. Injektion	Hirn (ng/g)		Serum (ng/ml)		Milz (ng/g)	
		KO	WT	KO	WT	KO	WT
Olanzapin 2 mg/kg	1h	2.292 ± 337*	1.272 ± 255	101 ± 8**	379 ± 26	18.907 ± 1.645	22.927 ± 1.800
	3h	238 ± 46**	556 ± 23	38 ± 8	30 ± 2	3.217 ± 347**	13.003 ± 651
	6h	277 ± 30*	148 ± 22	14 ± 1	10 ± 1	3.399 ± 744	3.110 ± 107
	9h	135 ± 12**	45 ± 5	4 ± 1	5 ± 1	1.041 ± 57	813 ± 110
	24h	0 ± 0**	238 ± 46	0 ± 0**	83 ± 17	0 ± 0	30 ± 18
Quetiapin 30 mg/kg	1h	8.230 ± 1.431	5.893 ± 964	655 ± 96	785 ± 129	6.134 ± 1.209	3.459 ± 649
	3h	751 ± 298	308 ± 36	87 ± 32	76 ± 21	1.360 ± 626	375 ± 37
	6h	132 ± 87	0 ± 0	23 ± 8	7 ± 7	380 ± 232	86 ± 5
	9h	81 ± 11**	0 ± 0	13 ± 2	11 ± 1	106 ± 13**	0 ± 0
	24h	0 ± 0	0 ± 0	6 ± 6	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
Risperidon 3 mg/kg	1h	620 ± 157*	60 ± 6	145 ± 28	218 ± 27	1.926 ± 386**	5.367 ± 706
	3h	146 ± 17**	22 ± 4	51 ± 7	48 ± 5	691 ± 83**	1.234 ± 112
	6h	55 ± 4**	8 ± 1	26 ± 2**	10 ± 2	239 ± 21	288 ± 67
	9h	37 ± 16	5 ± 1	8 ± 5	3 ± 1	117 ± 77	63 ± 24
	24h	12 ± 1*	5 ± 0	1 ± 0	0 ± 0	23 ± 2	19 ± 3

Tabelle 3.3: (Fortsetzung)

Arzneistoff (mg/kg)	nach i.p. Injektion	Hirn (ng/g)		Serum (ng/ml)		Milz (ng/g)	
		KO	WT	KO	WT	KO	WT
9-Hydroxy- risperidon ^a	1h	281 ± 58*	35 ± 1	117 ± 21	116 ± 12	1.048 ± 176**	2.653 ± 270
	3h	454 ± 21**	33 ± 2	109 ± 12	101 ± 6	1.377 ± 79**	2.647 ± 182
	6h	393 ± 29**	26 ± 5	103 ± 11*	59 ± 11	1.241 ± 65	1.929 ± 285
	9h	220 ± 86	11 ± 2	47 ± 23	17 ± 5	458 ± 193	751 ± 167
	24h	126 ± 31*	6 ± 1	28 ± 8*	1 ± 0	489 ± 150*	50 ± 29
Domperidon 20 mg/kg	1h	0 ± 0	0 ± 0	96 ± 14	94 ± 31	141.607 ± 30.417	196.220 ± 42.812
	3h	401 ± 41**	0 ± 0	97 ± 8*	46 ± 15	52.247 ± 14.390**	181.316 ± 28.386
	6h	276 ± 15	289 ± 36	38 ± 5	38 ± 3	41.003 ± 19.565	67.239 ± 33.465
	9h	247 ± 41	193 ± 42	18 ± 1	12 ± 3	185.490 ± 55.130	133.901 ± 38.486
	24h	10 ± 4	3 ± 3	7 ± 3	8 ± 3	33.870 ± 13.144	57.349 ± 25.674

* p<0.05 verglichen mit korrespondierendem WT Wert mittels zwei-seitigem ungepaartem *t*-test.

** p<0.01 verglichen mit korrespondierendem WT Wert mittels zwei-seitigem ungepaartem *t*-test

^a Bestimmt als Metabolit nach Gabe der Muttersubstanz.

Tabelle 3.4: Quotienten der mittleren Hirn- und Serumkonzentrationen der untersuchten Substanzen von *mdr1a/1b(-/-, -/-)* (KO) (n = 5) und FVB Wild-Typ (WT) Mäuse (n = 5) zu fünf Zeitpunkten nach i.p. Injektion.

Arzneistoff (mg/kg)	nach i.p. Injektion	Hirn KO/WT	Serum KO/WT	Hirn/ Serum KO/WT
Amisulprid 30 mg/kg	1h	n.b.	1,9	65,4
	3h	n.b.	1,9	n.b.
	6h	n.b.	2,3	n.b.
	9h	n.b.	1,4	n.b.
	24h	n.b.	n.b.	n.b.
Aripiprazol 10 mg/kg	1h	1,9	0,8	2,5
	3h	3,4	1,1	3,2
	6h	3,4	1,7	2,1
	9h	5,4	2,8	1,2
	24h	17,7	11,7	0,7
Dehydro- aripiprazol ^a	1h	3,4	0,9	3,8
	3h	7,2	1,2	6,2
	6h	5,2	1,3	4,1
	9h	5,0	1,7	3,1
	24h	12,3	3,3	3,3
Clozapin 10 mg/kg	1h	0,9	0,4	2,2
	3h	0,6	0,6	1,1
	6h	2,1	1,7	1,2
	9h	4,3	4,3	n.b.
	24h	1,3	2,0	0,8
Desmethyl- clozapin ^a	1h	5,0	1,6	6,8
	3h	8,4	1,3	6,5
	6h	4,9	1,2	4,3
	9h	15,9	2,4	6,2
	24h	9,9	9,4	0,2

Tabelle 3.4: (Fortsetzung)

Arzneistoff (mg/kg)	nach i.p. Injektion	Hirn KO/WT	Serum KO/WT	Hirn/ Serum KO/WT
Haloperidol 3 mg/kg	1h	0,8	0,8	1,0
	3h	0,8	0,5	1,6
	6h	1,1	0,7	1,5
	9h	1,4	0,6	2,2
	24h	0,9	0,8	0,9
Olanzapin 2 mg/kg	1h	1,8	0,3	7,0
	3h	0,4	1,3	0,3
	6h	1,9	1,3	1,7
	9h	3,0	1,0	3,2
	24h	0,0.	0,0	n.b.
Quetiapin 30 mg/kg	1h	1,4	0,8	1,6
	3h	2,4	1,2	1,7
	6h	n.b.	3,3	n.b.
	9h	n.b.	1,2	n.b.
	24h	n.b.	n.b.	n.b.
Risperidon 3 mg/kg	1h	10,4	0,7	14,5
	3h	6,6	1,1	6,1
	6h	6,8	2,5	1,8
	9h	7,4	2,9	1,8
	24h	2,3	1,9	1,5
9-Hydroxy- risperidon ^a	1h	8,1	1,0	7,4
	3h	13,5	1,1	12,8
	6h	15,2	1,8	8,2
	9h	20,6	2,8	15,5
	24h	19,9	19,6	1,6

Tabelle 3.4: (Fortsetzung)

Arzneistoff (mg/kg)	nach i.p. Injektion	Hirn	Serum	Hirn/ Serum
		KO/WT	KO/WT	KO/WT
Domperidon 20 mg/kg	1h	n.b.	1,0	n.b.
	3h	n.b.	2,1	n.b.
	6h	1,0	1,0	1,1
	9h	1,3	1,5	1,0
	24h	3,0	0,8	n.b.

* $p \leq 0,05$ verglichen mit korrespondierendem WT Wert mittels zweiseitigem t-Test.

** $p \leq 0,01$ verglichen mit korrespondierendem WT Wert mittels zweiseitigem t-Test

^a Bestimmt als Metabolit nach Gabe der Muttersubstanz.

n.b. Nicht berechenbar wegen Division durch Null.

Tabelle 3.5: AUC (*Area under the Curve*) Werte in Hirn, Serum und Milz von *mdr1a/1b*(-/-, -/-) (KO) (n = 5) und FVB Wild-Typ (WT) Mäusen (n = 5) über eine Zeitspanne von 1 h bis 24 h nach i.p. Injektion.

Arzneistoff	Hirn		Serum		Milz	
	KO	WT	KO	WT	KO	WT
Amisulprid	10.361	0	2.751	1.392	3.535	3.868
Aripiprazol	76.314	18.977	10.962	6.387	76.314	79.109
Dehydroaripiprazol	9.527	1.600	1.665	957	12.988	8.996
Clozapin	13.726	14.219	1.013	1.284	12.459	22.403
Desmethylclozapin	45.015	4.078	17.341	9.334	42.794	35.852
Haloperidol	22.836	23.564	634	1.014	25.145	52.357
Olanzapin	4.933	5.299	278	1.150	46.519	72.302
Quetiapin	11.235	6.663	1.102	1.095	11.627	4.653
9-OH-Risperidon	5.522	340	1.332	706	15.999	22.192
Risperidon	1.570	223	431	398	5.591	10.022
Domperidon	4.133	2.631	664	493	2.318.670	2.486.453

3.4 Tierexperimentelle Verhaltensuntersuchungen

3.4.1 Vergleich Katalepsie - Rotarod

Der klassische Test auf extrapyramidalmotorische Nebenwirkungen, insbesondere von typischen Antipsychotika, ist der Test auf Katalepsie bei Nagern. Durch einen veränderten Wirkmechanismus und eine zum Teil geringere dopaminerge D₂-Rezeptor Blockade der neueren atypischen Antipsychotika wird eventuell keine Katalepsie bei Nagern mehr ausgelöst, aber es treten dennoch motorische Nebenwirkungen bei Patienten auf. Diese Nebenwirkungen könnten mit einem sensitiveren tierexperimentellen Test, wie dem Rotarod, erkannt werden. Für die Untersuchung inwieweit eine Messung des Laufverhaltens auf dem Rotarod mit dem klassischen, die dopaminerge D₂-Rezeptor Besetzung widerspiegelnden Test auf Katalepsie vergleichbar ist, wurden FVB WT Mäuse (n = 6 bis 7 pro Substanz und Konzentration) unter Behandlung mit Antipsychotika in beiden Verhaltenstests über 12 h untersucht. Durch die Gabe des GABA_A-Agonisten Diazepam (n = 3 pro Dosis) sollte überprüft werden, welchen Einfluss sedierende Eigenschaften von Arzneistoffen auf das Laufverhalten auf dem Rotarod haben.

Die Dauer und der Verlauf des kataleptischen Verhaltens, gemessen mit der Ring Test und der Bar Test Methode, war bei allen eingesetzten Arzneistoffen vergleichbar, so dass im Folgenden nur die Ergebnisse des Ring Tests dargestellt werden.

Die Ergebnisse der MANOVA mit Messwiederholung ergab signifikante Unterschiede in den Parametern Behandlung (Faktor 1), Zeit (Faktor 2) und deren Interaktion (Faktor 1 * Faktor 2) sowohl auf dem Rotarod (F1: $F_{(17, 102)} = 7,246$ P=0,000; F2: $F_{(6, 612)} = 50,811$ P=0,000; F1*F2: $F_{(102, 612)} = 2,268$ P=0,000) als auch bei der Untersuchung auf Katalepsie (F1: $F_{(17, 102)} = 13,721$ P=0,000; F2: $F_{(6, 612)} = 18,862$ P=0,000; F1*F2: $F_{(102, 612)} = 7,565$ P=0,000). In den anschließenden zweiseitigen t-Tests für unabhängige Stichproben wurden bei Haloperidol, Risperidon und Aripiprazol dosisabhängige Einschränkungen auf dem Rotarod und im Test auf Katalepsie gefunden.

Kontrollen

Mäuse, die unbehandelt waren ($n = 11$), zeigten kein kataleptisches Verhalten. Auf dem Rotarod lagen alle Kontrolltiere zu den Untersuchungszeitpunkten über ihrem Kontrollwert von 100 % und verbesserten sich zu späteren Zeitpunkten noch leicht.

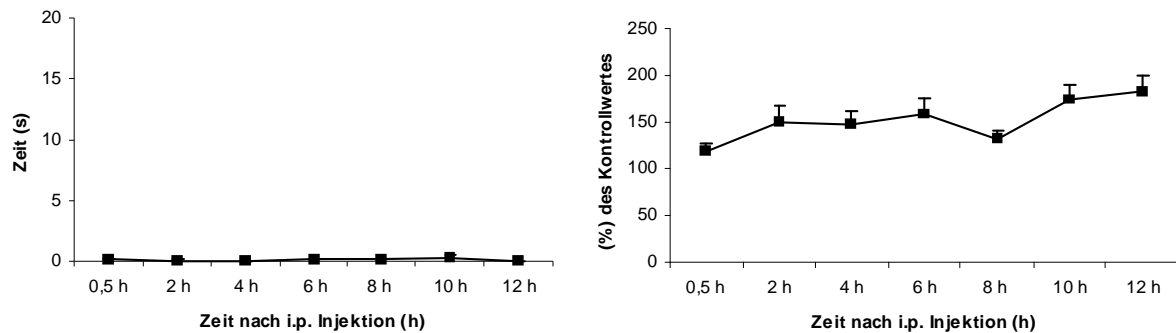


Abbildung 3.10: Dauer der Katalepsie (Mittelwerte \pm SEM, links) und relative Aufenthaltsdauer auf dem Rotarod (Mittelwerte \pm SEM, rechts) prozentual zum im Training erreichten Kontrollwert von unbehandelten WT Mäusen.

Amisulprid

Mit Amisulprid behandelte Mäuse unterschieden sich weder in der Dauer der Katalepsie noch in ihrer Laufleistung auf dem Rotarod von unbehandelten Kontrolltieren bei Dosen von 3, 10 und 30 mg/kg.

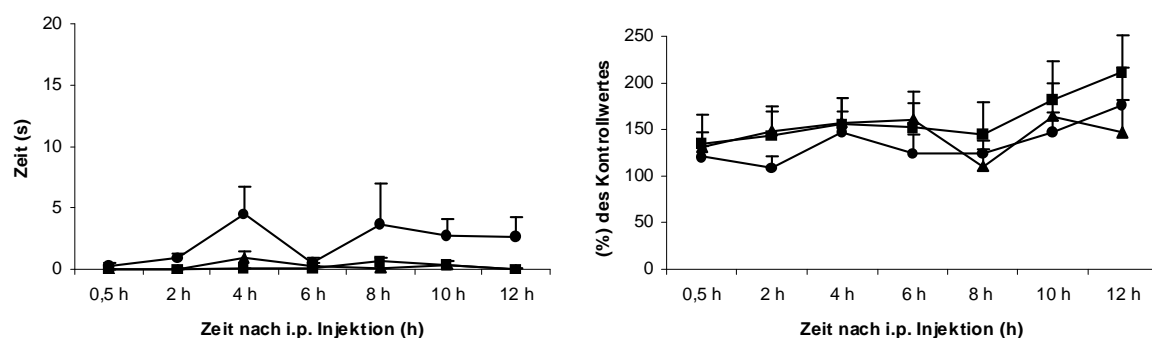


Abbildung 3.11: Dauer der Katalepsie (Mittelwerte \pm SEM, links) und relative Aufenthaltsdauer auf dem Rotarod (Mittelwerte \pm SEM, rechts) prozentual zum im Training erreichten Kontrollwert auf dem Rotarod (rechts) von WT Mäusen nach i.p. Injektion von 3 mg/kg (Quadrat), 10 mg/kg (Dreieck) und 30 mg/kg (Kreis) Amisulprid.

Aripiprazol

Niedrige Dosen Aripiprazol (1 mg/kg) hatten keinen Einfluss auf die motorischen Fähigkeiten der Mäuse. Unter einer mittleren Dosis von 5 mg/kg stieg die Dauer der Katalepsie bis zu einem Maximum von 9 ± 5 s 6 h nach i.p. Injektion an (2 h, $p \leq 0,05$; 8 h bis 12 h, $p \leq 0,05$). Bei der hohen Dosis von 10 mg/kg wurden Zeiten von bis zu 22 ± 7 s nach 4 h gemessen (2 h bis 12 h, $p \leq 0,05$). Nach 2 h bis 8 h sowie nach 12 h war die Dauer der Katalepsie signifikant unterschiedlich zwischen der niedrigen und der hohen Dosis (Abbildung 3.12). Auf dem Rotarod zeigten die niedrig behandelten Tiere nur zum ersten Zeitpunkt nach 0,5 h eine signifikant kürzere Laufzeit als unbehandelte Kontrollmäuse ($p \leq 0,01$). Mit höheren Dosen behandelte Mäuse waren unter 5 mg/kg 0,5 h bis 12 h nach Injektion beeinträchtigt ($p \leq 0,05$) und unter 10 mg/kg 0,5 h bis 4 h sowie 8 h bis 12 h nach Behandlung signifikant schlechter ($p \leq 0,05$). Zwischen der niedrigsten und der höchsten Dosis wurde zu den Messzeitpunkten 0,5 h, 2 h und 8 h ein signifikanter Unterschied gefunden ($p \leq 0,05$) (Abbildung 3.12).

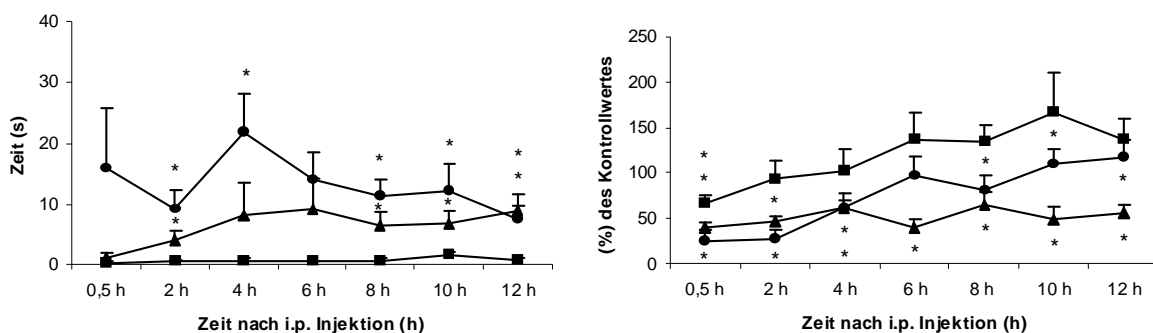


Abbildung 3.12: Dauer der Katalepsie (Mittelwerte \pm SEM, links) und relative Aufenthaltsdauer auf dem Rotarod (Mittelwerte \pm SEM, rechts) bezogen auf den im Training erreichten Kontrollwert auf dem Rotarod (rechts) von WT Mäusen nach i.p. Injektion von 1 mg/kg (Quadrat), 5 mg/kg (Dreieck) und 10 mg/kg (Kreis) Aripiprazol. * $p \leq 0,05$ verglichen mit unbehandelten Kontrollen nach zweiseitigem t-Test.

Haloperidol

Mäuse, die mit Haloperidol behandelt waren zeigten die größte Beeinträchtigung zum ersten Messzeitpunkt nach 0,5 h. Sie verbesserten sich kontinuierlich bis zum letzten Zeitpunkt nach 12 h. Bei der höchsten Dosis von 3 mg/kg zeigte sich eine ausgeprägte Katalepsie von 99 ± 23 s Dauer ($p \leq 0,01$). Im Vergleich zu unbehandelten Kontrollmäusen, bei denen zu keinem Zeitpunkt eine Katalepsie messbar war, zeigten Tiere unter dieser Dosis bis zum letzten Messzeitpunkt nach 12 h eine signifikant längere Dauer des kataleptischen Zustands (0,5 h bis 12 h; $p \leq 0,05$). Bei der mittleren Dosis von 1 mg/kg konnte ebenfalls zwischen 2 h

(15 ± 3 s) und 12 h (3 ± 1 s) nach i.p. Injektion ein signifikanter Unterschied berechnet werden ($p \leq 0,05$). Tiere, die mit der niedrigen Dosis von 0,3 mg/kg behandelt waren, unterschieden sich nur zu einem Zeitpunkt von den Kontrollen. Somit war auch das Ergebnis beim Vergleich zwischen der niedrigsten und höchsten Dosis Haloperidol zu allen Zeitpunkten signifikant verschieden ($p \leq 0,05$) (Abbildung 3.13). Auf dem Rotarod konnte bei allen drei Dosen eine signifikant verkürzte Laufzeit im Vergleich zu Kontrolltieren gemessen werden ($p \leq 0,05$). Zwischen der niedrigsten und der höchsten Dosis bestand jedoch kein signifikanter Unterschied (Abbildung 3.13).

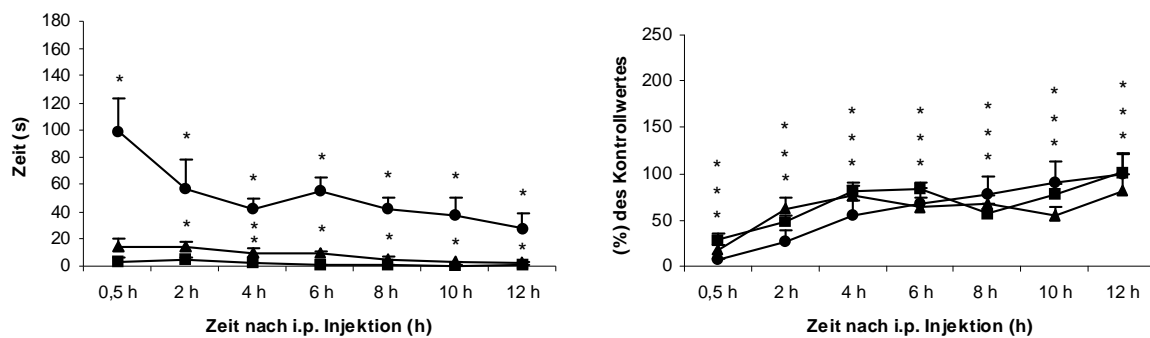


Abbildung 3.13: Dauer der Katalepsie (Mittelwerte \pm SEM, links) und relative Aufenthaltsdauer auf dem Rotarod (Mittelwerte \pm SEM, rechts) bezogen auf den im Training erreichten Kontrollwert auf dem Rotarod (rechts) von WT Mäusen nach i.p. Injektion von 0,3 mg/kg (Quadrat), 1 mg/kg (Dreieck) und 3 mg/kg (Kreis) Haloperidol. * $p \leq 0,05$ verglichen mit unbehandelten Kontrollen nach zweiseitigem t-Test.

Risperidon

Beim Ring Test Versuch mit Mäusen, die mit Risperidon behandelt waren zeigte sich nur ein signifikanter Unterschied zu Kontrolltieren bei der hohen Dosis von 3 mg/kg für die ersten beiden Messzeitpunkte (155 ± 11 s und 110 ± 5 s; $p \leq 0,001$). Mäuse unter der Behandlung von 0,3 und 3 mg/kg unterschieden sich ebenfalls für diese beiden Zeitpunkte signifikant (0,5 h, $p \leq 0,001$; 2 h, $p \leq 0,001$) (Abbildung 3.14). Beim Vergleich von unbehandelten Kontrollen und den behandelten Mäusen zeigte sich auf dem Rotarod unter der hohen Dosis von 3 mg/kg Risperidon ein signifikanter Unterschied bis zu 6 h nach i.p. Injektion ($p \leq 0,001$), bei 1 mg/kg bis zu 4 h (0,5 h, $p \leq 0,001$; 2 h, $p \leq 0,001$; 4 h, $P < 0,05$) und bei der niedrigen Dosis von 0,3 mg/kg bei 0,5 h nach Behandlung ($p \leq 0,001$). Signifikant kürzere Zeiten auf dem Rotarod wurden auch für die mit 3 mg/kg behandelten Mäuse im Vergleich mit den 0,3 mg/kg behandelten Tieren beobachtet (2 h, $p \leq 0,01$; 4 h, $p \leq 0,01$; 6 h, $p \leq 0,05$) (Abbildung 3.14).

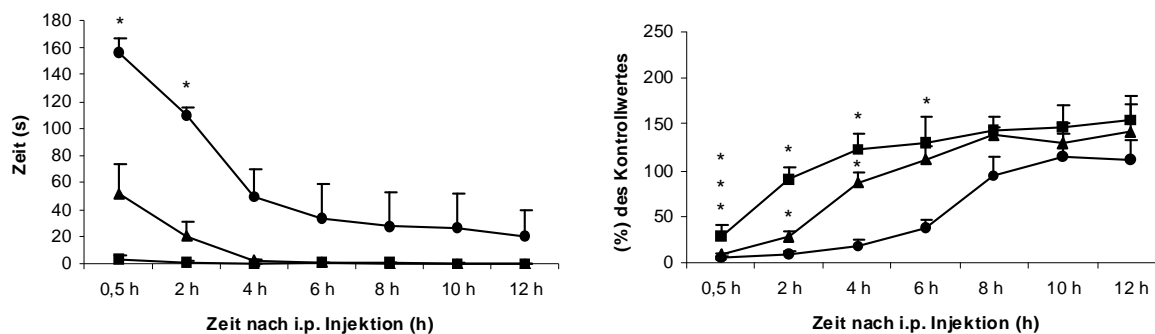


Abbildung 3.14: Dauer der Katalepsie (Mittelwerte \pm SEM, links) und relative Aufenthaltsdauer auf dem Rotarod (Mittelwerte \pm SEM, rechts) bezogen auf den im Training erreichten Kontrollwert auf dem Rotarod (rechts) von WT Mäusen nach i.p. Injektion von 0,3 mg/kg (Quadrat), 1 mg/kg (Dreieck) und 3 mg/kg (Kreis) Risperidon. * $p \leq 0,05$ verglichen mit unbehandelten Kontrollen nach zweiseitigem t-Test.

Domperidon

Der als Kontrollsubstanz eingesetzte periphere D_2 -Rezeptor Antagonist Domperidon zeigte in den Mäusen wie erwartet keine Auswirkungen auf die Dauer der Katalepsie und auf die Dauer des Laufens auf dem Rotarod.

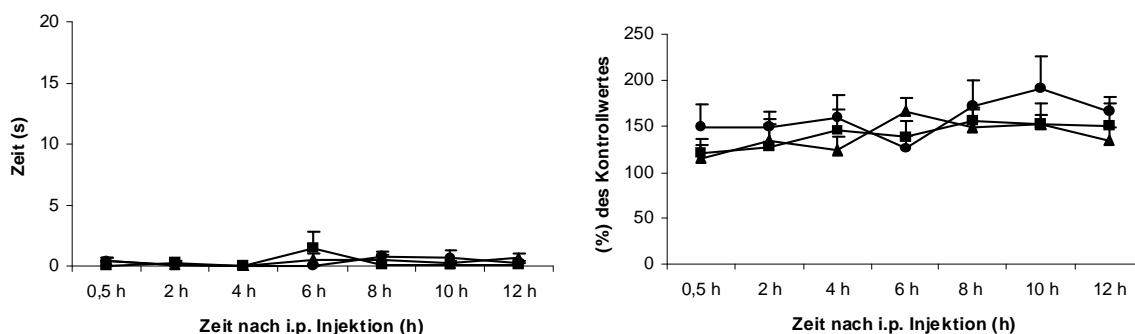


Abbildung 3.15: Dauer der Katalepsie (Mittelwerte \pm SEM, links) und relative Aufenthaltsdauer auf dem Rotarod (Mittelwerte \pm SEM, rechts) bezogen auf den im Training erreichten Kontrollwert auf dem Rotarod (rechts) von WT Mäusen nach i.p. Injektion von 20 mg/kg (Quadrat), 50 mg/kg (Dreieck) und 80 mg/kg (Kreis) Domperidon.

Diazepam

Mit 3 und 5 mg/kg Diazepam behandelte Mäuse zeigten in beiden Tests keine Unterschiede zu unbehandelten Kontrollen.

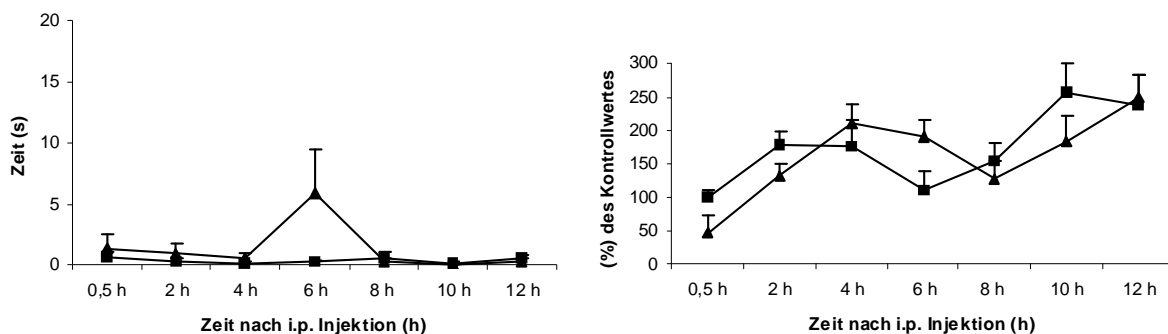


Abbildung 3.16: Dauer der Katalepsie (Mittelwerte \pm SEM, links) und relative Aufenthaltsdauer auf dem Rotarod (Mittelwerte \pm SEM, rechts) bezogen auf den im Training erreichten Kontrollwert auf dem Rotarod (rechts) von WT Mäusen nach i.p. Injektion von 3 mg/kg (Quadrat) und 5 mg/kg (Dreieck) Diazepam.

Zwischen der Dauer der Katalepsie und der Laufleistung auf dem Rotarod wurde bei 0,3 mg/kg ($p \leq 0,05$) und 3 mg/kg ($p \leq 0,05$) Haloperidol sowie bei 1 mg/kg ($p \leq 0,05$) und 3 mg/kg ($p \leq 0,05$) Risperidon eine signifikante Korrelation gefunden.

Inwieweit ein Zusammenhang zwischen den Ergebnissen auf dem Rotarod und der Dauer der Katalepsie unabhängig von der antipsychotischen Behandlung besteht wurde ebenfalls mit Korrelationsberechnungen überprüft. Es bestand eine signifikante Korrelation mit einem Koeffizienten von $-0,714$ ($p \leq 0,01$). Mäuse, die eine längere Katalepsie als 20 s zeigten, erreichten auf dem Rotarod unter Behandlung weniger als 30 % ihres Kontrollwertes. Weiterhin waren jedoch auf dem Rotarod Einschränkungen in der Laufleistung messbar, ohne dass ein kataleptischer Zustand beobachtet werden konnte.

3.4.2 Auswirkungen von P-gp auf die motorische Aktivität auf dem Rotarod

Der Vergleich zwischen Katalepsie und Rotarod zeigte eine sensitivere Erfassung der motorischen Nebenwirkungen von Antipsychotika, wie im Kapitel 4.3 „Vergleich Katalepsie – Rotarod“ näher ausgeführt wird. Die Untersuchungen der Auswirkung von P-gp auf die motorische Aktivität von WT und *mdr1a/b*(-/-, -/-) Mäusen (n = 12 pro Genotyp und Behandlung) wurde deshalb mit dem Rotarod durchgeführt.

Kontrollen

Mäuse, die unbehandelt waren oder denen Kochsalzlösung injiziert wurde, unterschieden sich in ihrer Leistung auf dem Rotarod nicht voneinander. Ebenso war kein Unterschied zwischen WT (n = 22) und *mdr1a/1b* Doppelknockout Mäusen (n = 22) erkennbar. Alle Kontrolltiere liefen während des Versuchstages etwas länger auf dem Rotarod als an den Trainingstagen. Sie erreichten zum Zeitpunkt 0,5 h 119 % ihres Kontrollwerts und verbesserten sich bis zum Zeitpunkt von 24 h auf 150 %.

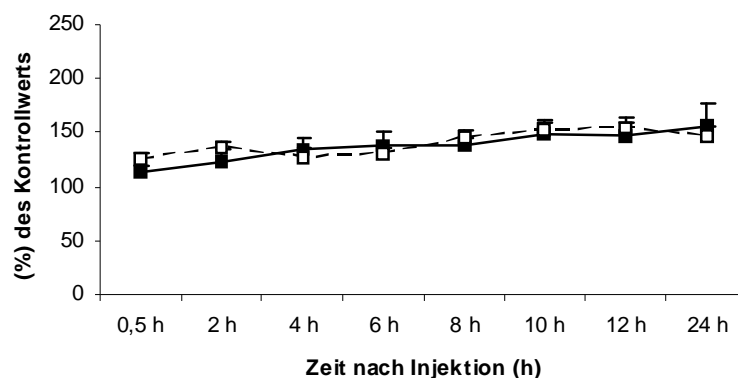


Abbildung 3.17: Relative Aufenthaltsdauer auf dem Rotarod (Mittelwerte \pm SEM) bezogen auf den im Training erreichten Kontrollwert von unbehandelten bzw. mit NaCl-Lösung 0,9 % behandelten WT (durchgezogene Linie) und *mdr1a/1b*(-/-, -/-) Mäusen (gestrichelte Linie).

Amisulprid

WT Mäuse, die mit Dosen bis zu 30 mg/kg Amisulprid (Abbildung 3.11), und *mdr1a/b* (-/-, -/-) Tiere, die mit bis zu 10 mg/kg behandelt wurden, zeigten zu allen Zeitpunkten eine ähnliche Laufleistung auf dem Rotarod und unterschieden sich nicht von unbehandelten Kontrollmäusen (Abbildung 3.18).

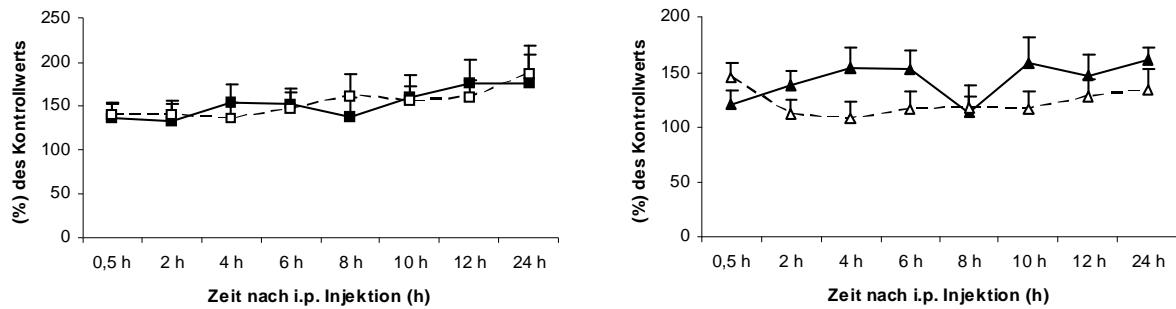


Abbildung 3.18: Relative Aufenthaltsdauer auf dem Rotarod (Mittelwerte \pm SEM) bezogen auf den im Training erreichten Kontrollwert von WT Mäusen (durchgezogene Linie) und *mdr1a/b*(-/-, -/-) Mäusen (gestrichelte Linie) nach i.p. Injektion von 3 mg/kg (links) und 10 mg/kg (rechts) Amisulprid.

Aripiprazol

Unter einer Dosis von 1 mg/kg erreichten WT Mäuse zu den ersten drei Messzeitpunkten (0,5 h bis 4 h; $p \leq 0,05$) signifikant schlechtere Werte auf dem Rotarod als unbehandelte Kontrollmäuse. Mit 5 mg/kg und 10 mg/kg behandelte Mäuse (Abbildung 3.12) unterschieden sich von den Kontrollen zu allen Zeitpunkten von 0,5 h bis 12 h bzw. 24 h nach i.p. Injektion ($p \leq 0,05$). Es ergab sich kein signifikanter Unterschied zwischen diesen beiden Dosen, jedoch waren Mäuse unter der höheren Dosis von 10 mg/kg 6 h bis 12 h nach der Injektion weniger beeinträchtigt als Tiere, die eine mittlere Dosis von 5 mg/kg Aripiprazol erhalten hatten. Mäuse, die mit 1 mg/kg behandelt waren, unterschieden sich signifikant von den Tieren, denen eine i.p. Injektion von 5 mg/kg gegeben wurde, zu fast allen Zeitpunkten (0,5 h, 2 h, 6 h bis 12 h; $p \leq 0,05$), jedoch von den Mäusen, die mit 10 mg/kg behandelt wurden nur zu drei von sieben Zeitpunkten (0,5 h, 2 h, 8 h; $p \leq 0,05$).

P-gp defiziente Mäuse, die mit 1 mg/kg behandelt waren unterschieden sich nach 2 h und nach 8 h ($p \leq 0,05$) von den mit der gleichen Dosis behandelten WT Mäusen. Mit 5 mg/kg behandelte *mdr1a/b*(-/-, -/-) Tiere liefen länger auf dem Rotarod, insbesondere zu späteren Zeitpunkten (6 h, $p \leq 0,05$; 8 h, $p \leq 0,01$; 10 h, $p \leq 0,05$) verglichen mit gleich behandelten WT Mäusen (Abbildung 3.19).

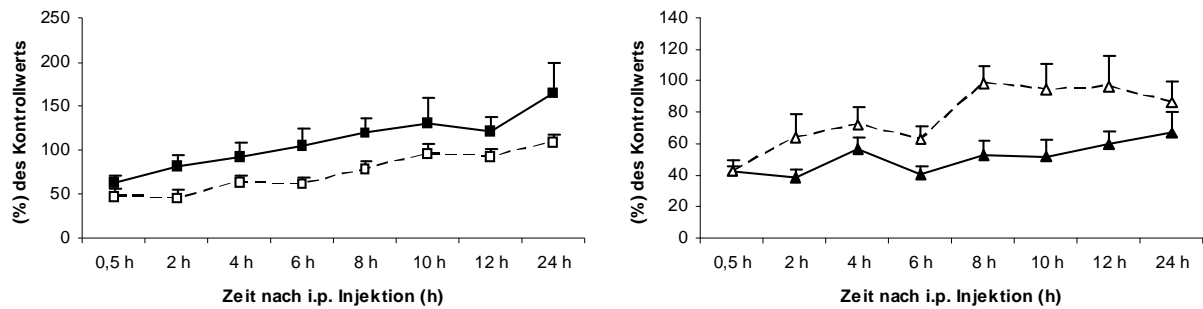


Abbildung 3.19: Relative Aufenthaltsdauer auf dem Rotarod (Mittelwerte \pm SEM) bezogen auf den im Training erreichten Kontrollwert von WT Mäusen (durchgezogene Linie) und *mdr1a/1b(-/-, -/-)* Mäusen (gestrichelte Linie) nach i.p. Injektion von 1 mg/kg (links) und 5 mg/kg (rechts) Aripiprazol.

Dehydroaripiprazol

Mit 1 mg/kg Dehydroaripiprazol behandelte WT Mäuse zeigten keine veränderte Laufleistung auf dem Rotarod verglichen mit unbehandelten, bzw. mit Kochsalzlösung behandelten Kontrollmäusen. Es wurde nur zu dem Zeitpunkt 4 h nach Injektion ein signifikant schlechterer Wert verglichen mit Kontrollen gefunden ($p \leq 0,05$).

P-gp defiziente Mäuse hingegen konnten sich signifikant schlechter auf der sich drehenden Stange halten und unterschieden sich von WT Tieren zu allen Zeitpunkten, außer 10 h und 24 h nach Injektion. Dabei war die deutlichste Beeinträchtigung 4 h nach Substanzgabe zu beobachten (0,5 h bis 4 h, $p \leq 0,05$; 6 h bis 8 h, $p \leq 0,01$; 10 h bis 12 h, $p \leq 0,05$) (Abbildung 3.20).

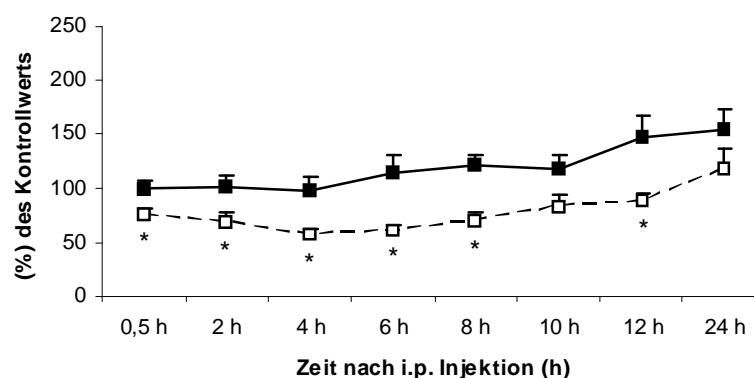


Abbildung 3.20: Relative Aufenthaltsdauer auf dem Rotarod (Mittelwerte \pm SEM) bezogen auf den im Training erreichten Kontrollwert von WT Mäusen (durchgezogene Linie) und *mdr1a/1b(-/-, -/-)* Mäusen (gestrichelte Linie) nach i.p. Injektion von 1 mg/kg Dehydroaripiprazol. * $p \leq 0,05$ zwischen Ergebnissen gleichbehandelter Genotypen nach zweiseitigem t-Test.

Clozapin

Mäuse, die mit 10 mg/kg Clozapin behandelt waren, unterschieden sich von Kontrollmäusen 0,5 h bis 4 h nach i.p. Injektion ($p \leq 0,05$). Es ließ sich jedoch kein Unterschied zwischen den niedrig behandelten (2 mg/kg) und den unbehandelten Mäusen berechnen. Unterschiede zwischen den beiden Behandlungsgruppen waren 0,5 h bis 4 h nach i.p. Injektion signifikant ($p \leq 0,05$).

P-gp defiziente Tiere unterschieden sich von den WT Mäusen nur unter der hohen Dosis von 10 mg/kg 4 h nach Behandlung ($p \leq 0,05$) (Abbildung 3.21).

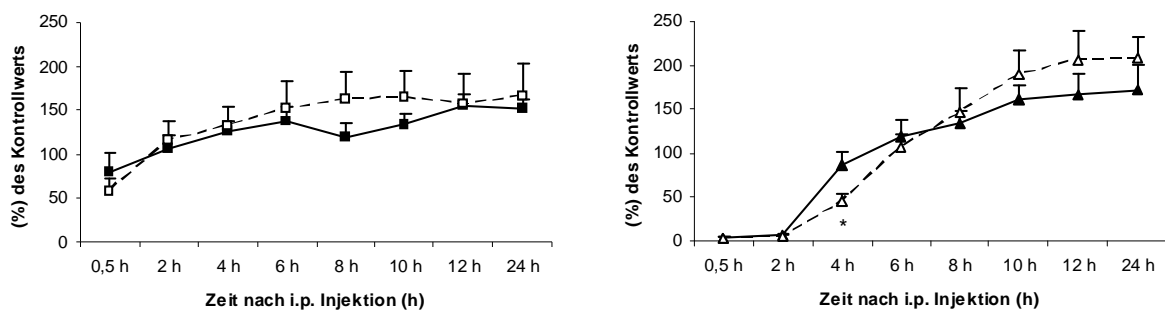


Abbildung 3.21: Relative Aufenthaltsdauer auf dem Rotarod (Mittelwerte \pm SEM) bezogen auf den im Training erreichten Kontrollwert von WT Mäusen (durchgezogene Linie) und *mdr1a/1b*(-/-, -/-) Mäusen (gestrichelte Linie) nach i.p. Injektion von 2 mg/kg (links) und 10 mg/kg (rechts) Clozapin. * $p \leq 0,05$ zwischen Ergebnissen gleichbehandelter Genotypen nach zweiseitigem t-Test.

Haloperidol

WT Mäuse, die mit 0,3, 1 und 3 mg/kg Haloperidol behandelt wurden, waren in ihrer Leistung auf dem Rotarod deutlich eingeschränkt (0,3 mg/kg und 1 mg/kg, 0,5 h bis 12 h, $p \leq 0,05$; 3 mg/kg, 0,5 h bis 10 h, $p \leq 0,05$) (Abbildung 3.13). Besonders 0,5 h nach i.p. Injektion konnten sie sich nur kurze Zeit auf dem Rotarod halten. Diese Einschränkung verbesserte sich konstant bis zum letzten Zeitpunkt. Zwischen den Dosen waren kaum Unterschiede zu erkennen. Zwischen 0,3 mg/kg und 3 mg/kg waren die erreichten Prozentwerte in Bezug auf den Kontrollwert nur zu den Zeitpunkten 0,5 h und 2 h nach Injektion verschieden ($p \leq 0,05$). *Mdr1a/1b*(-/-, -/-) Mäuse, die mit 0,3 mg/kg Haloperidol behandelt waren, unterschieden sich kaum von WT Tieren, denen die gleiche Dosis injiziert wurde. Nur zu dem Zeitpunkt 4 h nach Antipsychotikagabe war ihre Laufleistung signifikant verschieden ($p \leq 0,05$) (Abbildung 3.22).

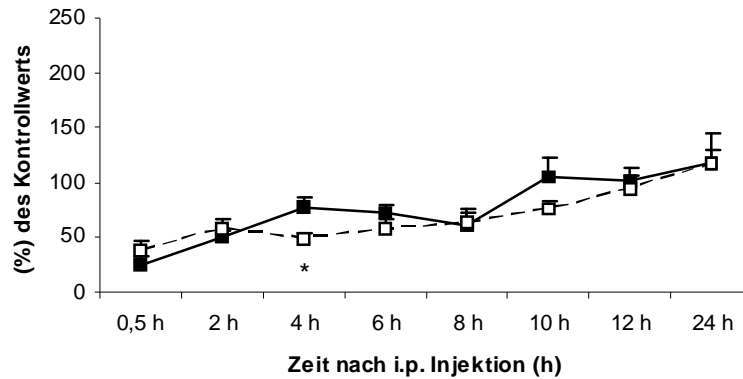


Abbildung 3.22: Relative Aufenthaltsdauer auf dem Rotarod (Mittelwerte \pm SEM) bezogen auf den im Training erreichten Kontrollwert von WT Mäusen (durchgezogene Linie) und *mdr1a/1b*(-/-, -/-) Mäusen (gestrichelte Linie) nach i.p. Injektion von 0,3 mg/kg Haloperidol. * $p \leq 0,05$ zwischen Ergebnissen gleichbehandelter Genotypen nach zweiseitigem t-Test.

Olanzapin

WT Mäuse, die mit 2 mg/kg Olanzapin behandelt waren, unterschieden sich von Kontrollmäusen 0,5 h bis 8 h nach i.p. Injektion ($p \leq 0,05$). Tiere, denen 0,5 mg/kg Olanzapin injiziert wurde, verhielten sich auf dem Rotarod nicht anders als Kontrollmäuse. Zwischen den beiden Dosisgruppen der WT Mäuse war eine dosisabhängige Beeinträchtigung zu beobachten. Sie unterschieden sich zu jedem Zeitpunkt, außer 8 h nach Injektion, signifikant voneinander ($p \leq 0,05$).

P-gp Doppelknockout Mäuse, die ebenfalls 0,5 mg/kg bzw. 2 mg/kg Olanzapin erhalten hatten, verhielten sich ähnlich zu gleich behandelten WT Tieren. Es wurde nur unter der Dosis von 2 mg/kg nach 6 h eine signifikant bessere Laufleistungen in den *mdr1a/1b*(-/-, -/-) Tieren beobachtet ($p \leq 0,05$) (Abbildung 3.23).

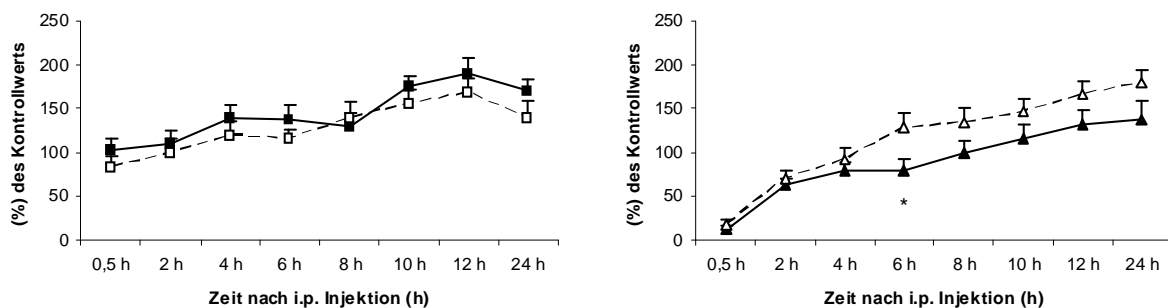


Abbildung 3.23: Relative Aufenthaltsdauer auf dem Rotarod (Mittelwerte \pm SEM) bezogen auf den im Training erreichten Kontrollwert von WT Mäusen (durchgezogene Linie) und *mdr1a/1b*(-/-, -/-) Mäusen (gestrichelte Linie) nach i.p. Injektion von 0,5 mg/kg (links) und 2 mg/kg (rechts) Olanzapin. * $p \leq 0,05$ zwischen Ergebnissen gleichbehandelter Genotypen nach zweiseitigem t-Test.

Quetiapin

WT Tiere, die mit Quetiapin behandelt waren, unterschieden sich von unbehandelten Mäusen unter einer Dosis von 10 mg/kg nur nach 1 h ($p \leq 0,05$) und unter einer Dosis von 30 mg/kg nach 0,5 h, 2h, 8h und 10 h ($p \leq 0,05$) signifikant. Zwischen WT Mäusen, die mit 10 mg/kg und 30 mg/kg Quetiapin behandelt waren, zeigte sich eine dosisabhängig schlechtere Laufleistung auf dem Rotarod. 2 h sowie 6 h bis 24 h nach i.p. Injektion wurde ein signifikanter Unterschied zwischen den Dosisgruppen beobachtet ($p \leq 0,05$).

Mdr1a/1b(-/-, -/-) Tiere waren vor allem zu den ersten Zeitpunkten signifikant stärker durch das Antipsychotikum beeinträchtigt. Sie unterschieden sich von gleich behandelten WT Mäusen unter einer Dosis von 10 mg/kg signifikant 2 h ($p \leq 0,01$), 4 h und 6 h ($p \leq 0,05$) nach Injektion, sowie unter einer Dosis von 30 mg/kg 2 h ($p \leq 0,05$) und 4 h ($p \leq 0,01$) nach Behandlung ($p \leq 0,05$) (Abbildung 3.24).

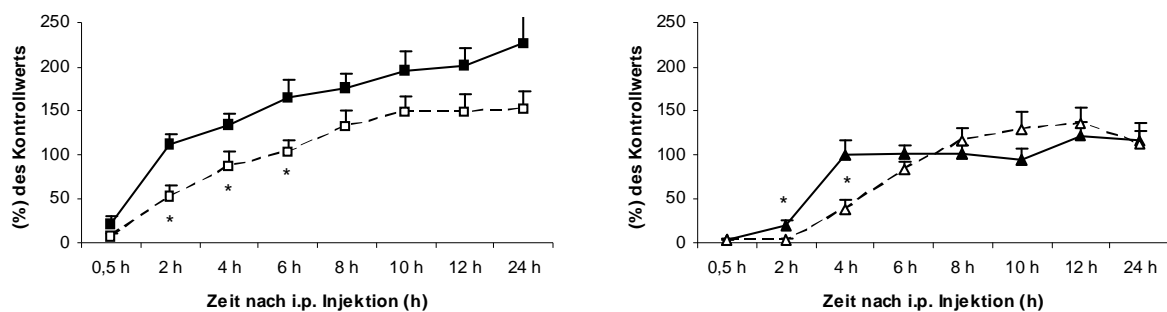


Abbildung 3.24: Relative Aufenthaltsdauer auf dem Rotarod (Mittelwerte \pm SEM) bezogen auf den im Training erreichten Kontrollwert von WT Mäusen (durchgezogene Linie) und *mdr1a/1b(-/-, -/-)* Mäusen (gestrichelte Linie) nach i.p. Injektion von 10 mg/kg (links) und 30 mg/kg (rechts) Quetiapin. * $p \leq 0,05$ zwischen Ergebnissen gleichbehandelter Genotypen nach zweiseitigem t-Test.

Risperidon

WT Mäuse, die mit verschiedenen Dosen von Risperidon behandelt wurden, zeigten auf dem Rotarod dosisabhängig eine verminderte Laufleistung. Dabei unterschieden sie sich signifikant von unbehandelten Kontrollmäusen bei einer Dosis von 0,3 mg/kg 0,5 h nach i.p. Injektion ($p \leq 0,05$). Mit 1 mg/kg behandelte Mäuse liefen auf der sich drehenden Stange im Vergleich zu ihrem Kontrollwert signifikant kürzer 0,5 h, 2 h und 4 h ($p \leq 0,05$) nach Behandlung, ebenso auch unter einer Dosis von 3 mg/kg 0,5 h bis 6 h ($p \leq 0,05$) nach i.p. Injektion (Abbildung 3.14). Zwischen der niedrigsten (0,3 mg/kg) und der höchsten Dosis (3mg/kg) wurde ein signifikant unterschiedliches Ergebnis für alle Zeitpunkte, außer nach 10 h gefunden ($p \leq 0,05$).

P-gp Doppelknockout Mäuse, die mit 0,3 mg/kg Risperidon behandelt wurden, waren deutlich stärker in ihrer Motorik beeinträchtigt als WT Tiere unter der gleichen Dosis. Der Unterschied war zwischen 0,5 h bis 12 h nach Injektion signifikant mit $p \leq 0,01$. Diese *mdr1a/1b(-/-, -/-)* Mäuse verhielten sich auf dem Rotarod in den ersten 6 h nach Injektion ähnlich zu WT Mäusen, die mit einer zehnfach höheren Dosis von 3 mg/kg Risperidon behandelt waren. Zu späteren Zeitpunkten war ihre Leistung noch schlechter als die der WT Mäuse, sie erreichten 12 h nach Injektion nicht einmal ihren Kontrollwert von 100 %, sondern nur eine Leistung von 64 %. Die Laufleistung der zehnfach höher behandelten WT Tiere lag zu diesem Zeitpunkt wieder bei 110 % (Abbildung 3.25).

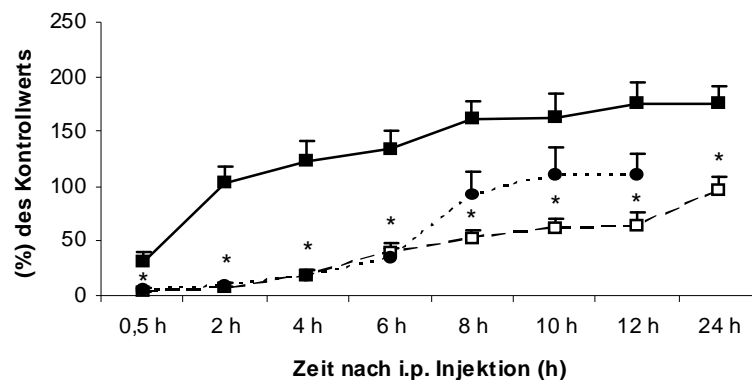


Abbildung 3.25: Relative Aufenthaltsdauer auf dem Rotarod (Mittelwerte \pm SEM) bezogen auf den im Training erreichten Kontrollwert von WT Mäusen (durchgezogene Linie) und *mdr1a/1b(-/-, -/-)* Mäusen (gestrichelte Linie, offene Quadrate) nach i.p. Injektion von 0,3 mg/kg Risperidon sowie von WT Mäusen nach i.p. Injektion von 3 mg/kg Risperidon (gepunktete Linie, Kreise). * $p \leq 0,05$ zwischen Ergebnissen gleichbehandelter Genotypen nach zweiseitigem t-Test.

Domperidon

WT Mäuse, die mit 20, 50 und 80 mg/kg Domperidon behandelt waren, zeigten keine Beeinträchtigung auf dem Rotarod gegenüber Kontrolltieren (Abbildung 3.15). Sie erreichten tendenziell eine bessere Laufleistung und erreichten unter 20 mg/kg 8 und 10 h nach i.p. Injektion Ergebnisse von 199 % ihres Kontrollwerts.

Mdr1a/1b(-/-, -/-) Mäuse zeigten unter 20 und 50 mg/kg dosisabhängig Beeinträchtigungen in ihrer Leistung. Dabei zeigten sie die kürzeste Laufzeit 6 h bis 8 h nach Injektion. Zu allen Zeitpunkten bei Behandlung mit 20 mg/kg (0,5 h bis 2 h, $p \leq 0,05$; 4 h bis 12 h, $p \leq 0,01$; 24 h, $p \leq 0,05$) und von 2 h bis 24 h nach Behandlung mit 50 mg/kg (2 h bis 12 h, $p \leq 0,01$; 24 h, $p \leq 0,05$) ließen sich signifikant unterschiedliche Ergebnisse gegenüber den gleich behandelten WT Gruppen berechnen (Abbildung 3.26).

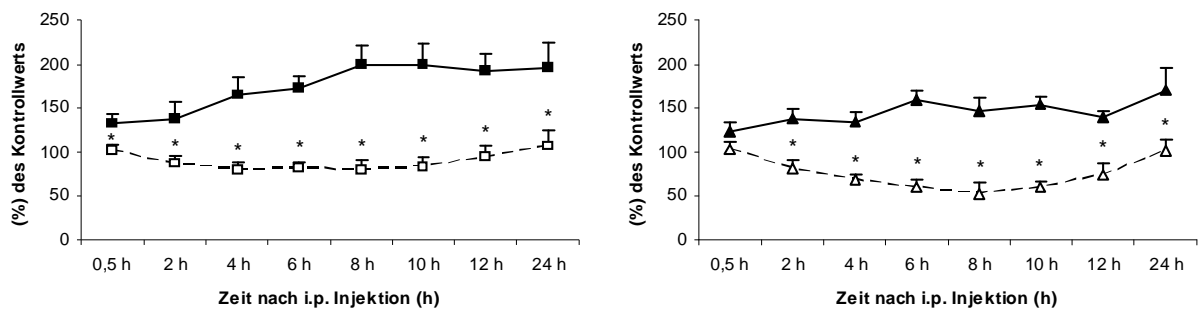


Abbildung 3.26: Relative Aufenthaltsdauer auf dem Rotarod (Mittelwerte \pm SEM) bezogen auf den im Training erreichten Kontrollwert von WT Mäusen (durchgezogene Linie) und *mdr1a/1b(-/-, -/-)* Mäusen (gestrichelte Linie) nach i.p. Injektion von 20 mg/kg (links) und 50 mg/kg (rechts) Domperidon. * $p \leq 0,05$ zwischen Ergebnissen gleichbehandelter Genotypen nach zweiseitigem t-Test.

3.4.3 Vergleich von FVB Mäusen und Mäusen der F1-Generation

Die Untersuchung der Auswirkungen von Antipsychotika auf das Lernen und Gedächtnis der Mäuse in der RAWM war mit Mäusen des Stamms FVB/N aufgrund des bekannten Lerndefizits dieser Tiere nicht möglich (Upchurch, et al 1988; Royle, et al 1999). Für die Untersuchung wurden deshalb FVB/N *mdr1a/1b(-/-, -/-)* Mäuse sowie zur Kontrolle FVB/N WT Mäuse mit Mäusen vom Stamm C57BL/6J gekreuzt und die heterozygote bzw. wildtypische F1-Generation dieser beiden Kreuzungen in der RAWM untersucht.

Zur Überprüfung wie groß der Effekt des P-gp bei heterozygoten *mdr1a/1b* Mäusen im Vergleich zu WT bzw. *mdr1a/1b* Doppelknockout Tieren ist, wurde bei Mäusen der F1-Generation die Menge an *mdr1a* mRNA, die für die Genexpression des P-gp in der Blut-Hirn-Schranke entscheidend ist (Schinkel, et al 1997), quantifiziert. Es wurden weiterhin Kinetikuntersuchungen 1 h und 6 h nach i.p. Injektion von Risperidon, sowie Verhaltenstests auf dem Rotarod 0,5, 2, 4 und 6 h nach i.p. Injektion durchgeführt. Risperidon wurde als Untersuchungssubstanz ausgewählt, da es sich in den Tests mit FVB Mäusen als stärkstes P-gp Substrat der untersuchten Arzneistoffe zeigte.

3.4.3.1 Genexpression von P-gp quantifiziert anhand der *mdr1a* mRNA

Die quantitative Messung der *mdr1a* mRNA in allen vier Genotypen ($n = 3$ je Genotyp), die im Rahmen einer Kooperation mit dem Institut für Klinische Pharmakologie und Toxikologie der Universitätsklinik in Basel, Schweiz, gemessen wurde ergab, dass die Genexpression von

P-gp quantifiziert anhand der mRNA von heterozygoten Mäusen der F1-Generation im Vergleich zu WT Mäusen der F1-Generation um 46,3 % vermindert war. Die Menge an mRNA von FVB Doppelknockout Mäusen im Vergleich zu FVB WT Mäusen war um 88,1 % vermindert (Abbildung 3.27).

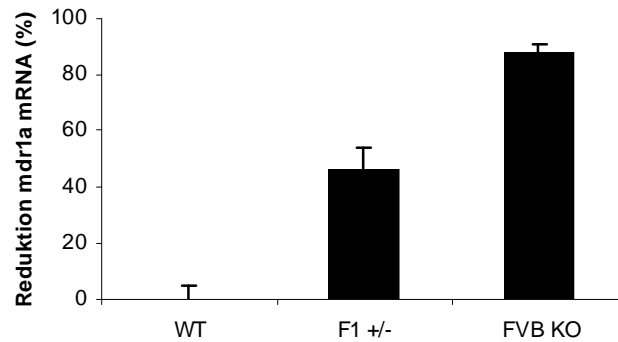


Abbildung 3.27: Reduktion der Expression (Mittelwerte \pm SEM) von mdrl1a mRNA von heterozygoten Mäusen der F1-Generation (F1 +/-) und in FVB mdrl1a/1b(-/-, -/-) (FVB KO) Mäusen jeweils bezogen auf 100 % mdrl1a Expression der jeweiligen WT Mäuse.

3.4.3.2 Kinetikuntersuchung

Die Kinetikuntersuchungen ergaben 1 h nach i.p. Injektion eine Konzentration von Risperidon im Gehirn von heterozygoten mdrl1a/1b Mäusen der F1-Generation (n = 7), die um 2,2-fach höher lag als im Gehirn von WT Tieren der F1-Generation (n = 8). Konzentrationen von 9-Hydroxyrisperidon lagen um den Faktor 2,3 höher. 6 h nach Behandlung war die Konzentration von Risperidon um 1,1-fach und die Konzentration des Metaboliten um 1,6-fach höher bei heterozygoten (n = 5) verglichen mit WT Mäusen der F1-Generation (n = 4).

Im Serum von heterozygoten Mäusen lag die Konzentration 1 h nach Injektion um den Faktor 1,2 für Risperidon bzw. um 1,1 für 9-Hydroxyrisperidon höher als im Serum von WT Mäusen. Nach 6 h betrug die Konzentration von Risperidon im Serum nur noch 84 % bzw. die Konzentration des aktiven Metaboliten noch 98 % des Spiegels der WT Tiere.

Im Vergleich waren die Konzentrationen von Risperidon im Gehirn von mdrl1a/1b(-/-, -/-) Tieren 1 h nach i.p. Injektion um 10,4-fach bzw. Konzentrationen von 9-Hydroxyrisperidon um 8,1-fach höher als in FVB WT Mäusen. 6 h nach Behandlung lagen die Konzentrationen bei Doppelknockout Tieren um einen Faktor von 6,8 und 15,2 höher (n = 5 je Zeitpunkt und Genotyp).

Im Serum erreichte die Konzentration von Risperidon bei mdrl1a/1b(-/-, -/-) Mäusen einen Faktor von 0,7 verglichen mit WT Tieren, die Konzentration von 9-Hydroxyrisperidon

unterschied sich nicht zwischen den beiden Genotypen. 6 h nach i.p. Injektion lag der Spiegel von Risperidon im Serum der P-gp Doppelknockout Mäuse um den Faktor 2,6 und die Konzentration von 9-Hydroxyrisperidon um den Faktor von 1,8 höher als in WT Mäusen (Tabellen 3.6 und 3.7 und Abbildung 3.29).

Tabelle 3.6: Konzentrationen von Risperidon (Mittelwerte \pm SEM) in Hirn und Serum von FVB WT und FVB *mdr1a/1b*(-/-, -/-) (KO) Mäusen sowie in Mäusen der wildtypischen F1-Generation aus FVB/N x C57BL/6J (WT) und heterozygoten Tieren aus der F1-Generation aus FVB/N *mdr1a/1b*(-/-, -/-) x C57BL/6J 1 h und 6 h nach i.p. Injektion von 3 mg/kg Risperidon.

Genotyp	nach i.p. Injektion	Hirn (ng/g)		Serum (ng/ml)		Hirn/ Serum heterozygot bzw. KO/ WT
		heterozygot KO	WT	heterozygot KO	WT	
F1	1 h	150 \pm 8	68 \pm 7	247 \pm 15	291 \pm 15	2,2
FVB	1 h	620 \pm 157	60 \pm 6	145 \pm 28	218 \pm 27	10,4
F1	6 h	10 \pm 0	9 \pm 0	17 \pm 4	20 \pm 4	1,1
FVB	6 h	26 \pm 2	8 \pm 1	55 \pm 4	10 \pm 2	6,8

Tabelle 3.7: Konzentrationen (Mittelwerte \pm SEM) von 9-Hydroxyrisperidon in Hirn und Serum von FVB WT und FVB *mdr1a/1b*(-/-, -/-) (KO) Mäusen sowie in Mäusen der wildtypischen F1-Generation aus FVB/N x C57BL/6J (WT) und heterozygoten Tieren aus der F1-Generation aus FVB/N *mdr1a/1b*(-/-, -/-) x C57BL/6J 1 h und 6 h nach i.p. Injektion von 3 mg/kg Risperidon.

Genotyp	nach i.p. Injektion	Hirn (ng/g)		Serum (ng/ml)		Hirn/ Serum heterozygot bzw. KO/ WT
		heterozygot KO	WT	heterozygot KO	WT	
F1	1 h	28 \pm 3	13 \pm 2	181 \pm 11	166 \pm 8	2,3
FVB	1 h	281 \pm 58	35 \pm 1	117 \pm 21	116 \pm 12	8,1
F1	6 h	18 \pm 2	11 \pm 1	73 \pm 13	74 \pm 13	1,6
FVB	6 h	103 \pm 11	26 \pm 5	393 \pm 29	59 \pm 11	15,2

3.4.3.3 Verhaltensuntersuchung auf dem Rotarod

Auf dem Rotarod liefen heterozygote *mdr1a/1b* Mäuse ($n = 5$) 2 h nach i.p. Injektion von 0,3 mg/kg Risperidon um 29 % schlechter als WT Tiere der F1-Generation ($n = 5$). Sie erreichten nur $55,6 \pm 28,7$ % ihres individuellen Kontrollwerts im Vergleich zu $78,4 \pm 41,1$ % bei den WT Mäusen. 6 h nach Behandlung waren heterozygote *mdr1a/1b* Mäuse kaum noch in ihrer Laufleistung beeinträchtigt und unterschieden sich von WT Mäusen nur um 3 %. Beide Genotypen hatten zu diesem Zeitpunkt ihren Kontrollwert aus den Trainingstagen vier und fünf von 100 % fast wieder erreicht (Abbildungen 3.28 und 3.29).

FVB *mdr1a/1b(-/-, -/-)* Tiere ($n = 12$ pro Zeitpunkt) waren 2 h nach Behandlung mit 0,3 mg/kg deutlich stärker beeinträchtigt. Sie erreichten nur $7,2 \pm 1,9$ % ihres Kontrollwerts im Vergleich zu WT Mäusen ($n = 12$ pro Zeitpunkt), die einen Wert von $103,6 \pm 14,3$ % erzielten. P-gp defiziente Tiere zeigten somit eine Beeinträchtigung auf dem Rotarod von 93 %. 6 h nach i.p. Injektion lag diese Beeinträchtigung noch bei 71 % (Abbildungen 3.28 und 3.29).

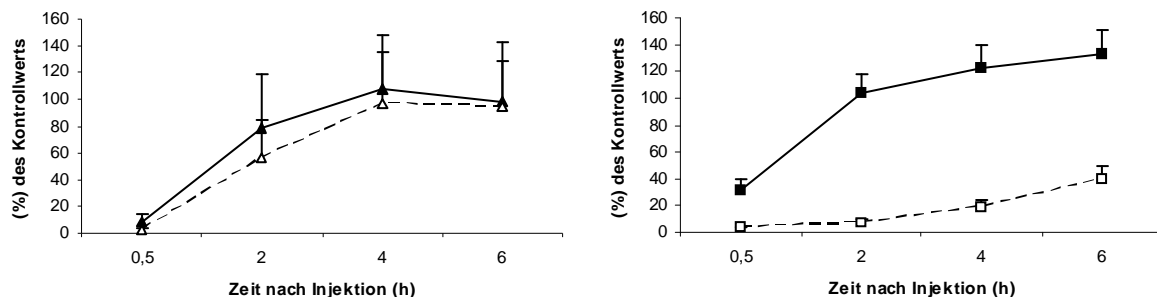


Abbildung 3.28: Relative Aufenthaltsdauer auf dem Rotarod (Mittelwerte \pm SEM) bezogen auf den im Training erreichten Kontrollwert von Mäusen der wildtypischen F1-Generation (durchgezogene Linie) und heterozygoten Mäusen der F1-Generation (gestrichelte Linie) (links) sowie von FVB WT Mäusen (durchgezogene Linie) und FVB *mdr1a/1b(-/-, -/-)* Mäusen (gestrichelte Linie) (rechts) nach i.p. Injektion von Risperidon in einer Dosis von 0,3 mg/kg.

3.4.3.4 Vergleich von FVB Mäusen und Mäusen der F1-Generation

Bei einem direkten Vergleich der Risperidonkonzentrationen im Gehirn von *mdr1a/1b* Knockout Mäusen im Vergleich zu den jeweiligen WT Mäusen und der Leistung auf dem Rotarod, ausgedrückt als Beeinträchtigung in Prozent der jeweiligen WT Mäuse, lassen sich konzentrationsabhängige Zusammenhänge erkennen.

Bei heterozygoten *mdr1a/1b* Mäusen der F1-Generation, bei denen die *mdr1a* mRNA um 46 % reduziert war, waren auch Risperidonspiegel im Gehirn 1 h nach i.p. Injektion von 3 mg/kg mehr als doppelt so hoch (220 %) und ihre Leistung auf dem Rotarod 2 h nach Injektion um 29 % schlechter verglichen mit WT Mäusen der F1-Generation.

6 h nach Injektion war die Konzentration von Risperidon nur noch um 12 % höher und die Leistung auf dem Rotarod noch um 3 % schlechter als in WT Mäusen.

1 h nach Injektion von 3 mg/kg Risperidon lag die Konzentration im Gehirn von FVB *mdr1a/1b* Doppelknockout Tieren, bei denen 88 % weniger *mdr1a* mRNA vorlag, um 1036 % für Risperidon bzw. um 953 % für die Summe aus Muttersubstanz und Metabolit höher als in FVB WT Mäusen. Dies führte zu einer um 93 % schlechteren Leistung auf dem Rotarod 2 h nach Injektion von 0,3 mg/kg.

6 h nach Gabe von Risperidon lag die Konzentration dieser Substanz um 682 % höher im Gehirn der FVB *mdr1a/1b* Doppelknockout Mäuse und ihre Leistung auf dem Rotarod war um 71 % vermindert verglichen mit FVB WT Tieren.

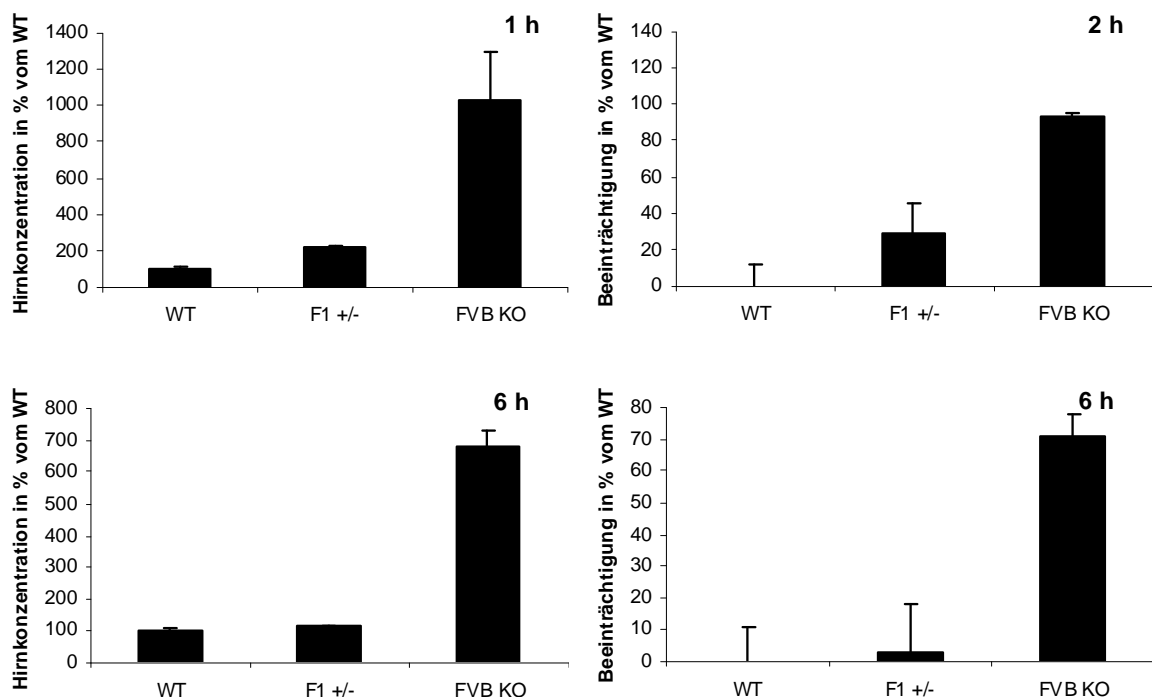


Abbildung 3.29: Mittelwerte \pm SEM der Konzentrationen von Risperidon im Gehirn von heterozygoten Mäusen der F1-Generation (F1 +/-) und von FVB *mdr1a/1b*(-/-, -/-) (FVB KO) Mäusen in Prozent im Vergleich zur Konzentration in jeweiligen WT Mäusen (links) und Mittelwerte \pm SEM der Beeinträchtigungen von F1 +/- und FVB KO Mäusen auf dem Rotarod im Vergleich zur 100 % Leistung der jeweiligen WT Mäuse (rechts) zu zwei verschiedenen Zeiten (oben und unten).

3.4.4 Verhaltensuntersuchung in der RAWM

Welche Effekte Antipsychotika auf kognitive Leistungen haben ist bislang unklar. Ebenso ist nicht bekannt, inwieweit die Expression von P-gp zu einer pharmakodynamischen Auswirkung auf diesen Bereich führt. Zur Untersuchung dieser Fragestellungen wurde die F1-Generation von FVB und C57BL/6J Mäusen in der RAWM verwendet, da FVB Mäuse aufgrund ihres bekannten Lerndefizits in diesem Test ungeeignet sind.

3.4.4.1 Etablierung des RAWM Tests

Die Untersuchung mit unbehandelten WT Mäusen in der RAWM vor dem eigentlichen Versuch mit behandelten Tieren zeigte einen signifikanten Unterschied zwischen der Versuchsanzahl bis zum Erreichen des gesetzten Kriteriums mit und ohne optische Hinweise ($n = 8$ pro Gruppe) am Ende der möglichen sieben Zielarme. Die Gruppe von Mäusen bei denen diese Orientierungshilfen fehlten brauchte im Mittel $10,8 \pm 1,5$ Versuche um das Kriterium, dreimaliges Anschwimmen der Plattform in Arm 7 innerhalb von 15 s, zu erreichen. Mäuse, bei deren Testung am Ende der möglichen Zielarme schwarz-weiße Markierungen vorhanden waren, erreichten das Kriterium bereits nach $6,6 \pm 0,8$ Versuchen. Dieser Unterschied war mit $p \leq 0,05$ signifikant. Die Tiere benötigten im ersten Durchgang 67 ± 10 s beziehungsweise 71 ± 11 s um die Plattform zu erreichen. Bei allen weiteren Durchgängen lag die Latenz deutlich unter 60 s (Abbildung 3.30).

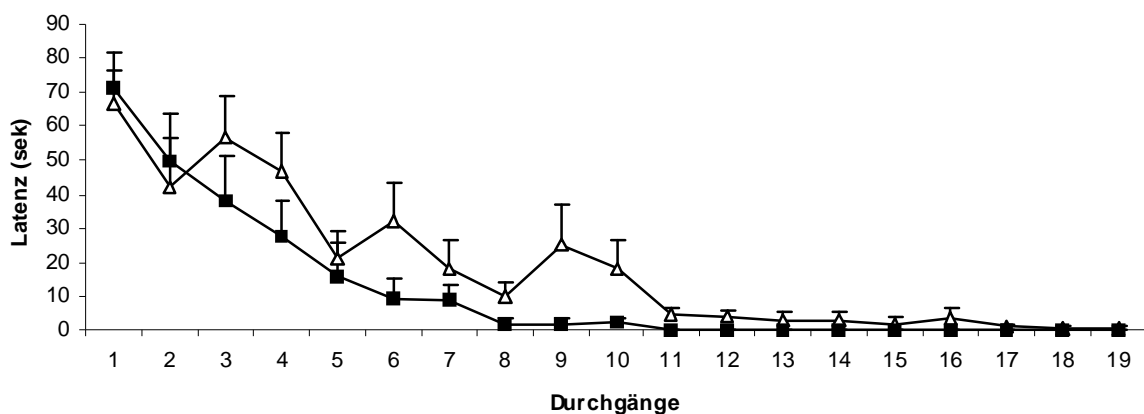


Abbildung 3.30: Benötigte Zeit bis zum Erreichen der Plattform in der RAWM (Mittelwerte \pm SEM) mit (gefülltes Quadrat) und ohne (offenes Dreieck) optische Hinweise am Ende der Arme ($n = 8$).

Im zweiten Vorversuch mit zwei Gruppen von je vier WT Mäusen, mussten die Tiere an jedem der acht Versuchstage eine neue Position der Plattform erlernen, die zwischen den Gruppen spiegelbildlich verschieden war. Dieser Versuch wurde mit den optischen Hinweisen am Ende jedes Arms durchgeführt, um den Mäusen möglichst gute räumliche Orientierungshilfen zu bieten. Beim ersten Durchgang am Tag 1 schwammen die Mäuse beim ersten Armeintritt in Arm 1, 2, 6 oder 7, also in Arme die dem Startarm am nächsten lagen. Im Mittel wurden am ersten Tag 11,5 Versuche benötigt, um die Plattform im Arm 4 dreimal nacheinander innerhalb von 15 s zu erreichen. Bei den Ergebnissen zwischen den beiden Gruppen gab es für die Auswertungen in Bezug auf Versuchsdauer und Häufigkeit des Anschwimmens eines Arms keine Unterschiede. Beim ersten Umlernen am 2. Tag auf Arm 2 bzw. Arm 6 brauchten die Mäuse mit 13,4 Versuchen im Mittel länger um das Kriterium zu erfüllen, ab dem 3. Tag nahm die Versuchsanzahl bei beiden Gruppen deutlich ab (Abbildung 3.31). Die Häufigkeit mit der die Tiere in einen der Arme schwammen, in der sich die Plattform am jeweiligen Tag nicht befand, variierte zwischen dem 3. und dem 8. Versuchstag kaum.

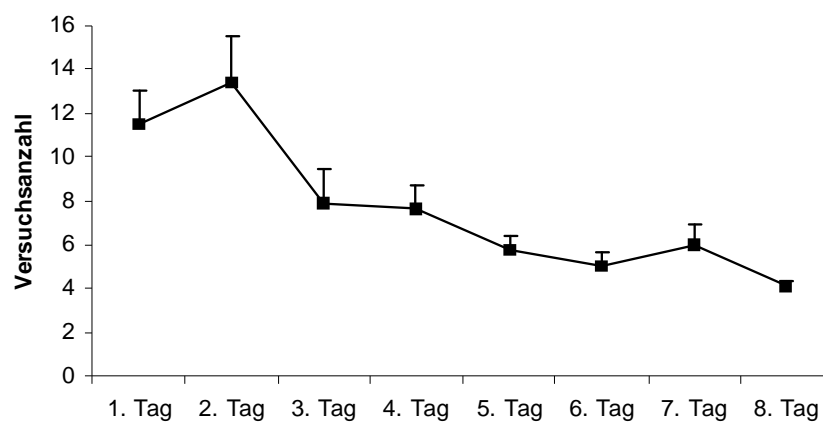


Abbildung 3.31: Anzahl der Versuche (Mittelwerte \pm SEM), die zum Erreichen des Kriteriums (dreimaliges Anschwimmen der Plattform innerhalb von 15 s) erforderlich waren bei unterschiedlicher Plattformlokalisierung pro Tag (n = 8).

Die Ergebnisse zeigen, dass eine Dauer von 60 s pro Durchgang zum Erreichen der Plattform als ausreichend angesehen werden kann. Mit Ausnahme des ersten Trials der ersten Untersuchung war es den Mäusen möglich innerhalb dieser Zeit die Plattform zu finden. Es zeigte sich, dass die Tiere für das Umlernen von der ersten auf die zweite Plattformposition eine größere Anzahl an Versuchen benötigten. Um Mäusen unter einer möglicherweise die

Motorik und Kognition einschränkenden Behandlung von Antipsychotika möglichst viele Testdurchläufe bis zum Erreichen des Kriteriums zu bieten und gleichzeitig die Belastung auf die Kondition und damit mögliche Beeinflussungen gering zu halten, wurde ein Maximum von 15 Versuchen festgelegt. Bei einer Testdauer von maximal je 60 s schwimmen und 30 s ruhen auf der Plattform sowie dem Handling zwischen zwei Durchgängen lag die Testdauer insgesamt bei maximal 30 min pro Maus. Das Kriterium, die Plattform innerhalb einer bestimmten Zeit dreimalig anzuschwimmen, wurde mit Hilfe der optischen Hinweise mit signifikant weniger Durchgängen erreicht und war innerhalb von sieben Versuchen möglich. Im Hinblick auf die eventuell beeinflusste Motorik und da sich zeigte, dass Mäuse, die die Position der Plattform noch nicht gelernt hatten deutlich länger als 20 s brauchten, um sie zu finden, wurde das Kriterium auf 20 s erweitert. Als Positionen für die Plattform zum ersten Zeitpunkt wurde Arm sieben gewählt, da es den Mäusen deutlich leichter fiel zum ersten Zeitpunkt diese Position zu erlernen, als ein weit vom Startarm entferntes Ziel in einer für sie bis dahin völlig neuen Umgebung. Zwei benachbarte Arme wurden nicht als Ziel an aufeinander folgenden Zeitpunkten gewählt, da zu erkennen war, dass Mäuse beim Umlernen bevorzugt in den direkt benachbarten Armen nach der Plattform suchten. Die Ergebnisse dieser Voruntersuchungen dienten als Grundlage für die Anwendung der RAWM bei behandelten Mäusen, wie sie im Abschnitt 2.11.3.3 „Durchführung des RAWM Tests“ beschrieben ist.

3.4.4.2 Ergebnisse des RAWM Tests

Die Untersuchung von behandelten Mäusen ($n = 10$ pro Genotyp und Behandlung) und unbehandelten Kontrollmäusen ($n = 30$) in der RAWM wurde über vier Zeitpunkte (1 h, 5 h, 24 h und 29 h) nach i.p. Injektion durchgeführt. In der Auswertung werden vorrangig die Ergebnisse der ersten beiden Zeitpunkte betrachtet, da, wie aus den Ergebnissen des Kapitels 3.4.3 „Vergleich von FVB Mäusen und Mäusen der F1-Generation“ hervorgeht, nur während dieses Zeitraums von einer unterschiedlichen Substanzkonzentration in den Gehirnen der Genotypen ausgegangen werden kann.

Beurteilung des räumlichen Lernens anhand der Parameter Latenz, Anzahl der Versuche und Anzahl der Mäuse, die das Kriterium erfüllen

Vergleich zwischen unbehandelten und behandelten Mäusen

Bei der Auswertung der Parameter für räumliches Lernen wurden zwischen der unbehandelten Kontrollgruppe und einigen Behandlungsgruppen signifikante Unterschiede in den Parametern Latenz bis zum Erreichen der Plattform und Anzahl der Versuche bis zum Erreichen des Kriteriums mittels MANOVA (Tabellen 3.8. und 3.9) und anschließendem zweiseitigem t-Test gefunden. Auch die Anzahl der Mäuse, die das Kriterium erfüllten, war nach den Ergebnissen eines Chi-Quadrat-Tests zum Teil statistisch signifikant unterschiedlich.

Zum Zeitpunkt 1 h nach Injektion waren WT Tiere, die mit 1 mg/kg Aripiprazol (Latenz $p \leq 0,05$, Anzahl der Versuche $p \leq 0,05$, Anzahl Mäuse, die Kriterium erfüllen $p \leq 0,05$), 2 mg/kg Clozapin ($p \leq 0,01$, $p \leq 0,05$, $p \leq 0,01$), 0,1 mg/kg Haloperidol ($p \leq 0,001$, $p \leq 0,001$, n.s.), 0,3 mg/kg Haloperidol ($p \leq 0,001$, $p \leq 0,001$, $p \leq 0,001$), 2 mg/kg Olanzapin ($p \leq 0,001$, $p \leq 0,001$, $p \leq 0,001$), 10 mg/kg Quetiapin ($p \leq 0,001$, $p \leq 0,001$, $p \leq 0,001$), 0,3 mg/kg Risperidon ($p \leq 0,01$, $p \leq 0,05$, n.s.) und 1 mg/kg Risperidon ($p \leq 0,001$, $p \leq 0,001$, $p \leq 0,001$) behandelt waren, bei der Auswertung dieser Parameter signifikant schlechter als unbehandelte Kontrollmäuse.

5 h nach i.p. Injektion war die Leistung der WT Mäuse in diesen drei Parametern des räumlichen Lernens bei den Behandlungsgruppen 1 mg/kg Aripiprazol (n.s., n.s., $p \leq 0,01$) und 10 mg/kg Quetiapin (n.s., $p \leq 0,05$, $p \leq 0,01$) immer noch schlechter als bei unbehandelten Kontrolltieren. WT Mäuse, die mit 3 mg/kg Amisulprid behandelt waren, zeigten zu diesem Zeitpunkt ebenfalls eine verschlechterte Leistung ($p \leq 0,05$, $p \leq 0,05$, $p \leq$

0,01). Die Anzahl der Tiere in den Behandlungsgruppen 10 mg/kg Amisulprid ($p \leq 0,05$), 1 mg/kg Aripiprazol ($p \leq 0,01$), 0,3 mg/kg Haloperidol ($p \leq 0,01$), 0,5 mg/kg Olanzapin ($p \leq 0,05$), 2 mg/kg Olanzapin ($p \leq 0,001$) und 1 mg/kg Risperidon ($p \leq 0,01$), die das Kriterium erfüllten, war signifikant niedriger als in der Kontrollgruppe.

Bei mit 1 mg/kg Dehydroaripiprazol behandelten Mäusen war die Latenz bis zum Anschwimmen der Plattform zu diesem Zeitpunkt, 5 h nach i.p. Injektion, kürzer als die Latenz der Kontrollmäuse ($p \leq 0,05$).

Unter Behandlung derselben Dosen und Arzneistoffe, die sich 1 h nach Behandlung negativ auf die Leistung der WT Mäuse auswirkten, wurden ebenfalls bei heterozygoten *mdr1a/1b* Mäusen schlechtere Leistungen zu diesem Zeitpunkt in den Parametern Latenz bis zum Erreichen der Plattform, Anzahl der Versuche bis zum Erreichen des Kriteriums und Anzahl der Mäuse, die das Kriterium erfüllen beobachtet: 1 mg/kg Aripiprazol ($p \leq 0,001$, $p \leq 0,001$, $p \leq 0,01$), 2 mg/kg Clozapin ($p \leq 0,01$, $p \leq 0,05$, $p \leq 0,01$), 0,1 mg/kg Haloperidol ($p \leq 0,01$, $p \leq 0,01$, $p \leq 0,05$), 0,3 mg/kg Haloperidol ($p \leq 0,001$, $p \leq 0,001$, $p \leq 0,001$), 2 mg/kg Olanzapin ($p \leq 0,001$, $p \leq 0,001$, $p \leq 0,01$), 10 mg/kg Quetiapin ($p \leq 0,001$, $p \leq 0,001$, $p \leq 0,001$) 0,3 mg/kg Risperidon ($p \leq 0,001$, $p \leq 0,001$, $p \leq 0,05$) und 1 mg/kg Risperidon ($p \leq 0,001$, $p \leq 0,001$, $p \leq 0,001$). Zusätzlich brauchten P-gp defiziente Mäuse, die mit 3 mg/kg Amisulprid ($p \leq 0,05$) behandelt waren signifikant länger als die Kontrollgruppe, um die Plattform zu erreichen. WT Mäuse unter dieser Behandlung zeigten 1 h nach i.p. Injektion keine Beeinträchtigungen im räumlichen Lernen.

5 h nach Injektion waren heterozygote *mdr1a/1b* Mäuse, die mit 1 mg/kg Risperidon und mit 1 mg/kg Aripiprazol behandelt waren, in der Latenz bis zum Erreichen der Plattform ($p \leq 0,001$, bzw. $p \leq 0,001$) und in der Anzahl der Versuche ($p \leq 0,01$, bzw. $p \leq 0,001$) signifikant schlechter als unbehandelte Mäuse. Auch die Anzahl der Tiere, die das Kriterium erreichte war kleiner ($p \leq 0,01$, bzw. $p \leq 0,001$). Dieser Wert war ebenfalls bei Mäusen, die mit 0,3 mg/kg Haloperidol ($p \leq 0,05$) behandelt waren signifikant kleiner.

Vergleich zwischen den Genotypen

Bei Betrachtung der Ergebnisse zwischen den beiden Genotypen werden im Folgenden signifikante p-Werte des t-Tests angegeben auch wenn die Ergebnisse der MANOVA keine signifikanten Ergebnisse zeigten und sind somit nur als Hinweise auf einen Effekt des Genotyps zu verstehen.

24 h nach i.p. Injektion war noch eine Tendenz zu erkennen ($p = 0,055$), dass P-gp defiziente Tiere mehr Versuche zum Erreichen des Kriteriums unter 1 mg/kg Risperidon als WT Mäuse benötigten. Heterozygote *mdr1a/1b* Mäuse, die mit 0,5 mg/kg Olanzapin behandelt waren, brauchten 5 h und 24 h nach i.p. Injektion signifikant weniger Versuche bis zum Erreichen des Kriteriums als WT Tiere ($p \leq 0,05$ bzw. $p \leq 0,05$). Unter 2 mg/kg Olanzapin erreichten 1 h und 5 h nach i.p. Injektion signifikant mehr heterozygote Mäuse als WT Tiere das Kriterium ($p \leq 0,05$ zu beiden Zeitpunkten). Auch die Anzahl der Versuche, die heterozygote *mdr1a/1b* Mäuse 5 h nach i.p. Injektion unter dieser Behandlung benötigten, war mit einer Tendenz von $p = 0,061$ kleiner. 24 h nach Behandlung benötigten diese Tiere auch eine kürzere Zeit, um die Plattform zu erreichen ($p = 0,059$) (Abbildungen 3.32, 3.33 und 3.34).

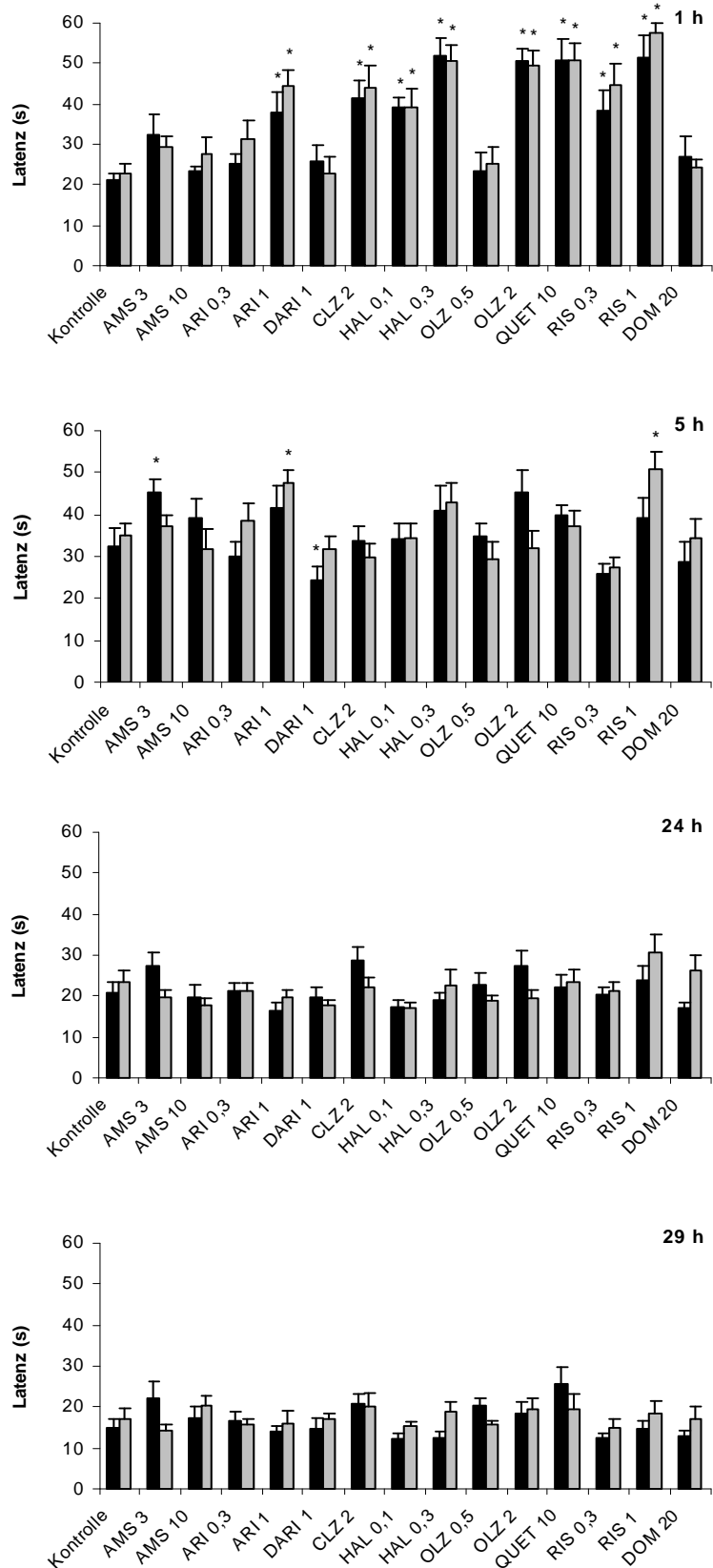


Abbildung 3.32: Latenz (s) bis zum Erreichen der Plattform von WT (schwarze Säulen) und heterozygoten *mdr1a/1b* Mäusen (graue Säulen) zu vier Zeitpunkten nach i.p. Injektion. * $p \leq 0,05$ zwischen Ergebnissen von behandelten Mäusen und unbehandelten Kontrollmäusen nach zweiseitigem t-Test. § $p \leq 0,05$ zwischen Ergebnissen gleichbehandelter Genotypen nach zweiseitigem t-Test.

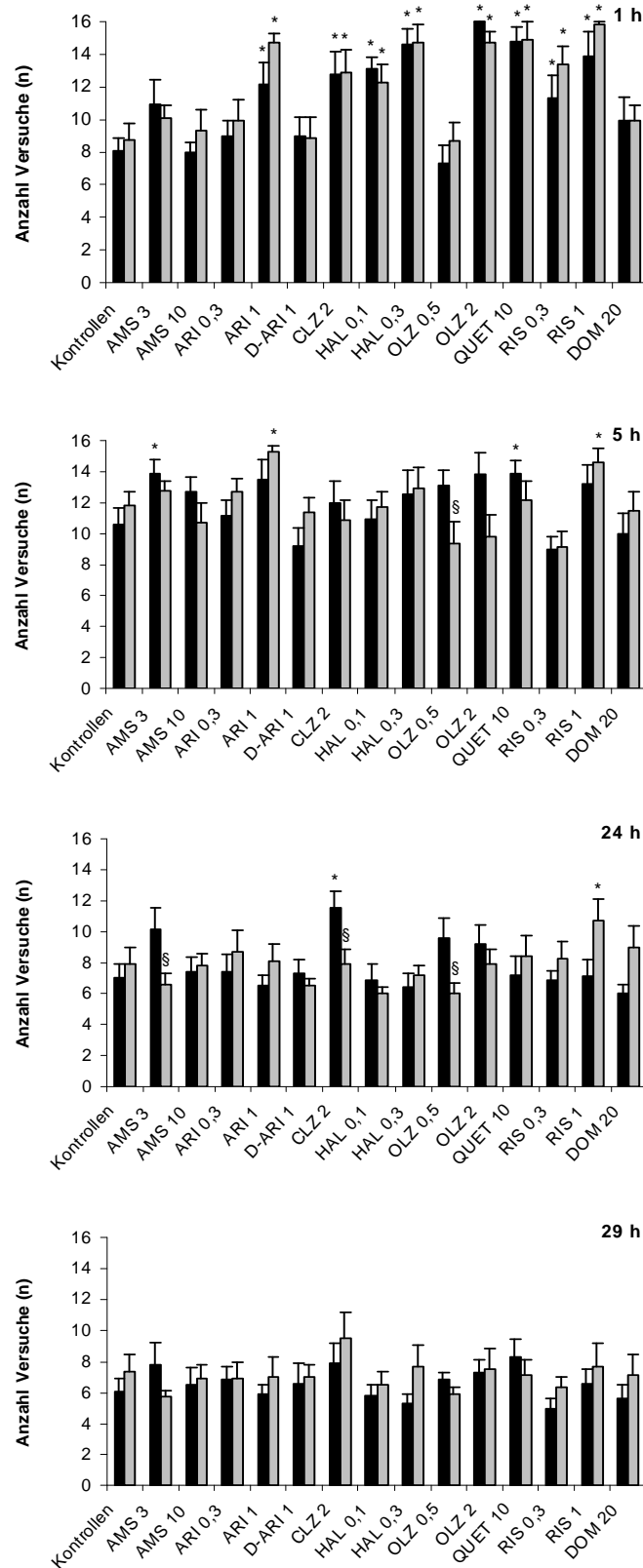


Abbildung 3.33: Anzahl der Versuche bis zum Erreichen des Kriteriums von WT (schwarze Säulen) und heterozygoten *mdr1a/1b* Mäusen (graue Säulen) zu vier Zeitpunkten nach i.p. Injektion. * $p \leq 0,05$ zwischen Ergebnissen von behandelten Mäusen und unbehandelten Kontrollmäusen nach zweiseitigem t-Test. § $p \leq 0,05$ zwischen Ergebnissen gleichbehandelter Genotypen nach zweiseitigem t-Test.

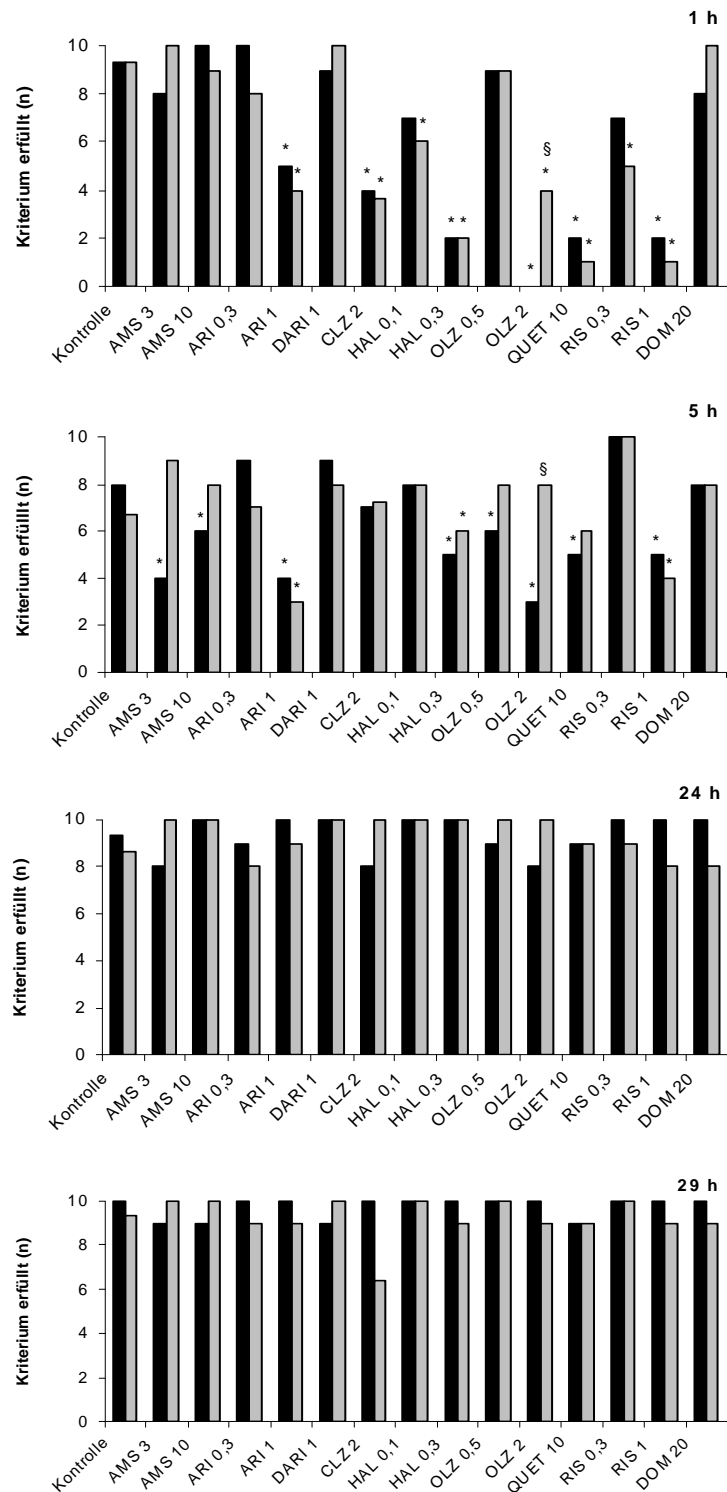


Abbildung 3.34: Anzahl der WT (schwarze Säulen) und heterozygoten *mdr1a/1b* Mäuse (graue Säulen), die das Kriterium erfüllen, zu vier Zeitpunkten nach i.p. Injektion. * $p \leq 0,05$ zwischen Ergebnissen von behandelten Mäusen und unbehandelten Kontrollmäusen nach Chi-Quadrat-Test. § $p \leq 0,05$ zwischen Ergebnissen gleichbehandelter Genotypen nach Chi-Quadrat-Test.

Tabelle 3.8: Statistische Parameter der Auswertung für den Parameter Latenz zu allen vier Zeitpunkten nach i.p. Injektion nach Genotyp (WT und heterozygot), Dosis (unbehandelt, niedrig und hoch) und deren Interaktion mittels MANOVA.

Arzneistoff	Faktor	F-Wert	p ≤
Amisulprid	Genotyp	$F_{(4, 61)} = 0,629$	n.s.
	Dosis	$F_{(8, 124)} = 2,010$	0,05
	Genotyp*Dosis	$F_{(8, 124)} = 1,382$	n.s.
Aripiprazol	Genotyp	$F_{(4, 61)} = 1,640$	n.s.
	Dosis	$F_{(8, 124)} = 4,106$	0,001
	Genotyp*Dosis	$F_{(8, 124)} = 0,286$	n.s.
Dehydroaripiprazol	Genotyp	$F_{(4, 43)} = 0,535$	n.s.
	Dosis	$F_{(4, 43)} = 1,118$	n.s.
	Genotyp*Dosis	$F_{(4, 43)} = 0,436$	n.s.
Clozapin	Genotyp	$F_{(4, 44)} = 0,274$	n.s.
	Dosis	$F_{(4, 44)} = 9,488$	0,001
	Genotyp*Dosis	$F_{(4, 44)} = 0,771$	n.s.
Haloperidol	Genotyp	$F_{(4, 61)} = 1,340$	n.s.
	Dosis	$F_{(8, 124)} = 7,603$	0,001
	Genotyp*Dosis	$F_{(8, 124)} = 0,236$	n.s.
Olanzapin	Genotyp	$F_{(4, 61)} = 1,165$	n.s.
	Dosis	$F_{(8, 124)} = 7,281$	0,001
	Genotyp*Dosis	$F_{(8, 124)} = 1,398$	n.s.
Quetiapin	Genotyp	$F_{(4, 43)} = 0,303$	n.s.
	Dosis	$F_{(4, 43)} = 19,788$	0,001
	Genotyp*Dosis	$F_{(4, 43)} = 0,485$	n.s.
Risperidon	Genotyp	$F_{(4, 61)} = 1,700$	n.s.
	Dosis	$F_{(8, 124)} = 10,590$	0,001
	Genotyp*Dosis	$F_{(8, 124)} = 0,388$	n.s.
Domperidon	Genotyp	$F_{(4, 43)} = 1,354$	n.s.
	Dosis	$F_{(4, 43)} = 0,445$	n.s.
	Genotyp*Dosis	$F_{(4, 43)} = 0,448$	n.s.

n.s. nicht signifikant

Tabelle 3.9: Statistische Parameter der Auswertung für den Parameter Anzahl der Versuche zu allen vier Zeitpunkten nach i.p. Injektion nach Genotyp (WT und heterozygot), Dosis (unbehandelt, niedrig und hoch) und deren Interaktion mittels MANOVA.

Arzneistoff	Faktor	F-Wert	p ≤
Amisulprid	Genotyp	$F_{(4, 61)} = 0,357$	n.s.
	Dosis	$F_{(8, 124)} = 1,176$	n.s.
	Genotyp*Dosis	$F_{(8, 124)} = 1,369$	n.s.
Aripiprazol	Genotyp	$F_{(4, 61)} = 1,893$	n.s.
	Dosis	$F_{(8, 124)} = 3,346$	0,01
	Genotyp*Dosis	$F_{(8, 124)} = 0,188$	n.s.
Dehydroaripiprazol	Genotyp	$F_{(4, 43)} = 0,726$	n.s.
	Dosis	$F_{(4, 43)} = 0,542$	n.s.
	Genotyp*Dosis	$F_{(4, 43)} = 0,309$	n.s.
Clozapin	Genotyp	$F_{(4, 44)} = 1,306$	n.s.
	Dosis	$F_{(4, 44)} = 4,761$	0,01
	Genotyp*Dosis	$F_{(4, 44)} = 1,892$	n.s.
Haloperidol	Genotyp	$F_{(4, 61)} = 0,874$	n.s.
	Dosis	$F_{(8, 124)} = 4,661$	0,001
	Genotyp*Dosis	$F_{(8, 124)} = 0,288$	n.s.
Olanzapin	Genotyp	$F_{(4, 61)} = 2,370$	n.s.
	Dosis	$F_{(8, 124)} = 6,329$	0,001
	Genotyp*Dosis	$F_{(8, 124)} = 1,782$	n.s.
Quetiapin	Genotyp	$F_{(4, 43)} = 0,265$	n.s.
	Dosis	$F_{(4, 43)} = 11,234$	0,001
	Genotyp*Dosis	$F_{(4, 43)} = 0,676$	n.s.
Risperidon	Genotyp	$F_{(4, 61)} = 2,211$	n.s.
	Dosis	$F_{(8, 124)} = 6,959$	0,001
	Genotyp*Dosis	$F_{(8, 124)} = 0,375$	n.s.
Domperidon	Genotyp	$F_{(4, 43)} = 1,445$	n.s.
	Dosis	$F_{(4, 43)} = 0,546$	n.s.
	Genotyp*Dosis	$F_{(4, 43)} = 0,266$	n.s.

n.s. nicht signifikant

Beurteilung des Erinnerungsvermögens anhand des Parameters Latenz bis zur zuvor gelernten Plattform

Bei der Betrachtung des Auswerteparameters der Latenz bis zum Erreichen der Position, an der die Plattform zum vorhergehenden Zeitpunkt lokalisiert war, im ersten Versuch eines neuen Zeitpunkts zeigten sich für die Betrachtung der Dosis nicht jedoch für den Genotyp signifikante Unterschiede in der MANOVA (Tabelle 3.10). Die anschließenden t-Tests wurden jedoch, wie bereits oben beschrieben, auch zwischen den Genotypen durchgeführt und sind als Hinweise auf einen möglichen Effekt zu verstehen.

Heterozygote *mdr1a/1b* und WT Mäuse, die mit 1 mg/kg Risperidon behandelt waren, brauchten zum Zeitpunkt 5 h nach Behandlung signifikant mehr Zeit als Kontrollmäuse, um die zum Zeitpunkt 1 h nach i.p. Injektion gelernte Plattformposition anzuschwimmen ($p \leq 0,001$, $p \leq 0,01$). Auch brauchten beide Genotypen unter Behandlung mit 1 mg/kg Aripiprazol ($p \leq 0,05$, $p \leq 0,05$) und 10 mg/kg Quetiapin ($p \leq 0,05$, $p \leq 0,01$) länger, um bis zu der zuvor gelernten Plattformposition zu schwimmen. WT Mäuse, die mit 0,3 mg/kg Haloperidol ($p \leq 0,001$) und 2 mg/kg Olanzapin ($p \leq 0,001$) behandelt waren, benötigten ebenfalls mehr Zeit. Heterozygote *mdr1a/1b* Mäuse unter Behandlung von 2 mg/kg Clozapin ($p \leq 0,05$) waren in diesem Parameter schlechter als Kontrolltiere; unter 1 mg/kg Dehydroaripiprazol jedoch signifikant besser ($p \leq 0,01$).

24 h nach Behandlung benötigten Mäuse beider Genotypen, die mit 0,3 mg/kg Risperidon behandelt waren, signifikant weniger Zeit, um die Position, auf der die Plattform zum Zeitpunkt 5 h nach Injektion lokalisiert war, anzuschwimmen ($p \leq 0,001$, $p \leq 0,01$). Unter 1 mg/kg Risperidon brauchten heterozygote *mdr1a/1b* Tiere signifikant länger bis zum Zielarm ($p \leq 0,05$), ebenso WT Mäuse unter Behandlung mit 2 mg/kg Olanzapin ($p \leq 0,05$) (Abbildung 3.35).

29 h nach der i.p. Injektion benötigten WT Mäuse, die mit 1 mg/kg Aripiprazol behandelt waren, eine signifikant kürzere Zeit als Kontrolltiere, um die zum Zeitpunkt 24 h gelernte Plattformposition, anzuschwimmen ($p \leq 0,01$). Mit 2 mg/kg Olanzapin behandelte Mäuse benötigten signifikant mehr Zeit zu diesem Zeitpunkt ($p \leq 0,001$). Heterozygote *mdr1a/1b* Mäuse unter Behandlung mit 3 ($p \leq 0,05$) und 10 mg/kg Amisulprid ($p \leq 0,05$), 0,3 mg/kg Aripiprazol ($p \leq 0,01$), 1 mg/kg Dehydroaripiprazol ($p \leq 0,05$), 0,1 mg/kg Haloperidol ($p \leq 0,05$) und 2 mg/kg Olanzapin ($p \leq 0,001$) schwammen zu diesem Zeitpunkt signifikant schneller im Vergleich zu unbehandelten Kontrollmäusen zur zuvor gelernten Plattformposition. Mit 2 mg/kg Olanzapin behandelte heterozygote *mdr1a/1b* Tiere unterschieden sich somit auch signifikant von gleichbehandelten WT Mäusen ($p \leq 0,001$).

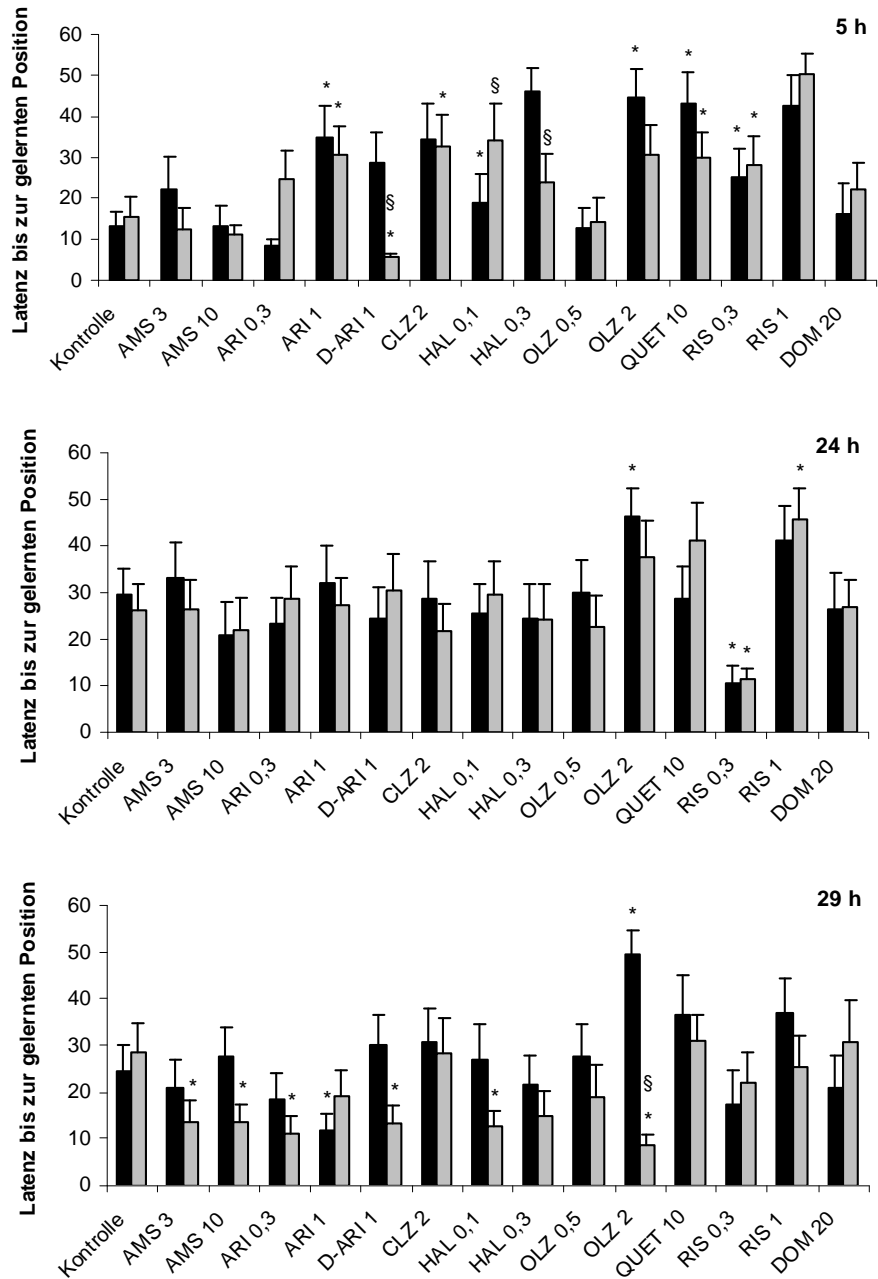


Abbildung 3.35: Latenz (s) bis zum Erreichen der zuvor gelernten Plattformposition von WT (schwarze Säulen) und heterozygoten *mdr1a/1b* Mäusen (graue Säulen) zu drei Zeitpunkten nach i.p. Injektion. * $p \leq 0,05$ zwischen Ergebnissen von behandelten Mäusen und unbehandelten Kontrollmäusen nach zweiseitigem t-Test. § $p \leq 0,05$ zwischen Ergebnissen gleichbehandelter Genotypen nach zweiseitigem t-Test.

Tabelle 3.10: Statistische Parameter der Auswertung für den Parameter Latenz bis zum Erreichen der zuvor gelernten Plattformposition zu den drei Zeitpunkten 5 h, 24 h und 29 h nach i.p. Injektion nach Genotyp (WT und heterozygot), Dosis (unbehandelt, niedrig und hoch) und deren Interaktion mittels MANOVA.

Arzneistoff	Faktor	F-Wert	p ≤
Amisulprid	Genotyp	$F_{(3, 62)} = 0,357$	n.s.
	Dosis	$F_{(6, 126)} = 1,176$	n.s.
	Genotyp*Dosis	$F_{(6, 126)} = 1,369$	n.s.
Aripiprazol	Genotyp	$F_{(3, 62)} = 1,893$	n.s.
	Dosis	$F_{(6, 126)} = 3,346$	0,01
	Genotyp*Dosis	$F_{(6, 126)} = 0,188$	n.s.
Dehydroaripiprazol	Genotyp	$F_{(3, 44)} = 0,726$	n.s.
	Dosis	$F_{(3, 44)} = 0,542$	n.s.
	Genotyp*Dosis	$F_{(3, 44)} = 0,309$	n.s.
Clozapin	Genotyp	$F_{(3, 45)} = 1,306$	n.s.
	Dosis	$F_{(3, 45)} = 4,761$	0,01
	Genotyp*Dosis	$F_{(3, 45)} = 1,892$	n.s.
Haloperidol	Genotyp	$F_{(3, 62)} = 0,874$	n.s.
	Dosis	$F_{(6, 126)} = 4,661$	0,001
	Genotyp*Dosis	$F_{(6, 126)} = 0,288$	n.s.
Olanzapin	Genotyp	$F_{(3, 62)} = 2,370$	n.s.
	Dosis	$F_{(6, 126)} = 6,329$	0,001
	Genotyp*Dosis	$F_{(6, 126)} = 1,782$	n.s.
Quetiapin	Genotyp	$F_{(3, 44)} = 0,265$	n.s.
	Dosis	$F_{(3, 44)} = 11,234$	0,001
	Genotyp*Dosis	$F_{(3, 44)} = 0,676$	n.s.
Risperidon	Genotyp	$F_{(3, 62)} = 2,211$	n.s.
	Dosis	$F_{(6, 126)} = 6,959$	0,001
	Genotyp*Dosis	$F_{(6, 126)} = 0,375$	n.s.
Domperidon	Genotyp	$F_{(3, 44)} = 1,445$	n.s.
	Dosis	$F_{(3, 44)} = 0,546$	n.s.
	Genotyp*Dosis	$F_{(3, 44)} = 0,266$	n.s.

n.s. nicht signifikant

Beurteilung des Arbeitsgedächtnisses

Die statistischen Parameter der Auswertung mittels MANOVA zeigten signifikante Unterschiede in der Summe der Arbeitsgedächtnisfehler von Mäusen, die mit Aripiprazol und Haloperidol behandelt waren, bezüglich der Dosis über alle vier Zeitpunkte (Tabelle 3.11). In den anschließenden t-Tests konnte für heterozygote *mdr1a/1b* Mäuse, die mit 2 mg/kg Clozapin ($p \leq 0,05$), 2 mg/kg Olanzapin ($p \leq 0,05$) oder 1 mg/kg Risperidon ($p \leq 0,01$) behandelt waren, und für WT Mäuse unter Behandlung mit 0,3 mg/kg Haloperidol ($p \leq 0,001$) eine signifikant geringere Anzahl an Arbeitsgedächtnisfehlern gegenüber unbehandelten Kontrollmäusen beobachtet werden (Abbildung 3.36).

Bei der Betrachtung zwischen den Genotypen machten heterozygote *mdr1a/1b* Mäuse unter Behandlung mit 2 mg/kg Clozapin ($p \leq 0,05$), 2 mg/kg Olanzapin ($p \leq 0,05$) oder 1 mg/kg Risperidon ($p \leq 0,05$) signifikant weniger Fehler als WT Tiere.

Bei Betrachtung der einzelnen Zeitpunkte konnte nur bei WT Mäusen, die mit 1 mg/kg Aripiprazol behandelt waren, 1 h nach i.p. Injektion eine signifikant höhere Anzahl an Arbeitsgedächtnisfehlern verglichen mit unbehandelten Kontrolltieren beobachtet werden ($p \leq 0,05$). Mäuse, die mit anderen Antipsychotika behandelt waren, zeigten zum Teil signifikant weniger Arbeitsgedächtnisfehler. 1 h nach Injektion waren dies bei den heterozygoten *mdr1a/1b* Tieren solche unter Behandlung mit 0,3 mg/kg ($p \leq 0,01$) und 1 mg/kg Risperidon ($p \leq 0,01$). WT Tiere unterschieden sich 1 h nach i.p. Injektion nicht von Kontrollmäusen.

5 h nach i.p. Injektion machten heterozygote *mdr1a/1b* Mäuse, die mit 1 mg/kg Aripiprazol ($p \leq 0,01$), 0,5 mg/kg Olanzapin ($p \leq 0,01$) und 1 mg/kg Risperidon ($p \leq 0,001$) behandelt waren, signifikant weniger Arbeitsgedächtnisfehler, ebenso wie WT Mäuse, die mit 1 mg/kg Dehydroaripiprazol ($p \leq 0,05$) und 0,3 mg/kg Haloperidol ($p \leq 0,05$) behandelt waren.

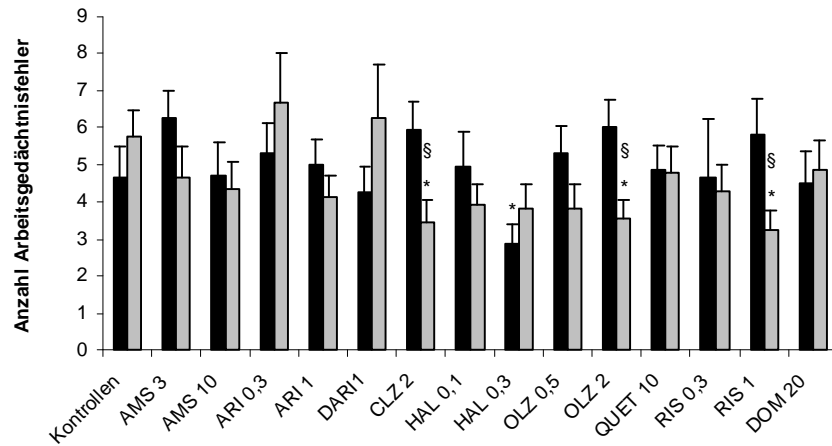


Abbildung 3.36: Summe der Arbeitsgedächtnisfehler über alle vier Zeitpunkte von WT (schwarze Säulen) und heterozygoten *mdr1a/1b* Mäusen (graue Säulen). * $p \leq 0,05$ zwischen Ergebnissen von behandelten Mäusen und unbehandelten Kontrollmäusen nach zweiseitigem t-Test. § $p \leq 0,05$ zwischen Ergebnissen gleichbehandelter Genotypen nach zweiseitigem t-Test.

Tabelle 3.11: Statistische Parameter der Auswertung für Arbeitsgedächtnisfehler zu allen vier Zeitpunkten nach i.p. Injektion nach Genotyp (WT und heterozygot), Dosis (unbehandelt, niedrig und hoch) und deren Interaktion mittels MANOVA.

Arzneistoff	Faktor	F-Wert	p ≤
Amisulprid	Genotyp	$F_{(4, 61)} = 0,338$	n.s.
	Dosis	$F_{(8, 124)} = 0,647$	n.s.
	Genotyp*Dosis	$F_{(8, 124)} = 1,455$	n.s.
Aripiprazol	Genotyp	$F_{(4, 61)} = 1,020$	n.s.
	Dosis	$F_{(8, 124)} = 2,119$	0,05
	Genotyp*Dosis	$F_{(8, 124)} = 1,300$	n.s.
Dehydroaripiprazol	Genotyp	$F_{(4, 43)} = 1,498$	n.s.
	Dosis	$F_{(4, 43)} = 0,427$	n.s.
	Genotyp*Dosis	$F_{(4, 43)} = 0,264$	n.s.
Clozapin	Genotyp	$F_{(4, 44)} = 0,924$	n.s.
	Dosis	$F_{(4, 44)} = 0,472$	n.s.
	Genotyp*Dosis	$F_{(4, 44)} = 1,880$	n.s.
Haloperidol	Genotyp	$F_{(4, 61)} = 1,438$	n.s.
	Dosis	$F_{(8, 124)} = 2,190$	0,05
	Genotyp*Dosis	$F_{(8, 124)} = 0,720$	n.s.
Olanzapin	Genotyp	$F_{(4, 61)} = 0,777$	n.s.
	Dosis	$F_{(8, 124)} = 1,223$	n.s.
	Genotyp*Dosis	$F_{(8, 124)} = 1,531$	n.s.
Quetiapin	Genotyp	$F_{(4, 43)} = 0,624$	n.s.
	Dosis	$F_{(4, 43)} = 1,362$	n.s.
	Genotyp*Dosis	$F_{(4, 43)} = 0,958$	n.s.
Risperidon	Genotyp	$F_{(4, 61)} = 2,084$	n.s.
	Dosis	$F_{(8, 124)} = 1,182$	n.s.
	Genotyp*Dosis	$F_{(8, 124)} = 1,309$	n.s.
Domperidon	Genotyp	$F_{(4, 43)} = 0,546$	n.s.
	Dosis	$F_{(4, 43)} = 0,371$	n.s.
	Genotyp*Dosis	$F_{(4, 43)} = 0,332$	n.s.

n.s. nicht signifikant

Schwimmgeschwindigkeit in der RAWM

Bei der Auswertung der Schwimmgeschwindigkeit in der RAWM, berechnet aus der geschwommenen Strecke zur benötigten Latenz, zeigten sich in der MANOVA zu einigen Behandlungen signifikante Unterschiede zwischen den Dosen (Tabelle 3.12). Die anschließenden t-Tests zeigten, dass die Schwimmgeschwindigkeit 1 h nach Injektion bei WT und heterozygoten *mdr1a/1b* Mäusen unter Behandlung mit 3 mg/kg (WT $p \leq 0,01$, heterozygot $p \leq 0,05$) und 10 mg/kg ($p \leq 0,01$, $p \leq 0,05$) Amisulprid, 0,1 mg/kg ($p \leq 0,001$, $p \leq 0,001$) und 0,3 mg/kg ($p \leq 0,05$, $p \leq 0,001$) Aripiprazol, 2 mg/kg Clozapin ($p \leq 0,001$, $p \leq 0,001$), 0,1 mg/kg ($p \leq 0,001$, $p \leq 0,001$) und 0,3 mg/kg ($p \leq 0,001$, $p \leq 0,001$) Haloperidol, 0,5 mg/kg ($p \leq 0,05$, $p \leq 0,05$) und 2 mg/kg ($p \leq 0,001$, $p \leq 0,001$) Olanzapin, 10 mg/kg Quetiapin ($p \leq 0,001$, $p \leq 0,001$) und 0,3 mg/kg ($p \leq 0,001$, $p \leq 0,001$) und 1 mg/kg ($p \leq 0,001$, $p \leq 0,001$) Risperidon signifikant langsamer als bei unbehandelten Kontrollmäusen war.

5 h nach i.p. Injektion schwammen WT Mäuse, die mit 3 mg/kg Amisulprid ($p \leq 0,01$), 2 mg/kg Olanzapin ($p \leq 0,05$) und 10 mg/kg Quetiapin ($p \leq 0,05$) behandelt waren ebenfalls signifikant langsamer im Vergleich zu den Kontrolltieren. Heterozygote *mdr1a/b* Mäuse, die mit 1 mg/kg Aripiprazol ($p \leq 0,001$), 0,3 mg/kg Haloperidol ($p \leq 0,001$) und 1 mg/kg Risperidon ($p \leq 0,001$) behandelt waren, waren zu diesem Zeitpunkt ebenfalls in ihrer Schwimmgeschwindigkeit verlangsamt. 24 h nach i.p. Injektion von 1 mg/kg Risperidon war der Effekt in diesen Mäusen immer noch zu beobachten ($p \leq 0,01$) (Abbildung 3.37).

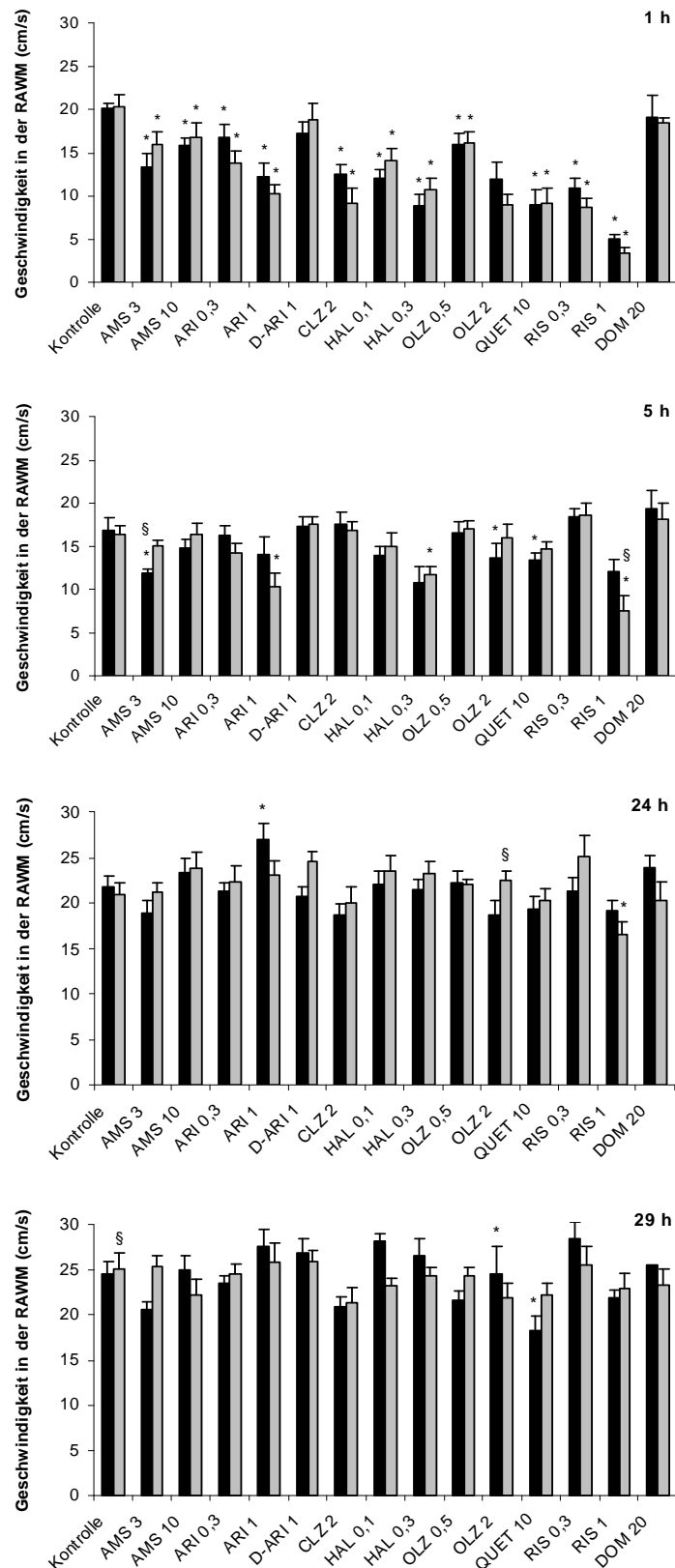


Abbildung 3.37: Schwimmgeschwindigkeit in der RAWM von WT (schwarze Säulen) und heterozygoten *mdr1a/1b* Mäusen (graue Säulen) zu vier Zeitpunkten nach i.p. Injektion. * $p \leq 0,05$ zwischen Ergebnissen von behandelten Mäusen und unbehandelten Kontrollmäusen nach zweiseitigem t-Test. \$ $p \leq 0,05$ zwischen Ergebnissen gleichbehandelter Genotypen nach zweiseitigem t-Test.

Tabelle 3.12: Statistische Parameter der Auswertung für die Geschwindigkeit in der RAWM zu allen vier Zeitpunkten nach i.p. Injektion nach Genotyp (WT und heterozygot), Dosis (unbehandelt, niedrig und hoch) und deren Interaktion mittels MANOVA.

Arzneistoff	Faktor	F-Wert	p ≤
Amisulprid	Genotyp	$F_{(4, 61)} = 0,434$	n.s.
	Dosis	$F_{(8, 124)} = 2,853$	n.s.
	Genotyp*Dosis	$F_{(8, 124)} = 0,777$	n.s.
Aripiprazol	Genotyp	$F_{(4, 61)} = 1,326$	n.s.
	Dosis	$F_{(8, 124)} = 5,883$	0,001
	Genotyp*Dosis	$F_{(8, 124)} = 0,631$	n.s.
Dehydroaripiprazol	Genotyp	$F_{(4, 43)} = 0,218$	n.s.
	Dosis	$F_{(4, 43)} = 1,556$	n.s.
	Genotyp*Dosis	$F_{(4, 43)} = 0,473$	n.s.
Clozapin	Genotyp	$F_{(4, 44)} = 0,530$	n.s.
	Dosis	$F_{(4, 44)} = 13,687$	0,001
	Genotyp*Dosis	$F_{(4, 44)} = 0,727$	n.s.
Haloperidol	Genotyp	$F_{(4, 61)} = 0,837$	n.s.
	Dosis	$F_{(8, 124)} = 7,303$	0,001
	Genotyp*Dosis	$F_{(8, 124)} = 0,626$	n.s.
Olanzapin	Genotyp	$F_{(4, 61)} = 0,561$	n.s.
	Dosis	$F_{(8, 124)} = 6,225$	0,001
	Genotyp*Dosis	$F_{(8, 124)} = 1,594$	n.s.
Quetiapin	Genotyp	$F_{(4, 43)} = 0,512$	n.s.
	Dosis	$F_{(4, 43)} = 15,459$	0,001
	Genotyp*Dosis	$F_{(4, 43)} = 0,283$	n.s.
Risperidon	Genotyp	$F_{(4, 61)} = 1,008$	n.s.
	Dosis	$F_{(8, 124)} = 16,073$	0,001
	Genotyp*Dosis	$F_{(8, 124)} = 1,725$	n.s.
Domperidon	Genotyp	$F_{(4, 43)} = 0,461$	n.s.
	Dosis	$F_{(4, 43)} = 0,590$	n.s.
	Genotyp*Dosis	$F_{(4, 43)} = 0,167$	n.s.

n.s. nicht signifikant

3.4.4.3 Schwimmggeschwindigkeit

Die Auswertung des Tests zur Messung der Schwimmggeschwindigkeit mit sichtbarer Plattform zeigte, dass Mäuse, die mit Clozapin, Olanzapin, Quetiapin und Risperidon behandelt waren, 1 h nach i.p. Injektion des Antipsychotikums signifikant langsamer schwammen als im unbehandelten Zustand (Abbildung 3.38, Tabelle 3.13). Heterozygote *mdr1a/b* Mäuse, die mit 1 mg/kg Risperidon behandelt waren, zeigten die größte Differenz zwischen ihrer Geschwindigkeit im unbehandelten Zustand, in welchem sie 24,2 cm/s schwammen, zu einer Geschwindigkeit von 13,4 cm/s unter Behandlung. WT Mäuse unter dieser Behandlung schwammen unbehandelt mit einer Geschwindigkeit von 28,7 cm/s zu 19,4 cm/s unter Risperidon ($p \leq 0,01$). Auch Mäuse, die eine i.p. Injektion von 10 mg/kg Quetiapin, 2 mg/kg Clozapin, 0,3 mg/kg Risperidon und 2 mg/kg Olanzapin erhalten hatten, schwammen unter Behandlung signifikant langsamer ($p \leq 0,01$). WT Mäuse, denen Haloperidol injiziert worden war, schwammen unter einer Dosis von 0,1 mg/kg signifikant schneller als unbehandelt. Diese Tiere hatten jedoch mit 22,1 cm/s mit Abstand die niedrigste Geschwindigkeit im unbehandelten Zustand verglichen mit dem Mittelwert aller unbehandelten Tiere von 25,8 cm/s. Unter einer Dosis von 0,3 mg/kg Haloperidol und 0,5 mg/kg Olanzapin schwammen WT Tiere hingegen langsamer als unbehandelt. Beim Vergleich zwischen den Genotypen schwammen heterozygote *mdr1a/1b* Mäuse unter der Behandlung mit 0,3 mg/kg Haloperidol signifikant schneller als WT Mäusen unter der gleichen Behandlung ($p \leq 0,01$).

Tabelle 3.13: Mittelwerte der Schwimmggeschwindigkeit (cm/s) in der Untersuchung mit sichtbarer Plattform von WT und heterozygoten *mdr1a/1b* Mäusen unbehandelt und 1 h bzw. 5 h nach i.p. Behandlung.

Arzneistoff (mg/kg)	h nach Injektion	WT			heterozygot		
		un- behandelt (cm/s)	behandelt (cm/s)	$p \leq$	un- behandelt (cm/s)	behandelt (cm/s)	$p \leq$
Kontrolle	1 h	27,0	28,0	n.s.	27,4	29,3	n.s.
Amisulprid 3 mg/kg	1 h	25,7	26,7	n.s.	25,7	27,8	0,05
Amisulprid 10 mg/kg	1 h	27,5	27,5	n.s.	27,0	28,5	n.s.

Tabelle 3.13: (Fortsetzung)

Arzneistoff (mg/kg)	h nach Injektion	WT			heterozygot		
		un- behandelt (cm/s)	behandelt (cm/s)	p ≤	un- behandelt (cm/s)	behandelt (cm/s)	p ≤
Aripiprazol 0,3 mg/kg	1 h	23,7	24,0	n.s.	25,5	24,8	n.s.
Aripiprazol 1 mg/kg	1 h	26,2	24,8	n.s.	26,7	27,1	n.s.
Dehydroaripipra- zol 1 mg/kg	1 h	29,1	28,1	n.s.	21,8	22,5	n.s.
Clozapin 2 mg/kg	1 h	25,8	18,7	0,01	25,0	19,4	n.s.
Haloperidol 0,1 mg/kg	1 h	22,1	26,1	0,05	26,2	29,5	n.s.
Haloperidol 0,3 mg/kg	1 h	25,6	23,9	0,05	26,2	29,0	0,01
Olanzapin 0,5 mg/kg	1 h	25,2	23,1	0,05	26,1	26,2	n.s.
Olanzapin 2 mg/kg	1 h	25,0	20,9	0,01	25,0	20,9	0,05
Quetiapin 10 mg/kg	1 h	26,8	19,8	0,01	25,8	16,8	0,01
Risperidon 0,3 mg/kg	1 h	27,4	20,7	0,01	25,7	19,4	0,01
Risperidon 1 mg/kg	1 h	28,7	19,4	0,01	24,2	13,4	0,05
Domperidon 20 mg/kg	1 h	24,3	25,1	n.s.	25,2	28,4	0,05
Clozapin 2 mg/kg	5 h	25,8	28,2	0,05	25,0	25,2	n.s.
Olanzapin 2 mg/kg	5 h	25,0	25,5	n.s.	25,0	25,0	n.s.

Tabelle 3.13: (Fortsetzung)

Arzneistoff (mg/kg)	h nach Injektion	WT			heterozygot		
		un- behandelt (cm/s)	behandelt (cm/s)	p ≤	un- behandelt (cm/s)	behandelt (cm/s)	p ≤
Quetiapin 10 mg/kg	5 h	26,8	28,3	n.s.	25,8	26,2	n.s.
Risperidon 0,3 mg/kg	5 h	27,4	26,2	n.s.	25,7	24,1	n.s.
Risperidon 1 mg/kg	5 h	28,7	26,3	n.s.	24,2	23,4	n.s.

n.s. nicht signifikant

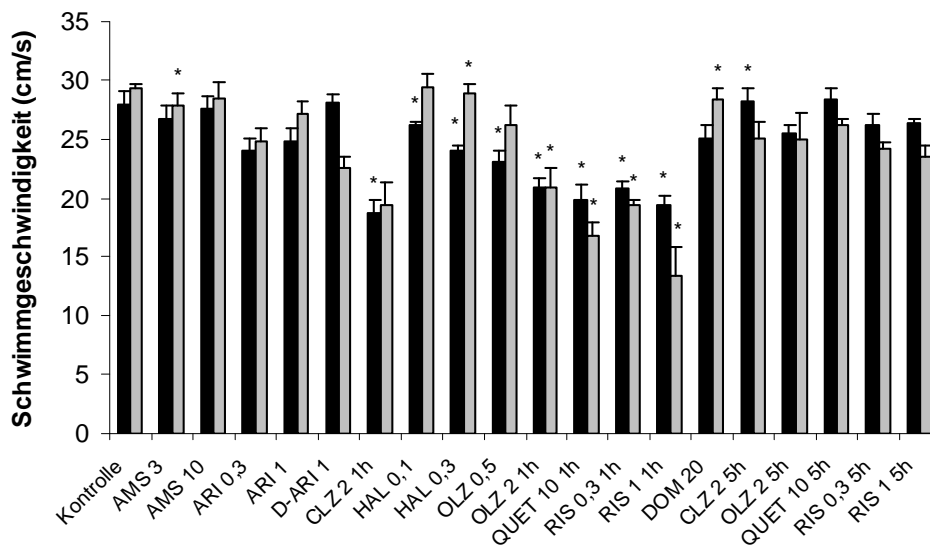


Abbildung 3.38: Schwimmgeschwindigkeit (cm/s) von WT (schwarze Säulen) und heterozygoten *mdr1a/1b* Mäusen (graue Säulen) 1 h und zum Teil 5 h nach i.p. Injektion. * $p \leq 0,05$ zwischen denselben Mäusen im unbehandelten und behandelten Zustand nach t-Test für gepaarte Stichproben.

4 Diskussion

Ziel dieser Arbeit war es, die Bedeutung des Effluxtransporters P-gp für die Pharmakokinetik und –dynamik von Antipsychotika am Modell der Maus zu untersuchen. Für die pharmakokinetischen Untersuchungen mussten einige Methoden für den Nachweis der Antipsychotika in Blut und Gewebe etabliert werden, und für die pharmakodynamischen Studien wurden Verhaltenstests aufgebaut, um motorische und kognitive Leistungen und Effekte von Antipsychotika zu erfassen.

4.1 Validierung der HPLC Methode zur Bestimmung von Aripiprazol

Die zu Beginn der Arbeit entwickelte chromatographische Methode mit Säulenschalt-Technik ermöglichte die automatische und schnelle Bestimmung von Aripiprazol und seinem aktiven Metaboliten Dehydroaripiprazol mit minimaler Probenvorbereitung innerhalb von 25 min. Die Validierungsergebnisse entsprachen den vom *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI (1992), früher NCCLS) vorgegebenen internationalen Anforderungen. Die Präzision lag innerhalb eines Laufes, zwischen zwei Läufen und zwischen allen fünf Validierungstagen unter 10 %. Die erreichte Nachweis- und Quantifizierungsgrenze lag deutlich unter den üblicherweise gemessenen therapeutischen Spiegeln. Die Methode ist somit geeignet für die Anwendung im Rahmen des TDM. Proben können mit der neuen Methode innerhalb einer Stunde gemessen werden und bei Routineproben können Ergebnisse innerhalb von 24 h nach Blutentnahme mitgeteilt werden. Die Überprüfung des bei der Validierung eingesetzten Tablettenextrakts mit Reinsubstanz ergab eine Übereinstimmung von annähernd 100 %. Die Lösung des Arzneistoffs aus der Tablette kann somit als vollständig und die Genauigkeit der Validierungsergebnisse als ausreichend betrachtet werden.

Das Antidepressivum Reboxetin, das Antipsychotikum Pipamperon und der Metabolit des Antipsychotikums Clozapin, Desmethylclozapin, hatten ähnliche Retentionszeiten wie Aripiprazol. Bei gleichzeitiger Komedikation dieser Substanzen ist daher auf Interferenzen mit dem Aripiprazol-Peak zu achten. Durch leichte Variation im Fluss oder im Acetonitrilgehalt des analytischen Eluenten, je nach aktuellen Bedingungen des Einzelfalls, ist eine Trennung der Peaks aber möglich. Die Anwendbarkeit dieser Methode auf Patientenproben konnte durch eigene Untersuchungen gezeigt werden.

4.2 Klinische Anwendung Aripiprazol

Die Untersuchungen ergaben, dass ein signifikanter Zusammenhang zwischen der täglichen Dosis von Aripiprazol und den resultierenden Serumspiegeln besteht. Hierbei korrelierten die Spiegel der Summe aus Aripiprazol und Dehydroaripiprazol ($r = 0,482$) besser mit der Dosis als die einzelnen Serumspiegel von Aripiprazol ($r = 0,419$) und Dehydroaripiprazol ($r = 0,355$). Die errechneten Korrelationskoeffizienten waren jedoch trotz ihrer Signifikanz eher niedrig. Dieses Ergebnis findet sich ebenso bei anderen psychotropen Medikamenten und lässt sich durch intrinsische Faktoren, wie genetische Disposition, Alter oder Krankheiten, und extrinsische Faktoren, wie Rauchen und Nahrungsmittel erklären (Baumann, et al 2004). Dehydroaripiprazol, der aktive Metabolit des Aripiprazols, wurde bei den Patienten dieser Studie im Mittel zu 40 % gebildet. Dieser Wert wird auch in der Fachinformation von Bristol-Myers Squibb Company und Otsuka America Pharmaceutical Inc. für Aripiprazol (Bristol Myers Squibb Company, 2006) angegeben. Interindividuelle Unterschiede waren hierbei sehr groß (C.V. = 93 %), intraindividuelle Variationen jedoch eher niedrig (C.V. = 26 %). Ein vergleichbares Ergebnis zeigt sich in der Studie von Molden und Koautoren (2006). Man kann annehmen, dass dieser Befund vor allem durch genetische Unterschiede in den metabolisierenden Phase I und Phase II Enzymen begründet ist. Bekannt sind große Unterschiede in der Aktivität von CYP3A4 und CYP2D6, die zum Teil durch genetische Polymorphismen erklärt werden können (Sachse, et al 1997; Mizutani, et al 2003). Ein genauer Zusammenhang bei Patienten unter Behandlung mit Aripiprazol müsste in weiteren Studien genauer untersucht werden. Eine abschließende Erklärung der Ergebnisse ist ohne Genotypisierung der Patienten schwierig.

Der in dieser Arbeit untersuchte Zusammenhang zwischen Serumspiegeln von Aripiprazol und Dehydroaripiprazol und CYP3A4 und CYP2D6 beeinflussenden Komedikamenten zeigte ein deutliches Interaktionspotential mit veränderten Serumspiegeln von Aripiprazol bis zu 51 % und von Dehydroaripiprazol bis zu 120 %. Kubo und Mitarbeiter (2005) ermittelten, dass am Abbau von Aripiprazol die Cytochrome CYP3A4 und CYP2D6 in einem ungefähren Verhältnis von 1:1 beteiligt sind. Der starke CYP3A4 Inhibitor Itraconazol führt zu einer um 50 % gesteigerten AUC von Aripiprazol (Kubo, et al 2005). Die Fachinformation rät deshalb zu einer Dosisverminderung bei gleichzeitiger Gabe von CYP3A4 Inhibitoren (Bristol Myers Squibb Company 2006). Eine weitere in der Fachinformation aufgeführte Studie ergab eine um 112 % erhöhte AUC von Aripiprazol bei Komedikation mit Quinidin, einem starken CYP2D6 Inhibitor. Bei dieser Kombination soll die Dosis laut Firmeninformation um die Hälfte reduziert werden. Die Ergebnisse dieser Arbeit zeigten ein um 39 % erhöhtes

Konzentrations- zu Dosis Verhältnis von Aripiprazol bei gleichzeitiger Gabe des Betablockers Metoprolol, einem moderaten CYP2D6 Inhibitor. Die selbst ermittelte Erniedrigung des K/D Verhältnisses auf 70 % bei Aripiprazol in Kombination mit dem CYP3A4 Induktor Carbamazepin stimmte mit dem in einer Studie der Herstellerfirma gefundenen Wert überein (Bristol Myers Squibb Company, 2006). Insgesamt zeigen die Ergebnisse dieser Arbeit, sowie Daten einer Studie von Molden und Koautoren (2006), dass sich Komedikamente mit inhibierenden oder induzierenden Eigenschaften moderat bis deutlich auf die Aripiprazol- und Dehydroaripiprazolkonzentrationen auswirken. Auf einen therapeutischen Bereich, der gutes klinisches Ansprechen und ein Minimum an Nebenwirkungen verbindet, wie im Folgenden beschrieben, können die hier beobachteten Interaktionen mit Komedikamenten durchaus klinische Auswirkungen haben. Dies und die beschriebene große, zum Teil durch Genpolymorphismen bedingte, interindividuelle Varianz in den Serumspiegeln machen den Vorteil einer Anwendung von TDM besonders bei komedizierten und langsam oder ultraschnell metabolisierenden Patienten im Vergleich zu pauschaler Dosisanpassung deutlich.

Der Therapieerfolg von Aripiprazol in der durchgeführten Studie wurde mit einem mittleren CGI Item 2 Wert von 2,2 als mäßig ermittelt. Andere Studien veröffentlichten Werte von 3,2 in Woche 1 bis 2,17 in Woche 8 (Tandon, et al 2006) sowie 3,5 nach 4 Wochen Behandlung (Kane, et al 2002). Der direkte Vergleich mit diesen Langzeitstudien ist schwierig, da der Therapieerfolg in der Auswertung dieser Arbeit nur zu einem Zeitpunkt je Patient einbezogen wurde, der Beginn der Medikation häufig nicht bekannt war und die klinische Verbesserung über die Zeit nicht das vorrangige Ziel der Untersuchung war. Die Patienten dieser Arbeit wurden von den behandelnden Ärzten als schwerer krank mit einem CGI Item 1 Wert von 6,0 eingeschätzt im Vergleich mit den erwähnten Studien von Tandon und Mitarbeitern (2006), die einen CGI Item 1 Wert von 4,3, und Kane und Koautoren (2002), die einen CGI Item 1 Wert von 4,8, angaben. Der CGI Item 2 Wert zum Therapieerfolg in dieser Arbeit zeigte aber ein gleich gutes bzw. besseres Ansprechen im Vergleich zu den beiden genannten Studien.

Eines der vorrangigen Ziele dieser Auswertung war es zu ermitteln, ob ein therapeutischer Bereich für die Serumkonzentrationen von Aripiprazol und Dehydroaripiprazol gefunden werden kann, der sowohl gutes klinisches Ansprechen als auch ein Minimum an Nebenwirkungen vereint. Bei einem Serumspiegel von Aripiprazol von 150 bis 300 ng/ml bei schizophrenen Patienten, die als antipsychotische Medikation nur Aripiprazol erhielten, zeigte sich das größte klinische Ansprechen mit 68 % respondierender Patienten. Dieser Bereich stimmte mit dem errechneten 25. bis 75. Perzentil des Serumbereichs, der für diese

Auswertung verwendeten Patientengruppe, überein. Bei Serumspiegeln unterhalb oder oberhalb dieses Bereichs war das therapeutische Ansprechen mit 57 % bzw. 50 % geringer. Auch konnte kein deutlicher Zusammenhang zwischen dem Therapieansprechen und Serumkonzentrationen von Dehydroaripiprazol bzw. der Summe aus beiden Substanzen gefunden werden. Für die Einschätzung des therapeutischen Ansprechens schizophrener Patienten auf Aripiprazol scheint somit nur die Betrachtung des Spiegels der Muttersubstanz, die auch weniger interindividuelle Schwankungen und eine bessere Dosis zu Spiegel Korrelation als der Metabolit zeigt, ausreichend zu sein.

Insgesamt wurde die Behandlung mit Aripiprazol gut vertragen mit einer Nebenwirkungsrate von insgesamt 32 %. Die ermittelte Häufigkeit extrapyramidal motorischer Nebenwirkungen mit 7 % wurde auch in anderen Studien beobachtet (Bristol Myers Squibb Company, 2006; Tandon, et al 2006), ist aber mit dem Auftreten unter Placebo vergleichbar. Weitere häufige Nebenwirkungen, wie innere Unruhe und Schläfrigkeit und Sedierung wurden ebenfalls in anderen Studien beobachtet (Bristol Myers Squibb Company, 2006; Kane, et al 2002).

Der Bereich der Serumspiegel von Aripiprazol bei dem keine oder nur leichte Nebenwirkungen auftraten, lag mit 110 bis 249 ng/ml niedriger als der Konzentrationsbereich unter dem stärkere Nebenwirkungen auftraten (210 bis 335 ng/ml). Dies deutet auf einen dosisabhängigen Effekt hin. Für eine Auswertung, inwieweit die Art der Nebenwirkung mit der Höhe des Serumspiegels zusammenhängt, war die Anzahl der Patienten in dieser Arbeit bei denen unerwünschte Effekte auftraten zu klein. Eine weitere Studie, die diesen Zusammenhang bei einer größeren Stichprobe untersucht, wäre für das genauere Verständnis des Nebenwirkungsprofils und der Wirkweise von Aripiprazol wünschenswert.

Zusammenfassend konnte in dieser Untersuchung ein Bereich des Serumspiegels von Aripiprazol von 150 bis 300 ng/ml ermittelt werden, der sowohl gutes klinisches Ansprechen als auch ein minimales Auftreten an Nebenwirkungen vereint. Weitere Studien mit konstanten Dosen oder Serumspiegeln über einen längeren Zeitraum könnten weiter Aufschluss über einen genaueren therapeutischen Bereich auch für andere Diagnosen geben. Die Auswertung dieser Arbeit kann aber als Orientierung genutzt werden, die antipsychotische Therapie unter Aripiprazol zu verbessern und insbesondere bei komedizierten oder genetisch auffälligen schizophrenen Patienten die Dosis zu optimieren. Die Einbeziehung des Serumspiegels von Dehydroaripiprazol scheint keinen weiteren Vorteil für die Therapieoptimierung zu bieten, kann jedoch hilfreich bei der Einschätzung des CYP3A4 und CYP2D6 Phänotyps sein. Auch hier können weitere Studien, die den Genotyp der Patienten und seine Auswirkungen auf den

Aripiprazol- und Dehydroaripiprazolspiegel untersuchen, hilfreich sein die Relevanz der Serumkonzentration des Metaboliten besser einzuschätzen.

Nach Etablierung der Methode für die Messung von Aripiprazol und seinem Metaboliten Dehydroaripiprazol sowie zusätzlich einer Methode zur Bestimmung von Haloperidol, das bis dahin noch nicht im Neurochemischen Labor gemessen werden konnte, standen für die tierexperimentellen pharmakokinetischen Untersuchungen in Blut, Gehirn und Milz die notwendigen Methoden zur Verfügung.

4.3 Vergleich Katalepsie – Rotarod

Bei einem Vergleich der Methoden Dauer der Katalepsie und motorische Leistungen auf dem Rotarod wurde bei beiden Testmethoden für Mäuse, die mit Aripiprazol, Haloperidol und Risperidon behandelt waren, signifikante Effekte auf die motorischen Leistungen der Tiere im Vergleich zu unbehandelten Mäusen gemessen. Amisulprid hatte bis zu der höchsten Dosis von 30 mg/kg keinen Einfluss auf die Ergebnisse in beiden Untersuchungen. Auch die Kontrollsubstanz Domperidon hatte keine Auswirkungen auf die Mäuse bei diesen Tests. Durch die aktive Elimination dieses Arzneistoffs aus dem Gehirn durch P-gp (Tsujikawa, et al 2003; Abou El Ela, et al 2004) wirkt sie nur auf periphere D₂-Rezeptoren. Das Ausbleiben eines Effekts auf die Motorik in dieser Untersuchung unter Behandlung mit Domperidon bestätigt somit deutlich, dass die gemessene Beeinträchtigung der mit Antipsychotika behandelten Tiere auf die ZNS-Wirksamkeit der Medikamente zurückzuführen ist.

Bei Mäusen, die mit Haloperidol und Risperidon behandelt waren, zeigte sich die negative Auswirkung dieser D₂-Rezeptor Antagonisten auf motorische Fähigkeiten auch bei niedrigen Dosen besonders deutlich. Verschiedene Studien beobachteten vergleichbare Effekte (Nakai, et al 2003; Tada, et al 2004; Bardin, et al 2005). Das Maximum der Dauer der Katalepsie wurde nach akuter oraler Gabe für Haloperidol nach 6 h, für Risperidon nach 12 h und für Aripiprazol nach 6 h beschrieben (Nakai, et al 2003), jedoch früher nach i.p. Injektion (Perrault, et al 1997; Tada, et al 2004; Bardin, et al 2005). In dieser Untersuchung waren die Tiere vor allem direkt nach der Injektion (0,5 h) am stärksten beeinträchtigt. Bei Mäusen unter Aripiprazol Behandlung zeigte sich das Maximum an Katalepsie erst nach 4 h bis 6 h. Auf dem Rotarod war unter der mittleren Dosis von 5 mg/kg kaum eine Verbesserung über den gesamten Messzeitraum zu sehen. Eine ausführlichere Diskussion des Einflusses der getesteten Antipsychotika auf die Motorik wird in dem Kapitel 4.4 „Auswirkungen von P-gp

auf die motorische Aktivität auf dem Rotarod unter Berücksichtigung der Hirnkinetik“ gegeben.

Ein Einfluss möglicher sedierender Effekte der Antipsychotika auf die Motorik erscheint unwahrscheinlich. Mäuse, die mit Diazepam in sedierenden Dosen von 3 und 5 mg/kg behandelt waren, zeigten keine Unterschiede zu unbehandelten Kontrollen. Auch Stanley und Mitarbeiter (2005) konnten in ihrer Arbeit keine Auswirkungen von 3 mg/kg Diazepam p.o. auf die Laufleistung von Mäusen auf dem Rotarod erkennen. Erst bei sehr hohen Dosen von 10 mg/kg und einer GABA_A-Rezeptor Besetzung von 72 % wurde eine signifikante Auswirkung auf den Test beobachtet. In anderen Untersuchungen, z. B. dem Open Field Test, wurde bereits eine Sedierung für die auch in dieser Arbeit verwendete Dosis von 3 mg/kg beobachtet (Kralic, et al 2002). Korpi und Koautoren (2003) sowie Stanley und Koautoren (2005) berichten ebenfalls, dass das Rotarod hoch insensitiv für Sedierung ist. Somit sind die in dieser Untersuchung gefundenen Effekte klar auf den antagonistischen Einfluss auf dopaminerge D₂-Rezeptoren der Antipsychotika zurückzuführen, der sich auf Beginn der Bewegung, Zeit in Bewegung und die horizontale Wegstrecke auswirkt (Kelly, et al 1998).

Insgesamt waren die beobachteten Ergebnisse auf dem Rotarod vergleichbar mit denen des Tests auf Katalepsie unter der Behandlung mit Antipsychotika. Dennoch zeigte sich, dass das Rotarod sensitiver in der Messung der motorischen Fähigkeiten war. Es wurden Effekte bei niedrigen Dosen festgestellt, die bei der Messung der Dauer der Katalepsie nicht erkannt wurden. Auf der anderen Seite war der Test auf Katalepsie spezifischer, da es Mäusen, die länger als 20 s in kataleptischer Position verblieben, nicht mehr möglich war auf dem Rotarod bei dem gewählten akzelerierenden Profil zu laufen. Die beobachteten Ergebnisse stimmen mit früheren Studien überein, die zeigen, dass Katalepsie ein hoch spezifisches Verhalten ist, das durch dopaminerge D₂-Rezeptor Besetzung ausgelöst wird und somit nur bei hohen Dosen von Antipsychotika mit dem entsprechenden Rezeptorprofil, wie es Haloperidol und Risperidon besitzen, ausgelöst wird (Wadenberg, et al 2000). Dennoch ist der Rotarod Test unter Betrachtung allgemeiner motorischer Einschränkungen, die nicht nur durch striatale D₂-Rezeptorenbesetzung bedingt sind, von Vorteil (Bristow, et al 1997; Mishima, et al 2004), da er auch diese Nebenwirkungen im Gegensatz zur Katalepsie abbildet.

Bei der Durchführung der Tests ergab sich auch eine klare Überlegenheit des Rotarods in der Handhabung. Messergebnisse werden automatisch erfasst und hängen nicht von der Erfahrung des Experimentators ab, der das Ende des kataleptischen Zustands subjektiv bewerten muss, von seiner Reaktionszeit, vom individuellen Verhalten der einzelnen Maus oder vom Geschick und der Erfahrung die Maus in eine kataleptische Position zu setzen.

Weiterhin können bis zu fünf Mäuse parallel getestet werden. Zusammenfassend zeigte sich, dass, wenn die Fragestellung nicht nur auf ein Auslösen von Katalepsie und somit Screening von Substanzen auf ihr antipsychotisches Potential zielt, sondern motorische Nebenwirkungen, wie beispielsweise EPS, abgebildet werden sollen, das Rotarod zu bevorzugen ist. Aus diesen Gründen wurde für die Untersuchung der Auswirkungen von P-gp auf die motorische Aktivität von Mäusen unter Behandlung mit Antipsychotika das Rotarod als Untersuchungsmethode gewählt.

4.4 Auswirkung von P-gp auf die motorische Aktivität auf dem Rotarod unter Berücksichtigung der Hirnkinetik

Amisulprid

Im Gehirn von mit Amisulprid behandelten Mäusen waren klare Konzentrationsunterschiede zwischen *mdr1a/1b* Doppelknockout und WT Tieren sichtbar. Auf dem Rotarod hingegen konnten keine Unterschiede zwischen den beiden Gruppen, aber auch nicht zu unbehandelten Kontrollen, gemessen werden. Durch das Rezeptorprofil von Amisulprid, bevorzugt dopaminerge D₂- und D₃-Rezeptoren im limbischen System und weniger im Striatum zu besetzen, (Schoemaker, et al 1997) hat diese Substanz nur geringe Auswirkungen auf die Motorik. Auch bei einer Besetzung der Rezeptoren im Striatum von 70 bis 80 % besteht nur ein geringes Risiko für EPS (Schoemaker, et al 1997). Daher ist es plausibel, dass in dieser Arbeit mit Dosen bis zu 30 mg/kg keine Auswirkungen auf dem Rotarod beobachtet wurden. Erst bei Dosen von 400 bis 1200 mg/d, die zu Serumspiegeln über 320 ng/ml führen, treten EPS bei Patienten auf (Müller, et al 2007). Perrault und Mitarbeiter (1997) konnte keine Katalepsie 2 h, 4 h und 6 h nach i.p. Injektion von 10 bis 60 mg/kg bei Ratten beobachten. Erst eine Dosis von 100 mg/kg führte zu einem kurz andauernden kataleptischen Zustand in 36 % der behandelten Tiere.

In in-vitro Untersuchungen und in in-vivo Tests mit dem P-gp Inhibitor Cyclosporin A behandelten Ratten wurde ebenfalls gezeigt, dass Amisulprid Substrateigenschaften zu P-gp besitzt (Härter, et al 2003; Abou El Ela, et al 2004; Schmitt, et al 2006). Auch verstärkte pharmakodynamische Effekte von Amisulprid auf durch Apomorphin ausgelöste erhöhte Lokomotion in mit Cyclosporin A behandelten Ratten, verglichen mit Tieren mit funktionellem P-gp, konnte in einer Studie beobachtet werden (Schmitt, et al 2006). Doch waren auch bei dieser Untersuchung die pharmakodynamischen Effekte geringer ausgeprägt

als die pharmakokinetischen, so dass auch aufgrund des polypharmakologischen Untersuchungsdesigns hier kein eindeutiger Rückschluss auf den Anteil P-gp abhängiger Effekte gezogen werden konnte.

Aripiprazol

In den Kinetikuntersuchungen wurden signifikant höhere Konzentrationen von Aripiprazol im Gehirn von *mdr1a/1b*(-/-, -/-) Mäusen nach i.p. Injektion von 10 mg/kg gemessen als in WT Tieren. Dieses Ergebnis zeigt zum ersten Mal Substrateigenschaften von Aripiprazol zu P-gp auf. Mit höheren Konzentrationen in P-gp Doppelknockout Mäusen um den Faktor von 2,3 für die ersten neun Stunden nach Injektion konnte ein deutlicher Effekt von moderater bis mittlerer Stärke verglichen mit anderen Substraten gezeigt werden.

Alle Mäuse, die mit Aripiprazol 1, 5 und 10 mg/kg i.p. behandelt wurden, zeigten auf dem Rotarod eine eingeschränkte Laufleistung. Hierbei ließ sich jedoch kein dosisabhängiger Zusammenhang bei WT Mäusen erkennen. Tiere unter der mittleren Dosis von 5 mg/kg waren am stärksten beeinträchtigt.

Dieses Ergebnis lässt sich am besten mit der Eigenschaft von Aripiprazol als partieller Agonist an dopaminergen D₂- und serotonergen 5-HT_{1A}-Rezeptoren zu wirken erklären. Kikuchi und Mitarbeiter (1995) konnten zeigen, dass Aripiprazol sowohl agonistisch als auch antagonistisch an prä- und postsynaptischen dopaminergen D₂-Rezeptoren wirkt. Weitere Untersuchungen ergaben, dass das Antipsychotikum je nach Konzentration an extrasynaptischem Dopamin als partieller Agonist wirkt (Fujikawa, et al 1996; Inoue, et al 1996; Lawler, et al 1999). In in-vivo Studien agierte es an präsynaptischen Rezeptoren als funktioneller Agonist (Kikuchi, et al 1995; Semba, et al 1995), andere Studien bestätigten seine antagonistischen Eigenschaften am postsynaptischen dopaminergen D₂-Rezeptor in-vivo (Kikuchi, et al 1995; Fujikawa, et al 1996; Semba, et al 1995) und in-vitro (Lawler, et al 1999; Shapiro, et al 2003).

Typische Antipsychotika, wie Haloperidol, erhöhen im Striatum durch Blockade von Feedback-Mechanismen im nigrostriatalen dopaminergen System die Ausschüttung von Dopamin und seiner Metabolite Dihydroxyphenylelessigsäure (DOPAC) und Homovanillinsäure (HVA) in den synaptischen Spalt, wie in Mikrodialyse-Studien bei Ratten gezeigt wurde (Imperato and Di Chiara, 1985; Zetterström, et al 1986). Der gleiche Effekt konnte für einige atypische Antipsychotika, wie Olanzapin, gezeigt werden (Jordan, et al 2004) nicht jedoch für Aripiprazol. Dieses Antipsychotikum hatte in der Studie von Jordan keinen Effekt auf die Dopamin Freisetzung unter oralen Dosen bis zu 40 mg/kg. In Studien

mit ähnlichen Methoden erniedrigte sich die Konzentration von Dopamin sogar im synaptischen Spalt nach i.p. Injektion von 2,5 bis 40 mg/kg (Semba, et al 1995) und nach subkutaner Applikation von 3 mg/kg (Li, et al 2004). Eine solche Erniedrigung der Dopamin Konzentration wird üblicherweise von dopaminergen D₂-Rezeptor Agonisten, wie Apomorphin und Quinpirol ausgelöst (Zetterström, et al 1984; Yamada, et al 1994). Auf die Konzentration der Metabolite DOPAC und HVA hatte Aripiprazol in Mikrodialyse-Studien einen gegensätzlichen Effekt. Es erhöhte ihre Konzentrationen im synaptischen Spalt und zwar vor allem unter mittleren Dosen von 10 mg/kg, 2,5 bzw. 2 mg/kg und 40 mg/kg, welche in den Studien untersucht wurden, hatten geringere Effekte auf die Freisetzung (Semba, et al 1995; Jordan, et al 2004). Aripiprazol wirkt somit in niedrigen Dosen als Antagonist, dies bestätigt die Studie von Fujikawa und Mitarbeitern (1996), in der Aripiprazol unter niedrigen Dosen von 0,1 bis 0,5 mg/kg dosisabhängig das durch Talipexol ausgelöste Gähnen bei Ratten inhibierte. Antagonistische Eigenschaften von Aripiprazol scheinen sich somit nur in einem engen Dosisbereich auszuwirken, unter höheren Dosen ergeben sich hauptsächlich agonistische Effekte: 1) Semba und Mitarbeiter (1996) zeigten die Erhöhung von extrazellulärem Dopamin im Rattenstriatum, die ebenso nach Gabe von dopaminergen Rezeptor Agonisten auftritt (Yamada, et al 1994), 2) hohe Dosen von Aripiprazol (40 mg/kg) haben keine Auswirkungen auf, bzw. erniedrigen, DOPAC und HVA im Striatum im Gegensatz zu niedrigeren Dosen (Jordan, et al 2004) und 3) hohe Aripiprazol Dosen von 10 und 40 mg/kg verhindern die Freisetzung von Dopamin durch (+)-AJ76, einem dopaminergen Rezeptor Antagonisten, der vorwiegend an präsynaptischen Dopamin-Rezeptoren wirkt (Semba, et al 1996).

Durch die unter niedrigen Gaben dosisabhängigen antagonistischen und unter hohen Dosen agonistischen Eigenschaften von Aripiprazol ergibt sich ein U-förmiges Profil, welches die hier dargestellten Ergebnisse auf dem Rotarod widerspiegelt. Auch in einer Studie von Zocci und Mitarbeitern (2005) war die horizontale Lokomotion von Mäusen unter einer mittleren Dosis von 3 mg/kg am stärksten reduziert verglichen mit Dosen von 0,1 und 30 mg/kg.

Seit einigen Jahren wird der Einfluss des serotonergen 5-HT_{1A}-Rezeptors auf die motorische Aktivität vermehrt diskutiert. 5-HT_{1A}-Rezeptor Agonisten, wie 8-Hydroxydipropylaminotetralin (8-OH-DPAT), erhöhen die Freisetzung von Dopamin im frontalen Kortex (Rasmusson, et al 1994; Tanda, et al 1994) und vermindern durch Antipsychotika ausgelöste Katalepsie im Tiermodell (Hicks, 1990; Broekkamp, et al 1988; Ivernizzi, et al 1988). Eine durch Aripiprazol ausgelöste Katalepsie, gemessen mit dem Bar- und dem Crossed-Leg Position-Test, war in einer Studie sehr gering ausgeprägt, jedoch mit einem

Maximum unter der mittleren Dosis von 10 mg/kg i.p. (Kleven, et al 2005). Durch vorherige Gabe von WAY100635, einem hoch selektiven 5-HT_{1A}-Rezeptor Antagonist, erhöhte sich die Dauer der Katalepsie unter Aripiprazol signifikant, jedoch nur unter der höchsten Dosis von 40 mg/kg. Der partiell agonistische Effekt von Aripiprazol auf 5-HT_{1A}-Rezeptoren im frontalen Kortex könnte somit eine weitere Erklärung für die Verringerung der motorischen Beeinträchtigung unter hohen Dosen dieses Antipsychotikums sein.

Die motorische Leistung von *mdr1a/1b*(-/-, -/-) Mäusen unter einer Dosis von 1 mg/kg Aripiprazol unterschied sich von gleich behandelten WT Tieren nur zu zwei von sieben Zeitpunkten signifikant voneinander. Im Mittel zeigten die P-gp defizienten Mäuse eine um 33 % schlechtere Leistung als WT Mäuse. Knockout Tiere, die mit 5 mg/kg behandelt waren, konnten sich länger auf dem Rotarod halten als mit der gleichen Dosis behandelte WT Mäuse. Diese Ergebnisse verdeutlichen den Effekt von P-gp auf die motorische Leistung der Tiere und decken sich mit den beobachteten Werten in der Kinetikuntersuchung. Unter 1 mg/kg in den *mdr1a/1b*(-/-, -/-) Mäusen wird die antagonistische Wirkung des Aripiprazols noch verstärkt, unter 5 mg/kg kommt hingegen die agnostische Wirkung mehr zum Tragen und die Tiere laufen besser als gleichbehandelte WT Mäuse.

Dehydroaripiprazol

Der aktive Metabolit des Aripiprazols, Dehydroaripiprazol, wirkt ebenfalls partiell agonistisch an dopaminergen D₂-Rezeptoren (Bristol-Myers Squibb Company, 2006). Die Substanz hatte in WT Mäusen kaum Einfluss auf die Laufleistung auf dem Rotarod. Beim Vergleich gleich hoher Dosen beider Substanzen hatte Dehydroaripiprazol somit weniger negativen Einfluss auf das motorische Verhalten der Mäuse. *Mdr1a/1b*(-/-, -/-) Tiere hingegen liefen zu allen Zeitpunkten signifikant kürzer auf dem Rotarod verglichen mit WT Mäusen. Der in den Kinetikstudien gefundene Unterschied in der Hirnkonzentration zwischen den Genotypen zeigte sich somit deutlich im Verhalten und identifiziert Dehydroaripiprazol erstmalig eindeutig als Substrat von P-gp mit um den Faktor von 4,6 höheren Werten in P-gp defizienten Mäusen.

Clozapin und N-Desmethylozapin

Die Kinetikstudien zeigten keine Unterschiede zwischen den Konzentrationen von Clozapin in den Gehirnen der beiden Genotypgruppen. Für den aktiven Metaboliten N-Desmethylozapin waren hingegen deutliche Unterschiede messbar. Die Untersuchung auf eine pharmakodynamische Differenzierung auf dem Rotarod zwischen *mdr1a/1b*(-/-, -/-) und

WT Mäusen ließ jedoch keinen Unterschied nach der i.p. Injektion von Clozapin erkennen. N-Desmethylozapin besitzt das gleiche Rezeptorprofil wie Clozapin, jedoch führt es zu schwächeren pharmakologischen Effekten (Novartis Pharmaceuticals Corporation, 2005). Die höhere Konzentration dieser Substanz im Gehirn von P-gp Knockout Mäusen reichte nicht aus, pharmakodynamische Veränderungen auszulösen. Auch die Arbeit von Abou El Ela und Mitarbeitern (2004) konnte die Substrateigenschaften von N-Desmethylozapin zu P-gp bestätigen. Weitere in-vitro (Maines, et al 2005; Abou El Ela, et al 2004; Härter, et al 2003; Henning, et al 2002) und in-vivo (Schinkel, et al 1996; Lane, et al 2001; Doran, et al 2005) Untersuchungen zeigten, wie in dieser Arbeit beobachtet, keine Affinität von Clozapin zu P-gp.

Haloperidol

Es konnten keine Unterschiede zwischen der motorischen Leistung von WT Mäusen, die mit 0,3, 1 und 3 mg/kg Haloperidol behandelt waren, auf dem Rotarod beobachtet werden. Zwar waren alle behandelten Tiere zu Beginn deutlich in ihrer Leistung eingeschränkt, verbesserten sich jedoch im gleichen Maße bis zu dem letzten Messzeitpunkt. Mit 0,3 mg/kg behandelte *mdr1a/1b*(-/-, -/-) Mäuse zeigten keinen signifikanten Unterschied zu gleich behandelten WT Tieren. Es konnte somit kein Einfluss von P-gp auf das Verhalten Haloperidol behandelter Tiere gezeigt werden. Jedoch kann nicht ausgeschlossen werden, dass ein möglicher auf P-gp bezogener Effekt auf dem Rotarod nicht sichtbar wurde, da bei WT Tieren unter drei verschiedenen Dosen ebenfalls keine Unterschiede erkennbar waren und das Rotarod somit eventuell in diesem Dosisbereich nicht sensitiv genug ist. Auch die AUC der Hirnkonzentrationen unterschied sich nicht zwischen den Genotypen, jedoch konnten signifikant höhere Haloperidolspiegel im Serum der WT Mäuse beobachtet werden. Das Fehlen von P-gp in den *mdr1a/1b* Doppelknockout Mäusen scheint zu einer veränderten Expression anderer Transporter zu führen, wie z.B. dem BCRP (Cisternino, et al 2004). Eine verstärkte Aktivität eines unbekanntes Transporters könnte somit zu den Unterschieden in der Konzentration von Haloperidol beitragen unter der Annahme, dass der Arzneistoff von solchen Proteinen transportiert wird. Zusammenfassend konnte keine eindeutige Affinität von Haloperidol zu P-gp in dieser Studie gezeigt werden. Auch Ergebnisse anderer Untersuchungen identifizieren Haloperidol, wenn überhaupt nur als schwaches Substrat (Doran, et al 2005; Schinkel, et al 1996).

Olanzapin

1 h nach i.p. Injektion von Olanzapin wurde ein deutlicher Konzentrationsunterschied im Gehirn der Mäuse mit unterschiedlicher P-gp Expression beobachtet. Über den gesamten Zeitraum von 24 h unterschied sich die AUC jedoch nicht. Auch auf dem Rotarod verhielten sich die mit Olanzapin behandelten Tiere unter derselben Dosis gleich, WT Mäuse, die mit 0,5 mg/kg und 2 mg/kg behandelt waren, unterschieden sich signifikant und dosisabhängig in ihrer Laufleistung. Wang und Koautoren (2004) berichteten in ihrer Studie über eine dreifach höhere Konzentration von Olanzapin in den Hirnen von *mdr1a* Knockout Mäusen und somit klaren Substrateigenschaften zu P-gp. Der einzige Messzeitpunkt der Untersuchung war jedoch 1 h nach Injektion. Zu diesem Zeitpunkt konnten auch in dieser Arbeit, wie beschrieben, unterschiedliche Konzentrationen beobachtet werden, nicht jedoch über den gesamten Zeitraum. Zwei weitere Untersuchungen (Boulton, et al 2002; Abou El-Ela, et al 2004) identifizierten Olanzapin ebenfalls nicht eindeutig als P-gp Substrat.

Klinische Studien konnten pharmakokinetische und pharmakodynamische Unterschiede abhängig von Genpolymorphismen unter Behandlung mit Olanzapin zeigen. Markowitz und Koautoren (2006) beobachteten in Probanden, die Träger des T-Allels in SNP C3435T in Exon 26 waren, einen erhöhten Plasmaspiegel nach oraler Gabe einer Standardtablette mit Olanzapin. Träger des T-Allels in diesem SNP sowie im SNP G2677T in Exon 21 sollen nach Studien von Hoffmeyer und Mitarbeitern (2000) und Tanabe und Koautoren (2001) eine geringere P-gp Expression besitzen. Eine Studie an schizophrenen Patienten beobachtete eine Korrelation zwischen dem Genotyp und der Verbesserung auf der *Brief Psychiatric Rating Scale* (BPRS) (Lin, et al 2006) sowie auf der Subskala für positive Symptome der *Positive and Negative Symptom Scale* (PANSS) (Bozina, et al 2006). Diese unterschiedlichen Befunde zwischen Studien am Menschen und in-vitro oder in-vivo Untersuchungen an Nagern kann durch mehrere Faktoren verursacht sein. Es ist z.B. noch nicht umfassend untersucht zu welchem Ausmaß andere Transporter in P-gp defizienten Mäusen in ihrer Regulation verändert sind und inwieweit diese Proteine ebenfalls Antipsychotika, wie Olanzapin, aus dem Gehirn transportieren. Cisternino und Koautoren (2004) fanden bislang eine dreifach erhöhte Expression des *Breast Cancer Resistance Protein* (BCRP/ABCG2) in den P-gp Knockout Mäusen. Eine weitere Erklärung wäre, dass die Relevanz des P-gp in der Blut-Hirn-Schranke des Menschen bisher unterschätzt wurde. Doran und Mitarbeiter (2005) vermuteten, dass erst eine zwei- bis dreifach erhöhte Konzentration in Knockout Mäusen zu einer funktionellen Bedeutung führt. Ob bereits geringere Unterschiede pharmakodynamische

Auswirkungen beim Menschen haben, müsste in weiteren klinischen Studien, die den Therapieeffekt oder Nebenwirkungen mit der P-gp Expression korrelieren, untersucht werden.

Quetiapin

Besonders zu den ersten Untersuchungszeitpunkten zeigten P-gp Doppelknockout Mäuse signifikant schlechtere Laufleistungen auf dem Rotarod verglichen mit WT Tieren. Die unterschiedlichen Konzentrationen mit einem Faktor von etwa 1,7 im Gehirn von mit Quetiapin behandelten *mdr1a/b* (-/-, -/-) und WT Mäusen stimmen hiermit überein. Quetiapin scheint somit ein eher moderates, jedoch deutliches Substrat von P-gp zu sein. Bisher wurde die Affinität von Quetiapin zu P-gp nur in in-situ und in-vitro Tests untersucht. Eine Studie fand einen erhöhten Transfer der Substanz durch menschliches Plazentagewebe, wenn ein T-Allel im SNP C3435T in Exon 26 vorlag (Rahi, et al 2007). Die Studie von Boulton (2002) identifizierte Quetiapin in einem ATPase Assay als Substrat. Zwei weitere Studien (Grimm, et al 2006; Abou El Ela, et al 2004) konnten das Ergebnis nicht bestätigen.

Risperidon

Die Ergebnisse auf dem Rotarod ergaben einen deutlichen dosisabhängigen Zusammenhang zwischen der Laufleistung behandelter WT Mäuse und der Dosis von 0,3, 1 und 3 mg/kg. *Mdr1a/1b*(-/-, -/-) Tiere, die mit 0,3 mg/kg behandelt waren, zeigten eine vergleichbare Leistung mit WT Mäusen, denen 3 mg/kg injiziert worden waren. Diese um den Faktor zehn verminderte motorische Aktivität der P-gp Doppelknockout Tiere vergrößerte sich ab 8 h nach Injektion noch weiter. *Mdr1a/1b*(-/-, -/-) Mäuse erreichten zu den späteren Zeitpunkten nur noch 57 % der Leistung der zehnfach höher behandelten WT Mäuse. Die im Verhalten beobachteten Veränderungen von P-gp defizienten Tieren spiegeln sich in den Ergebnissen der Kinetikstudien direkt wieder. Die Hirnkonzentrationen der Summe von Risperidon und seinem aktiven Metaboliten 9-Hydroxyrisperidon lagen bei *mdr1a/1b*(-/-, -/-) Mäusen um den Faktor zehn höher für die ersten drei Stunden und um 16-fach höher neun Stunden nach Injektion verglichen mit WT Tieren. Die Ergebnisse beider Untersuchungen bestätigen somit die starke Affinität von Risperidon und 9-Hydroxyrisperidon zu P-gp, die von Wang und Mitarbeitern (2004) sowie von Doran und Mitarbeitern (2005) im gleichen Mausmodell gefunden wurde.

Domperidon

WT Mäuse zeigten unter Dosen bis zu 80 mg/kg keine Einschränkung in der motorischen Leistung auf dem Rotarod. Ihre Leistung steigerte sich hingegen eher noch im Vergleich zu Kontrollmäusen. Unter 20 und 50 mg/kg zeigten *mdr1a/1b*(-/-, -/-) Mäuse hingegen signifikante dosisabhängige Einschränkungen mit einem Maximum zwischen 4 h und 10 h. In diesem Zeitraum waren auch die Domperidonkonzentrationen im Gehirn der Mäuse am höchsten. Somit zeigt sich zum einen der direkte Zusammenhang zwischen den durch die P-gp Expression bedingten unterschiedlichen Hirnspiegeln und ihrer pharmakodynamischen Auswirkung auf dem Rotarod unter Behandlung mit dieser Substanz. Zum anderen bestätigen die fehlenden motorischen Beeinträchtigungen auf dem Rotarod die periphere Wirkung des Domperidon in WT Mäusen und somit seine Funktion als Referenzsubstanz. Auch in einer Studie in Ratten, die zuvor mit Cyclosporin A, einem P-gp Inhibitor behandelt wurden, löste Domperidon dosisabhängig Katalepsie aus (Tsujikawa, et al 2003), in Tieren mit funktionellem P-gp nur zu einem leichten Ausmaß bei sehr hohen Dosen.

4.5 Auswirkungen von P-gp auf das räumliches Lernen und Gedächtnis in der RAWM

Unterschiede von den Behandlungsgruppen zu Kontrollmäusen beim Test auf Lern- und Gedächtnisfunktionen wurden in der RAWM unter verschiedenen Antipsychotika beobachtet. Ein Einfluss des P-gp war vor allem bei Mäusen unter Behandlung mit Aripiprazol und Risperidon erkennbar, die auch schon in den Kinetikstudien und auf dem Rotarod als P-gp Substrate identifiziert werden konnten.

Eine deutlichere Aussage der Ergebnisse dieser Untersuchung insbesondere in Bezug auf die Expression von P-gp wurde durch die Verwendung von Mäusen der F1-Generation und somit heterozygoten *mdr1a/1b* Mäusen erschwert. Die Tiere zeigten noch eine Genexpression quantifiziert anhand der *mdr1a* mRNA von 54 %, die vor allem für die Expression von P-gp in der Blut-Hirn-Schranke wichtig ist (Schinkel, et al 1997). Von unterschiedlichen Konzentrationen im Gehirn ist nur während der ersten beiden Zeitpunkte auszugehen, wie die Ergebnisse des Vergleichs von Genotypen der F1-Generation in Kapitel 3.4.3 „Vergleich von FVB Mäusen und Mäusen der F1-Generation“ zeigt. Deshalb wurde auf eine genauere Beurteilung der Ergebnisse am zweiten Untersuchungstag weitgehend verzichtet. Die Durchführung der Studie mit kompletten Knockout Mäusen hätte aller Wahrscheinlichkeit nach zu deutlicheren Ergebnissen geführt, da auch im Vergleich der vier Genotypen ein deutlicher Zusammenhang zwischen der Menge an *mdr1a* mRNA, resultierenden

Hirnspiegeln und den pharmakodynamischen Auswirkungen auf dem Rotarod gezeigt werden konnte. Der Einsatz von FVB Mäusen war jedoch aufgrund des bekannten Lerndefizits dieser Tiere nicht möglich (Upchurch, et al 1988; Royle, et al 1999). Dennoch war ein deutlicher Trend bei mit Aripiprazol und Risperidon behandelten Mäusen zu beobachten; diese Substanzen sind auch in den anderen Teilen dieser Arbeit als P-gp Substrate identifiziert worden. Statistische Signifikanz auf einem Niveau von $p \leq 0,05$ wäre, z.B. bei der Anzahl der Versuche, unter Behandlung mit 1 mg/kg Risperidon je nach Zeitpunkt mit einer Anzahl von 20 bis 60 Mäusen erreicht worden. Diese Zahl kann unter Berücksichtigung von Mittelwert, Standardabweichung und gewünschtem p-Wert berechnet werden. Es ist nur schwer möglich diese Anzahl an Tieren in entsprechenden Versuchen zu untersuchen, im Vergleich mit Patientenzahlen in einer klinischen Studie ist sie jedoch noch relativ klein. Somit kann man die beobachteten Ergebnisse trotz des Mangels an signifikanten Unterschieden im direkten Vergleich der Genotypen als relevant beurteilen.

Ferner verdeutlichen die Unterschiede in den Ergebnissen, die trotz einer Reduktion der *mdr1a* von 54 % beobachtet wurden, wie sich die Veränderung von P-gp auf die Pharmakodynamik von Substanzen auswirkt. Beim Menschen ist keine Deletion des P-gp bekannt, ebenso ist über das Ausmaß der Veränderung der P-gp Expression durch Polymorphismen oder Komedikamente wenig erforscht. Eine Verminderung in der Expression, wie sie bei den heterozygoten *mdr1a/1b* Mäusen zu erwarten ist, spiegelt die Situation im Mensch jedoch wahrscheinlich eher wider als ein völliger Knockout. Die in dieser Untersuchung beobachteten Ergebnisse sind somit wahrscheinlich in ihrer Stärke auf den Menschen übertragbar und verdeutlichen die möglichen pharmakodynamischen Auswirkungen einer veränderten P-gp Funktion auf die Therapie mit Antipsychotika.

Die Auswertung der Ergebnisse dieser Untersuchung wird weiterhin durch einige Faktoren erschwert. Die Geschwindigkeit, mit der die Mäuse in der RAWM schwammen, war bei allen Behandlungsgruppen, außer Dehydroaripiprazol und Domperidon, signifikant langsamer als bei der Kontrollgruppe. Die oben genannten Ergebnisse sind somit nur eingeschränkt gültig (Skarsfeldt, 1996). Die Untersuchung der Schwimmaktivität, gemessen anhand der Schwimgeschwindigkeit in einem eigenen Test mit sichtbarer Plattform, ergab jedoch, dass nur Mäuse unter 2 mg/kg Clozapin, 2 mg/kg Olanzapin, 10 mg/kg Quetiapin und 0,3 sowie 1 mg/kg Risperidon signifikant langsamer schwammen als unbehandelt. Mäuse, die mit Amisulprid, Aripiprazol, Haloperidol und niedrigen Dosen Olanzapin behandelt waren, waren demnach durchaus in der Lage in der RAWM schneller zu schwimmen. Dieser Unterschied zwischen der Schwimmaktivität und der Geschwindigkeit in der RAWM lässt sich am ehesten

mit einer mangelnden Motivation, die Plattform zu finden und somit aus dem Wasser zu fliehen, erklären. Verminderte Motivation wird vor allem mit dem striatalen dopaminergen D₂-Rezeptor in Zusammenhang gebracht und wurde in einer kürzlich veröffentlichten Studie bei Mäusen mit einer Überexpression des Rezeptors beobachtet (Drew, et al 2007). Bei Aripiprazol und Haloperidol war der Effekt am deutlichsten sichtbar, da diese Mäuse vermehrt „Floating“ zeigten und sich treiben ließen, anstatt aktiv zu schwimmen. Durch die verminderte Schwimgeschwindigkeit, unabhängig ob durch Motorik oder Motivation bedingt, werden die Parameter zur Überprüfung der Kognition negativ beeinflusst. Die Latenz verlängert sich und somit ebenso die Anzahl der Versuche bis das Kriterium erreicht wird. Auch die Überprüfung des Erinnerungsvermögens anhand der Latenz bis zur zuvor gelernten Plattformposition ist bei verminderter Schwimgeschwindigkeit nicht möglich. Durch die dadurch ebenfalls bedingte verminderte Schwimmstrecke werden weniger Armeintritte und somit weniger Arbeitsgedächtnisfehler begangen. Diese Einschränkungen werden bei der folgenden Beurteilung und Diskussion der einzelnen Substanzen weitgehend berücksichtigt.

Amisulprid

Amisulprid hatte in dieser Untersuchung keine negativen Auswirkungen auf die Lern- und Gedächtnisleistung behandelter Mäuse bis zu einer Dosis von 10 mg/kg. Die Tiere schwammen in der RAWM etwas langsamer als unbehandelte Kontrollmäuse. Dies war bei dem direkten Test auf die Schwimmaktivität nicht zu beobachten. Somit scheint Amisulprid leichte Effekte auf die Motivation der Mäuse auszuüben aus dem Wasser schnellstmöglich zu entkommen. Dennoch waren die Parameter zur Untersuchung des räumlichen Lernens und Gedächtnisses nur in wenigen Einzelwerten signifikant schlechter als bei Kontrollmäusen. Insgesamt konnte in dieser Untersuchung somit kein nachteiliger aber auch kein positiver Effekt auf Lern- und Gedächtnisleistung beobachtet werden, hierdurch war auch kein Unterschied zwischen den Genotypen zu erkennen.

Bislang ist wenig über die kognitiven Auswirkungen von Amisulprid in anderen Studien berichtet. Insbesondere Tieruntersuchungen in einem Land- oder Wasserlabyrinth, die mit unseren Ergebnissen vergleichbar wären, sind nicht veröffentlicht. Eine Studie von Tyson und Mitarbeitern (2006) untersuchte den Effekt der Affinität von Antipsychotika auf serotonerge 5HT_{2A}-Rezeptoren im Zusammenhang mit kognitiven Funktionen bei schizophrenen Patienten. Er konnte eine verbesserte Aufmerksamkeit und einen verbesserten Effekt auf das Kurzzeitgedächtnis und das Gedächtnis zur Wiedererkennung bei Antipsychotika mit niedriger Affinität zu 5HT_{2A}-Rezeptoren, wie Amisulprid, verglichen mit Antipsychotika mit

hoher Affinität, wie Olanzapin und Clozapin beobachten. Auch in dieser Arbeit zeigt Amisulprid deutlich vorteilhaftere Effekte auf das Lernen und insbesondere die Gedächtnisfunktion im Vergleich zu den anderen beiden Substanzen.

Aripiprazol

Unter Behandlung mit Aripiprazol war die Schwimmggeschwindigkeit in der RAWM bei Mäusen signifikant langsamer als bei Kontrolltieren und war Dosis- und Genotyp-abhängig eingeschränkt. Im Test auf die Schwimmaktivität zeigte sich hingegen kein Unterschied. Somit scheint auch bei dieser Substanz die Motivation der Tiere, einen Ausweg aus dem Wasser zu finden und somit die Aufgabe zu erfüllen, beeinträchtigt zu sein. Unter der niedrigen Dosis von 0,3 mg/kg Aripiprazol waren trotz der etwas verlangsamten Schwimmggeschwindigkeit keine negativen Auswirkungen auf das räumliche Lernen und Gedächtnis zu finden. Unter 1 mg/kg war die Leistung jedoch signifikant schlechter verglichen mit unbehandelten Kontrollmäusen. Ebenso war bei WT Tieren unter der Behandlung als einzige Gruppe eine signifikant höhere Anzahl an Arbeitsgedächtnisfehlern 1 h nach i.p. Injektion zu beobachten.

Ein deutlicher Einfluss des P-gp war bei heterozygoten *mdr1a/1b* Mäusen zu beobachten, da diese auch 5 h nach i.p. Injektion im Gegensatz zu WT Tieren in ihrer Leistung in den Parametern zur Überprüfung des räumlichen Lernens signifikant schlechter als Kontrollmäuse waren. Auch die Latenz bis zum Erreichen der zuvor gelernten Plattformposition war bei diesen Tieren 24 h nach i.p. Injektion signifikant länger, ohne dass zu diesem Zeitpunkt die Schwimmggeschwindigkeit verlangsamt war. Dies zeigt deutlich, dass die Plattformposition zum Zeitpunkt 5 h nach i.p. Injektion von diesen Tieren schlechter als von Kontrollmäusen gelernt wurde.

Eine Studie von Plotzky und Mitarbeitern (2005) zeigte ebenfalls eine dosisabhängige Verschlechterung der kognitiven Funktion in Ratten, die in der „Barnes Maze“ untersucht wurden. Unter Dosen von 0,2 mg/kg unterschieden sich die Tiere in der Latenz ein Loch mit Fluchttunnel zu finden kaum von Kontrollen; unter Behandlung mit 0,5 mg/kg war die Latenz hingegen signifikant länger. Eine Studie mit schizophrenen Patienten, die mit Aripiprazol behandelt waren, konnte einen leichten positiven Effekt auf die generelle kognitive Funktion gegenüber der Basislinie und einen deutlichen positiven Effekt auf das verbale Lernen beobachten, der auch im Vergleich zu Olanzapin überlegen war. Auf Ausführungsfunktionen hatten beide Substanzen jedoch keinen Einfluss (Kern, et al 2006). Weitere Studien, die das

räumliche oder das Arbeitsgedächtnis bei Patienten unter Behandlung mit Aripiprazol untersuchen, gibt es bislang nicht.

Dehydroaripiprazol

Zu Dehydroaripiprazol gibt es bislang ebenfalls noch keine veröffentlichten Ergebnisse über seinen Einfluss auf die Kognition. In dieser Arbeit wurde durch keinen Parameter eine negative Beeinflussung der Lern- und Gedächtnisleistung beobachtet. Die Latenz war sogar 5 h nach i.p. Injektion bei WT Mäusen signifikant kürzer. Ebenso war die Anzahl der Arbeitsgedächtnisfehler zu diesem Zeitpunkt statistisch signifikant kleiner. Da bei Tieren unter Behandlung mit Dehydroaripiprazol die Schwimgeschwindigkeit nicht beeinträchtigt war, kann in diesem Fall von einem eindeutig positiven Effekt der Substanz auf das Arbeitsgedächtnis ausgegangen werden. Auch bei der Überprüfung des Gedächtnisses durch Messung der Latenz bis zur zuvor gelernten Plattformposition waren heterozygote *mdr1a/1b* Mäuse signifikant schneller als Kontrollmäuse und auch als WT Mäuse unter der gleichen Behandlung. Dehydroaripiprazol wirkt sich somit positiv auf Lern- und Gedächtnisfunktionen unter der Dosis 1 mg/kg aus und zeigt auch unter höheren Gehirnsiegeln, wie sie bei P-gp defizienten Tieren aufgrund der Ergebnisse der Kinetikstudie angenommen werden, im Vergleich zu WT Mäusen eine Steigerung dieses positiven Effekts.

Clozapin

Mäuse unter der Behandlung mit Clozapin waren 1 h nach i.p. Injektion in ihrer Schwimmaktivität und in der Schwimgeschwindigkeit in der RAWM signifikant langsamer als Kontrollmäuse. Auch die Leistung in den Parametern zur Überprüfung des räumlichen Lernens war zu diesem Zeitpunkt schlechter. 5 h nach i.p. Injektion unterschieden sich mit 2 mg/kg Clozapin behandelte Tiere in ihrem Lernverhalten und der Schwimgeschwindigkeit nicht mehr von WT Mäusen, so dass bei den schlechteren Ergebnissen des ersten Zeitpunkts nicht ausgeschlossen werden kann, dass sie lediglich auf eine Beeinträchtigung der Geschwindigkeit zurückzuführen sind. Eine eindeutige Beurteilung, ob sich Clozapin negativ auf die Kognition auswirkt, kann somit nicht gegeben werden. Ein positiver Effekt konnte eindeutig nicht gezeigt werden.

Zwischen den Genotypen konnte unter Behandlung mit dieser Substanz kein Unterschied beobachtet werden.

In einer Studie von Didriksen (2006) wurde nach akuter Gabe von 40 mg/kg Clozapin peroral (p.o.) in Ratten eine Beeinträchtigung in der Water Maze gefunden, nicht jedoch nach

chronischer Gabe. Auch Skarsfeldt (1996) beobachtete in der Morris Water Maze bei Ratten unter Behandlung mit Clozapin in den ersten Tagen eine schlechtere Lernleistung, am vierten Tag schwammen die Tiere jedoch ebenso schnell zur Plattform wie mit NaCl-Lösung behandelte Ratten. Eine PCP-induzierte Beeinträchtigung der Kognition in der Morris Water Maze konnte durch eine geringe Dosis von Clozapin (0,63 mg/kg sub cutan (s.c.)), nicht jedoch durch höhere Dosen aufgehoben werden (Didriksen, et al 2007).

Clozapin scheint somit in sehr niedrigen Dosen und nach chronischer Gabe eher einen positiven bzw. neutralen Effekt auf die Kognition zu haben. Nach akuter Gabe in klinischen Dosen, wie in dieser Arbeit eingesetzt, zeigt es hingegen eher negative Effekte. In einer klinischen Studie, die das räumliche Arbeitsgedächtnis bei schizophrenen Patienten untersuchte, wurde ebenfalls ein negativer Effekt verglichen mit Risperidon beobachtet (McGurk, et al 2005). Auf flüssiges Sprechen und die Aufmerksamkeit wurde in einer Übersichtsarbeit ein positiver Effekt beobachtet, jedoch ebenfalls nicht auf das Arbeitsgedächtnis (Meltzer und McGurk, 1999).

Haloperidol

Unter der Behandlung von Mäusen mit Haloperidol war die Schwimmgeschwindigkeit in der RAWM, nicht jedoch im Test auf die Schwimmaktivität, 1 h nach i.p. Injektion signifikant eingeschränkt. Die zu diesem Zeitpunkt erzielten schlechteren Ergebnisse bezüglich des räumlichen Lernens könnten somit durch die mangelnde Motivation der Tiere, aus dem Wasser zu entkommen, begründet sein. Auch das Auftreten von Floating bei Tieren unter dieser Behandlung verdeutlichte den Eindruck der verminderten Motivation. In der Überprüfung des Gedächtnisses 5 h nach Behandlung wurde nur bei WT Mäusen unter der hohen Dosis von 0,3 mg/kg eine signifikant längere Latenz bis zur zuvor gelernten Plattformposition gefunden. Die übrigen Tiere scheinen die Position der Plattform zum Zeitpunkt 1 h nach i.p. Injektion gelernt zu haben, waren jedoch nicht motiviert sie zu diesem Zeitpunkt anzuschwimmen. 5 h nach Behandlung war unter der Dosis von 0,3 mg/kg die Anzahl der Mäuse, die das Kriterium erfüllten immer noch signifikant niedriger als bei Kontrollmäusen.

Es konnte somit in dieser Untersuchung unter einer Dosis von 0,1 mg/kg kein direkter negativer jedoch auch kein positiver Einfluss von Haloperidol auf das räumliche Lernen beobachtet werden. Unter einer Dosis von 0,3 mg/kg schien das Lernen jedoch schlechter zu sein.

Die Anzahl der Arbeitsgedächtnisfehler der WT Mäuse war 5 h und 29 h nach i.p. Injektion, sowie bei heterozygoten *mdr1a/1b* Mäusen 24 h nach Behandlung signifikant kleiner als bei Kontrollmäusen bei gleicher Schwimmggeschwindigkeit. Haloperidol scheint sich somit eventuell leicht positiv, jedoch nicht negativ, auf das Arbeitsgedächtnis auszuwirken.

Ein deutlicher Unterschied zwischen den Genotypen war unter Behandlung mit Haloperidol nicht zu erkennen.

Auch Skarsfeldt (1996) beobachtete in der Morris Water Maze in Ratten einen dosisabhängigen Effekt, wobei sich Tiere in niedrigen Dosen nicht von Kontrollratten unterschieden. Er bestätigt auch, dass eine deutliche Beurteilung der Lern- und Gedächtnisfunktionen aufgrund von Motivations- oder motorischen Beeinträchtigungen nicht getroffen werden kann. Plotzky und Mitarbeiter (2005) zeigten ebenfalls eine dosisabhängig längere Latenz von Ratten den Fluchttunnel in der Barnes Maze zu finden. In niedrigen Dosen war kein Unterschied im Lernen und in der Erinnerung zu beobachten.

In klinischen Studien wird Haloperidol vor allem als Referenzsubstanz für typische Antipsychotika eingesetzt. In einem Übersichtsartikel von Meltzer und McGurk (1999) werden vergleichbare oder zum Teil etwas bessere Effekte der atypischen Antipsychotika gegenüber Haloperidol beschrieben. Es wird jedoch von keinem schlechteren Ergebnis unter Haloperidol gegenüber dem Ausgangswert berichtet.

Olanzapin

Unter der Behandlung mit Olanzapin zeigte sich ein deutlicher dosisabhängiger Effekt auf das räumliche Lernen und Gedächtnis der Mäuse. Trotz der leichten Einschränkung in der Schwimmggeschwindigkeit in der RAWM war kein negativer Effekt auf das räumliche Lernen unter 0,5 mg/kg zu beobachten. Auch eine signifikant niedrigere Anzahl an Arbeitsgedächtnisfehlern wurde 5 h nach i.p. Injektion im Vergleich zu Kontrolltieren bei gleicher Schwimmggeschwindigkeit beobachtet. Unter 2 mg/kg war die Anzahl der Versuche jedoch signifikant höher, die Latenz länger und die Anzahl der Mäuse, die das Kriterium erfüllten kleiner als bei der Kontrollgruppe. Unter dieser Dosis war jedoch auch die Schwimmggeschwindigkeit signifikant langsamer, so dass die Parameter zur Überprüfung des räumlichen Lernens nicht eindeutig beurteilt werden können. Jedoch war auch die Latenz bis zum Erreichen der zuvor gelernten Plattformposition bei WT Mäusen 5, 24 und 29 h nach i.p. Injektion signifikant länger, so dass das Gedächtnis unter dieser Dosis beeinträchtigt zu sein scheint.

Heterozygote *mdr1a/1b* Mäuse waren in verschiedenen Parametern signifikant besser als WT Tiere unter vergleichbaren Dosen. P-gp abhängige Effekte scheinen somit einen Einfluss auf die Kognition unter Olanzapin bei Mäusen zu haben.

Eine Studie, die unter niedriger chronischer Gabe von 0,88 mg/kg pro Tag Ratten in einer Radial Arm Maze auf dem Land untersuchte, konnte ebenfalls keinen negativen Einfluss von Olanzapin beobachten (Rosengarten und Quartermain, 2002). Skarsfeldt (1996) zeigte jedoch bei Ratten in der Morris Water Maze einen stark dosisabhängigen Effekt, wie er auch in dieser Arbeit beobachtet wurde. Die Anzahl der Ratten unter 0,51 und 2 mg/kg, welche die Position der Plattform lernten, war nicht signifikant verschieden von mit NaCl-Lösung behandelten Ratten. Unter einer Dosis von 8 mg/kg verringerte sich diese Anzahl jedoch signifikant.

In einer klinischen Studie wurde unter einer eher niedrigen Dosis von 7,5 mg/d eine leichte Verbesserung gegenüber dem Ausgangswert beobachtet. Es zeigte sich jedoch kein positiver Effekt gegenüber anderen atypischen und typischen Antipsychotika (Keefe, et al 2007). Meltzer und McGurk (1999) beschreiben bei schizophrenen Patienten für Olanzapin einen signifikanten positiven Effekt auf die Reaktionszeit, verbales Lernen und Gedächtnis sowie flüssiges Sprechen. Diese Effekte waren größer als die unter Behandlung mit Clozapin und Risperidon beobachteten Verbesserungen der Kognition. Auch Kern und Mitarbeiter (2005) zeigten eine Verbesserung gegenüber dem Ausgangswert bei schizophrenen Patienten in den Bereichen generelle kognitive Funktionen und verbales Lernen, die mit Aripiprazol vergleichbar waren. Olanzapin erhöht, wahrscheinlich durch seine Affinität zum serotonergen 5HT₆-Rezeptor die Acetylcholin-Freisetzung (Tamminga, 2006; Plotzky, et al 2005). Dies könnte zu einem positiven Effekt auf die Kognition im Tierversuch und auch beim Menschen beitragen.

Quetiapin

Mäuse, die mit 10 mg/kg Quetiapin behandelt waren, waren sowohl in der Schwimmtätigkeit als auch in der Schwimgeschwindigkeit 1 h nach i.p. Injektion signifikant langsamer als Kontrollmäuse. Die schlechtere Leistung in den Parametern zur Überprüfung des räumlichen Lernens kann somit nicht eindeutig beurteilt werden. Jedoch brauchten die Tiere 5 h nach Behandlung signifikant länger als unbehandelte Mäuse, um die zuvor gelernte Plattformposition anzuschwimmen, ohne dass die Geschwindigkeit zu diesem Zeitpunkt deutlich verlangsamt war. Quetiapin scheint sich somit in dieser Dosis negativ auf das räumliche Lernen und Gedächtnis auszuwirken. WT Mäuse waren auch 5 h nach Behandlung

in einigen Parametern zur Überprüfung des Lernens schlechter als Kontrollmäuse, heterozygote *mdr1a/1b* Mäuse hingegen nicht. Ein deutlicher Einfluss des P-gp unter der Behandlung mit Quetiapin wurde jedoch nicht beobachtet.

Eine Studie, in der Ratten chronisch mit 10 mg/kg Quetiapin behandelt und in der Radial Arm Maze auf dem Land untersucht wurden, zeigte keinen Unterschied im Referenz- und Arbeitsgedächtnis der Tiere im Vergleich zu Kontrollratten. PCP-induzierte Beeinträchtigungen wurden durch die Behandlung mit Quetiapin aufgehoben (He, et al 2006). Auch in einer klinischen Studie konnte nur eine leichte Verbesserung gegenüber dem Ausgangswert, nicht jedoch gegenüber anderen atypischen oder typischen Antipsychotika gezeigt werden (Keefe, et al 2007).

Risperidon

Die Parameter für das räumliche Lernen in der RAWM waren unter der Gabe von Risperidon dosisabhängig 1 h nach i.p. Injektion schlechter als bei unbehandelten Kontrollmäusen. Die Latenz bis zum Erreichen der zuvor gelernten Plattformposition war hingegen 5 h nach i.p. Injektion unter der niedrigen Dosis von 0,3 mg/kg gleich lang wie bei Kontrolltieren und 24 h nach Applikation sogar signifikant kürzer. Ebenso war die Latenz die Plattform zu erreichen 5 h nach Injektion bei WT Mäusen unter der niedrigen Dosis signifikant kürzer und die weiteren Parameter nicht mehr eingeschränkt.

Mit Risperidon behandelte Mäuse zeigten sowohl bei der Schwimmgeschwindigkeit in der RAWM als auch beim Test auf die Schwimmaktivität signifikante Einschränkungen 1 h nach i.p. Injektion. Die Tiere waren somit offensichtlich nicht in der Lage die Plattform zu diesem Zeitpunkt in einer mit den Kontrolltieren vergleichbaren Weise anzuschwimmen. Ihr schlechteres Abschneiden zum ersten Zeitpunkt ist somit am ehesten auf die verlangsamte Schwimmgeschwindigkeit und nicht auf eine Einschränkung in Lernleistung und Gedächtnis zurückzuführen.

Heterozygote *mdr1a/1b* Mäuse zeigten auch 5 h und 24 h nach i.p. Injektion signifikant schlechtere Ergebnisse in den Parametern Latenz, Anzahl der Versuche und Latenz bis zur zuvor gelernten Plattformposition. Bei diesen Tieren war zu den späteren Zeitpunkten auch die Schwimmgeschwindigkeit signifikant langsamer, welche, wie bei den WT Mäusen, die schlechten Lernergebnisse erklären kann. Insgesamt wird im Vergleich von heterozygoten *mdr1a/1b* Mäusen zu WT Tieren deutlich, dass die Reduktion von P-gp zu deutlich längeren signifikanten Einschränkungen führt. Ob diese allein durch die Verminderung der Schwimmgeschwindigkeit oder auch durch einen direkten negativen Einfluss auf das Lernen

zurückgeführt werden können, kann mit dieser Untersuchung nicht eindeutig beantwortet werden.

Eine Studie an Ratten unter Behandlung mit Risperidon in chronischer Dosis von 0,45 mg/kg pro Tag p.o. zeigte einen negativen Effekt auf das Arbeitsgedächtnis (Rosengarten und Quartermain, 2002). Auch in der Barnes Maze zeigte sich bei Ratten eine dosisabhängige Beeinträchtigung auf die Latenz den Fluchttunnel zu erreichen (Plotzky, et al 2005). Skarsfeldt (1996) zeigte ebenfalls einen dosisabhängigen Effekt auf das Lernen in der Morris Water Maze bei Ratten, erklärte jedoch, wie in dieser Arbeit, dass die Einschränkung auch durch motorische Beeinträchtigung mit erklärt werden könnten.

In einer klinischen Studie, die das räumliche Arbeitsgedächtnis bei schizophrenen Patienten untersuchte, wurde ein positiver Effekt von Risperidon beobachtet (McGurk, et al 2005). In der CATIE Studie wurde ebenfalls eine leichte Verbesserung unter Risperidon gesehen, jedoch ohne Vorteile gegenüber anderen atypischen und typischen Antipsychotika (Keefe, et al 2007).

Domperidon

Der als Kontrollsubstanz für den P-gp Effekt eingesetzte periphere D₂-Antagonist Domperidon zeigte in der RAWM keinen Einfluss auf Lern- und Gedächtnisfunktionen der Mäuse beider Genotypen.

Aussagekraft und Übertragbarkeit auf die klinische Situation

Eine Einschränkung dieser Untersuchung in der Übertragbarkeit der Ergebnisse auf die Therapie schizophrener Patienten ist die Durchführung an gesunden Mäusen. Bei einer Untersuchung von Tieren, die z.B. durch Gabe von PCP oder Ketamin in ihren kognitiven Fähigkeiten eingeschränkt sind, wären die Ergebnisse besser mit der klinischen Situation vergleichbar. Ebenso wäre ein besserer Vergleich unter chronischer anstatt akuter Gabe der zu untersuchenden Substanzen denkbar. In dieser Untersuchung sollten jedoch primär die pharmakodynamischen Auswirkungen einer veränderten Expression von P-gp beurteilt werden. Zur Beantwortung dieser Fragestellung war das gewählte Versuchsdesign ausreichend.

Insgesamt gesehen konnte kein deutlicher positiver Effekt auf das räumliche Lernen und Gedächtnis oder das Arbeitsgedächtnis bei keiner der untersuchten Substanzen beobachtet werden. Auch das typische Antipsychotikum Haloperidol wirkte sich nicht deutlich schlechter als die atypischen Antipsychotika auf die kognitiven Funktionen aus. Dies bestätigt die

Ergebnisse der CATIE-Studie (Keefe, et al 2007), die ebenfalls keine Überlegenheit der Atypika im Vergleich mit dem typischen Antipsychotikum Perphenazin zeigen konnte.

Inwieweit die untersuchten Medikamente selbst negativ auf die Kognition wirken oder durch ihre Nebenwirkungen auf Motorik und Motivation die Ergebnisse negativ beeinflussen, konnte nicht in allen Bereichen und für alle Medikamente geklärt werden. Genau diese Nebenwirkungen wirken sich jedoch auch bei schizophrenen Patienten negativ auf die Ergebnisse kognitiver Tests aus. Somit führen sie nur zu gleich bleibenden oder leicht verbesserten Werten, obwohl, wie in der Einleitung dieser Arbeit im Kapitel 1.3 „Kognition“ beschrieben, allein durch die Testwiederholung ein positives Ergebnis zu erwarten wäre (Green, et al 2002; Carpenter und Gold, 2002).

Insgesamt gesehen verbesserten die untersuchten Antipsychotika die kognitiven Funktionen in den angestellten Tierversuchen nicht. Wenn Effekte beobachtet wurden, dann waren es fast ausschließlich Verschlechterungen der untersuchten kognitiven Leistungen. Welche Effekte Antipsychotika mit Blick auf die Kognition bei schizophrenen Patienten erzeugen, wird derzeit kontrovers diskutiert. Es wird insbesondere für neue atypische Antipsychotika vermutet, dass sie diesbezüglich wirksam sind (Keefe, et al 1999; Meltzer und McGurk, 1999; Harvey und Keefe, 2001). Neuere Studienergebnisse konnten dies nicht bestätigen (Geddes, et al 2000; Green, et al 2002; Keefe, et al 2007; Goldberg, et al 2007). Da kognitive Defizite bei schizophrenen Störungen eine wesentliche Rolle spielen sind weitergehende Untersuchungen dringend notwendig.

4.6 Zusammenfassung der Diskussion

In dieser Arbeit wurden unter den zurzeit gebräuchlichsten Antipsychotika Substrate des P-gp durch pharmakokinetische und pharmakodynamische Untersuchungen identifiziert. Es wurden zum ersten Mal gezeigt, dass die Expression von P-gp direkte pharmakodynamische Auswirkungen auf Wirkungen und Nebenwirkungen von Antipsychotika und somit eine funktionelle Bedeutung hat.

Risperidon und sein aktiver Metabolit, 9-Hydroxyrisperidon, zeigten die größte Affinität zu P-gp. Die eindeutigen Ergebnisse im Vergleich der Hirnkonzentrationen von P-gp defizienten und WT Mäusen von zehn- bis 16-fach höheren Konzentrationen in den *mdr1a/1b*(-/-, -/-) Tieren spiegelten sich eindrucksvoll in den pharmakodynamischen Auswirkungen auf dem Rotarod wieder. Trotz der methodischen Einschränkung in der Untersuchung des Lernens und Gedächtnisses in der RAWM war auch in diesem Teil der Untersuchung ein eindeutiger P-gp

Effekt zu beobachten. Die Größe des beobachteten Effekts der Kinetikuntersuchungen ist mit Ergebnissen anderer Studien vergleichbar (Doran, et al 2005). In einer klinischen Studie konnten auch Auswirkungen von Polymorphismen im MDR1 Gen und somit der Expression von P-gp auf das klinische Ansprechen schizophrener Patienten unter Behandlung mit Risperidon gezeigt werden (Xing, et al 2006).

Auch Aripiprazol und sein aktiver Metabolit Dehydroaripiprazol, die bislang noch nicht auf ihre Affinität zu P-gp untersucht wurden, konnten eindeutig als Substrate identifiziert werden. Der Unterschied zwischen *mdr1a/1b*(-/-, -/-) und WT Mäusen von zwei- bis dreifach höheren Aripiprazolspiegeln in P-gp defizienten Tieren führte auf dem Rotarod zwar durch die besondere Rezeptorbesetzung, wie beschrieben, nicht zu signifikanten, aber deutlichen Unterschieden. Trotz des positiven Effekts von Dehydroaripiprazol auf die Lern- und Gedächtnisleistung in der RAWM und die methodischen Einschränkungen war in der Untersuchung mit Aripiprazol eine schlechtere Leistung bei heterozygoten *mdr1a/1b* verglichen mit WT Mäusen zu beobachten. Dies verdeutlichte, dass bereits geringe Unterschiede in den Gehirnkonzentrationen, die durch P-gp verursacht werden, zu pharmakodynamischen Veränderungen führen können. Doran und Mitarbeiter (2005) stellten die These auf, dass ein Unterschied zwischen dem Quotienten aus Gehirn und Serum von *mdr1a/1b*(-/-, -/-) zu WT Mäusen um den Faktor zwei bis drei keinerlei Auswirkungen hat. Die eigenen Ergebnisse unter Behandlung mit Aripiprazol widersprechen dieser Annahme.

In den Kinetikuntersuchungen konnte Amisulprid eindeutig als Substrat von P-gp identifiziert werden. Dieses Ergebnis bestätigt die Beobachtungen anderer Studien (Härtter, et al 2003; Abou El Ela, et al 2004; Schmitt, et al 2006). Durch sein geringes Risiko für Nebenwirkungen konnten diese Unterschiede nicht in den in dieser Arbeit durchgeführten pharmakodynamischen Untersuchungen abgebildet werden. In einer Studie von Schmitt und Mitarbeitern (2006) konnte jedoch ein stärkerer pharmakodynamischer Effekt von Amisulprid auf die durch Apomorphin-induzierte Hyperlokomotion in mit Cyclosporin A komedizierten im Vergleich zu unbehandelten Ratten gezeigt werden.

Quetiapin wurde in den Kinetikuntersuchungen als schwaches Substrat von P-gp erkannt. Trotz eines Unterschieds zwischen *mdr1a/1b* Doppelknockout und WT Mäusen von einem Faktor von nur 1,7 konnten pharmakodynamische Veränderungen auf dem Rotarod gezeigt werden. Abou El Ela (2004) und Grimm (2006) konnten Quetiapin nur als Inhibitor, nicht als Substrat identifizieren. Eine Arbeit mit in-situ Untersuchungen fand jedoch einen Genotyp-abhängigen unterschiedlichen Transfer durch plazentale Zellen (Rahi, et al 2007). Die

Affinität von Quetiapin scheint somit durchaus pharmakodynamisch relevante Auswirkungen zu haben.

Die beiden Arzneistoffe Clozapin und Haloperidol konnten in dieser Arbeit nicht als Substrate von P-gp identifiziert werden. Haloperidol könnte bestenfalls, wie auch von Schinkel (1996) beschrieben, ein schwaches Substrat sein. Zu relevanten pharmakodynamischen Veränderungen kommt es jedoch unter Behandlung mit dieser Substanz nicht. Auch unter Gabe von Clozapin wurden keinerlei pharmakodynamische Veränderungen beobachtet, wie es auch durch die Vergleiche von Hirn- und Serumkonzentrationen zwischen den Genotypen zu erwarten war. Für den Metaboliten Desmethylclozapin wurden jedoch eindeutige Unterschiede bei den Kinetikuntersuchungen beobachtet. Die fehlenden pharmakodynamischen Auswirkungen unter der Behandlung mit Clozapin in den Verhaltenstests verdeutlichen die schwache pharmakokinetische Wirkung von Desmethylclozapin.

Bei Olanzapin konnten, ähnlich wie bei Haloperidol, wenn überhaupt nur schwache Substrateigenschaften beobachtet werden. Im Vergleich der Serumspiegel zwischen den Genotypen waren bei beiden Substanzen Unterschiede zu beobachten, die am Besten mit einer Affinität zu anderen, z.B. peripheren Transportern, zu erklären ist. Cisternino und Mitarbeiter (2004) konnten eine Hochregulation anderer Transportproteine, wie dem BCRP, in *mdr1a/1b* Doppelknockout Mäusen beobachten. Inwieweit dieser Befund auf die Situation beim Menschen übertragbar ist oder eine methodische Schwäche der *mdr1a/1b*(-/-, -/-) Mäuse darstellt, ist unbekannt. Auch Boulton und Mitarbeiter (2002) fanden für Olanzapin eher schlechte Substrateigenschaften zu P-gp. Wang und Koautoren (2006) identifizierten es als relevanten Inhibitor, jedoch nur 1 h nach Behandlung. In klinischen Studien wurde trotz dieser eher geringen Substrateffekte ein Zusammenhang zwischen dem klinischen Ansprechen schizophrener Patienten und P-gp Polymorphismen unter Behandlung mit Olanzapin beobachtet (Bozina, et al 2006; Lin, et al 2006).

Insgesamt gesehen konnten in dieser Arbeit aus der Gruppe der Antipsychotika P-gp Substrate in drei verschiedenen Untersuchungen charakterisiert werden. Die gute Übereinstimmung der Ergebnisse der drei Teile verdeutlicht und differenziert den Einfluss der Expression von P-gp auf die Wirkung und Nebenwirkungen der einzelnen Antipsychotika. Somit konnten die pharmakokinetischen und pharmakodynamischen Auswirkungen der Expression von P-gp umfassend dargestellt werden.

Dass der pharmakodynamische Einfluss der Expression von P-gp auf die medikamentöse Behandlung bei Patienten eine funktionelle Bedeutung hat, lassen bislang auch die oben

genannten klinischen Studien unter Behandlung mit Risperidon und Olanzapin bei schizophrenen Patienten vermuten. Da Olanzapin in dieser und in weiteren Studien nur als schwaches Substrat charakterisiert wurde, kann man vermuten, dass bei klinischen Studien mit stärkeren Substraten, wie Risperidon, Aripiprazol und Amisulprid ein noch deutlicherer Zusammenhang zwischen der Expression von P-gp bzw. Polymorphismen im MDR1 Gen und klinischem Ansprechen und Nebenwirkungen zu erwarten ist.

Auch im klinischen Alltag können starke Ausprägungen von Nebenwirkungen bzw. ein Nichtansprechen bei einigen Antipsychotika unter klinisch üblichen Dosen und Serumspiegeln zum Teil auf eine Veränderung der Expression von P-gp durch Komedikamente oder Polymorphismen zurückzuführen sein, wie die Ergebnisse dieser Studie zeigen. Somit sind Studien zur Identifizierung von Medikamenten als Substrate von P-gp eine wichtige Hilfestellung in Ergänzung zum Therapeutischen Drug Monitoring, um die Pharmakotherapie von Patienten wirksamer und sicherer werden zu lassen.

5 Zusammenfassung

5.1 Zusammenfassung

Therapeutisches Drug Monitoring (TDM) ist eine Maßnahme, bei der durch Messung der Medikamentenspiegel im Blut die Dosis ermittelt wird, bei der mit höchster Wahrscheinlichkeit mit Therapieansprechen gerechnet werden kann. Dabei wird angenommen, dass die Konzentrationen im Blut mit denen im Wirkkompartiment korrelieren. Für Antipsychotika wurde gezeigt, dass die Konzentrationen im Blut direkt mit denen im Gehirn korrelieren, die Verteilung zwischen den beiden Kompartimenten ist jedoch für die verschiedenen Antipsychotika sehr unterschiedlich. Die Distribution von Arzneistoffen zwischen Blut und Gehirn wird durch Effluxtransporter in der Blut-Hirn-Schranke kontrolliert. Welche Rolle dabei P-Glykoprotein (P-gp) für die Verteilung von atypischen Antipsychotika spielt und wie die Pharmakokinetik und -dynamik durch diesen Transporter beeinflusst werden, sollte in dieser Arbeit untersucht werden.

Für die Messung des neu eingeführten Antipsychotikums Aripiprazol, sowie für seinen aktiven Metaboliten Dehydroaripiprazol, wurde eine hochleistungsflüssigchromatographische (HPLC) Methode mit Säulenschaltung und spektrophotometrischer Detektion etabliert. Die Methode wurde für die Messung von Serumproben schizophrener Patienten eingesetzt, um einen therapeutischen Bereich für Aripiprazol zu ermitteln. Aus der Analyse von 523 Patientenproben wurde herausgefunden, dass Aripiprazol-Serumkonzentrationen von 150 bis 300 ng/ml mit gutem klinischen Ansprechen und einem geringen Risiko für Nebenwirkungen einhergingen. Weiterhin wurde festgestellt, dass die Serumspiegel bei gleichzeitiger Gabe von Inhibitoren und Induktoren der Cytochrom P450 (CYP) Isoenzyme CYP2D6 und CYP3A4 erhöht bzw. gesenkt wurden.

Am Modell der P-gp Knockout Maus im Vergleich zu FVB Wildtyp Mäusen wurden Konzentrationsverläufe von Antipsychotika nach i.p. Gabe von Amisulprid, Aripiprazol, Dehydroaripiprazol, Clozapin, Desmethylclozapin, Haloperidol, Olanzapin, Quetiapin, Risperidon und 9-Hydroxyrisperidon sowie der Kontrollsubstanz Domperidon im Gehirn und Blut über 24 Stunden mittels HPLC-Methoden gemessen. Welchen Einfluss eine verminderte Expression von P-gp auf die Pharmakodynamik hat, wurde in zwei Verhaltenstests untersucht. Mit Hilfe des Rotarods wurden motorische Effekte der Arzneistoffe erfasst und mittels Radial Arm Water Maze kognitive Fähigkeiten. Risperidon und sein aktiver Metabolit 9-Hydroxyrisperidon waren die stärksten Substrate von P-gp. 10-fach höhere Konzentrationen im Gehirn der P-gp Knockout Mäuse führten zu 10-fach stärkeren Beeinträchtigungen in den

pharmakodynamischen Untersuchungen im Vergleich zu Wildtyp Tieren. Amisulprid, Aripiprazol, Dehydroaripiprazol, Desmethylclozapin und Quetiapin konnten ebenfalls als Substrate von P-gp identifiziert werden. Olanzapin, Haloperidol und Clozapin wurden durch P-gp wenig bzw. nicht in ihrer Pharmakokinetik und –dynamik beeinflusst.

Da P-gp von Nagern und Menschen nach derzeitiger Kenntnis in ihren Substrateigenschaften weitgehend übereinstimmen, muss bei einer Behandlung von schizophrenen Patienten mit Antipsychotika, die als Substrate von P-gp identifiziert wurden, davon ausgegangen werden, dass eine Veränderung der Expression oder Aktivität von P-gp, genetisch verursacht oder durch Medikamente bedingt, für das Therapieansprechen oder das Auftreten von Nebenwirkungen bedeutsam sind.

5.2 Summary

Therapeutic Drug Monitoring (TDM) is a method that enables the finding of a dose by measuring drug concentrations in the blood, which lead with highest likeliness to clinical response. It is supposed that concentrations in blood correlate with those in the brain, where the effect takes place. It has been shown for antipsychotic drugs that concentrations in the blood correlate with those in the brain. However, the distribution between both organs differs between different antipsychotic drugs and is controlled by efflux transporter in the blood-brain-barrier. Which role P-glycoprotein (P-gp) plays for the distribution of antipsychotic drugs and how pharmacokinetics and -dynamics are influenced by this transporter, should be investigated in this study.

A high performance liquid chromatography (HPLC) method with column switching and spectrophotometric detection was developed enabling the measurement of the new launched drug aripiprazole and its active metabolite dehydroaripiprazole. The method was applied to the measurement of serum samples of schizophrenic patients with the aim of finding a therapeutic range. By analyzing 523 serum samples of schizophrenic patients serum concentrations between 150 and 300 ng/ml aripiprazole were established that correlated with good clinical response and a minimum of side effects. Comedicated inhibitors or inducers of cytochrome P450 (CYP) isoenzymes CYP2D6 and CYP3A4 increased or decreased serum levels, respectively.

The model of a P-gp knockout mouse in comparison with FVB wildtype mice was used to measure concentrations of antipsychotic drugs in brain and blood over 24 hours after i.p. injection of amisulpride, aripiprazole, dehydroaripiprazole, clozapine, desmethylclozapine,

haloperidol, olanzapine, quetiapine, risperidone, and 9-hydroxyrisperidone as well as of the control substance domperidone. Samples were analyzed with HPLC methods. The influence of a decreased P-gp expression on the pharmacodynamics of the drugs was investigated in two behavioral tests. Motor effects of the drugs were measured on a Rotarod, and cognitive performance was tested in a radial arm water maze. Risperidone and its active metabolite 9-hydroxyrisperidone were the strongest substrates of P-gp. 10-fold higher concentrations of the drugs in the brain of P-gp deficient mice led to 10-fold stronger impairment in pharmacodynamic tests compared with wild type animals. Amisulpride, aripiprazole, dehydroaripiprazole, desmethylclozapine, and quetiapine were also identified as substrates of P-gp. Pharmacokinetics and -dynamics of olanzapine, haloperidol, and clozapine were influenced only slightly or not at all by P-gp.

According to the present stage of knowledge, P-gp substrate properties of rodents and humans are largely the same. It is therefore safe to assume that under a therapy with antipsychotic drugs, which have been identified as P-gp substrates, variations in the expression or activity of P-gp due to polymorphisms or comedication will lead to a significant effect concerning therapy response and the risk of side effects.

6 Anhang

6.1 Literaturverzeichnis

Abbott NJ, Romero IA (1996): Transporting therapeutics across the blood-brain barrier. *Mol Med Today* **2**(3):106-113.

Abou El-Ela A, Härtter S, Schmitt U, Hiemke C, Spahn-Langguth H, Langguth P (2004): Identification of P-glycoprotein substrates and inhibitors among psychoactive compounds – implications for pharmacokinetics of selected substrates. *Journal of Pharmacy and Pharmacology* **56**(8):967-975.

Ahlenius S, Hillegaard 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.

Aktories K, Förstermann U, Hofmann F, Starke K (2005): Allgemeine und spezielle Pharmakologie und Toxikologie. Urban & Fischer Verlag, München, 305 pp.

Ambudkar SV, Dey S, Hrycyna CA, Ramachandra M, Pastan I, Gottesman MM (1999): Biochemical, cellular, and pharmacological aspects of the multidrug transporter. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* **39**:361-398.

Aravagiri M, Teper Y, Marder SR (1999): Pharmacokinetics and tissue distribution of olanzapine in rats. *Biopharm Drug Dispos* **20**(8):369-377.

Arvanitis LA, Miller BG (1997): Multiple fixed doses of "Seroquel" (quetiapine) in patients with acute exacerbation of schizophrenia: a comparison with haloperidol and placebo. The Seroquel Trial 13 Study Group. *Biol Psychiatry* **42**(4):233-246.

Baldessarini RJ, Cohen BM, Teicher MH (1988): Significance of neuroleptic dose and plasma level in the pharmacological treatment of psychoses. *Arch Gen Psychiatry* **45**(1):79-91.

Bardin L, Kleven MS, Barret-Grevoz C, Depoortere R, Newman-Tancredi A (2006): Antipsychotic-Like vs Cataleptogenic Actions in Mice of Novel Antipsychotics having D(2) Antagonist and 5-HT(1A) Agonist Properties. *Neuropsychopharmacology* **31**(9):1869-1879.

Bauer B, Hartz AM, Fricker G, Miller DS (2005): Modulation of p-glycoprotein transport function at the blood-brain barrier. *Exp Biol Med (Maywood)* **230**(2):118-127.

Baumann P, Hiemke C, Ulrich S, Eckermann G, Gaertner I, Gerlach M, Kuss HJ, Laux G, Muller-Oerlinghausen B, Rao ML, et al (2004): The AGNP-TDM expert group consensus guidelines: therapeutic drug monitoring in psychiatry. *Pharmacopsychiatry* **37**:243-265.

Benkert O, Hippus H, Anghelescu I, Davids E, Fehr C, Gründer G, Hiemke C, Lange-Asschenfeldt C, Möller O, Müller MJ, Regen F (2007): Kompendium der psychiatrischen Pharmakotherapie. Springer Medizin Verlag, Heidelberg, 183 pp.

Borst P, Schinkel AH, Smit JJ, Wagenaar E, Van Deemter L, Smith AJ, Eijdemans EW, Baas F, Zaman GJ (1993): Classical and novel forms of multidrug resistance and the physiological functions of P-glycoproteins in mammals. *Pharmacol Ther* **60**(2):289-299.

Bosch I, Croop JM (1998): P-glycoprotein structure and evolutionary homologies. *Cytotechnology* **27**:1-30.

Boulton DW, DeVane CL, Liston HL, Markowitz JS (2002): *In vitro* P-glycoprotein affinity for atypical and conventional antipsychotics. *Life Sciences* **71**:163-169.

Bozina N, Kuzman MR, Medved V, Jovanovic N, Sertic J, Hotujac L (2008): Associations between MDR1 gene polymorphisms and schizophrenia and therapeutic response to olanzapine in female schizophrenic patients. *J Psychiatr Res* **42**(2):89-97.

Bristol-Myers Squibb Company and Otsuka America Pharmaceutical Inc (2006): Abilify® (aripiprazole) tablets prescribing information [online]. Available from URL: <http://www.abilify.com>

Bristow LJ, Collinson N, Cook GP, Curtis N, Freedman SB, Kulagowski JJ, Leeson PD, Patel S, Ragan CI, Ridgill M, et al (1997): L-745,870, a subtype selective dopamine D4 receptor antagonist, does not exhibit a neuroleptic-like profile in rodent behavioral tests. *J Pharmacol Exp Ther* **283**(3):1256-1263.

Broekkamp CL, Oosterloo SK, Berendsen HH, van Delft AM (1988): Effect of metergoline, fenfluramine, and 8-OHDPAT on catalepsy induced by haloperidol or morphine. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol* **338**:191-195.

Buresová O, Bures J, Oitzl MS, Zahálka A (1985): Radial maze in the water tank: an aversively motivated spatial working memory task. *Physiol Behav* **34**(6):1003-1005.

Burris KD, Molski TF, Xu C, Ryan E, Tottori K, Kikuchi T, Yocca FD, Molinoff PB (2002): Aripiprazole, a novel antipsychotic, is a high-affinity partial agonist at human dopamine D2 receptors. *J Pharmacol Exp Ther* **302**:381-389.

Bymaster FP, Hemrick-Luecke SK, Perry KW, Fuller RW (1996): Neurochemical evidence for antagonism by olanzapine of dopamine, serotonin, α_1 -adrenergic and muscarinic receptors in vivo in rats. *Psychopharmacology (Berl)* **124**:87-94.

Callen DF, Baker E, Simmers RN, Seshadri R, Roninson IB (1987): Localization of the human multiple drug resistance gene, MDR1, to 7q21.1. *Hum Genet* **77**(2):142-144.

Carlsson A, Lindqvist M (1963): Effect of chlorpromazine or haloperidol on formation of 3Methoxytyramine and normetanephrine in mouse brain. *Acta Pharmacol Toxicol (Copenh)* **20**:140-144.

Carpenter WT, Gold JM (2002): Another view of therapy for cognition in schizophrenia. *Biol Psychiatry* **51**(12):969-971.

Carson WH, Kane JM, Ali M, Dunbar GC, Ingenito G (2000): Efficacy of aripiprazole in psychotic disorders: comparison with haloperidol and placebo. *Eur Neuropsychopharmacol* **10**, Suppl 3:309-310.

Cisternino S, Mercier C, Bourasset F, Roux F, Scherrmann JM (2004): Expression, up-regulation, and transport activity of the multidrug-resistance protein Abcg2 at the mouse blood-brain barrier. *Cancer Res* **64**:3296-3301.

Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) (1992): Evaluation of precision performance of clinical chemistry devices. NCCLS/CLSI Document EP5-T2. Wayne PA: CLSI

Conley RR, Buchanan RW (1997): Evaluation of Treatment-Resistant Schizophrenia. *Schizophr Bull* **23**:663-674.

Conley RR, Tamminga CA, Bartko JJ, Richardson C, Peszke M, Lingle J, Hegerty J, Love R, Gounaris C, Zaremba S (1998): Olanzapine compared with chlorpromazine in treatment-resistant schizophrenia. *Am J Psychiatry* **155**(7):914-920.

Cordon-Cardo C, O'Brien JP, Casals D, Rittman-Grauer L, Biedler JL, Melamed MR, Bertino JR (1989): Multidrug-resistance gene (P-glycoprotein) is expressed by endothelial cells at blood-brain barrier sites. *Proc Natl Acad Sci U S A* **86**:695-698.

Curran MP, Perry CM (2001): Amisulpride: a review of its use in the management of schizophrenia. *Drugs* **61**(14):2123-2150.

Dano K (1973): Active outward transport of daunomycin in resistant Ehrlich ascites tumor cells. *Biochim Biophys Acta* **323**(3):466-483.

De Oliveira IR, Juruena MF (2006): Treatment of psychosis: 30 years of progress. *J Clin Pharm Ther* **31**(6):523-534.

Dean M, Hamon Y, Chimini G (2001): The human ATP-binding cassette (ABC) transporter superfamily. *J Lipid Res* **42**(7):1007-1017.

Deeley RG, Westlake C, Cole SP (2006): Transmembrane transport of endo- and xenobiotics by mammalian ATP-binding cassette multidrug resistance proteins. *Physiol Rev* **86**(3):849-899.

Devault A, Gros P (1990): Two Members of the Mouse *mdr* Gene Family Confer Multidrug Resistance with Overlapping but Distinct Drug Specificities. *Mol Cell Biol* **10**:1652-1663.

Didriksen M, Skarsfeldt T, Arnt J (2007): Reversal of PCP-induced learning and memory deficits in the Morris' water maze by sertindole and other antipsychotics. *Psychopharmacology (Berl)* **193**(2):225-233.

Didriksen M, Kreilgaard M, Arnt J (2006): Sertindole, in contrast to clozapine and olanzapine, does not disrupt water maze performance after acute or chronic treatment. *Eur J Pharmacol* **542**(1-3):108-115.

Doran A, Obach RS, Smith BJ, Hosea NA, Becker S, Callegari E, Chen C, Chen X, Choo E, Cianfrogna J, et al (2005): The impact of P-glycoprotein on the disposition of drugs targeted for indications of the central nervous system: Evaluation using the *mdr1a/1b* knockout mouse model. *Drug Metabolism and Disposition* **33**:165-174.

Drew MR, Simpson EH, Kellendonk C, Herzberg WG, Lipatova O, Fairhurst S, Kandel ER, Malapani C, Balsam PD (2007): Transient overexpression of striatal D2 receptors impairs operant motivation and interval timing. *J Neurosci* **27**(29):7731-7739.

Farde L, Nordström AL, Wiesel FA, 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.

Farde L, Wiesel FA, Halldin C, Sedvall G (1988): Central D2-dopamine receptor occupancy in schizophrenic patients treated with antipsychotic drugs. *Arch Gen Psychiatry* **45**(1):71-76.

Fujikawa M, Nagashima M, Inoue T, Yamada K, Furukawa T (1996): Partial agonistic effects of OPC-14597, a potential antipsychotic agent, on yawning behavior in rats. *Pharmacol Biochem Behav* **53**:903-909.

Gaertner I, Gaertner HJ, Vonthein R, Dietz K (2001): Therapeutic drug monitoring of clozapine in relapse prevention: a five-year prospective study. *J Clin Psychopharmacol* **21**(3):305-10.

Geddes J, Freemantle N, Harrison P, Bebbington P (2000): Atypical antipsychotics in the treatment of schizophrenia: systematic overview and meta-regression analysis. *BMJ* **321**(7273):1371-1376.

Girardin F (2006): Membrane transporter proteins: a challenge for CNS drug development. *Dialogues Clin Neurosci* **8**(3):311-321.

Goff DC, Coyle JT (2001): The Emerging Role of Glutamate in the Pathophysiology and Treatment of Schizophrenia. *Am J Psychiatry* **158**:1367–1377.

Gold JM (2004): Cognitive deficits as treatment targets in schizophrenia. *Schizophr Res* **72**(1):21-28.

Goldberg TE, Goldman RS, Burdick KE, Malhotra AK, Lencz T, Patel RC, Woerner MG, Schooler NR, Kane JM, Robinson DG (2007): Cognitive improvement after treatment with second-generation antipsychotic medications in first-episode schizophrenia: is it a practice effect? *Arch Gen Psychiatry* **64**(10):1115-1122.

Green MF (2006): Cognitive impairment and functional outcome in schizophrenia and bipolar disorder. *J Clin Psychiatry* **67** Suppl 9:3-8.

Green MF, Kern RS, Heaton RK (2004): Longitudinal studies of cognition and functional outcome in schizophrenia: implications for MATRICS. *Schizophr Res* **72**(1):41-51.

Green MF, Marder SR, Glynn SM, McGurk SR, Wirshing WC, Wirshing DA, Liberman RP, Mintz J (2002): The neurocognitive effects of low-dose haloperidol: a two-year comparison with risperidone. *Biol Psychiatry* **51**(12):972-978.

Grimm SW, Richtand NM, Winter HR, Stams KR, Reece SB (2006): Effects of cytochrome P450 3A modulators ketoconazole and carbamazepine on quetiapine pharmacokinetics. *Br J Clin Pharmacol* **61**(1):58-69.

Gründer G, Carlsson A, Wong DF (2003): Mechanism of new antipsychotic medications: occupancy is not just antagonism. *Arch Gen Psychiatry* **60**(10):974-977.

Guy W (1976): Clinical global impressions. In: EDEU assessment manual for psychopharmacology. Revised DHEW Pub (ADM). Rockville, MD: National Institute for Mental Health. pp 218-222.

Harvey PD, Keefe RS (2001): Studies of cognitive change in patients with schizophrenia following novel antipsychotic treatment. *Am J Psychiatry* **158**(2):176-184.

He J, Xu H, Yang Y, Rajakumar D, Li X, Li XM (2006): The effects of chronic administration of quetiapine on the phencyclidine-induced reference memory impairment and decrease of Bcl-XL/Bax ratio in the posterior cingulate cortex in rats. *Behav Brain Res* **168**(2):236-242.

Heinz A, Romero B, Gallinat J, Juckel G, Weinberger DR (2003): Molecular brain imaging and the neurobiology and genetics of schizophrenia. *Pharmacopsychiatry* **36** Suppl 3:S152-157.

Henning U, Löffler S, Krieger K, Klimke A (2002): Uptake of clozapine into HL-60 promyelocytic leukaemia cells. *Pharmacopsychiatry* **35**(3):90-95.

Hertzmann M, Reba RC, Kotlyarov EV (1990): Single photon emission computed tomography in phencyclidine and related drug abuse. *Am J Psychiatry* **147**(2):255-256.

Hicks PB (1990): The effect of serotonergic agents on haloperidol-induced catalepsy. *Life Sci* **47**:1609-1615.

Hiemke C (2004 a): Therapeutisches Drug Monitoring von Antidepressiva und Antipsychotika. *J Lab Med* **28**(4):326-333.

Hiemke C, Dragicevic A, Gründer G, Hatter S, Sachse J, Vernaleken I, Muller MJ (2004 b): Therapeutic monitoring of new antipsychotic drugs. *Ther Drug Monit* **26**(2):156-160.

Higgins CF (1992): ABC transporters: from microorganisms to man. *Annu Rev Cell Biol* **8**:67-113.

Hippius H (1999): A historical perspective of clozapine. *J Clin Psychiatry* **60** Suppl 12:22-23.

Hoffmeyer S, Burk O, von Richter O, Arnold H P, Brockmöller J, John A, Cascorbi I, Gerloff T, Roots I, Eichelbaum M, Brinkmann U (2000): Functional polymorphisms of the human multidrugresistance gene: Multiple sequence variations and correlation of one allele with P-glycoprotein expression and activity *in vivo*. *Proc Natl Acad Sci U S A* **97**:3473-3478.

Horio M, Gottesman MM, Pastan I (1988): ATP-dependent transport of vinblastine in vesicles from human multidrug-resistant cells. *Proc Natl Acad Sci U S A* **85**(10):3580-3584.

Huang ML, Van Peer A, Woestenborghs R, De Coster R, Heykants J, Jansen AA, Zyllicz Z, Visscher HW, Jonkman JH (1993): Pharmacokinetics of the novel antipsychotic agent risperidone and the prolactin response in healthy subjects. *Clin Pharmacol Ther* **54**:257-268.

Hyde LA, Hoplight BJ, Denenberg VH (1998): Water version of the radial-arm maze: Learning in three inbred strains of Mice. *Brain Res* **785**:236-244.

Ichikawa J, Ishii H, Bonaccorso S, Fowler WL, O'Laughlin IA, Meltzer HY (2001): 5-HT(2A) and D(2) receptor blockade increases cortical DA release via 5-HT(1A) receptor activation: a possible mechanism of atypical antipsychotic-induced cortical dopamine release. *J Neurochem* **76**:1521-1531.

Imperato A, Di Chiara G (1985): Dopamine release and metabolism in awake rats after systemic neuroleptics as studied by trans-striatal dialysis. *J Neurosci* **5**:297-306.

Inoue T, Domae M, Yamada K, Furukawa T (1996): Effects of the novel antipsychotic agent 7-(4-[4-(2,3-dichlorophenyl)-1-piperazinyl]butyloxy)-3,4-dihydro-2(1H)-quinolinone (OPC-14597) on prolactin release from the rat anterior pituitary gland. *J Pharmacol Exp Ther* **277**:137-143.

Invernizzi RW, Cervo L, Samanin R (1988): 8-Hydroxy-2-(di-n-propylamino) tetralin, a selective serotonin_{1A} receptor agonist, blocks haloperidol-induced catalepsy by an action on raphe nuclei medianus and dorsalis. *Neuropharmacology* **27**:515-518.

Iyer RN, Bradberry CW (1996): Serotonin-mediated increase in prefrontal cortex dopamine release: pharmacological characterization. *J Pharmacol Exp Ther* **277**(1):40-47.

Jentsch JD, Redmond DE Jr, Elsworth JD, Taylor JR, Youngren KD, Roth RH (1997): Enduring cognitive deficits and cortical dopamine dysfunction in monkeys after long-term administration of phencyclidine. *Science* **277**(5328):953-955.

Johanson CE, Duncan JA, Stopa EG, Baird A (2005): Enhanced prospects for drug delivery and brain targeting by the choroid plexus-CSF route. *Pharm Res* **22**(7):1011-1037.

Jones BJ, Roberts DJ (1968): A rotarod suitable for quantitative measurements of motor incoordination in naive mice. *Naunyn Schmiedebergs Arch Exp Pathol Pharmacol* **259**(2):211.

Jordan S, Chen R, Johnson J, REGARDIE K, Tadori Y, Kikuchi T (2002 b): Aripiprazole is a potent, partial agonist at cloned human D_{2L} and native rat 5-HT_{1A} receptors. *Eur Neuropsychopharmacol* **12** Suppl 3:293-294.

Jordan S, Koprivica V, Chen R, Tottori K, Kikuchi T, Altar CA (2002 a): The antipsychotic aripiprazole is a potent, partial agonist at the human 5-HT_{1A} receptor. *Eur J Pharmacol* **441**:137-140.

Jordan S, Koprivica V, Dunn R, Tottori K, Kikuchi T, Altar CA (2004): In vivo effects of aripiprazole on cortical and striatal dopaminergic and serotonergic function. *Eur J Pharmacol* **483**:45-53.

Joy CB, Adams CE, Lawrie SM (2006): Haloperidol versus placebo for schizophrenia. *Cochrane Database of Systematic Reviews* (4). Art. No.: CD003082. DOI: 10.1002/14651858.CD003082.pub2.

Juliano RL, Ling V (1976): A surface glycoprotein modulating drug permeability in Chinese hamster ovary cell mutants. *Biochim Biophys Acta* **455**(1):152-162.

Kandel ER, Schwartz JH, Jessell TM (2000): Principles of Neural Science. McGraw-Hill, New York, 1188 pp.

Kane JM, Carson WH, Saha AR, McQuade RD, Ingenito GG, Zimbhoff DL, Ali MW (2002): Efficacy and safety of aripiprazole and haloperidol versus placebo in patients with schizophrenia and schizoaffective disorder. *J Clin Psychiatry* **63**:763-771.

Kapur S, Remington G (2001): Dopamine D(2) receptors and their role in atypical antipsychotic action: still necessary and may even be sufficient. *Biol Psychiatry* **50**(11):873-883.

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 RB, Remington G, Jones C, DaSilva J, Wilson AA, Houle S (1998): 5-HT₂ and D₂ receptor occupancy of olanzapine in schizophrenia: a PET investigation. *Am J Psychiatry* **155**(7):921-928.

Kasper S, Resinger E (2003): Cognitive effects and antipsychotic treatment. *Psychoneuroendocrinology* **28** Suppl 1:27-38.

Keefe RS, Bilder RM, Davis SM, Harvey PD, Palmer BW, Gold JM, Meltzer HY, Green MF, Capuano G, Stroup TS, McEvoy JP, Swartz MS, Rosenheck RA, Perkins DO, Davis CE, Hsiao JK, Lieberman JA; CATIE Investigators; Neurocognitive Working Group (2007): Neurocognitive effects of antipsychotic medications in patients with chronic schizophrenia in the CATIE Trial. *Arch Gen Psychiatry* **64**(6):633-647.

Keefe RS, Silva SG, Perkins DO, Lieberman JA (1999): The effects of atypical antipsychotic drugs on neurocognitive impairment in schizophrenia: a review and meta-analysis. *Schizophr Bull* **25**(2):201-222.

Kegeles LS, Abi-Dargham A, Zea-Ponce Y, Rodenhiser-Hill J, Mann JJ, Van Heertum RL, Cooper TB, Carlsson A, Laruelle M (2000): Modulation of amphetamine-induced striatal dopamine release by ketamine in humans: implications for schizophrenia. *Biol Psychiatry* **48**(7):627-640.

Kelly MA, Rubinstein M, Phillips TJ, Lessov CN, Burkhart-Kasch S, Zhang G, Bunzow JR, Fang Y, Gerhardt GA, Grandy DK, Low MJ (1998): Locomotor activity in D2 dopamine receptor-deficient mice is determined by gene dosage, genetic background, and developmental adaptations. *J Neurosci* **18**:3470-3479.

Kern RS, Green MF, Cornblatt BA, Owen JR, McQuade RD, Carson WH, Ali M, Marcus R (2006): The neurocognitive effects of aripiprazole: an open-label comparison with olanzapine. *Psychopharmacology (Berl)* **187**(3):312-320.

Kessler RM, Ansari MS, Riccardi P, Li R, Jayathilake K, Dawant B, Meltzer HY (2005): Occupancy of striatal and extrastriatal dopamine D2/D3 receptors by olanzapine and haloperidol. *Neuropsychopharmacology* **30**(12):2283-2289.

Kikuchi T, Tottori K, Uwahodo Y, Hirose T, Miwa T, Oshiro Y, Morita S (1995): 7-(4-[4-(2,3-Dichlorophenyl)-1-piperazinyl]butyloxy)-3,4-dihydro-2(1H)-quinolinone (OPC-

14597), a new putative antipsychotic drug with both presynaptic dopamine autoreceptor agonistic activity and postsynaptic D2 receptor antagonistic activity. *J Pharmacol Exp Ther* **274**:329-336.

Kim RB, Leake BF, Choo EF, Dresser GK, Kubba SV, Schwarz UI, Taylor A, Xie HG, McKinsey J, Zhou S, et al (2001): Identification of functionally variant MDR1 alleles among European Americans and African Americans. *Clin Pharmacol Ther* **70**:189-199.

Kleven MS, Barret-Grevoz C, Bruins Slot L, Newman-Tancredi A (2005): Novel antipsychotic agents with 5-HT(1A) agonist properties: role of 5-HT(1A) receptor activation in attenuation of catalepsy induction in rats. *Neuropharmacology* **49**:135-143.

Korpi ER, Koikkalainen P, Vekovischeva OY, Makela R, Kleinz R, Uusi-Oukari M, Wisden W (1999): Cerebellar granule-cell-specific GABAA receptors attenuate benzodiazepine-induced ataxia: evidence from alpha 6-subunit-deficient mice. *Eur J Neurosci* **11**:233-240.

Kralic JE, O'Buckley TK, Khisti RT, Hodge CW, Homanics GE, Morrow AL (2002): GABA(A) receptor alpha-1 subunit deletion alters receptor subtype assembly, pharmacological and behavioral responses to benzodiazepines and zolpidem. *Neuropharmacology* **43**:685-694.

Kramer M, Simpson G, Maciulis V, Kushner S, Vijapurkar U, Lim P, Eerdeken M (2007): Paliperidone extended-release tablets for prevention of symptom recurrence in patients with schizophrenia: a randomized, double-blind, placebo-controlled study. *J Clin Psychopharmacol* **27**(1):6-14. Erratum in: *J Clin Psychopharmacol* **27**(3):258.

Krystal JH, Seibyl JP, Price LH, Woods SW, Heninger GR, Aghajanian GK, Charney DS (1993): m-Chlorophenylpiperazine effects in neuroleptic-free schizophrenic patients. Evidence implicating serotonergic systems in the positive symptoms of schizophrenia. *Arch Gen Psychiatry* **50**(8):624-635.

Kubo M, Koue T, Inaba A, Takeda H, Maune H, Fukuda T, Azuma J (2005): Influence of itraconazole co-administration and genotype on the pharmacokinetics of the new antipsychotic ARIPIPRAZOLE. *Drug Metab Pharmacokinet* **20**:55-64.

Lahti AC, Weiler MA, Corey PK, Lahti RA, Carlsson A, Tamminga CA (1998): Antipsychotic properties of the partial dopamine agonist (-)-3-(3-hydroxyphenyl)-N-n-propylpiperidine(preclamol) in schizophrenia. *Biol Psychiatry* **43**(1):2-11.

Laruelle M, Abi-Dargham A, van Dyck CH, Gil R, D'Souza CD, Erdos J, McCance E, Rosenblatt W, Fingado C, Zoghbi SS, et al (1996): Single photon emission computerized tomography imaging of amphetamine-induced dopamine release in drug-free schizophrenic subjects. *Proc Natl Acad Sci U S A* **93**(17):9235-9240.

Laruelle M, Kegeles LS, Abi-Dargham A (2003): Glutamate, dopamine, and schizophrenia: from pathophysiology to treatment. *Ann N Y Acad Sci* **1003**:138-158.

Lawler CP, Prioleau C, Lewis MM, Mak C, Jiang D, Schetz JA, Gonzalez AM, Sibley DR, Mailman RB (1999): Interactions of the novel antipsychotic aripiprazole (OPC-14597) with dopamine and serotonin receptor subtypes. *Neuropsychopharmacology* **20**:612-627.

Leucht S, Kane JM, Kissling W, Hamann J, Etschel E, Engel RR (2005): Clinical implications of Brief Psychiatric Rating Scale scores. *Br J Psychiatry* **187**:366-371.

Leysen JE, Gommeren W, Eens A, de Chaffoy de Courcelles D, Stoof JC, Janssen PA (1988): Biochemical profile of risperidone, a new antipsychotic. *J Pharmacol Exp Ther* **247**:661-670.

Li Z, Ichikawa J, Dai J, Meltzer HY (2004): Aripiprazole, a novel antipsychotic drug, preferentially increases dopamine release in the prefrontal cortex and hippocampus in rat brain. *Eur J Pharmacol* **493**:75-83.

Lieberman JA (2004): Dopamine partial agonists. A new class of antipsychotic. *CNS Drugs* **18**(4):251-267.

Lieberman JA, Kane JM, Alvir J (1987): Provocative tests with psychostimulant drugs in schizophrenia. *Psychopharmacology* **91**:415-433.

Lieberman JA, Mailman RB, Duncan G, Sikich L, Chakos M, Nichols DE, Kraus JE (1998): Serotonergic basis of antipsychotic drug effects in schizophrenia. *Biol Psychiatry* **44**(11):1099-1117.

Lieberman JA, Stroup TS, McEvoy JP, Swartz MS, Rosenheck RA, Perkins DO, Keefe RS, Davis SM, Davis CE, Lebowitz BD, Severe J, Hsiao JK; Clinical Antipsychotic Trials of Intervention Effectiveness (CATIE) Investigators (2005): Effectiveness of antipsychotic drugs in patients with chronic schizophrenia. *N Engl J Med* **353**(12):1209-1223.

Lin JH (2003): Drug-drug interaction mediated by inhibition and induction of P-glycoprotein. *Adv Drug Deliv Rev* **55**(1):53-81.

Lin YC, Ellingrod VL, Bishop JR, Miller del D (2006): The relationship between P-glycoprotein (PGP) polymorphisms and response to olanzapine treatment in schizophrenia. *Ther Drug Monit* **28**(5):668-672.

Lingjærde O, Ahlfors UG, Bech P, Dencker SJ, Elgen K. (1987): The UKU side effect rating scale. A new comprehensive rating scale for psychotropic drugs and a cross-sectional study of side effects in neuroleptic-treated patients. *Acta Psychiatr Scand Suppl* **334**:1-100.

Linnet K, Ejlsing TB (2007): A review on the impact of P-glycoprotein on the penetration of drugs into the brain. Focus on psychotropic drugs. *Eur Neuropsychopharmacol* [Epub ahead of print].

Maines LW, Antonetti DA, Wolpert EB, Smith CD (2005): Evaluation of the role of P-glycoprotein in the uptake of paroxetine, clozapine, phenytoin and carbamazepine by bovine retinal endothelial cells. *Neuropharmacology* **49**(5):610-617.

Marder SR, Meibach RC (1994): Risperidone in the treatment of schizophrenia. *Am J Psychiatry* **151**(6):825-835.

McGurk SR, Carter C, Goldman R, Green MF, Marder SR, Xie H, Schooler NR, Kane JM (2005): The effects of clozapine and risperidone on spatial working memory in schizophrenia. *Am J Psychiatry* **162**(5):1013-1016.

McQuade R, Burris KD, Jordan S, Tottori K, Kurahashi N, Kikuchi T (2002): Aripiprazole: a dopamine-serotonin system stabilizer. *Int J Neuropsychopharmacol* **5** Suppl 1:S176.

Meltzer HY, McGurk SR (1999): The effects of clozapine, risperidone, and olanzapine on cognitive function in schizophrenia. *Schizophr Bull* **25**(2):233-255.

Millan MJ (2000): Improving the treatment of schizophrenia: focus on serotonin (5-HT)(1A) receptors. *J Pharmacol Exp Ther* **295**(3):853-861.

Mishima K, Tanoue A, Tsuda M, Hasebe N, Fukue Y, Egashira N, Takano Y, Kamiya HO, Tsujimoto G, Iwasaki K, Fujiwara M (2004): Characteristics of behavioral abnormalities in alpha1d-adrenoceptors deficient mice. *Behav Brain Res* **152**(2):365-373.

Mizutani T (2003): PM frequencies of major CYPs in Asians and Caucasians. *Drug Metab Rev* **35**:99-106.

Molden E, Lunde H, Lunder N, Refsum H (2006): Pharmacokinetic variability of aripiprazole and the active metabolite dehydroaripiprazole in psychiatric patients. *Ther Drug Monit* **28**:744-749.

Morris R (1984): Developments of a water-maze procedure for studying spatial learning in the rat. *J Neurosci Methods* **11**(1):47-60.

Morris RG, Garrud P, Rawlins JN, O'Keefe J (1982): Place navigation impaired in rats with hippocampal lesions. *Nature* **297**(5868):681-683.

Müller MJ, Regenbogen B, Härtter S, Eich FX, Hiemke C (2007): Therapeutic drug monitoring for optimizing amisulpride therapy in patients with schizophrenia. *J Psychiatr Res* **41**(8):673-679.

Nakagami T, Yasui-Furukori N, Saito M, Teteishi T, Kaneo S (2005): Effect of verapamil on pharmacokinetics and pharmacodynamics of risperidone: In vivo evidence of involvement of P-glycoprotein in risperidone disposition. *Clin Pharmacol Ther* **78**:43-51.

Nakai S, Hirose T, Uwahodo Y, Imaoka T, Okazaki H, Miwa T, Nakai M, Yamada S, Dunn B, Burris KD, et al (2003): Diminished catalepsy and dopamine metabolism distinguish aripiprazole from haloperidol or risperidone. *Eur J Pharmacol* **472**:89-97.

Nordström AL, Farde L, Wiesel FA, Forslund K, Pauli S, Halldin C, Uppfeldt G (1993): Central D2-dopamine receptor occupancy in relation to antipsychotic drug effects: a double-blind PET study of schizophrenic patients. *Biol Psychiatry* **33**(4):227-235.

Novartis Pharmaceuticals Corporation (2005): Clozaril® Prescribing Information. [online]. Available from URL: <http://www.pharma.us.novartis.com>

Nuechterlein KH, Barch DM, Gold JM, Goldberg TE, Green MF, Heaton RK (2004): Identification of separable cognitive factors in schizophrenia. *Schizophr Res* **72**(1):29-39.

Olton DS, Samuelson RJ (1976): Remembrance of places passed: Spatial memory in rats. *J Exp Psychol Anim Behav Process* **2**(2):97-116.

Perrault GH, Depoortere R, Morel E, Sanger DJ, 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.

Pertwee RG (1972): The ring test: a quantitative method for assessing the 'cataleptic' effect of cannabis in mice. *Br J Pharmacol* **46**:753-763.

Pfrunder A, Schiesser M, Gerber S, Haschke M, Bitzer J, Drewe J (2003): Interaction of St John's wort with low-dose oral contraceptive therapy: a randomized controlled trial. *Br J Clin Pharmacol* **56**(6):683-690.

Plotzky G, Drescher KU, Browman KE, Briggs AC, Gross G, Decker MW, Fox GB (2005): Differences in cognitive function and acetylcholine release distinguish aripiprazole from other antipsychotic drugs. 35th Annual Meeting of the Society of Neuroscience, Washington D.C., November 12-16, 2005; Poster-Nr. 914.14

Rasmusson AM, Goldstein LE, Deutch AY, Bunney BS, Roth RH (1994): 5-HT_{1a} agonist +/-8-OH-DPAT modulates basal and stress-induced changes in medial prefrontal cortical dopamine. *Synapse* **18**:218-224.

Richelson E (1999): Receptor pharmacology of neuroleptics: relation to clinical effects. *J Clin Psychiatry* **60** Suppl 10:5-14.

Royle SJ, Collins FC, Rupniak HT, Barnes JC, Anderson R (1999): Behavioural analysis and susceptibility to CNS injury of four inbred strains of mice. *Brain Res* **816**(2):337-349.

Sachse C, Brockmoller J, Bauer S, Roots I (1997): Cytochrome P450 2D6 variants in a Caucasian population: allele frequencies and phenotypic consequences. *Am J Hum Genet* **60**:265-271.

Sachse J, Härtter S, Weigmann H, Hiemke C (2003): Automated determination of amisulpride by liquid chromatography with column switching and spectrophotometric detection. *J Chromat B* **784**:405-410.

Sachse J, Köller J, Härtter S, Hiemke C (2006): Automated analysis of quetiapine and other antipsychotic drugs in human blood by high performance-liquid chromatography with column-switching and spectrophotometric detection. *J Chromat B* **830**:342-348.

Saller CF, Salama AI (1993): Seroquel: biochemical profile of a potential atypical antipsychotic. *Psychopharmacology (Berl)* **112**(2-3):285-292.

Sanberg PR, Bunsey MD, Giordano M, Norman AB (1988): The catalepsy test: its ups and downs. *Behav Neurosci* **102**(5):748-759.

Schinkel AH, Wagenaar E, Mol CA, van Deemter L (1996): P-Glycoprotein in the Blood-Brain Barrier of Mice Influences the Brain Penetration and Pharmacological Activity of Many Drugs. *J Clin Invest* **97**:2517-2524.

Schinkel AH, Mayer U, Wagenaar E, Mol CA, van Deemter L, Smit JJ, van der Valk MA, Voordouw AC, Spits H, van Tellingen O, et al (1997): Normal viability and altered pharmacokinetics in mice lacking *mdr1*-type (drug-transporting) P-glycoproteins. *Proc Natl Acad Sci U S A* **94**:4028-4033.

Schinkel AH, Smit JJ, van Tellingen O, Beijnen JH, Wagenaar E, van Deemter L, Mol CA, van der Valk MA, Robanus-Maandag EC, te Riele HP, et al (1994): Disruption of the mouse *mdr1a* P-glycoprotein gene leads to a deficiency in the blood-brain barrier and to increased sensitivity to drugs. *Cell* **77**:491-502.

Schmitt U, Abou El-Ela A, Guo LJ, Glavinas H, Krajcsi P, Baron JM, Tillmann C, Hiemke C, Langguth P, Hartter S (2006): Cyclosporine A (CsA) affects the pharmacodynamics and pharmacokinetics of the atypical antipsychotic amisulpride probably via inhibition of P-glycoprotein (P-gp). *J Neural Transm* **113**(7):787-801.

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.

Seeman P (2002): Atypical antipsychotics: mechanism of action. *Can J Psychiatry* **47**(1):27-38.

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**:785-791.

Shapiro DA, Renock S, Arrington E, Chiodo LA, Liu LX, Sibley DR, Roth BL, Mailman R (2003): Aripiprazole, a novel atypical antipsychotic drug with a unique and robust pharmacology. *Neuropsychopharmacology* **28**:1400-1411.

Stahl SM (1998): What makes an antipsychotic atypical? *J Clin Psychiatry* **59**(8):403-404.

Stahl SM (1999): Introduction: What makes an antipsychotic atypical? *J Clin Psychiatry* **60** Suppl 10:3-4.

Stahl SM (2001 a): Dopamine system stabilizers, aripiprazole, and the next generation of antipsychotics, part 1, "Goldilocks" actions at dopamine receptors. *J Clin Psychiatry* **62**(11):841-842.

Stahl SM (2001 b): Dopamine system stabilizers, aripiprazole, and the next generation of antipsychotics, part 2: illustrating their mechanism of action. *J Clin Psychiatry* **62**(12):923-924.

Stanley JL, Lincoln RJ, Brown TA, McDonald LM, Dawson GR, Reynolds DS (2005): The mouse beam walking assay offers improved sensitivity over the mouse rotarod in determining motor coordination deficits induced by benzodiazepines. *J Psychopharmacol* **19**:221-227.

Stefkova J, Poledne R, Hubacek JA (2004): ATP-binding cassette (ABC) transporters in human metabolism and diseases. *Physiol Res* **53**(3):235-243.

Sun H, Dai H, Shaik N, Elmquist WF (2003): Drug efflux transporters in the CNS. *Adv Drug Deliv Rev* **55**(1):83-105.

Tada M, Shirakawa K, Matsuoka N, Mutoh S (2004): Combined treatment of quetiapine with haloperidol in animal models of antipsychotic effect and extrapyramidal side effects: comparison with risperidone and chlorpromazine. *Psychopharmacol* **176**:94-100.

Tamminga C (2006): The neurobiology of cognition in schizophrenia. *J Clin Psychiatry* **67** Suppl 9:9-13.

Tanabe M, Ieiri I, Nagata N, Inoue K, Ito S, Kanamori Y, Takahashi M, Kurata Y, Kigawa J, Higuchi S, et al (2001): Expression of P-glycoprotein in human placenta: relation to genetic polymorphism of the multidrug resistance (MDR)-1 gene. *J Pharmacol Exp Ther* **297**(3):1137-1143.

Tanda G, Carboni E, Frau R, Di Chiara G (1994): Increase of extracellular dopamine in the prefrontal cortex: a trait of drugs with antidepressant potential? *Psychopharmacology* **115**:285-288.

Tandon R, Marcus RN, Stock EG, Riera LC, Kostic D, Pans M, McQuade RD, Nyilas M, Iwamoto T, Crandall DT (2006): A prospective, multicenter, randomized, parallel-group, open-label study of aripiprazole in the management of patients with schizophrenia or schizoaffective disorder in general psychiatric practice: Broad Effectiveness Trial With Aripiprazole (BETA). *Schizophr Res* **84**:77-89.

Thiebaut F, Tsuruo T, Hamada H, Gottesman MM, Pastan I, Willingham MC (1987): Cellular localization of the multidrug-resistance gene product P-glycoprotein in normal human tissues. *Proc Natl Acad Sci U S A* **84**:7735-7738.

Tölle R, Windgassen K (2003): *Psychiatrie*. Springer-Verlag, Berlin, 191 pp.

Tollefson GD, Beasley CM Jr, Tran PV, Street JS, Krueger JA, Tamura RN, Graffeo KA, Thieme ME (1997): Olanzapine versus haloperidol in the treatment of schizophrenia and schizoaffective and schizophreniform disorders: results of an international collaborative trial. *Am J Psychiatry* **154**(4):457-465.

Tsujikawa K, Dan Y, Nogawa K, Sato H, Yamada Y, Murakami H, Ohtani H, Sawada Y, Iga T (2003): Potentiation of domperidone-induced catalepsy by a P-glycoprotein inhibitor, cyclosporin A. *Biopharm Drug Dispos* **24**:105-114.

Tyson PJ, Laws KR, Flowers KA, Tyson A, Mortimer AM (2006): Cognitive function and social abilities in patients with schizophrenia: relationship with atypical antipsychotics. *Psychiatry Clin Neurosci* **60**(4):473-479.

Ueda K, Cornwell MM, Gottesman MM, Pastan I, Roninson IB, Ling V, Riordan JR (1986): The *mdr1* gene, responsible for multidrug-resistance, codes for P-glycoprotein. *Biochem Biophys Res Commun* **141**(3):956-962.

Uhr M, Grauer MT, Holsboer F (2003): Differential Enhancement of Antidepressant Penetration into the Brain in Mice with *abcb1ab* (*mdr1ab*) P-Glycoprotein Gene Disruption. *Biol Psychiatry* **54**:840-846.

Uhr M, Steckler T, Yassouridis A, Holsboer F (2000): Penetration of amitriptyline, but not of fluoxetine, into brain is enhanced in mice with blood-brain barrier deficiency due to *mdr1a* P-glycoprotein gene disruption. *Neuropsychopharmacology* **22**(4):380-387.

Upchurch M, Wehner JM (1988): Differences between inbred strains of mice in Morris water maze performance. *Behav Genet* **18**(1):55-68.

Van Beijsterveldt LE, Geerts RJ, Leysen JE, Megens AA, Van den Eynde HM, Meuldermans WE, Heykants JJ (1994): Regional brain distribution of risperidone and its active metabolite 9-hydroxy-risperidone in the rat. *Psychopharmacology* **114**:53-62.

Vernaleken I, Siessmeier T, Buchholz HG, Hartter S, Hiemke C, Stoeter P, Rosch F, Bartenstein P, Gründer G (2004): High striatal occupancy of D2-like dopamine receptors by amisulpride in the brain of patients with schizophrenia. *Int J Neuropsychopharmacol* **7**(4):421-430.

Wadenberg ML, 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 ML, Soliman A, VanderSpek SC, Kapur S (2001): Dopamine D(2) receptor occupancy is a common mechanism underlying animal models of antipsychotics and their clinical effects. *Neuropsychopharmacology* **25**(5):633-641.

Wang JS, Ruan Y, Taylor RM, Donovan JL, Markowitz JS, DeVane CL (2004): The brain entry of risperidone and 9-hydroxyrisperidone is greatly limited by P-glycoprotein. *Int J Neuropsychopharmacol* **7**:415-419.

Wang JS, Zhu HJ, Markowitz JS, Donovan JL, DeVane CL (2006): Evaluation of antipsychotic drugs as inhibitors of multidrug resistance transporter P-glycoprotein. *Psychopharmacology* **187**:415-423.

Weiden PJ (2007): EPS profiles: the atypical antipsychotics are not all the same. *J Psychiatr Pract* **13**(1):13-24.

Weiss J, Dormann SM, Martin-Facklam M, Kerpen CJ, Ketabi-Kiyanvash N, Haefeli WE (2003): Inhibition of P-Glycoprotein by Newer Antidepressants. *J Pharmacol Exp Ther* **305**(1):197-204.

Westerink BH, Kawahara Y, De Boer P, Geels C, De Vries JB, Wikstrom HV, Van Kalker A, Van Vliet B, Kruse CG, Long SK (2001): Antipsychotic drugs classified by their effects on the release of dopamine and noradrenaline in the prefrontal cortex and striatum. *Eur J Pharmacol* **412**(2):127-138.

Willner P (1997): The dopamine hypothesis of schizophrenia: current status, future prospects. *Int Clin Psychopharmacol* **12**(6):297-308.

Worms P, Lloyd KG (1979): Predictability and specificity of behavioral screening tests for neuroleptics. *Pharmacol Ther [B]* **5**(1-3):445-450.

Xing Q, Gao R, Li H, Feng G, Xu M, Duan S, Meng J, Zhang A, Qin S, He L (2006): Polymorphisms of the ABCB1 gene are associated with the therapeutic response to risperidone in Chinese schizophrenia patients. *Pharmacogenomics* **7**:987-993.

Yamada S, Yokoo H, Nishi S (1994): Differential effects of dopamine agonists on evoked dopamine release from slices of striatum and nucleus accumbens in rats. *Brain Res* **648**:176-179.

Yokoi F, Gründer G, Biziere K, Stephane M, Dogan AS, Dannals RF, Ravert H, Suri A, Bramer S, Wong DF (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.

Yoshimura R, Ueda N, Nakamura J (2001): Possible Relationship between Combined Plasma Concentrations of Risperidone plus 9-Hydroxyrisperidone and Extrapyramidal Symptoms. *Neuropsychobiology* **44**:129-133.

Zetterström T, Sharp T, Ungerstedt U (1986): Effect of dopamine D-1 and D-2 receptor selective drugs on dopamine release and metabolism in rat striatum in vivo. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol* **334**:117-124.

Zetterström T, Ungerstedt U (1984): Effects of apomorphine on the in vivo release of dopamine and its metabolites, studied by brain dialysis. *Eur J Pharmacol* **97**:29-36.

Zhu HJ, Wang JS, Markowitz JS, Donovan JL, Gibson BB, DeVane CL (2006): Risperidone and Paliperidone Inhibit P-Glycoprotein Activity *In Vitro*. *Neuropsychopharmacology* **32**(4):757-764.

Zocchi A, Fabbri D, Heidbreder CA (2005): Aripiprazole increases dopamine but not noradrenaline and serotonin levels in the mouse prefrontal cortex. *Neurosci Lett* **387**:157-161.

6.2 Abkürzungsverzeichnis

α -Rezeptor	adrenerger Rezeptor
5-HT-Rezeptor	serotonerger Rezeptor
8-OH-DPAT	8-Hydroxy-dipropylaminotetralin
A	Adenin
ABC	ATP-binding cassette
ATP	Adenosintriphosphat
AUC	Area under the Curve
BCRP	Breast Cancer Resistance Protein
BPRS	Brief Psychiatric Rating Scale
C	Celsius
C	Cytosin
CGI	Clinical Global Impressions Scale
CLSI	Clinical and Laboratory Standards Institute
cm	Zentimeter
CNT	concentrative Nucleotidtransporter (Konzentrativer Natriumabhängiger Nukleosidtransporter)
C.V.	Variationskoeffizient
CYP	Cytochrom P450
d	Tag
DMSO	Dimethylsulfoxid
DOPAC	Dihydroxyphenylelessigsäure
D-Rezeptor	dopaminerger Rezeptor
ENT	equilibrativer Nukleosidtransporter (Adenosin Transporter)
EPS	Extrapyramidalmotorische Symptome
g	Erdbeschleunigung
g	Gramm
GABA	γ -Aminobuttersäure
h	Stunde
HPLC	Hochleistungsflüssigchromatographie
H-Rezeptor	Histaminrezeptor
HVA	Homovanillinsäure

i.p.	intra peritoneal
KO	Knockout
LOCF	Last Observation Carried Forward
mACh-Rezeptor	muskarinischer Acetylcholinrezeptor
m-CPP	m-Chlorophenylpiperazin
MANOVA	multivariate Varianzanalyse
MDR	Multidrug Resistenz Protein
mg	Milligramm
min	Minute
ml	Milliliter
M-Rezeptor	Muskarinrezeptor
MRP	Multidrug Resistenz assoziiertes Protein
NaCl	Natriumchlorid
NCCLS	National Committee for Clinical Laboratory Standards
ng	Nanogramm
NMDA	N-Methyl-D-Aspartat
OAT	Organischer Anionentransporter
OATP	Organisches Anionen Transportierendes Polypeptid
OCT	Organischer Kationentransporter
OROS [®]	Orales Osmotisches System
PANSS	Positive and Negative Syndrome Scale
PCP	Phencyclidin
PET	Positronen-Emissions-Tomographie
P-gp	P-Glykoprotein
p.o.	per oral
RAWM	Radial Arm Water Maze
RT	Retentionszeit
s	Sekunde
s.c.	sub cutan
SEM	Standardfehler
SPECT	Single-Photon-Emissionscomputertomographie
T	Thymin

TDM	Therapeutisches Drug Monitoring
TEMED	N,N,N,N-Tetramethylethyldiamin
UKU	Utvalg for Kliniske Undersogelser Nebenwirkungsskala
U/min	Umdrehungen pro Minute
UV-Lampe	Ultraviolett-Lampe
WT	Wildtyp
ZNS	Zentrales Nervensystem

6.3 Veröffentlichungen

Artikel

Katrin M Kirschbaum, Sandra Heller, Gabriele Stroba, Anette Rieger-Gies, Elisabeth Daum-Kreysch, Julia Sachse, Sebastian Härtter, Christoph Hiemke. Chemische Stabilität neuer Antidepressiva und Antipsychotika. *Psychopharmakotherapie* 2005;4:121-122

Katrin M Kirschbaum, Matthias J Müller, Gerald Zernig, Alois Saria, Arian Mobascher, Jaroslav Malevani, Christoph Hiemke. Therapeutic monitoring of aripiprazole by HPLC with column-switching and spectrophotometric detection. *Clin Chem.* 2005 Sep;51(9):1718-1721

Katrin M Kirschbaum, Matthias J Müller, Jaroslav Malevani, Arian Mobascher, Carsten Burchardt, Markus Piel, Christoph Hiemke. Serum levels of aripiprazole and dehydroaripiprazole, clinical response and side effects. *World J Biol Psychiatry.* 2007 May 11;:1-7 [Epub ahead of print]

Katrin M Kirschbaum, Susann Finger, Friederike Vogel, Rainer Burger, Manfred Gerlach, Peter Riederer, Christoph Hiemke. High-Performance Liquid Chromatography with Column-Switching and Spectrophotometric Detection for Determination of Risperidone and 9-Hydroxyrisperidone in Human Serum. *Chromatographia*; doi: 10.1365/s10337-007-0506-1

Katrin M Kirschbaum, Stefanie Henken, Christoph Hiemke, Ulrich Schmitt. Pharmacodynamic consequences of P-glycoprotein dependent pharmacokinetics of risperidone and haloperidol in mice. *Behav Brain Res.* 2007 doi:10.1016/j.bbr.2007.11.009

Gerhard Gründer, Christine Fellows, Anno Bröcheler, Tanja Veselinovic, Christian Boy, Hildegard Janouschek, **Katrin M Kirschbaum**, Sandra Hellmann, Katja Spreckelmeyer, Christoph Hiemke, Frank Rösch, Wolfgang Schäfer, Ingo Vernaleken. The Brain and Plasma Pharmacokinetics of Aripiprazole in Patients with Schizophrenia: a [¹⁸F]Fallypride PET Study. *Am J Psychiatry*; submitted

Katrin M Kirschbaum. Antipsychotikum mit neuem Wirkmechanismus. Aktivierung von mGlu2/3-Rezeptoren als neuer Therapieansatz für die Behandlung der Schizophrenie. *InFo Neurologie & Psychiatrie*; Kommentar; in press

Poster

Katrin M Kirschbaum, Matthias J Müller, Arian Mobascher, Jaroslav Malevani, Christoph Hiemke. Therapeutic drug monitoring of aripiprazole. 24. Symposium der AGNP 2005, München. *Pharmacopsychiatry* 2005;38(5):A118

Katrin M Kirschbaum, Christoph Hiemke, Ulrich Schmitt. Behavioral impairment caused by different generation antipsychotics in mice – Rotarod vs. catalepsy test. IAK Neuro Symposium 2005, Mainz, Poster Nr. 21

Susann Finger, **Katrin M Kirschbaum,** Sandra Heller, Rainer Burger, Manfred Gerlach, Peter Riederer, Christoph Hiemke. Therapeutic drug monitoring of risperidone. TDM-AGNP 2006, Sölden Österreich, Poster Nr. 4

Katrin M Kirschbaum, Matthias J Müller, Arian Mobascher, Jaroslav Malevani, Christoph Hiemke. Aripiprazole serum levels, clinical response, and side effects. XXIVth CINP Congress 2006, Chicago USA. *Int J Neuropsychopharmacol.* 2006 Jul;9 Suppl 1:S249

Katrin M Kirschbaum, Stefanie Henken, Christoph Hiemke, Ulrich Schmitt. Behavioral impairment caused by different generation antipsychotics in mice with deficient p-glycoprotein. XXIVth CINP Congress 2006, Chicago USA. *Int J Neuropsychopharmacol.* 2006 Jul;9 Suppl 1:S264

Katrin M Kirschbaum, Matthias J Müller, Arian Mobascher, Jaroslav Malevani, Markus Piel, Christoph Hiemke. Aripiprazole and Dehydroaripiprazole Serum Levels, Clinical Response and Side Effects. DGPPN Kongress 2006, Berlin. *Nervenarzt.* 2006 Nov;77 Suppl 3:S141

Katrin M Kirschbaum, Stefanie Henken, Christoph Hiemke, Ulrich Schmitt. Cognitive performance of P-glycoprotein deficient and wildtype mice under treatment with antipsychotics. IAK Neuro Symposium 2006, Mainz, Poster Nr. 33

Katrin M Kirschbaum, Stefanie Henken, Christoph Hiemke, Ulrich Schmitt. Pharmacodynamic effects of antipsychotic treatment with respect to P-glycoprotein: Investigation in an 8-arm radial water maze task. EBPS 2007, Tübingen. *Behav Pharmacol* 2007;18 (Suppl.1):S71

Katrin M Kirschbaum, Stefanie Henken, Christoph Hiemke, Ulrich Schmitt. Pharmacodynamics and pharmacokinetics of risperidone and paliperidone with respect to P-glycoprotein expression. 25. Symposium der AGNP 2007, München. *Pharmacopsychiatry* 2007;40(5):A090

Katrin M Kirschbaum, Manfred Uhr, Christoph Hiemke, Ulrich Schmitt. Multi-Drug-Resistance proteins affect antipsychotic treatment: in vivo effects of aripiprazole. 25. Symposium der AGNP 2007, München; *Pharmacopsychiatry* 2007;40(5):A091

Katrin M Kirschbaum, Christoph Hiemke, Ulrich Schmitt. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of aripiprazole and dehydroaripiprazole in P-glycoprotein deficient mice. DGPPN Kongress 2007, Berlin. *Nervenarzt*. 2007 Nov;78 Suppl 2:S68

Vorträge

Katrin M Kirschbaum, Matthias J Müller, Arian Mobascher, Jaroslav Malevani, Christoph Hiemke. Aripiprazol-Serumspiegel, klinisches Ansprechen und Nebenwirkungen. TDM-AGNP 2006, Sölden Österreich

Stefanie Henken, **Katrin M Kirschbaum**, Christoph Hiemke, Ulrich Schmitt. Cognitive effects of acute treatment with risperidone, aripiprazole, and haloperidol on performance of an 8-arm radial water maze task in mice. Neuroscience 2006, Atlanta USA. Soc. Neurosci. Abstractviewer/Itinerary Planner Program No.614.8

Katrin M Kirschbaum, Christoph Hiemke, Ulrich Schmitt. Die Blut-Hirnschranke - ihre Rolle für die Effektivität von Antipsychotika im Tiermodell. ANPT- Symposium im

Rahmen der Frühjahrstagung der Deutschen Gesellschaft für experimentelle und klinische Pharmakologie und Toxikologie (DGPT) 2007, Mainz

Katrin M Kirschbaum, Manfred Uhr, Christoph Hiemke, Ulrich Schmitt. Multi-Drug-Resistance proteins affect antipsychotic treatment: in vivo effects of aripiprazole. 25. Symposium der AGNP 2007, München; Vortrag Hot Topics IV A 022
Pharmacopsychiatry 2007;40(5):A091