

**Der Einfluss von Clozapin, N-Desmethylozapin und Chlorpromazin auf die  
in-vitro-Produktion von Thromboxan**

Dissertation  
zur Erlangung des akademischen Grades  
Dr. med.  
an der Medizinischen Fakultät  
der Universität Leipzig

eingereicht von:  
Renate Luise Schmidt  
geboren am 22.11.1987 in Borna

angefertigt an der:  
Claussen-Simon-Stiftungsprofessur für Neurobiologie affektiver Störungen innerhalb der  
Klinik und Poliklinik für Psychiatrie und Psychotherapie der Universität Leipzig

Betreuer:  
Prof. Dr. med. Hubertus Himmerich  
PD Dr. rer. nat. Uta Ceglarek

Beschluss über die Verleihung des Doktorgrades vom

22.07.2014

Meinen Eltern,  
Sabine und Stephan Schmidt.

## **Inhaltsverzeichnis**

	Seite
<b>1. Einführung</b>	2
1.1 Symptomatik und Ätiopathogenese der Schizophrenie	
1.2 Eikosanoide und mehrfach ungesättigte Fettsäuren	
1.3 Eikosanoide und monoaminerge Veränderungen bei Schizophrenie	
1.4 Eikosanoide und immunologische Veränderungen bei Schizophrenie	
1.5 Eikosanoide und hormonelle Veränderungen bei Schizophrenie	
1.6 Membranlipide und Eikosanoide in schizophrenen Patienten	
1.7 Therapeutische Optionen für die Behandlung der Schizophrenie	
1.8 Der Vollbluttest als in-vitro-Verfahren für psychopharmakologische Untersuchungen	
<b>2. Aufgabenstellung</b>	26
<b>3. Materialien und Methoden</b>	27
3.1 Versuchspersonen	
3.2 Versuchsdurchführung	
3.3 TxB <sub>2</sub> -Messung	
3.4 Statistische Analyse	
3.5 Ethik	
<b>4. Ergebnisse</b>	30
<b>5. Diskussion</b>	34
5.1 Zusammenfassung der Ergebnisse	
5.2 Bedeutung der Ergebnisse	
5.3 Limitationen der Untersuchung	
5.4 Besonderheiten des Vollblutverfahrens in der psychopharmakologischen Forschung	
5.5 Zusammenfassung der Ergebnisinterpretation basierend auf der Literatur	
5.6 Anmerkung	
<b>6. Zusammenfassung</b>	37
<b>7. Literaturverzeichnis</b>	39
<b>8. Anlagen</b>	52
8.1 Publikation 1 - Mechanisms of Involvement of Eicosanoids and their Precursors in the Pathophysiology and Treatment of Schizophrenia	
8.2 Publikation 2 - Impact of Clozapine, N-Desmethylclozapine and Chlorpromazine on Thromboxane Production in Vitro	
<b>9. Erklärung über die eigenständige Abfassung der Arbeit</b>	71
<b>10. Lebenslauf und wissenschaftlicher Werdegang</b>	72
10.1 Lebenslauf	
10.2 Publikationen	
10.3 Posterpräsentationen	
<b>11. Danksagung</b>	74

## **Bibliographische Zusammenfassung**

Schmidt, Renate Luise

### **Der Einfluss von Clozapin, N-Desmethylozapin und Chlorpromazin auf die in-vitro-Produktion von Thromboxan**

Universität Leipzig, Monographische Dissertation

74 Seiten, 152 Literaturstellen, 12 Abbildungen, 5 Tabellen

#### **Referat:**

Thromboxan A<sub>2</sub> (TxA<sub>2</sub>) und die Aktivierung seines Rezeptors modulieren Vasokonstriktion und Thrombozytenaggregation ebenso wie dopaminerge und serotonerge Signalwege. Letztere spielen eine bedeutende Rolle in der Pathophysiologie der Schizophrenie und stellen somit Zielstrukturen für Antipsychotika (APs) dar.

Da man bereits dem ersten Antipsychotikum (AP) Chlorpromazin (CPZ) eine reduzierende Wirkung auf die TxA<sub>2</sub>-Produktion nachweisen konnte, stellten wir die Hypothese auf, dass auch das AP Clozapin sowie dessen Metabolit N-Desmethylozapin (NDMC) einen Einfluss auf die TxA<sub>2</sub>-Produktion haben könnten.

Wir bestimmten die Konzentration von Thromboxan B<sub>2</sub> (TxB<sub>2</sub>), dem Metaboliten des instabilen Moleküls TxA<sub>2</sub>, in stimulierten und unstimulierten Blutproben 10 gesunder Probandinnen. Hierfür verwendeten wir ein Vollblutverfahren. Als Stimulanz verwendeten wir das Toxic Shock Syndrome Toxin-1 (TSST-1) oder den monoklonalen Antikörper OKT3 (Muromonab-CD3), der gegen das Oberflächenantigen CD3 gerichtet ist, kombiniert mit dem monoklonalen Antikörper 5C3, der mit dem Protein CD40 interagiert und es stimuliert. Das Blut wurde mit den APs CPZ, Clozapin oder NDMC in einer von vier verschiedenen Konzentrationen versetzt. Zusätzlich wurden die Thromboxanspiegel im Blut ohne Zusatz von APs unter verschiedenen Stimulationskonditionen gemessen. Unter TSST-1-Stimulation genauso wie unter OKT3/5C3-Stimulation konnten wir eine signifikante (p<0.05) Verringerung der TxB<sub>2</sub>-Produktion durch den Zusatz von Clozapin in den verschiedenen Konzentrationen feststellen. NDMC führte sowohl ohne Stimulation als auch unter TSST-1-Stimulation zu verringerten TxB<sub>2</sub>-Konzentrationen. In sehr niedriger Konzentration reduzierte CPZ die TxB<sub>2</sub>-Spiegel in dem unstimulierten ebenso wie in dem mit TSST-1 stimulierten Blut. Clozapin, NDMC und CPZ könnten also auch über die Modulation der TxA<sub>2</sub>- und TxB<sub>2</sub>-Produktion das Neurotransmittersystem beeinflussen. Außerdem könnten typische Nebenwirkungen der AP, wie zum Beispiel die orthostatische Hypotension, aus den Veränderungen der TxA<sub>2</sub>- und TxB<sub>2</sub>-Konzentrationen resultieren.

**Abkürzungsverzeichnis**

15d-PGJ2	15d-Prostaglandin J2
5-HT	5-Hydroxytryptamin
5-HTT	5-Hydroxytryptamintransporter
AA	Arachidonsäure
Abb.	Abbildung
AGNP	Arbeitsgemeinschaft für Neuropsychopharmakologie und Pharmakopsychiatrie
AK	Alzheimer-Krankheit
AP(s)	Antipsychotikum / Antipsychotika
BDNF	Brain derived neurotrophic factor
cAMP	zyklisches Adenosinmonophosphat
CD	Cluster of Differentiation
COX	Cyclooxygenase
cps	Zählungen pro Sekunde
CPZ	Chlorpromazin
DAG	Diacylglycerol
DHA	Docosahexaensäure
DHET	Dihydroxyeicosatriensäure
DSM-IV	Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, 4. Ausgabe
DTI	Diffusions-Tensor-Bildgebung
E-EPA	Ethyl-Eicosapentaensäure
EET	Epoxyeicosatriensäure
EPA	Eicosapentaensäure
ESBA	S-Ethylsulfonylbenzoylalanin
GABA	$\gamma$ -Aminobuttersäure
GPCR	G-Protein-gekoppelter Rezeptor
HETE	Hydroxyeicosatetraensäure
IFN- $\gamma$	Interferon-gamma
IL	Interleukin
IP <sub>3</sub>	Inositoltriphosphat
IQB	Interquartilabstand
KMO	Kynurenin-3-Monooxygenase

## Abkürzungsverzeichnis

KYNA	Kynurensäure
LCMS	Flüssigkeits-Chromatographie mit Tandem-Massenspektrometrie
LT	Leukotrien
MHC-II	Haupthistokompatibilitätskomplex Klasse II
min	Minute
MRT	Magnet-Resonanz-Tomographie
NDMC	N-desmethyloclozapin
NMDA	N-Methyl-D-Asparaginsäure
OKT3	Anti-CD3-Antikörper
PC	Prostazyklin
PET	Positronen-Emissions-Tomographie
PG	Prostaglandin
PGE <sub>1</sub>	Prostaglandin E <sub>1</sub>
PGH <sub>2</sub>	Prostaglandin H <sub>2</sub>
PIP <sub>2</sub>	Phosphatidylinositol-(4,5)-bisphosphat
PPAR- $\gamma$	Peroxisom-Proliferator-aktivierter Rezeptor Gamma
PUFA(s)	mehrfach ungesättigte Fettsäure/Fettsäuren
SKID-I	Strukturiertes Klinisches Interview nach DSM-IV
Tab.	Tabelle
TDM	therapeutic drug monitoring
TP	Thromboxan-Rezeptor
TSST-1	Toxic-Schock-Syndrom-Toxin-1
Tx	Thromboxan
TxA <sub>2</sub>	Thromboxan A <sub>2</sub>
TxB <sub>2</sub>	Thromboxan B <sub>2</sub>
ZNS	Zentralnervensystem

## **1. Einführung**

### 1.1 Symptomatik und Ätiopathogenese der Schizophrenie

Mehr als ein Jahrhundert ist vergangen, seit Eugen Bleuler (1857-1939) die durch Emil Kraepelin (1857-1929) vormalig beschriebene „dementia praecox“ überarbeitet und in sein Konzept der Schizophrenien übernommen hat (Bleuler 1911; Kraepelin 1910).

Trotzdem sind Ätiologie, Neuropathologie und Pathophysiologie der Schizophrenien bis heute nur schwer fassbar. Die vierte Auflage des Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders (DSM-IV) (American Psychiatric Association 2000) und die zehnte Überarbeitung der International Classification of Diseases and Related Health Problems (ICD-10) (World Health Organization 1994) definieren zahlreiche spezifische Kriterien für die Diagnose der Schizophrenie. Nichtsdestotrotz bleibt diese Erkrankungsbezeichnung ein klinisches Konstrukt, welches durch subjektive Symptome, verschiedene Verhaltensweisen und den jeweiligen Verlauf der Erkrankung bestimmt wird. Hierdurch stellt die Diagnose der Schizophrenie noch immer eine klinische Herausforderung dar.

Im klinischen Alltag werden die Symptome der Schizophrenie in „Positiv-“ und Negativsymptome sowie in „assozierte“ Symptome hinsichtlich Affektivität und Kognition unterteilt (Lindenmayer et al. 1995; Kay et al. 1990). Laut DSM-IV (American Psychiatric Association 2000) stellen die Positivsymptome Wahn und Halluzination und die Negativsymptome - wie ungeordnete Sprache, desorganisiertes Verhalten, Alogie, affektive Verflachung und Antriebslosigkeit - charakteristische klinische Symptome dar. Aber auch kognitive Symptome sind keine Seltenheit. So treten häufig ungeordnetes oder langsames Denken, Verständnisschwierigkeiten, verminderte Konzentrationsfähigkeit, verringertes Erinnerungsvermögen, sowie Schwierigkeiten mit dem Ausdrücken und Einordnen von Gedanken, Gefühlen und Verhalten auf. Auch katatone Symptome - charakterisiert durch Störungen der Intentionbewegungen und Körperhaltung - werden beschrieben. Um eine Schizophrenie zu diagnostizieren, müssen andere Ursachen für die beschriebenen Symptome ausgeschlossen werden. Hierzu zählen beispielsweise durch einen Substanzmissbrauch bedingte Störungen, aber auch Gehirnerkrankungen, wie zum Beispiel ein Hirntumor, die diese Symptome erklären könnten.

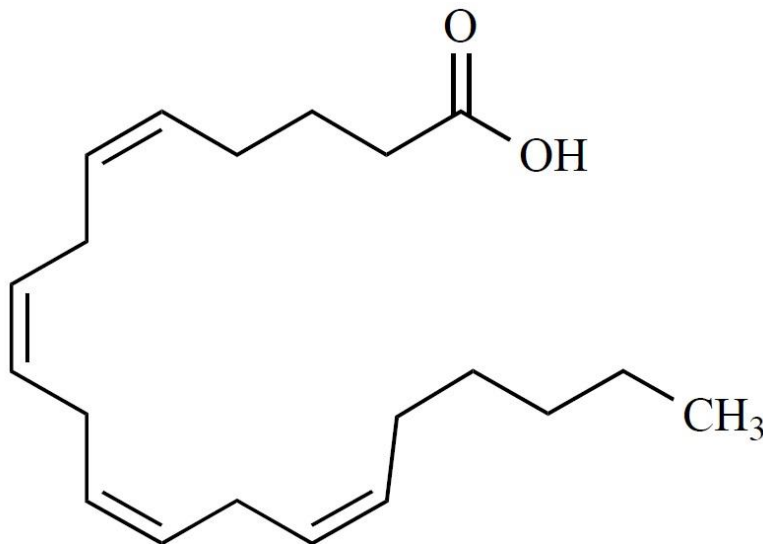
In den vergangenen Jahren entwickelten Forscher verschiedene pathophysiologische Theorien für die Schizophrenie, beruhend auf Biomarkern, die statistisch mit der Krankheit in Zusammenhang stehen. Dies sind genetische und epigenetische Faktoren, strukturelle Veränderungen des Gehirns, sowohl auf makroskopischer als auch auf zellarchitektonischer

Ebene, Störungen der neuronalen Konnektivität sowie neurokognitive Dysfunktion und neurochemische Veränderungen (Jablensky 2006; Bray et al. 2010; Balu et al. 2011).

Nicht zuletzt aufgrund dieser heterogenen biologischen und neuropsychologischen Forschungsergebnisse vermutet man eine multifaktorielle Ätiopathogenese der Schizophrenie. Es wird vermutet, dass die Kombination von Umweltfaktoren und biologischen Faktoren zu einer erhöhten Vulnerabilität für die Erkrankung führt (Lwin et al. 2011). Interessanterweise besteht bei einigen dieser neurobiologischen Entdeckungen eine Verbindung zu den Eikosanoiden und in deren Stoffwechsel involvierten Enzymen.

### 1.2 Eikosanoide und mehrfach ungesättigte Fettsäuren

Der Ausdruck Eikosanoid kommt vom griechischen Wort εἴκοσι, was so viel bedeutet wie „zwanzig“ und sich auf die Anzahl der enthaltenen Kohlenstoffatome bezieht. Eikosanoide sind Signalmoleküle, die aus der Arachidonsäure (AA; siehe Abb. 1) oder aus anderen ungesättigten Fettsäuren mit 20 Kohlenstoffatomen (PUFAs) entstehen (Marks, F. 1999).



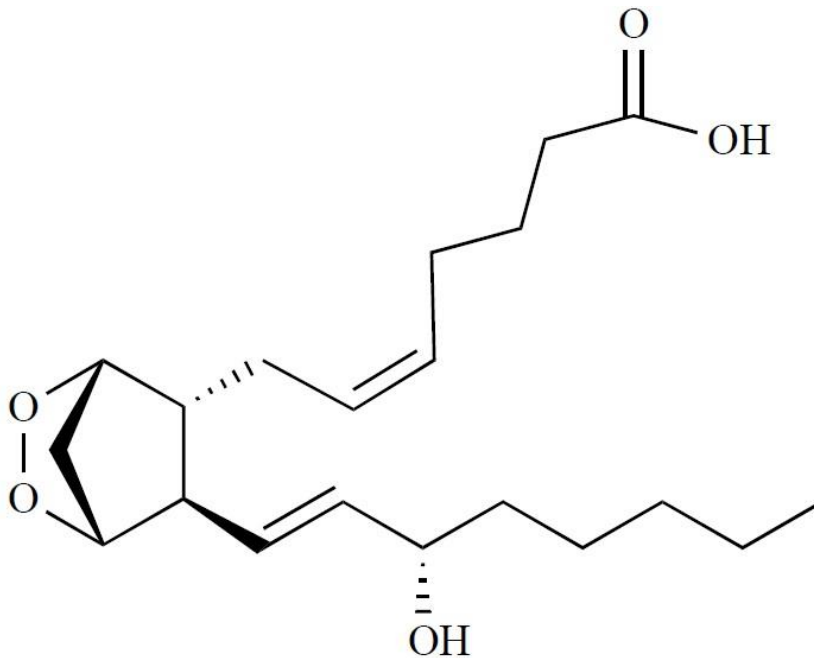
**Abb. 1** – Chemische Struktur der AA

AA und ihre Derivate stellen eine große Gruppe von Signalmolekülen zwischen dem Nerven-, dem Immun- und dem Hormonsystem dar (Malcher-Lopes und Buzzi 2009). Obwohl bekannt ist, dass diese zur Entwicklung von psychiatrischen Erkrankungen beitragen (Himmerich und Steinberg 2011; Himmerich et al. 2012), sind AA und ihre Metaboliten bisher nicht im Fokus psychiatrischer Forschung. Gleichwohl gibt es Forscher, die diesen Molekülen bezüglich der Pathophysiologie der Schizophrenie Beachtung schenken.



Eikanoide modulieren Entzündung und Immunität in der Körperperipherie und diverse Prozesse innerhalb des Zentralen Nervensystems (ZNS). Man geht davon aus, dass das ZNS AA über den Blutstrom aus der Leber erhält. Die zerebralen Endothelien und die Astrozyten sind in der Lage, zirkulierende Linoleate zu akkumulieren, um daraus AA zu synthetisieren, die sie den Neuronen zur Verfügung stellen (Moore et al. 1990, Moore et al. 1991). Neben der AA zählen Linölsäure (Acidum linolicum), Eicosapentaensäure (EPA), Docosahexaensäure (DHA) und  $\alpha$ -Linolensäure zu den wichtigen Ausgangsstoffen der Eikanoide.

Man unterscheidet diverse Arten von Eikanoiden – Prostaglandine (PG), Prostazykline (PC), Thromboxane (Tx), Leukotriene (LT), Hydroxyeicosatetraensäuren (HETE), Epoxyeicosatriensäure (EET) und Dihydroxyeicosatriensäure (DHET). (Löffler 2007) Ein wichtiger Prototyp der Mitglieder dieser Eikanoidfamilien ist das Prostaglandin H<sub>2</sub> (PGH<sub>2</sub>; siehe Abb. 2), welches unter dem Einfluss der Cyclooxygenase (COX)-1 und COX-2 und der Prostaglandinsynthase aus AA synthetisiert wird.



**Abb. 2** – Chemische Struktur des Prostaglandin H<sub>2</sub> (PGH<sub>2</sub>)

Weiterhin zählen hierzu Prostacyclin (siehe Abb. 3), das durch die Prostacyclin-Synthase aus  $\text{PGH}_2$  synthetisiert wird; Thromboxan  $\text{A}_2$  ( $\text{TxA}_2$ ; siehe Abb. 4), welches durch die Funktion der Thromboxansynthase aus  $\text{PGH}_2$  hergestellt wird, und Leukotrien  $\text{A}_4$  ( $\text{LTA}_4$ ; siehe Abb. 5), synthetisiert aus der AA durch 5-Lipoxygenase (Lwin et al. 2011).

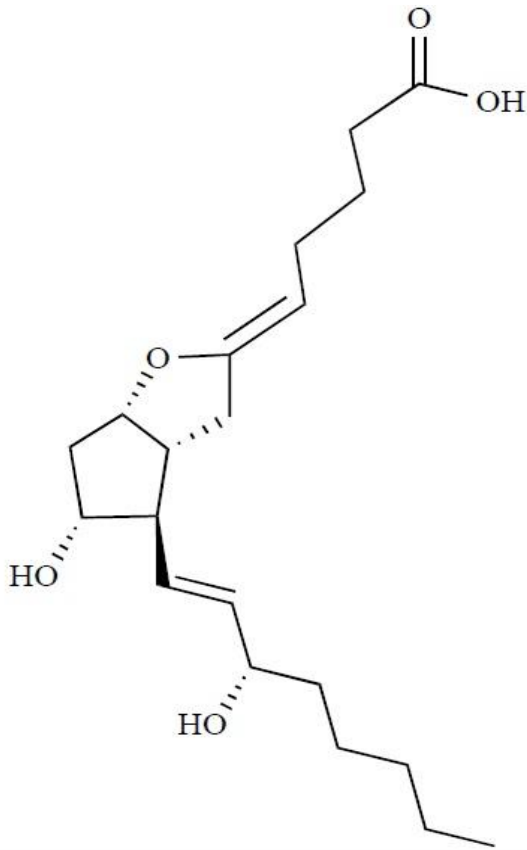


Abb. 3 – Chemische Struktur von Prostacyclin (PC)

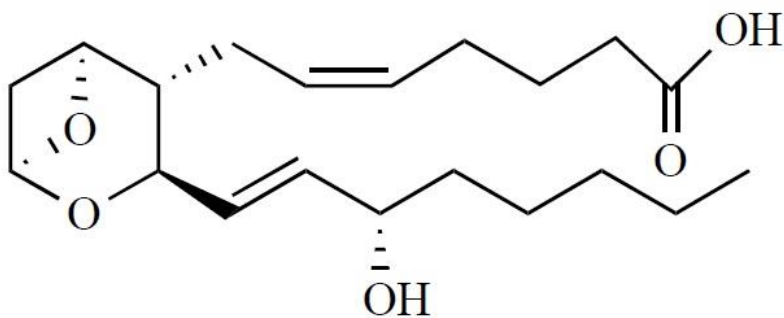
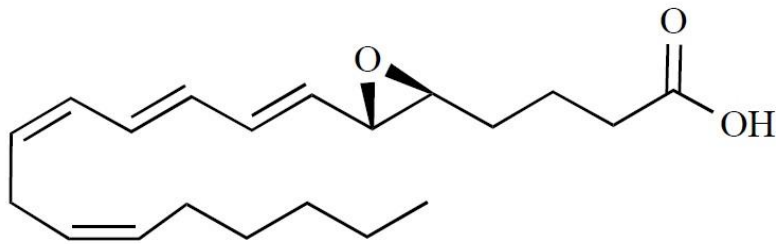
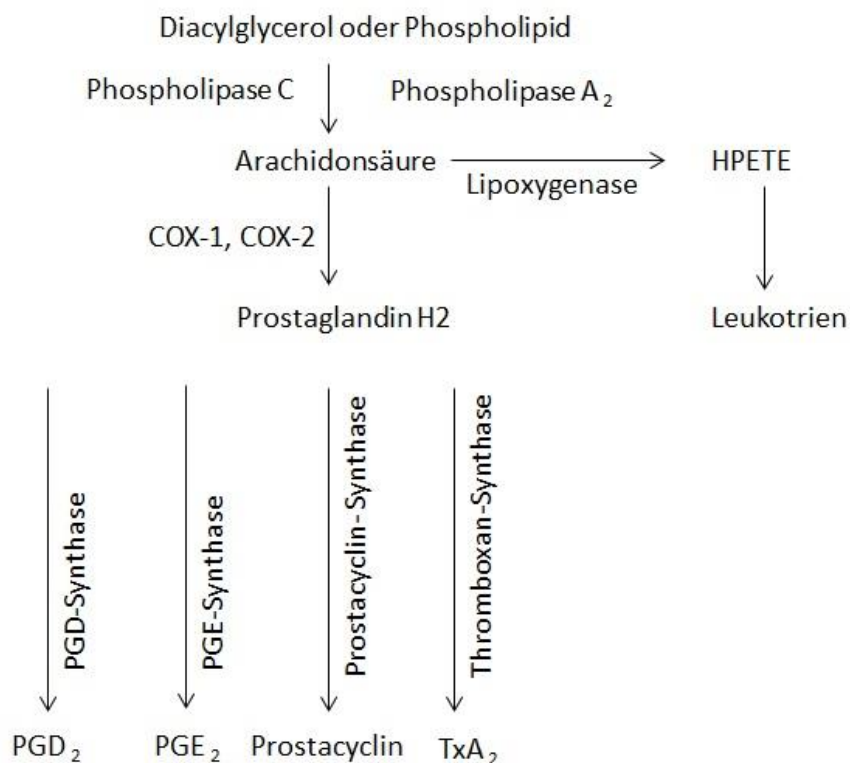


Abb. 4 – Chemische Struktur des  $\text{TxA}_2$



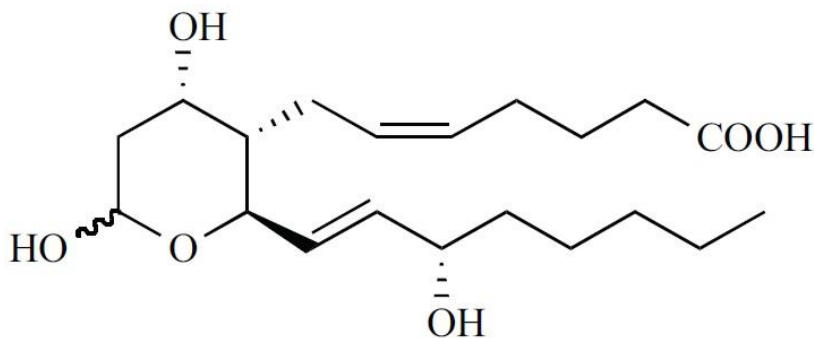
**Abb. 5** – Chemische Struktur des Leukotrien A4 (LTA4)

Die EET entsteht unter dem Einfluss der Cytochrom-P450-Epoxygenase. Von den bereits erwähnten Enzymen Lipoxygenase, COX und Cytochrom-P450-Epoxygenase wurde berichtet, dass sie im menschlichen Gehirn exprimiert seien (Chen et al. 2010; Kaufmann et al. 1996). Wichtige Eikosanoide, die unter anderem eine Rolle in der Pathophysiologie der Schizophrenie spielen, sowie ihre metabolisierenden Enzyme sind in Abb. 6 dargestellt.



**Abb. 6** – Wichtige Eikosanoide, die eine Rolle bei der Erkrankung der Schizophrenie spielen und die für ihren Metabolismus wesentlichen Enzyme

Eikosanoidrezeptoren sind in die Zellmembran integrierte Proteine. Die meisten von ihnen gehören zur Gruppe der G-Protein-gekoppelten Rezeptoren. Diese Rezeptoren werden im gesamten Gehirn gefunden und zeigen eine Kopplung an Second Messengers, wie beispielsweise an zyklisches Adenosinmonophosphat (cAMP) (Coleman et al. 1994). Nicht nur durch Eikanoide, sondern auch durch Aktivierung mittels Dopamin- und Noradrenalinrezeptoren kommt es zur Modulation dieser Second Messengers. Weiterhin konnte gezeigt werden, dass Eikanoide auch Einfluss auf die dopaminergen und serotonergen Signalwege nehmen (Mitsumori et al. 2011; Wacker et al. 2003). Diese spielen eine entscheidende Rolle in der Pathophysiologie der Schizophrenie. Umgekehrt soll Dopamin stimulierend auf die Eikanosynthese, in diesem Fall speziell auf die Thromboxansynthese wirken (Alanko et al. 1991). In der Literatur können einige Beispiele für die gegenseitige Beeinflussung von  $\text{TxA}_2$  bzw. Thromboxan  $\text{B}_2$  ( $\text{TxB}_2$ ; siehe Abb. 7) und Molekülen, die als Neurotransmitter fungieren, gefunden werden (Ross 2003; Mitsumori et al. 2011).



**Abb. 7** – Chemische Struktur des  $\text{TxB}_2$

Neben den klassischen Neurotransmittersystemen beeinflussen Eikanoide zudem hormonelle und immunologische Prozesse in der Entstehung und Aufrechterhaltung Schizophrenie. Hierauf wird später noch detailliert eingegangen.

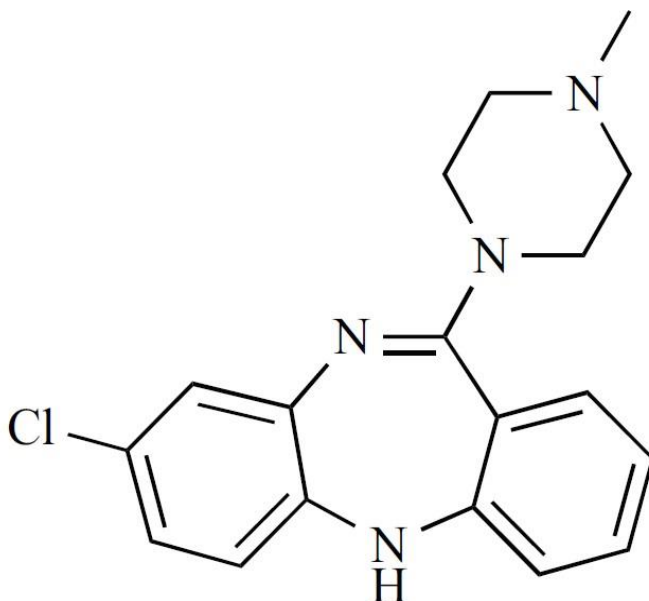
Es ist wichtig zu bemerken, dass Eikanoide und die dazugehörigen Enzyme neben ihrem regulierenden Einfluss auf schizophrene Symptome und dem Beitrag zur Pathophysiologie der Schizophrenie auch eine wichtige Rolle in grundlegenden psychologischen und physiologischen Prozessen spielen. Hier sei beispielsweise die Schlaf-Wach-Regulierung genannt, die bei verschiedenen psychiatrischen Erkrankungen gestört sein kann. So konnte

gezeigt werden, dass die COX-2-Aktivität und das Vorhandensein von PGD<sub>2</sub> Müdigkeit und Schlaf induzieren (Weschenfelder et al. 2012).

### 1.3 Eikosanoide und monoaminerge Veränderungen bei Schizophrenie

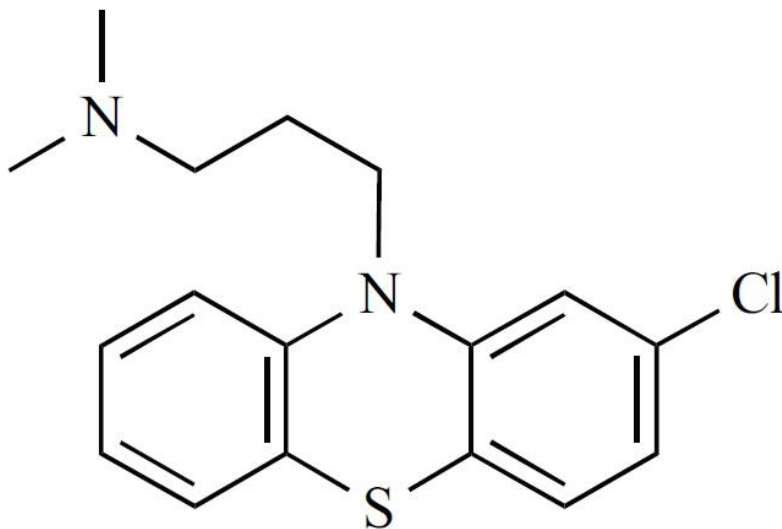
In den sechziger Jahren des vergangenen Jahrhunderts postulierte van Rossum (van Rossum 1966) einen Zusammenhang zwischen Schizophrenie und dem dopaminergen System des Gehirns. Im Laufe der Zeit wurde seine Theorie mehrfach durch Befunde verschiedenster Forscher unterstützt (Horn und Snyder 1971; Bürki et al. 1975; Lieberman et al. 1987; Davis et al. 1991) und ist bis heute Ausgangspunkt von Studien (Pogarell et al. 2012; Bauer et al. 2012).

Der vielversprechendste Hinweis auf die Richtigkeit der Dopamin-Hypothese ist, dass Antipsychotika (APs), welche eine effektive Behandlungsmöglichkeit der Schizophrenie darstellen, als Blocker der Dopamin-D2-Rezeptoren wirken. Darauf basierend wurde die Schizophrenie als hyperdopaminerge Störung aufgefasst (Remington et al. 2011). Allerdings konnte die effektive Wirkung typischer anti-dopaminerg APs hauptsächlich auf Positivsymptome, jedoch weniger auf Negativsymptome nachgewiesen werden. Hingegen stellen atypische APs, wie Clozapin (siehe Abb. 8) beispielsweise, das serotonerge 5-Hydroxytryptamin(5-HT)-Rezeptoren genauso wie D2-Rezeptoren beeinflusst, eine effektivere Behandlungsmöglichkeit schizophrener Patienten mit Negativsymptomatik dar (Stauffer et al. 2012).



**Abb. 8** – Chemische Struktur Clozapin

Neben der Modulation des Dopamin- und 5-HT-Systems zeigt sich bei der Schizophrenie ebenso eine Veränderung der glutamatergen und der  $\gamma$ -Aminobuttersäure (GABA)-Signaltransduktion (Di Pietro und Seamans 2007; Lisman et al. 2008). In Studien wurde mehrfach berichtet, dass Thromboxane Einfluss auf in der Schizophrenie veränderte Neurotransmittersysteme nehmen (Ross 2003; Mitsumori et al. 2011). Dieser wechselseitige Einfluss zeigt sich in der Körperperipherie, beispielsweise im kardiovaskulären System, genauso wie im ZNS. Bezüglich des Serotonins befinden sich auf Thrombozyten Thromboxanrezeptoren (TP), deren Stimulation durch  $\text{TxA}_2$  oder  $\text{TxA}_2$ -Rezeptoragonisten zur Aktivierung der Blättchen und somit zur Freisetzung von Serotonin führt (Moncada und Vane 1978). Veränderungen in der Funktion des 5-HT-Reuptake-Transporters (5-HTT) führen zur Modulation der  $\text{TxA}_2$ - und  $\text{TxB}_2$ -Produktion innerhalb des Gehirns (Di Pietro und Seamans 2007). Im Gehirn selbst befinden sich TP auf verschiedenen Zelltypen, so auf Astrozyten (Inagaki und Wada 1994; Gao et al. 1997) und Zellen des zerebrovaskulären Systems (Ansar et al. 2010). Diese Rezeptoren fanden sich weiterhin in Hirnarealen, wie zum Beispiel dem Hippokampus, welche eine entscheidende Rolle in der Pathophysiologie der Schizophrenie spielen (Nishihara et al. 2000). Nicht nur in der Schizophrenie scheinen die Thromboxane von Bedeutung zu sein. Auch in anderen psychiatrischen Erkrankungen, bei denen es zu gestörter Funktion der Kognition und des Gedächtnisses kommt, wie beispielsweise bei der Alzheimer-Krankheit (AK) wird über den Einfluss der Thromboxane diskutiert. Im Zusammenhang damit werden derzeit TP-Antagonisten als neue Therapieoption gegen AK erforscht (Praticò 2010). Über die TP erleichtert  $\text{TxA}_2$  die Dopaminfreisetzung im Striatum und ist an der Saccharose- Aufnahme bei Mäusen beteiligt, wobei es sich um ein Dopamin-abhängiges motivationales Verhalten handelt (Mitsumori et al. 2011). Weiterhin moduliert  $\text{TxA}_2$  die Neurotransmission via glutamaterger N-methyl-d-asparaginsäure (NMDA)- und GABA-Rezeptoren (Mitsumori et al. 2011). Die klinische Relevanz dieser Forschungsergebnisse ist zum jetzigen Zeitpunkt allerdings nicht ausreichend wissenschaftlich belegt. Die derzeit einzige zugängliche Studie hierzu konnte keinen signifikanten Unterschied des  $\text{TxB}_2$ -Plasmaspiegels bei Schizophrenen im Vergleich zu gesunden Probanden nachweisen (Dietrich-Muszalska und Olas 2009). Jedoch muss erwähnt werden, dass alle an dieser Studie beteiligten Patienten mit APs therapiert wurden, sodass ein Unterschied zwischen Patienten und gesunden Kontrollen möglicherweise durch pharmakologische Wirkungen verschleiert wurde. So wurde dem Antipsychotikum (AP) Chlorpromazin (CPZ, Abb. 9) ein reduzierender Effekt auf die  $\text{TxA}_2$ -Produktion nachgewiesen (Anfossi et al. 1991).



**Abb. 9** – Chemische Struktur CPZ

Weiterhin kommt es durch dieses Medikament zu einer Erhöhung der hemmenden Wirkung von Phentolamin auf die Thrombozytenaggregation und  $\text{TxB}_2$ -Synthese (Anfossi et al. 1990) und zu einer Inhibierung der durch Palmitaldehydacetal-Phosphatidsäure induzierten Plättchenaggregation (Brammer und Maguire 1984). Somit ist vorstellbar, dass auch die anderen bei dieser Studie als Medikation zugelassenen APs einen Einfluss auf die  $\text{TxA}_2$ -Eigenschaften genommen haben könnten.

Es ist davon auszugehen, dass CPZ ein Blocker der AA-Kaskade ist (Takayasu et al. 1989) bzw. die Freisetzung von AA aus Phospholipiden in Thrombozytenmembranen hemmt. Möglicherweise geschieht dies durch eine Hemmung von Phospholipasen (Ishigooka et al. 1985), wie beispielsweise der Phospholipase A2 (Nikolov 1984). Allerdings muss gesagt werden, dass die hemmende Wirkung von CPZ auf die  $\text{TxB}_2$ -Produktion nur in bestimmten Konzentrationen nachgewiesen werden konnte (Chang et al. 1983).

Im Jahr 1983 wiesen Kaiya et al. nach, dass sich der inhibitorische Effekt des Prostaglandin  $\text{E}_1$  ( $\text{PGE}_1$ ) auf die Thrombozytenaggregation durch APs normalisieren lies. In dieser Studie untersuchten sie die Plättchenaggregation als Antwort auf verschiedene Stimuli, wie zum Beispiel Adrenalin, AA, Dopamin und 5-HT, bei 18 unmedizierten Patienten, 13 medizierten Patienten und 13 Kontrollpersonen (Kaiya et al. 1983).

Die klinische Besserung der Patienten nach APs-Medikation korrelierte signifikant mit einer erhöhten Aggregation der Thrombozyten als Antwort auf einen AA-Stimulus (Kaiya et al. 1983). Ishigooka et al. vermuteten 1985, dass verschiedene APs, wie Mepyramin, Promethazin, Phentolamin, und Clozapin die Synthese von Prostaglandinen oder

Thromboxanen hemmen könnten. Deshalb untersuchten sie diese Medikamente im Hinblick auf ihre Auswirkungen auf die Aggregation von Kaninchenthrombozyten und stellten fest, dass die durch Kollagen und AA evozierte Plättchenaggregation durch die APs gehemmt werden konnte (Ishigooka et al. 1985). In einer daran anschließenden Studie konnte eine dosisabhängige, negative Korrelation zwischen den Konzentrationen von CPZ und Trifluoperazin einerseits und der Thromboxankonzentration auf der anderen Seite gezeigt werden (Anfossi et al. 1991).

### 1.4 Eikosanoide und immunologische Veränderungen bei Schizophrenie

Emil Kraepelin und Julius Wagner Jauregg (1857-1940) wiesen gegen Ende des 19. und Anfang des 20. Jahrhunderts darauf hin, dass akute Infektionen und Fieber die Symptome der Schizophrenie verschärfen bzw. verringern könnten (Steinberg und Himmerich 2011; Himmerich, Kirkby et al. 2010). Heutige immunologische Hypothesen können sich auf genetische Daten stützen (Debnath et al. 2013). Darüber hinaus konnte gezeigt werden, dass Komplikationen während der Schwangerschaft und perinatale Infektionen zu einem Anstieg der Vulnerabilität für ein späteres Auftreten von Schizophrenie führen. Weiterhin weisen Mütter, deren Kinder in der Adoleszenz an Schizophrenie leiden, einen signifikanten Anstieg des Interleukin (IL)-8-Plasmaspiegels während des zweiten Trimesters auf (Berthold-Losleben et al. 2009; Himmerich et al. 2009).

Ferner führt eine infektiöse Erkrankung, wie Toxoplasmose, während der Schwangerschaft zu einem erhöhten Risiko für das Kind, später eine Schizophrenie zu entwickeln (Berthold-Losleben et al. 2009).

Möglicherweise aufgrund dieser Infektionskrankheiten zeigen Patienten mit Schizophrenie eine reduzierte in-vitro-Produktion von IL-2 und verringerte Plasmaspiegel von Interferon (IFN)- $\gamma$ , was auf eine reduzierte Typ 1- und eine erhöhte Typ 2- Immunantwort hinweist (Himmerich et al. 2009). Diese erhöhte Typ 2-Immunantwort geht einher mit erhöhten IL-4-Spiegeln (Müller et al. 2000), und einer Korrelation zwischen IL-10-Spiegeln im Liquor mit der Schwere der psychotischen Symptome bei schizophrenen Patienten (van Kammen et al. 1997).

Die immunologischen Veränderungen könnten zur dopaminergen Dysfunktion beitragen, was zur Dysbalance zwischen glutamaterger und dopaminergem Neurotransmission aufgrund der erhöhten Produktion von Kynurensäure (KYNA) im Gehirn bei Schizophrenieerkrankten führen kann (Müller et al. 2011; Müller et al. 2012; Himmerich, Sorge et al. 2012). Außer durch Infektionen können diese Veränderungen auch durch eine Umstellung des



Eikosanoidstoffwechsel verursacht sein. So zeigen Patienten mit Schizophrenie aufgrund höherer COX-2-Expression und -Aktivität (Das und Khan 1998) eine erhöhte PGE<sub>2</sub>-Produktion (Kaiya et al. 1989; Martínez-Gras et al. 2011). Andere Faktoren, die möglicherweise zur immunologischen Dysbalance und zu erhöhten PGE<sub>2</sub>-Produktion bei schizophrenen Patienten führen, sind der Peroxisom-Proliferator-aktivierte Rezeptor- $\gamma$  (PPAR- $\gamma$ ) und das 15d-Prostaglandin J<sub>2</sub> (15d-PGJ<sub>2</sub>) (Kaiya et al. 1989).

PGE<sub>2</sub> inhibiert die Produktion von Typ 1-Zytokinen, wie IFN- $\gamma$ , IL-2 (Simmons et al. 2004) und stimuliert die Produktion von Typ 2-Zytokinen, wie IL-4, IL-5 und IL-10 (Stolina et al. 2000). Typ-2-Zytokine hemmen die Kynurenin-3-Monooxygenase (KMO), das geschwindigkeitslimitierende Enzym des Kynureninstoffwechselweges. Wegen der Hemmung der KMO wird Kynurenin nicht zu 3-Hydroxykynurenin sondern zu KYNA metabolisiert. Tatsächlich finden sich bei Schizophrenie-Patienten erhöhte Konzentrationen von KYNA im Gehirn und im Liquor (Erhardt 2001, Nilsson 2005; Linderholm 2012).

Bei einer Studie, die das postmortale Gewebe schizophrener Patienten untersuchte, fand sich eine signifikante Reduktion der KMO-Genexpression und der KMO-Enzymaktivität im frontalen Augenzentrum (Brodmannareal 8) dieser Patienten (Wonodi et al. 2011). Bei KYNA handelt es sich um einen Glutamat-NMDA-Rezeptor-Antagonisten, dessen Signalisierung das glutamaterge/dopaminerge Gleichgewicht im Gehirn stören kann. Somit entsteht eine dopaminerge Überstimulation, die typisch für die Schizophrenieerkrankung ist (Müller et al. 2011; Müller et al. 2012).

Die Erhöhung der KYNA-Spiegel kann unter anderem zur Verschlechterung der kognitiven Funktionen führen, während eine Verringerung diese verbessern kann. In den methodisch wegweisenden Studien von Pocivavsek et al. wurde die Wirkung einer akuten Up- bzw. Downregulierung der endogenen KYNA auf extrazellulär vorkommendes Glutamat im Hippokampus untersucht und die Leistung von Sprague-Dawley-Ratten im Morris-Wasserlabyrinth beobachtet. In dieser Studie reduzierte KYNA den extrazellulären Glutamatspiegel, während der spezifische Kynurenin-Aminotransferase-II-Inhibitor S-Ethylsulfonylbenzoylalanin (ESBA) selbigen ansteigen ließ. Vergleichbare Effekte auf den hippokampalen Glutamat-Spiegel wurden nach intraventrikulärer Applikation des KYNA-Vorläufers Kynurenin gemessen. Während die Behandlung mit ESBA die Leistung im Morris-Wasserlabyrinth verbesserte, wurde bei zusätzlicher intraventrikulärer Anwendung von Kynurenin eine Leistungsminderung beobachtet. Somit konnten diese Studien zeigen, dass KYNA als endogener Modulator des extrazellulären Glutamats im Hippokampus dient und folglich für die Regelung hippokampaler kognitiver Funktionen verantwortlich ist (Pocivavsek

et al. 2011). Man vermutet, dass der immunologische Effekt vieler aktueller APs darauf beruht, dass die immunologische Dysbalance und die Überproduktion der KYNA zum Teil wieder ausgeglichen werden. Auf dieser Grundlage basierende klinische Studien, die mit COX-2-Inhibitoren durchgeführt wurden, deuten darauf hin, dass es eine günstige Wirkung dieser entzündungshemmenden Therapie bei Schizophrenie gibt, insbesondere in frühen Stadien der Erkrankung (Müller, Krause et al. 2010). Dies deutet auf eine zentrale oder zumindest zusätzliche Rolle der Eikosanoide, wie PGE<sub>2</sub>, in der Pathophysiologie der Schizophrenie hin, und stellt möglicherweise ein neues Ziel für die Behandlung der Erkrankung dar, worauf im weiteren Verlauf näher eingegangen wird.

Zusammenfassend zeigen schizophrene Patienten also eine erhöhte PGE<sub>2</sub>-Produktion aufgrund erhöhter COX-2-Expression und -aktivität. PGE<sub>2</sub> wiederum stimuliert die Produktion der Typ 2-Zytokine, welche KMO hemmen. Wegen dieser Hemmung wird Kynurenin nicht zu 3-Hydroxykynurenin metabolisiert, sondern zu KYNA, einem glutamatergen NMDA-Rezeptor-Antagonisten. Im Gegenzug stört KYNA das glutamaterge/dopaminerge Gleichgewicht im Gehirn und führt so zur dopaminergen Überstimulation bei schizophrenen Patienten.

### 1.5 Eikosanoide und hormonelle Veränderungen bei Schizophrenie

Seit Anfang des 20. Jahrhunderts wurden endokrinologische Aspekte der Pathophysiologie psychiatrischer Störungen zunehmend interessanter. Hierzu trugen nicht zuletzt die Psychiater Paul Julius Möbius (1853-1907) und Manfred Bleuler (1903-1994), der Begründer der Disziplin „endokrine Psychiatrie“ bei (Himmerich, Steinberg 2011). Im speziellen Fall der Schizophrenie, könnten Sexualhormone, wie Östrogen, aber auch Schilddrüsenhormone eine zentrale Rolle spielen, wie ich nachfolgend erläutern werde.

Epidemiologische Erkenntnisse und Life-Cycle-Daten weisen auf signifikante Unterschiede in der Häufigkeit und dem Verlauf der Schizophrenie zwischen Männern und Frauen hin. Hierdurch schließt man auf eine protektive Rolle des Östrogens. Präklinische in-vitro und in-vivo-Untersuchungen haben bestätigt, dass Östradiol durch die Interaktion mit zentralen Neurotransmitter-Systemen an der Pathogenese der Schizophrenie beteiligt ist. Obwohl die Ergebnisse aus randomisierten, kontrollierten Studien zum antipsychotischen Potential von Östrogen vielversprechend waren, gibt es bisher noch keine praxiswirksame Umsetzung der Östrogen-Hypothese (Kulkarni et al. 2012).

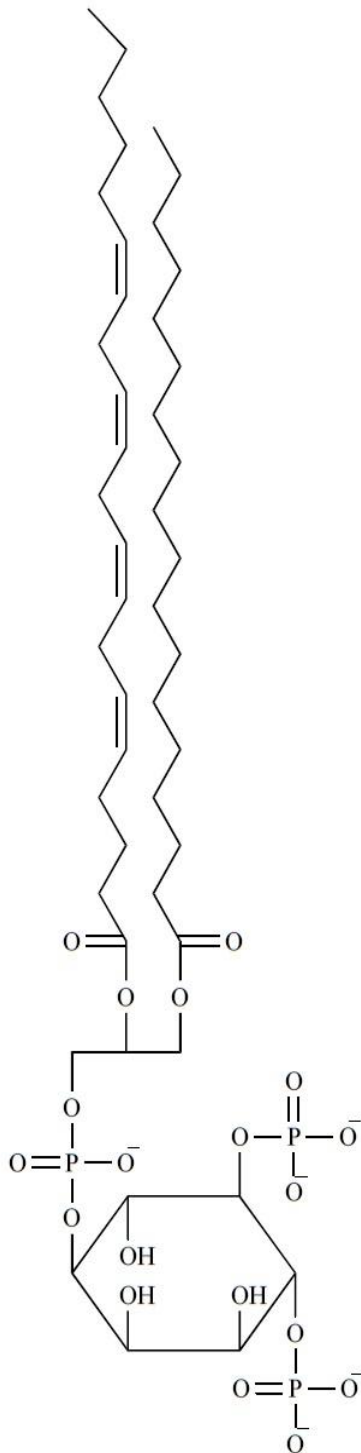
Schilddrüsenhormone sind sowohl während der Entwicklung als auch im adulten Gehirn von entscheidender Bedeutung. Schwankungen der Schilddrüsenhormonspiegel zu verschiedenen

Zeitpunkten während der Entwicklung, aber auch während des späteren Lebens haben Auswirkungen auf eine eventuelle Manifestationen von psychiatrischen Erkrankungen und das Ansprechen auf deren Behandlung. Es wird beschrieben, dass Wechselbeziehungen zwischen der thyreotropen Achse und den wichtigen Neurotransmittersystemen, einschließlich serotonerger, dopaminergen, glutamaterger und GABAerger Netzwerke, an der Pathophysiologie der Schizophrenie beteiligt sind. Dies deutet auf eine Deregulierung der Schilddrüsenhormone als häufiges Merkmal der Schizophrenie hin (Santos et al. 2012).

Interessant ist, dass Östradiol dafür bekannt ist, die Aktivität der COX-1 und -2 zu erhöhen und somit den Prostaglandin-Stoffwechsel zu modulieren (Amateau und McCarthy 2004). Weiterhin konnte gezeigt werden, dass die Östradiol-induzierte Prostaglandinsynthese Einfluss auf die glutamaterge Neurotransmission nimmt (McCarthy 2010). Aus Tierversuchen gibt es Hinweise, dass Schilddrüsenhormone außerdem die COX-2-Aktivität und den Eikosanoidstoffwechsel beeinflussen (Carey et al. 2008). Allerdings sind derzeit nicht genügend Daten vorhanden, um eine Hypothese über die die Verknüpfung von Eikosanoiden, ihres modulierenden Einflusses auf bestimmte Hormone und der Pathophysiologie der Schizophrenie zu postulieren. Eine sinnvolle Interpretation dieser Ergebnisse ist, dass Östrogene und Schilddrüsenhormone über die Induktion von COX-1 und -2 und der damit verbundenen Erhöhung der PGE<sub>2</sub>-Synthese zur Manifestation von Schizophrenie führen können.

### 1.6 Membranlipide und Eikosanoide bei schizophrenen Patienten

Wie bereits oben erwähnt, spielen Fettsäuren und im Speziellen der PUFA-Stoffwechsel bei der Entwicklung von Schizophrenie eine Schlüsselrolle, was auch in vielen wissenschaftlichen Arbeiten bereits mehrfach gezeigt wurde (Ross 2003). PUFAs sind nicht nur ein wesentlicher Bestandteil der Zellen im Gehirn, sondern auch in allen anderen Körperzellen. Wesentliche Bestandteile der Zellmembranen sind Phospholipide, die eine Lipid-Doppelschicht bilden. Phospholipide geben der Membran ihre Struktur und Integrität, und stellen die Lipid-Umgebung für zahlreiche Membran-gebundene und integrale Proteine, einschließlich Neurotransmitter-Rezeptoren, Ionenkanäle und Transporter bereit (Ross 2003). Die meisten Phospholipide enthalten Diglycerid, eine Phosphat-Gruppe und ein einfaches organisches Molekül, wie beispielsweise Cholin. Membranphospholipide, wie beispielsweise Phosphatidylinositol-(4,5)-bisphosphat (PIP<sub>2</sub>), haben üblicherweise eine PUFA in Position 2 (siehe Abb. 10).



**Abb. 10** – Chemische Struktur des Phosphatidylinositol (4,5)-bisphosphat (PIP<sub>2</sub>)

Im Fall der PIP<sub>2</sub> handelt es sich bei dieser PUFA um AA. Einige Phospholipidarten können durch ihre Aufspaltung die Funktion von Second Messengern übernehmen. PIP<sub>2</sub> kann

beispielsweise durch das Enzym Phospholipase C in Inositoltriphosphat ( $IP_3$ ) und Diacylglycerol (DAG) gespalten werden, welche auf Reize durch verschiedene Stimuli die Funktion von G-Proteinen ausführen (Choi et al. 2005). Beispielsweise sind 5-HT-Rezeptoren und der metabotrope Glutamat-Rezeptor G-Protein-gekoppelte Rezeptoren (GPCR) (Fredriksson et al. 2003). Beide Rezeptorarten spielen eine Rolle in der Pathophysiologie der Schizophrenie (Oluoha et al. 1993; Goff und Coyle 2001).  $PIP_2$  leitet afferente Signale weiter, die es über einen GPCR, wie den 5-HT-Rezeptor erhält. Durch die Spaltung von  $PIP_2$  durch eine Lipase kann es zusätzlich zur Freisetzung von AA kommen. In diesem Fall wirkt AA  $PIP_2$  entgegen. Dabei verringert AA zwar die Verfügbarkeit spannungsabhängiger Kalziumkanäle, erhöht aber deren Sensitivität (Roberts-Crowley et al. 2009). Aufgrund der Funktion der AA als Ausgangsmolekül für die Prostaglandinsynthese liegt nahe, dass der Phospholipidmetabolismus die Prostaglandinsignalübertragung beeinflusst.

Auf der Grundlage klinischer und biochemischer Beobachtungen stellte Horrobin die sogenannte „Phospholipid-Membran-Hypothese der Schizophrenie“ auf, in der er postulierte, die Schizophrenie sei eine Erkrankung, die durch einen abnormalen Metabolismus und gestörte Phospholipidmembran-Strukturen im Gehirn und in anderen Geweben charakterisiert sei (Horrobin et al. 1994; Horrobin 1998). Tatsächlich gibt es Hinweise darauf, dass Schizophrenie mit einem abnormalen Stoffwechsel der Membranphospholipide und der mehrfach ungesättigten Fettsäuren, insbesondere der AA und ihrer Derivate verbunden sein kann (Fenton et al. 2000; Ross 2003). Horrobin und seine Mitarbeiter, ebenso wie andere Forschungsgruppen, fanden heraus, dass bei Schizophreniepatienten im Vergleich zu gesunden Probanden verringerte PUFA-Konzentrationen im Serum, im Plasma, in peripherem Gewebe und post mortem im Gehirn zu messen sind (Horrobin et al. 1994; Yao et al. 2000; Landén et al. 2002; McNamara et al. 2007; Freeman et al. 2006).

Darüber hinaus wurden immer wieder Anomalien der weißen Substanz bei Schizophrenieerkrankten nachgewiesen (Di et al. 2009; Connor et al. 2011). Dieser Befund ist besonders für die Rolle der PUFAs in der Pathophysiologie von Schizophrenie interessant, da PUFAs für die Myelinisierungsaktivität bzw. die Aufrechterhaltung der Myelinisierung durch Oligodendrozyten notwendig zu sein scheinen.

Tatsächlich konnten Peters et al. (Peters et al. 2009; Peters et al. 2013) mit Hilfe von Diffusions-Tensor-Bildgebung (DTI) in einer Magnet-Resonanz-Tomographie(MRT)-Studie eine signifikante Korrelation zwischen Gesamt-PUFA-Konzentration und Myelinisierung eines frontotemporalen Trakts weißer Substanz in neuerkrankten Schizophrenie-Patienten nachweisen und später diese Ergebnisse auch replizieren. Aus diesem Grund könnten PUFAs

ein wichtiges therapeutisches Ziel in der Behandlung der Schizophrenie darstellen. In der Literatur wurde erkennbar, dass die meisten Studien EPA und seinen Ester Ethyl-Eicosapentaensäure (E-EPA) zur Behandlung von Schizophrenie, meist zusätzlich zu einem AP, einsetzen. Jedoch sind die Ergebnisse systematischer Übersichtsarbeiten nicht schlüssig (Berger et al. 2006). Eine ausführliche Zusammenfassung der Studien über die therapeutische Wirksamkeit von PUFAs, speziell von E-EPA ist in Tabelle (Tab.) 1 dargestellt.

Autoren	Dauer der Studie	N	Begeleitmedikation	PUFA	Studienergebnis
Berger et al. 2007	12 Wochen	80	Antipsychotika	E-EPA 2x500 mg/day	Keine Überlegenheit der E-EPA-Behandlung
Emsley et al. 2002	12 Wochen	40	Antipsychotika	E-EPA 3 g/day	Überlegenheit der E-EPA-Behandlung
Emsley et al. 2006	12 Wochen	84	Antipsychotika	E-EPA 2 g/day	Keine Überlegenheit der E-EPA-Behandlung
Fenton et al. 2001	16 Wochen	44	Antipsychotika	E-EPA 3 g/day	Keine Überlegenheit der E-EPA-Behandlung
Peet et al. 2001	3 Monate	55	Antipsychotika	Eicosapentaensäure (EPA) 2 g/day or Docosahexaensäure (DHA) 2 g/day	Überlegenheit der E-EPA-Behandlung
Peet & Horrobin 2002	12 Wochen	115	Antipsychotika	E-EPA 2 or 4 g/day	Überlegenheit der E-EPA-Behandlung mit 2 g/d
Wokin et al. 1986	6 Wochen	16	Antipsychotika	Gamma-Linolensäure 600 mg/day	Keine Überlegenheit der E-EPA-Behandlung
Amminger et al. 2010	12 Monate	81	keine	EPA 700 mg/day, DHA 480 mg/day und Tocopherol 7.6 mg/day	PUFA reduzierten das Risiko für eine psychiatrische Störung

**Tab. 1** - Übersicht über doppelblinde, randomisierte, Placebo-kontrollierte Studien, die PUFAs als Add-on zu Neuroleptika zur Behandlung oder als Mono-Therapie zur Prävention von Schizophrenie einsetzen. Die Tab. enthält ausschließlich Studien, die in wissenschaftlichen Zeitschriften veröffentlicht wurden; adaptiert aus Müller et al., 2011. Abkürzungen: Anzahl (N), mehrfach ungesättigte Fettsäuren (PUFAs), Eicosapentaensäure (EPA), Ethyl-Eicosapentaensäure (E-EPA), Docosahexaensäure (DHA).

In einer Placebo-kontrollierten Studie konnte gezeigt werden, dass PUFAs zudem eine präventive Wirkung auf psychotische Störungen haben (Amminger et al. 2010).

Wie bereits im Abschnitt über Eikanoide und monoaminerge Veränderungen bei Schizophrenie erwähnt, spielt die Dopamin-Signalübertragung eine entscheidende Rolle bei dieser Erkrankung. Obwohl die Ergebnisse vorläufig sind, ist es interessant zu wissen, dass die dopaminerge Funktion auch in Tierstudien durch PUFAs beeinflusst wurde (Zimmer et al. 1998; Zimmer et al. 2002). Der Wachstumsfaktor Brain derived neurotrophic factor (BDNF) ist ein weiteres Molekül mit einem potenziell wichtigen Einfluss auf die Entwicklung von Schizophrenie (Kordi-Tamandani et al. 2012; Martinotti et al. 2012). BDNF ist für die neuronale Plastizität und die Entwicklung des ZNS essentiell und ist weithin an der Entstehung psychiatrischer Erkrankungen beteiligt (Autry und Monteggia 2012). Es konnte gezeigt werden, dass diätetisch zugeführte PUFAs zu einer Erhöhung der BDNF-Konzentration im Hippokampus von Ratten führten (Wu et al. 2004; Wu et al. 2008). Es wurde berichtet, dass der bei unmedizierten schizophrenen Menschen erhöhte AA-Metabolismus in Thrombozyten durch die Behandlung mit APs normalisiert werden konnte. So beobachteten beispielsweise Das und Khan eine AA-induzierte Chemilumineszenz in Blutproben von acht neu diagnostizierten unmedizierten schizophrenen Patienten. Nach der Behandlung mit Sulpirid oder Haloperidol verringerte sich die Chemilumineszenz (Das und Khan 1998). Die Autoren folgerten, dass die Neuroleptika den AA-Stoffwechsel beeinflussten (Martínez-Gras et al. 2011). Sethom et al. untersuchten ebenfalls periphere Blutzellen. Sie untersuchten mittels Gaschromatographie das Profil der Membran-PUFAs schizophrener Patienten vor und nach der Behandlung mit APs. Allerdings fanden sie deutlich geringere Gesamt-PUFA-Konzentrationen in den Erythrozytenmembranen schizophrener Patienten (Sethom et al. 2010).

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass es einige Hinweise darauf gibt, dass PUFAs eine wichtige Vermittlerrolle in der Pathophysiologie der Schizophrenie spielen. Jedoch sind eindeutige Schlussfolgerungen aufgrund der widersprüchlichen Ergebnisse in der aktuellen Literatur nur begrenzt möglich (siehe Tab. 1).

### 1.7 Therapeutische Optionen für die Behandlung der Schizophrenie

Aufgrund der hier diskutierten Studien scheinen PUFA- und Eikosanoidstoffwechsel eine entscheidende Rolle in der Pathophysiologie sowie in der Behandlung der Schizophrenie zu spielen. Tab. 2 zeigt die verschiedenen Erkenntnisse über PUFAs, Eikanoide und die Enzyme des Eikosanoidstoffwechsels, die in dieser Monographie beschrieben sind.



	Moleküle	Patienten mit Schizophrenie	Wirkung der Antipsychotika	Referenzen
PUFAs	PUFAs	Verringerte Gesamt- PUFA-Konzentration im Serum, Plasma, peripheren Gewebe, Erythrozytenmembranen und Gehirn schizophrener Patienten gefunden, aber erhöhte AA-Aktivität.	Behandlung mit Sulpirid oder Haloperidol verringert AA-Aktivität.	Martínez-Gras et al. 2011; Horrobin et al. 1994; Yao et al. 2000; Landén et al. 2002; McNamara et al. 2007; Freeman et al. 2006; Sethom et al. 2010
	TxA <sub>2</sub> und TxB <sub>2</sub>	Kein signifikanter Unterschied zwischen TxB <sub>2</sub> -Plasmaspiegel bei medizierten Schizophrenie-Patienten und gesunden Kontrollpersonen.	Behandlung mit Chlorpromazin oder Trifluoperazin verringert TxA <sub>2</sub> -Konzentration, Behandlung mit Clozapin, NDMC, Chlorpromazin reduziert TxB <sub>2</sub> -Synthese	Dietrich-Muszalska et al. 2009; Anfossi et al. 1991
Eikanoide	PGE <sub>1</sub>	Verminderte Hemmwirkung auf Thrombozytenaggregation.		Kaiya et al. 1983
	PGE <sub>2</sub>	Erhöhte Produktion bei schizophrenen Patienten.	Quetiapin reduziert PGE <sub>2</sub> -Spiegel in Mäusen, Olanzapin verringert PGE <sub>2</sub> -Konzentrationen im Rattenhirn, PGE <sub>2</sub> wird als neuer Vermittler der antipsychotischen Behandlung vorgeschlagen	Amminger et al. 2010; Kim et al. 2012; Cheon et al. 2011; Adkins et al. 2012
Enzyme	COX-1 und COX-2	Erhöhte Expression und Aktivität von COX-1.	Haloperidol verringert striatale COX-2-Expression bei Ratten.	van Kammen et al. 1997, Müller, N., Myint, A.-M. et al. 2012; Martínez-Gras et al. 2011; Marin et al. 2007

**Tab. 2** – Nachweise für die Bedeutung der Eikanoide bei der Schizophrenie. Die Tab. zeigt wissenschaftliche Erkenntnisse zur Beteiligung von PUFAs, Eikanoide und Enzymen im Eikanoidstoffwechsel bei Patienten mit Schizophrenie und die Wirkung von Neuroleptika auf diese Moleküle. Für Einzelheiten siehe Text. Abkürzungen: Mehrfach ungesättigte Fettsäuren (PUFAs), Arachidonsäure (AA), Thromboxan A<sub>2</sub> (TxA<sub>2</sub>), Thromboxan B<sub>2</sub> (TxB<sub>2</sub>), Prostaglandin E<sub>1</sub> (PGE<sub>1</sub>), Prostaglandin E<sub>2</sub> (PGE<sub>2</sub>), Cyclooxygenase 1 (COX-1), Cyclooxygenase 2 (COX-2), N-Desmethylclozapin (NDMC).

Zusammengefasst ergeben diese Daten einen Hinweis für die wesentliche Bedeutung der PUFAs und Eikosanoide in der Pathophysiologie der Schizophrenie. Allerdings wäre der letzte und schwierigste Beweis für die Richtigkeit dieser Hypothese ihre Anwendbarkeit im klinischen Einsatz. Diesbezüglich sind noch viele Fragen offen.

Auf der Grundlage der Erkenntnisse, dass im Serum, im Plasma, in peripheren Geweben und post mortem im Gehirn von Schizophreniepatienten niedrigere PUFA-Konzentrationen als in den Kontrollen gesunder Menschen gefunden wurden (Horrobin et al. 1994; Yao et al. 2000; Landén et al. 2002; McNamara et al. 2007; Freeman et al. 2006), testeten mehrere Studien die therapeutische Wirkung von PUFAs bei Schizophrenie. Die meisten von ihnen verwendeten EPA oder E-EPA (siehe Tab. 1). Allerdings zeigte eine Metaanalyse von randomisierten, kontrollierten Studien zum symptomatischen Outcome keine positive Wirkung von EPA-Augmentation bei Schizophrenie (Fusar-Poli und Berger 2012). Weitere wichtige Erkenntnisse zum Eikosanoidstoffwechsel bei schizophrenen Patienten beschreiben eine erhöhte COX-2-Aktivierung, mit folgend erhöhten PGE<sub>2</sub>-Spiegeln (siehe Tab. 2) (Das und Khan 1998; Martínez-Gras et al. 2011). PGE<sub>2</sub> stimuliert die Produktion von Typ-2-Zytokinen bei schizophrenen Patienten, was wiederum über die Hemmung der KMO zu einem Überfluss an KYNA führt (Müller 2011; Müller 2012). Es ist möglich, dass dieser NMDA-Rezeptor-Antagonist dann zum für die Schizophrenie typischen glutamatergen/dopaminergen Ungleichgewicht beiträgt. Daher testete man COX-2-Inhibitoren, die zur Reduktion von PGE<sub>2</sub> führen, als Augmentation für den therapeutischen Effekt von APs. Tab. 3 bietet einen Überblick zu doppelt verblindeten, randomisierten, Placebo-kontrollierten Studien mit COX-2-Inhibitoren als Add-on-Medikament zur antipsychotischen Therapie bei Schizophrenie.

Autoren	Dauer der Studie	N	Begleitmedikation	COX-2-Inhibitor	Outcome
Müller et al. 2002	5 Wochen	50	Risperidon (flexible Dosierung)	Celecoxib 400 mg/day	Signifikante Überlegenheit des COX-2-Inhibitors
Rappard and Müller 2004	11 Wochen	270	Risperidon (flexible Dosierung)	Celecoxib 400 mg/day	Keine signifikante Überlegenheit des COX-2-Inhibitors
Rapaport et al. 2005	8 Wochen	38	Risperidon oder Olanzapin (konstante Dosierung)	Celecoxib 400 mg/day	Keine signifikante Überlegenheit des COX-2-Inhibitors
Zhang et al. 2006	12 Wochen	40	Risperidon (flexible Dosierung)	Celecoxib 400 mg/day	Signifikante Überlegenheit des COX-2-Inhibitors
Akhondzadeh et al. 2007	8 Wochen	60	Risperidon (fixe Dosierung)	Celecoxib 400 mg/day	Signifikante Überlegenheit des COX-2-Inhibitors
Müller et al. 2010	6 Wochen	49	Risperidon (flexible Dosierung)	Celecoxib 400 mg/day	Signifikante Überlegenheit des COX-2-Inhibitors

**Tab. 3** - Übersicht über doppelt verblindete, randomisierte, Placebo-kontrollierte Studien mit COX-2-Inhibitoren als Add-on Medikation zur antipsychotischen Therapie bei Schizophrenie, adaptiert aus Müller et al., 2011.

Diese Studien deuten auf eine Verbesserung der Behandlung von Schizophrenie mit APs durch eine Augmentation mit COX-2-Inhibitoren. Allerdings ist der therapeutische Nutzen von COX-2-Hemmern bei der Schizophrenie noch umstritten. Der klinische Nutzen der COX-2-Hemmung, der in einer ersten prospektiven, randomisierten, doppelblinden Studie mit dem COX-2-Inhibitor Celecoxib neben der Behandlung mit Risperidon im akuten Schub der Schizophrenie gezeigt werden konnte (Müller et al. 2002), ließ sich in einem zweiten Versuch durch Müller et al. nicht replizieren. Jedoch ergaben weitere Analyse der Daten dieser Studie, dass das Ergebnis der Therapie mit Celecoxib mit der Dauer der Erkrankung zusammenhing (Müller 2010). Die Wirksamkeit von Celecoxib scheint in den ersten Jahren der Erkrankung am erfolgreichsten zu sein (Müller 2010). In einer anschließenden doppelt verblindeten, placebo-kontrollierten, randomisierten Studie mit Amisulprid plus Celecoxib versus Amisulprid plus Placebo bei Patienten im frühen Stadium der Schizophrenie berichteten Müller et al. über eine signifikant überlegene therapeutische Wirkung in der Celecoxib-Gruppe gegenüber der Placebo-Gruppe (Müller, Krause et al. 2010). Daher scheinen COX-2-Inhibitoren, eine spezifische therapeutische Option im frühen Stadium der Schizophrenie zu sein. Ob sie auch in der Behandlung von Prodromalzuständen der Schizophrenie eingesetzt werden könnten, muss in weiteren klinischen Studien evaluiert werden. EPA hingegen scheint eine gangbare Behandlungsoption für prodromale Psychosen zu sein, da man nachweisen konnte, dass EPA in Kombination mit Docosahexaensäure und Tocopherol das Risiko der Entwicklung einer psychotischen Störung reduziert (Amminger et al. 2010). Bisher konnte noch nicht nachgewiesen werden, ob COX-2-Hemmer oder EPA durch Modulation der Dopamin-Signalisierung das Auftreten von schizophrenen Symptomen verbessern oder verhindern. Diese Moleküle üben ihre vorteilhafte Wirkung über einen unbekanntem Mechanismus aus, wobei unklar bleibt, ob ein direkter oder indirekter Zusammenhang mit der Dopamin-Signalisierung besteht. Die Erkenntnisse über die Bedeutung von PUFAs, Eikosanoiden und COX-2 bei der Behandlung von schizophrenen Patienten, auch im Hinblick auf ihre Auswirkungen auf die Antipsychotikawirkung, beantworten nicht die Frage, ob Eikanoide eine von dopaminergem Signalisierung unabhängige Rolle bei der Entwicklung von Schizophrenie spielen. Daher sollten in weiteren klinischen Studien und Untersuchungen Daten über den Eikosanoidstoffwechsel und über die Dopamin-Signalübertragung gesammelt werden. Beispielsweise könnte ein Versuch mit COX-2-Inhibitoren eine Positronen-Emissions-Tomographie (PET) des dopaminergen Systems zu Beginn und während der Therapie mit selbigen beinhalten.

Es hat sich gezeigt, dass  $\text{TxA}_2$  die Freisetzung von Dopamin erleichtert (Mitsumori et al. 2011). Daher könnte die Überaktivität des dopaminergen Systems bei schizophrenen Patienten durch die Einschränkung der  $\text{TxA}_2$ -Synthese reduziert werden.

Da bereits gezeigt werden konnte, dass  $\text{PGE}_2$ , COX-2,  $\text{TxA}_2$  und  $\text{TxB}_2$  in die Pathophysiologie der Schizophrenie bzw. deren Behandlung involviert sind und auch, dass es eine Verringerung der Gesamt-PUFA-Konzentration im Serum, Plasma, peripheren Gewebe, Erythrozytenmembranen und im Gehirn schizophrener Patienten gibt (siehe Tab. 2), stellt sich die Frage, ob es von Vorteil wäre, die Funktion oder die Einnahme von AA als Vorstufe der Eikosanoide zu beeinflussen. Um die Spiegel von  $\text{PGE}_2$  und  $\text{TxA}_2$  und  $\text{TxB}_2$  herab zu setzen, könnte man theoretisch versuchen, die Verfügbarkeit von AA zu reduzieren. Allerdings könnte die verringerte Verfügbarkeit von AA zu erheblichen Störungen der Integrität und der Funktion der Zellmembranen führen. Zusätzlich ist zu bedenken, dass AA nicht nur für die Synthese von  $\text{PGE}_2$ , COX-2,  $\text{TxA}_2$  und  $\text{TxB}_2$  verwendet wird, sondern auch über den Lipoxygenase-Weg zu Leukotrienen metabolisiert wird (Marks und Fürstenberger 1999), die eine wichtige Rolle als Signalmoleküle in verschiedenen Körperfunktionen spielen. Hier sei beispielsweise die Immunabwehr, einschließlich der Verteidigung gegen Bakterien, Pilze und Parasiten genannt. (Rogerio und Anibal 2012). Daher kann die Verringerung der AA zu verschiedenen unerwünschten Nebenwirkungen führen. Die derzeit verfügbaren Studien zu Eikosanoiden und Schizophrenie sind vorläufiger Natur und die Ergebnisse zum Teil widersprüchlich. Es ist bisher nicht klar, welche Untergruppe der schizophrenen Patienten besonders von einer Behandlung, die auf den Eikosanoidstoffwechsel zielt, wie zum Beispiel die mit COX-2-Inhibitoren, profitieren können. Darüber hinaus werden derzeit die Mechanismen des Zusammenspiels zwischen Eikosanoiden, Zytokinen, Neurotransmittern und Hormonen noch nicht vollständig verstanden. Allerdings scheinen Eikosanoide, die mit Zytokinen, Neurotransmittern und Hormonen interagieren ein Glied der pathophysiologischen Kette zu sein, die zur Entwicklung von Schizophrenie führen kann. In-vivo-Untersuchungen bezüglich der Wirkung von Neuroleptika auf den Eikosanoidstoffwechsel von Patienten mit Schizophrenie können tiefere Einblicke in die Wechselwirkungen zwischen dopaminergen und serotonergen Systemen einerseits und Eikosanoidstoffwechsel und Signalisierung andererseits geben, und somit auf deren Bedeutung für die Pathophysiologie und Behandlung von Schizophrenie hinweisen.

### 1.8 Der Vollbluttest als in-vitro-Verfahren für psychopharmakologische Untersuchungen

Wir untersuchten in der vorliegenden Studie den Effekt von CPZ, Clozapin und NDMC auf die Thromboxanproduktion in einem Vollbluttest. Dies ist ein etabliertes in-vitro-Verfahren für die Untersuchung psychopharmakologischer Medikamente (Kirchner et al. 1982; Seidel et al. 1996). Wir verwendeten unterschiedliche Stimulantien, um das Vollblut zu aktivieren, nämlich das TSST-1 oder eine Kombination aus den monoklonalen Antikörpern OKT3 und 5C3 (OKT3/5C3).

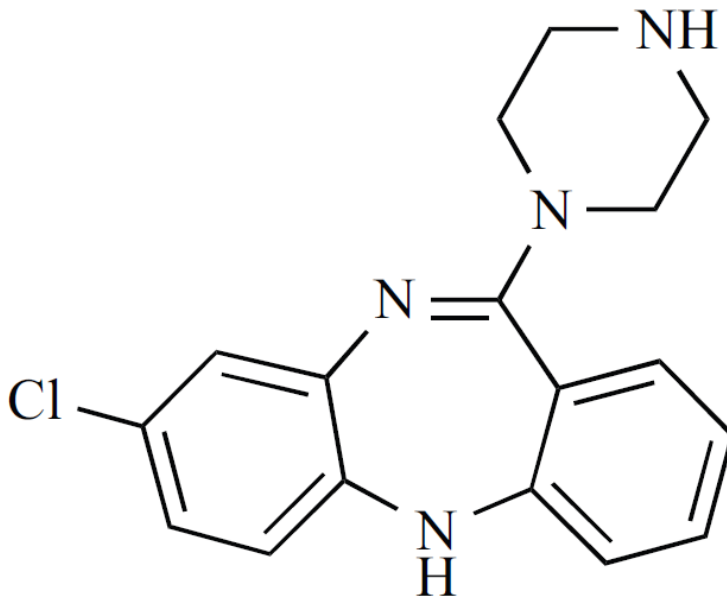
TSST-1 ist ein Exotoxin, welches von Staphylococcen produziert wird. Es ist verantwortlich für das Toxic Shock Syndrome. TSST-1 führt zu einer unspezifischen Bindung des Haupthistokompatibilitätskomplexes Klasse II (MHC-II) mit T-Zell-Rezeptoren, was zu einer polyklonalen T-Zell-Aktivierung und einer immunologischen Reaktion führt (Dinges et al. 2000).

Der murine monoklonale Antikörper OKT3 (Muromonab-CD3) bindet an den T-Zell Rezeptor CD3 und ist ein etablierter T-Zell-Aktivator (Adair et al. 1994). Der monoklonale Antikörper 5C3 stimuliert menschliches CD40 und aktiviert auf diese Weise B-Zellen (Pound et al. 1999). Mit der Kombination dieser beiden Stimulanzien können B- und T-Zellen gleichzeitig aktiviert werden.

Zu dem mit Hilfe von TSST-1 oder OKT3/5C3 stimulierten Vollblut gaben wir CPZ, Clozapin und NDMC in verschiedenen Konzentrationen hinzu, um die Effekte dieser Medikamente auf die Thromboxanproduktion zu untersuchen.

**2. Aufgabenstellung**

In der für diese Arbeit durchgeführten Studie wurde untersucht, ob die APs CPZ, Clozapin und sein Metabolit N-Desmethylclozapin (NDMC; siehe Abb. 11) die  $\text{TxA}_2$ -Produktion beeinflussen. Hierfür wurde die Konzentration von  $\text{TxB}_2$ , der Metabolit des sehr instabilen Moleküls  $\text{TxA}_2$ , in unstimulierten und stimulierten Blutproben von 10 gesunden weiblichen Probanden in einem Vollblut-Assay gemessen.



**Abb. 11** – Chemische Struktur NDMC

#### **3. Materialien und Methoden**

##### 3.1 Versuchspersonen

Es wurden zehn gesunde weibliche Probanden ohne psychiatrische Störungen im Alter von 22 bis 45 Jahren (Mittelwert:  $29,9 \pm 8,67$  (SD) Jahre) in die Studie eingeschlossen. Die Einnahme von Immunmodulatoren, illegalen Drogen oder regelmäßiger Alkoholkonsum führte zum Ausschluss der Versuchsperson. Die Probanden wurden durch einen erfahrenen Psychiater mit dem Structured Clinical Interview für DSM-IV (SKID-I) auf psychiatrische Erkrankungen, gescreent. Das Vorhandensein einer psychiatrischen Störung führte ebenfalls zum Ausschluss aus der Studie.

##### 3.2 Versuchsdurchführung

Das Vollblut-Assay wurde durchgeführt, wie es zuvor von Kirchner et al. und Seidel et al beschrieben wurde (Kirchner et al. 1982; Seidel et al. 1996). Allen Probanden wurde einmalig Blut mit einer Heparin-Monovette (Sarstedt, Nürtingen, Deutschland) entnommen und innerhalb von 1-2 h nach der Blutentnahme in einem Vollblut-Assay untersucht. Die Zellkonzentration wurde mit RPMI 1640 Medium (Biochrom, Berlin, Deutschland) auf  $3-4 \times 10^9$  Zellen/l eingestellt. Anschließend wurden 100  $\mu$ L dieses Blutes sowie RPMI-Lösung in ein Reagenzglas eingefüllt und mit 100  $\mu$ L reinem Psychopharmakon sowie RPMI gemischt, was zu einer endgültigen Zellkonzentration von  $1,5-2 \times 10^9$  Zellen/l führte. Richtwerte für die beabsichtigten Endkonzentrationen der Psychopharmaka in dieser Mischung wurden den „Therapeutic drug monitoring (TDM) expert group of the Association of Neuropsychopharmacology and Pharmacopsychiatry (AGNP) consensus guidelines: Therapeutic drug monitoring in psychiatry“ (Baumann et al. 2004) entnommen. Wir verwendeten die maximalen therapeutischen Konzentrationen von 300 ng/ml für CPZ, 600 ng/ml für Clozapin und 600 ng/ml für NDMC. Zusätzlich verwendeten wir das 0,25-, 0,5- und 2-Fache der maximalen therapeutische Konzentration. Zur Kontrolle diente Blut ohne psychopharmakologische Substanzen. Das Design dieser Studie ist in Tab. 4 dargestellt.



### 3. Materialien und Methoden

Stimulantien	APs	relative Konzentration	absolute Konzentration
keine Stimulation	Clozapin	0,25 -fach	150 ng/ml
		0,5 -fach	300 ng/ml
		1 -fach	600 ng/ml
		2 -fach	1200 ng/ml
	NDMC	0,25 -fach	150 ng/ml
		0,5 -fach	300 ng/ml
		1 -fach	600 ng/ml
		2 -fach	1200 ng/ml
	CPZ	0,25 -fach	75 ng/ml
		0,5 -fach	150 ng/ml
		1 -fach	300 ng/ml
		2 -fach	600 ng/ml
OKT3/5C3	Clozapin	0,25 -fach	150 ng/ml
		0,5 -fach	300 ng/ml
		1 -fach	600 ng/ml
		2 -fach	1200 ng/ml
	NDMC	0,25 -fach	150 ng/ml
		0,5 -fach	300 ng/ml
		1 -fach	600 ng/ml
		2 -fach	1200 ng/ml
	CPZ	0,25 -fach	75 ng/ml
		0,5 -fach	150 ng/ml
		1 -fach	300 ng/ml
		2 -fach	600 ng/ml
TSST-1	Clozapin	0,25 -fach	150 ng/ml
		0,5 -fach	300 ng/ml
		1 -fach	600 ng/ml
		2 -fach	1200 ng/ml
	NDMC	0,25 -fach	150 ng/ml
		0,5 -fach	300 ng/ml
		1 -fach	600 ng/ml
		2 -fach	1200 ng/ml
	CPZ	0,25 -fach	75 ng/ml
		0,5 -fach	150 ng/ml
		1 -fach	300 ng/ml
		2 -fach	600 ng/ml
3 Messungen im unstimulierten resp. stimulierten Blut ohne Medikamentenzusatz	3 (Stimulantien) x 3 (APs) x 4 (Konzentrationen) =36 Messungen		

**Tab. 4** - Design der Studie: Tx<sub>B2</sub>-Konzentration gemessen im Vollblut-Ansatz jeder der 10 gesunden weiblichen Probanden unter folgenden Bedingungen: Blut ohne Stimulation, mit OKT3/5C3 oder mit TSST-1 stimuliertes Blut (3 Messungen ohne Zugabe von APs). Zu jeder dieser 3 Bedingungen Zugabe von Clozapin, NDMC oder CPZ (3 verschiedene Substanzen) in je 4 Konzentrationen (36 Messungen). Messung von Tx<sub>B2</sub> unter 36 +3 = 39 verschiedenen Bedingungen. Die Konzentrationen sind als relative und absolute Konzentrationen angegeben.

### 3. Materialien und Methoden

CPZ erhielten wir von Sigma-Aldrich Laborchemikalien GmbH (Seelze, Deutschland). Clozapin und NDMC wurden freundlicherweise von Novartis Pharma zur Verfügung gestellt. Zur Stimulation der Blutzellen verwendeten wir 5 g/ml rekombinantes TSST-1 oder 100 ng/ml OKT3/5C3. Alle Reagenzgläser wurden abgedeckt und die Proben in einer Atmosphäre von 5% CO<sub>2</sub> und 37°C für 48h inkubiert. Nach der Inkubation wurden die zellfreien Überstände entnommen und bei -70°C gelagert.

#### 3.3 Bestimmung von TxB<sub>2</sub>

Da es sich bei TxA<sub>2</sub> um ein sehr instabiles Molekül handelt, wurden die Spiegel seines wesentlich stabileren Metaboliten TxB<sub>2</sub> bestimmt. Die Analyse erfolgte mittels Flüssigchromatographie in Kombination mit Tandem-Massenspektrometrie (LC-MS/MS). Entsprechend der von Kortz et al. (Kortz et al. 2009) für Eikosanoid-Messungen beschriebenen LC-MS/MS-Methode wurden die Überstände aus dem Vollbluttest durch Proteinfällung und nachfolgender off-line Festphasenextraktion aufgereinigt. Die chromatographische Trennung erfolgte auf einer Kinetex C-18 Core-shell-Säule (2,1 × 100 mm, 2,6 µm; Phenomenex, Aschaffenburg, Deutschland) mit einem Shimadzu Prominence UFLC System (Shimadzu Europa, Duisburg, Deutschland). Für die massenspektrometrische Analyse wurde ein 5500 QTrap Massenspektrometer (AB Sciex, Framingham, Massachusetts, USA) mit negativer Elektrosprayionisierung verwendet.

#### 3.4 Statistische Analyse

Aufgrund der geringen Anzahl von Datenpunkten, beschreiben wir die deskriptive Statistik unter Zuhilfenahme nichtparametrischer Maßnahmen. Zum Vergleich der TxB<sub>2</sub>-Konzentrationen in unstimulierten und stimulierten Blut ohne und mit verschiedenen Konzentrationen von APs wurden der nicht-parametrisch gepaarte Wilcoxon-Tests verwendet. Aufgrund des explorativen Charakters dieser Studie wurde ein unkorrigierter p-Wert kleiner 0,05 als signifikant angesehen.

#### 3.5 Ethik

Die Studie wurde von der lokalen Ethikkommission der Medizinischen Fakultät der Universität Leipzig (# 351-10-13122010) genehmigt.

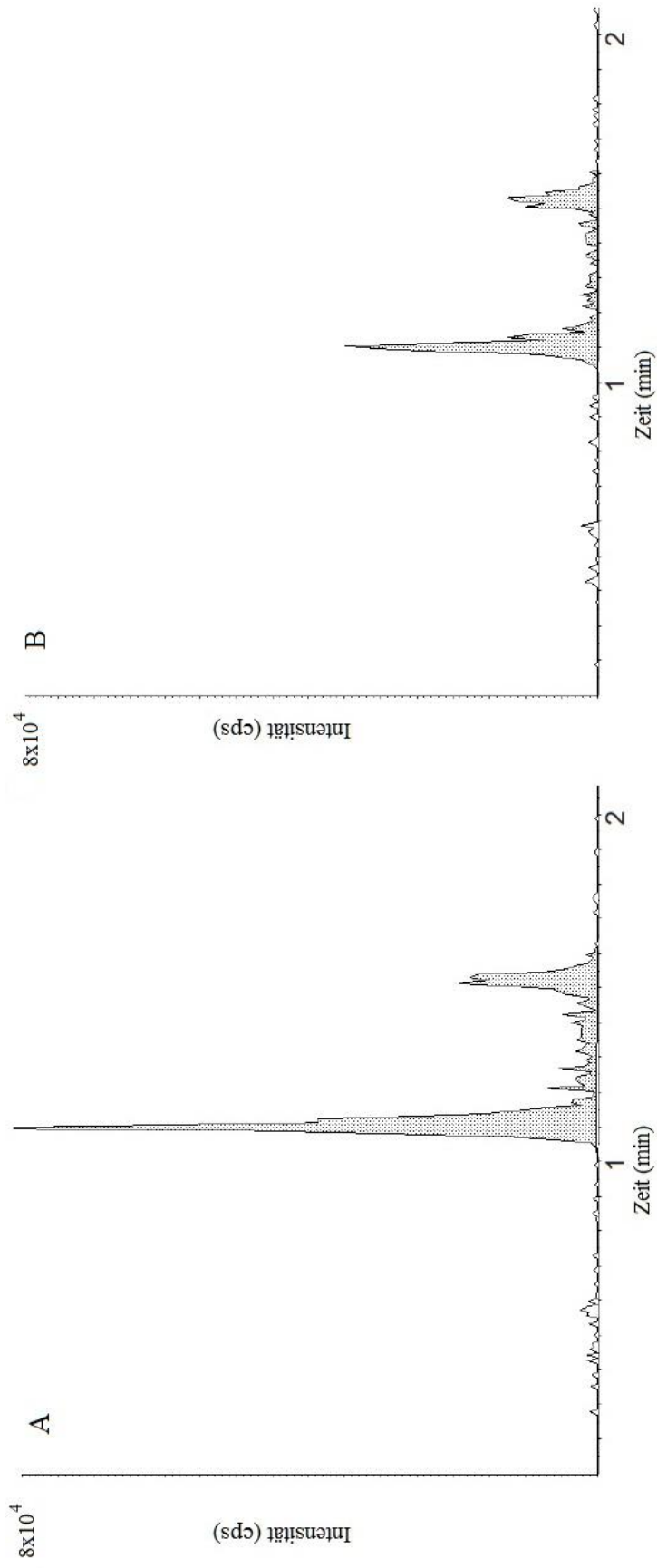
#### **4. Ergebnisse**

Das konsistenteste Ergebnis dieser Studie ist, dass unter OKT3/5C3 sowie TSST-1-Stimulation Clozapin zu einer signifikanten Abnahme der TxB<sub>2</sub>-Konzentrationen über alle Anwendungskonzentrationen führte ( $p < 0,01$ ). Zusätzlich reduzierte sein Metabolit NDMC TxB<sub>2</sub> signifikant unter der unstimulierten Bedingung ( $p < 0,05$ ) und unter TSST-1-Stimulation ( $p < 0,01$  für das 0,5-, 1- und 2-Fache der maximalen therapeutischen Konzentration,  $p < 0,05$  für die 0,25 -fache Konzentration). CPZ verringerte ebenfalls die TxB<sub>2</sub>-Produktion bei niedrigen Wirkstoffkonzentrationen im unstimulierten und TSST-1-stimulierten Blut. Für detaillierte Erläuterungen zu den deskriptiven Statistiken sowie Vergleiche zu den TxB<sub>2</sub>-Spiegeln, siehe Tab. 5.

TxB <sub>2</sub> [ng/ml]	Median (IQR); N	Median (IQR); N	Median (IQR); N	Median (IQR); N
<b>keine Stimulation</b>				
unstimuliertes Blut ohne APs	6.15 (11.24); N=6			
	<b>0,25-fach</b>	<b>0,5-fach</b>	<b>1-fach</b>	<b>2-fach</b>
Clozapin	2.55; (4.00); N=8	2.56 (2.66); N=7	2.11 (5.32); N=9	4.64 (2.27); N=6
NDMC	1.17 (1.42); N=8 *	1.38 (2.83); N=8 *	2.13 (2.52); N=8 *	1.73 (2.74); N=8 *
CPZ	1.17 (3.43); N=9 *	1.85 (5.28); N=8 *	3.51 (10.48); N=9	5.96 (13.47); N=8
<b>OKT3/5C3-Stimulation</b>				
unstimuliertes Blut ohne APs	11.16 (5.52); N=10			
	<b>0,25-fach</b>	<b>0,5-fach</b>	<b>1-fach</b>	<b>2-fach</b>
Clozapin	8.59 (5.23); N=10 **	8.42 (2.95); N=10 **	7.30 (4.71); N=10 **	7.58 (3.73); N=9 **
NDMC	9.26 (4.03); N=10	10.05 (6.08); N=9 *	9.81 (4.19); N=10	8.33 (5.97); N=10
CPZ	10.84 (6.99); N=10	11.34 (5.66); N=9	10.70 (4.86); N=10	10.45 (7.08); N=9
<b>TSST-1-Stimulation</b>				
unstimuliertes Blut ohne APs	14.65 (5.04); N=10			
	<b>0,25-fach</b>	<b>0,5-fach</b>	<b>1-fach</b>	<b>2-fach</b>
Clozapin	10.02 (6.64); N=10 **	11.08 (5.98); N=10 **	10.38 (5.76); N=9 **	10.93 (5.20); N=10 **
NDMC	12.32 (4.84); N=10 *	11.34 (7.49); N=10 **	11.49 (7.20); N=9 **	11.80 (5.12); N=10 **
CPZ	13.20 (4.68); N=10 *	13.72 (6.82); N=10	14.91 (8.87); N=9	13.32 (6.13); N=10

**Tab. 5** – Median und Interquartilabstand (IQR) von Thromboxan B<sub>2</sub> (TxB<sub>2</sub>)- Konzentrationen gemessen im unstimulierten Blut, in mit OKT3/5C3- oder TSST-1-stimulierten Blut mit oder ohne APs in verschiedenen Konzentrationen: das 0,25-, 0,5-, 1- und 2 -Fache der maximalen therapeutischen Dosierung. Die 1-fach maximalen therapeutischen Dosierungen waren: 300 ng / ml für CPZ, 600 ng / ml für Clozapin und 600 ng / ml für NDMC. \* Signifikanter Unterschied im Vergleich zum Kontroll-Blut (ohne Stimulation mit OKT3/5C3 oder mit TSST-1) ohne APs (p <0,05), \*\* (p <0,01).

Abb. 12 zeigt ein LC-MS-Chromatogramm von  $\text{TxB}_2$ -Konzentrationen in TSST-1-stimuliertem Blut mit und ohne Zusatz von Clozapin in dem 0,25-Fachen der maximalen therapeutischen Konzentration. Aufgrund von Schwierigkeiten beim Messen von  $\text{TxB}_2$  in unstimuliertem Blut mit der angewandten Methode fehlen mehrere  $\text{TxB}_2$ -Werte, weil diese unterhalb der Nachweisgrenze liegen. In 4 von 10 Proben konnte kein  $\text{TxB}_2$  nachgewiesen werden. Unter stimulierten Bedingungen jedoch konnten  $\text{TxB}_2$ -Werte in den meisten Fällen gemessen werden. In allen stimulierten Proben konnte die  $\text{TxB}_2$ -Konzentration in mindestens  $N = 9$  von 10 Proben unter verschiedenen Bedingungen bestimmt werden.



**Abb. 12** – LC-MS-Chromatogramm von Thromboxan  $B_2$ : A – TSST-1 stimuliertes Blut ohne Zusatz von AP; B – TSST-1 stimuliertes Blut mit Zusatz von Clozapin (0,25-fach). Aufgrund des 11-Hydroxy-Thromboxan  $B_2$ -Anomers sind zwei Signale im Chromatogramm zu sehen. Abkürzungen: Zählungen pro Sekunde (cps), Minuten (min).

## **5. Diskussion**

Da man für Clozapin und CPZ nachweisen konnte, dass sie die TxA<sub>2</sub>-Produktion verringern (Himmerich, Schmidt, L. et al. 2012), könnten diese Medikamente - komplementär zu ihrer direkten Wirkung auf Dopamin- und 5-HT-Rezeptoren – auch dadurch antipsychotisch wirken, dass sie die Dopaminsignalübertragung über die TxA<sub>2</sub>- oder TxB<sub>2</sub>-Synthese modulieren. Allerdings beeinflussen die Thromboxane ebenfalls die Thrombozytenaggregation und Vasokonstriktion (Wacker et al. 2003) sowohl im Körper (Narumiya et al. 1999) als auch im Gehirn (Toth et al. 2011). Daher könnten bekannte Nebenwirkungen von Clozapin und ähnlichen Neuroleptika, wie orthostatische Hypotonie, auch oder zumindest teilweise durch den Einfluss der Thromboxane auf den Muskeltonus der Blutgefäße erklärt werden (Leung et al. 1996).

Weiterhin könnten die zahlreichen immunologischen Eigenschaften und verschiedene Nebenwirkungen von Clozapin (Pollmächer et al. 2000) mit den immunologischen Eigenschaften des TxA<sub>2</sub> (Ricciotti und FitzGerald 2011) in Verbindung stehen.

### 5.1 Zusammenfassung der Ergebnisse

Wir testeten den Einfluss von CPZ, Clozapin und seinem Metaboliten NDMC auf die TxB<sub>2</sub>-Synthese in-vitro mit einem Vollblut-Assay. Wie aufgrund der Literaturrecherche zu erwarten, reduzierte CPZ die TxB<sub>2</sub>-Synthese unter bestimmten Bedingungen: Es zeigten sich in unserer Untersuchung allerdings nur in niedrigen Dosen von CPZ, ohne zusätzliche Stimulation und unter TSST-1-Stimulation, signifikante Effekte. Das beständigste und überzeugendste Ergebnis dieser Studie ist, dass unter OKT3/5C3 sowie TSST-1-Stimulation Clozapin zu einer signifikanten Abnahme der TxB<sub>2</sub>-Spiegel über alle Anwendungskonzentrationen führte ( $p < 0,01$ ). Zusätzlich reduziert der Metabolit des Clozapins NDMC TxB<sub>2</sub> signifikant unter unstimulierten Bedingungen und unter TSST-1-Stimulation. Deshalb ist anzunehmen, dass Clozapin und sein Metabolit zur Verringerung der Produktion von TxA<sub>2</sub> und seines Metaboliten TxB<sub>2</sub> führen.

### 5.2 Bedeutung der Ergebnisse

Die erhaltenen Ergebnisse können bezüglich des antipsychotischen Wirkmechanismus von Clozapin sowie bezüglich der Pathophysiologie der Nebenwirkungen von Clozapin interpretiert werden. Da TxA<sub>2</sub> die 5-HT- (Moncada und Vane 1978) sowie die Dopamin-Signalübertragung (Mitsumori et al. 2011) erhöht, könnte sich die antipsychotische Wirkung von Clozapin und NDMC neben der direkten antagonistischen Wirkung auf Dopamin- und 5-

HT-Rezeptor-Ebene auch über die Modulation des Dopamin- und 5-HT-Systems mittels Blockierung der TxA<sub>2</sub>-Produktion entfalten. Bekannte Nebenwirkungen von Clozapin, wie orthostatische Hypotonie (Muench und Hamer 2010), venöse Thromboembolie (Paciullo 2008) und zerebrale Sinusvenenthrombose (Werring et al. 2009) könnten auch, zumindest teilweise, durch den Einfluss der Thromboxane auf den Muskeltonus der Blutgefäße vermittelt sein (Leung et al. 1996). Zusätzlich könnten die zahlreichen immunologischen Eigenschaften und verschiedenen Nebenwirkungen von Clozapin (Himmerich und Schmidt 2012; Pollmächer et al. 2000) mit den immunologischen Eigenschaften des TxA<sub>2</sub> (Ricciotti, E., FitzGerald, G.A. 2011) verknüpft sein.

### 5.3 Limitationen der Untersuchung

Wie bereits erwähnt, handelt es sich hierbei um eine kleine Pilotstudie und das Signifikanzniveau wurde nicht für multiples Testen kontrolliert. Daher müssten alle Effekte unabhängig voneinander repliziert werden. Die beschriebenen Daten über die TxB<sub>2</sub>-Veränderungen sind von einer in-vitro-Studie mit menschlichem Blut von gesunden Probanden abgeleitet. Diese Einschränkungen müssen berücksichtigt werden, wenn man Rückschlüsse auf die tatsächliche Situation im lebenden Patienten aus den Ergebnissen ziehen will. Die beschriebenen Ergebnisse sind also vorläufiger Natur. Unserem Wissen nach ist dies die erste Studie, die die Wirkung von Clozapin und NDMC auf die Thromboxan-Produktion untersucht. Allerdings liefern diese Daten eine alternative und komplementäre Sicht zu bestehenden Neurotransmitter-Hypothesen bezüglich der Schizophrenie und zu aktuellen Meinungen über die Wirkungsmechanismen von APs.

### 5.4 Besonderheiten des Vollblutverfahrens in der psychopharmakologischen Forschung

Aus methodischen Gründen sowie aus Gründen der chemischen Metrologie nutzten wir den beschriebenen stimulierten in-vitro-Ansatz. Diese methodischen Gründe beinhalten u.a. die Vergleichbarkeit mit anderen Studien (Himmerich, Fulda, et al. 2010; Potvin et al. 2008; Drzyzga et al. 2006; Hinze-Selch, D., Pollmächer, T. 2001; Arolt et al. 2000) und die Angleichung des in-vitro-Zustandes an die natürlichen Gegebenheiten im menschlichen Körper, in dem dynamische Prozesse, wie Immunstimulation, regelmäßig stattfinden. Aus der Sicht der chemischen Metrologie ist es ratsam, die Produktion von Molekülen wie Thromboxan zu stimulieren, um sie in einen Bereich zu bringen, der sicherer zu messen ist, sodass sich Fehlmessungen reduzieren lassen. Wie man in Tab. 5 sehen kann, war im stimulierten Blut in mindestens 9 von 10 Proben eine TxB<sub>2</sub>-Konzentration nachweisbar,



während in den unstimulierten Ansätzen die Konzentrationen zum Teil so gering waren, dass es durch Probleme bei den Messungen zu fehlenden Werten kam. Die Praktikabilität dieses Ansatzes wurde zuvor in mehreren Studien (Himmerich, Schönherr et al. 2011; Himmerich, Fulda et al. 2010), welche nahelegten, dass diese Experimente relativ einfach durchzuführen sind, nachgewiesen. Auf der anderen Seite kann man nicht ausschließen, dass Tests mit APs im Rahmen eines Stimulationsparadigmas zu Artefakten führen können, die auf spezifischen Wechselwirkungen der APs mit den Stimulantien beruhen. Dennoch dienen in-vitro-Stimulations-Paradigmen als Simulation der dynamischen Natur der normalen Lebensdauer von Blutzellen. Weiterhin haben in-vitro-Paradigmen mit immunologischen Stimulationsmethoden in den letzten zwei Jahrzehnten in der psychopharmakologischen Forschung eine Reihe von vergleichbaren in-vitro-Studien mit relevanten wissenschaftlichen Auswirkungen etabliert (Himmerich, Schönherr et al. 2011; Himmerich, Fulda et al. 2010; Kirchner et al. 1982; Seidel et al. 1996; Potvin et al. 2008; Drzyzga et al. 2006; Hinze-Selch, D., Pollmächer, T. 2001; Arolt et al. 2000).

### 5.5 Zusammenfassung der Ergebnisinterpretation basierend auf der Literatur

Es ist bekannt, dass Thromboxane die 5-HT- (Moncada, und Vane 1978) sowie die Dopamin-Signaltransduktion (Mitsumori et al. 2011) modulieren. Weiterhin konnte gezeigt werden, dass sie in die Regelung verschiedener Systeme, in denen typische Nebenwirkungen von Clozapin und seinem Metaboliten NDMC stattfinden, involviert sind. Aus der Erkenntnis, dass es unter Clozapin und seinem Metaboliten NDMC zu einer Abnahme der Thromboxansynthese kommt, schließen wir, dass Thromboxane an der antipsychotischen Wirkung sowie den Nebenwirkungen dieser Arzneimittel beteiligt sind.

### 5.6 Anmerkung

Auf der Grundlage dieser Dissertationsschrift wurden mittlerweile eine Übersichtsarbeit zur Rolle der Eikosanoide für die Pathophysiologie und Therapie der Schizophrenie (Schmidt et al., 2013) und eine Originalarbeit (Himmerich, Schmidt et al., 2012) publiziert. Die Publikationen befinden sich im Anhang.

## 6. Zusammenfassung

Dissertation zur Erlangung des akademischen Grades Dr.med.

*Der Einfluss von Clozapin, N-Desmethylozapin und Chlorpromazin auf die  
in-vitro-Produktion von Thromboxan*

eingereicht von: Renate Luise Schmidt  
geboren am 22.11.1987  
in Borna

angefertigt an: der Universität Leipzig,  
Claussen-Simon-Stiftungsprofessur für Neurobiologie affektiver  
Störungen innerhalb der Klinik und Poliklinik für Psychiatrie  
und Psychotherapie

Betreuer: Prof. Dr. med. Hubertus Himmerich  
PD Dr. rer. nat. Uta Ceglarek

Monat/Jahr Einreichung: Januar 2014

Die Hypothese, dass das AP Clozapin, ebenso wie dessen Metabolit NDMC die Produktion von TxA<sub>2</sub> beeinfluss könnten, stellten wir nach ausführlicher Literaturrecherche auf. Letztere zeigte, dass bereits beim ersten AP CPZ eine reduzierende Wirkung auf die TxA<sub>2</sub>-Produktion nachgewiesen werden konnte. TxA<sub>2</sub> und die Aktivierung seines Rezeptors modulieren Vasokonstriktion und Thrombozytenaggregation. Weiterhin nehmen sie Einfluss auf dopaminerge und serotonerge Signalwege. In der Pathophysiologie der Schizophrenie spielen eben diese eine bedeutende Rolle und stellen somit Zielstrukturen für APs dar.

Um die Konzentration von  $\text{TxB}_2$ , dem Metaboliten des instabilen Moleküls  $\text{TxA}_2$  in stimulierten und unstimulierten Blutproben 10 gesunder Probandinnen zu messen, verwendeten wir ein Vollblutverfahren. Um signifikante Ergebnisse zu erhalten, stimulierten wir die Proben mit TSST-1 oder dem monoklonalen Antikörper OKT3 (Muromonab-CD3), der gegen das Oberflächenantigen CD3 gerichtet ist, kombiniert mit dem monoklonalen Antikörper 5C3, der mit dem Protein CD40 interagiert und es stimuliert.

Weiterhin versetzten wir das Blut mit den APs CPZ, Clozapin oder NDMC in einer von vier verschiedenen Konzentrationen. Außerdem wurden die Thromboxanspiegel im Blut ohne Zusatz von APs unter verschiedenen Stimulationsbedingungen gemessen.

Durch den Zusatz von Clozapin in den verschiedenen Konzentrationen kam es zu einer signifikanten ( $p < 0.05$ ) Verringerung der  $\text{TxB}_2$ -Produktion in den mit TSST-1 und ebenso in den mit OKT3/5C3 versetzten Proben, was wir im Rahmen unserer Studie feststellen konnten. Weiterhin konnten wir zeigen, dass CPZ in sehr niedriger Konzentration die  $\text{TxB}_2$ -Spiegel im unstimulierten und im mit TSST-1 stimulierten Blut reduziert.

Daraus lässt sich schlussfolgern, dass Clozapin, NDMC und CPZ auch über eine Modulation der  $\text{TxA}_2$ - und  $\text{TxB}_2$ -Produktion das Neurotransmittersystem beeinflussen könnten. Auch typische Nebenwirkungen der AP, wie zum Beispiel die orthostatische Hypotension, könnten aus den Veränderungen der  $\text{TxA}_2$ - und  $\text{TxB}_2$ -Konzentrationen resultieren.

## 7. Literaturverzeichnis

- Adair, J.R.; Athwal, D.S.; Bodmer, M.W.; Bright, S.M.; Collins, A.M.; Pulito, V.L.; Rao, P.E.; Reedman, R.; Rothermel, A.L.; Xu, D.; Zivin, R.A.; Jolliffe, L.K. Humanization of the murine anti-human CD3 monoclonal antibody OKT3. *Hum. Antibodies Hybridomas*, 1994, 5, 41-47.
- Adkins, D.E.; Khachane, A.N.; McClay, J.L.; Aberg, K.; Bukszár, J.; Sullivan, P.F.; van den Oord, E.J. SNP-based analysis of neuroactive ligand-receptor interaction pathways implicates PGE<sub>2</sub> as a novel mediator of antipsychotic treatment response: data from the CATIE study. *Schizophr. Res.*, 2012, 135, 200-1.
- Akhondzadeh, S.; Tabatabaee, M.; Amini, H.; Ahmadi Abhari, S.A.; Abbasi, S.H.; Behnam, B. Celecoxib as adjunctive therapy in schizophrenia: a double-blind, randomized and placebo-controlled trial. *Schizophr. Res.*, 2007, 90, 179-85.
- Alanko, J.; Riutta, A.; Vapaatalo, H.; Mucha, I. Catecholamines decrease leukotriene B3 and increase thromboxane B2 synthesis in A23 187-stimulated human whole blood. *Prostaglandins*, 1991, 42, 279-287.
- Amateau, S.K.; McCarthy, M.M. Induction of PGE<sub>2</sub> by estradiol mediates developmental masculinization of sex behavior. *Nat. Neurosci.*, 2004, 7, 643-50.
- American Psychiatric Association. Diagnostic and statistical manual of mental disorders: DSM-IV-TR; Washington, DC, 2000.
- Amminger, G.P.; Schäfer, M.R.; Papageorgiou, K.; Klier, C.M.; Cotton, S.M.; Harrigan, S.M.; Mackinnon, A.; McGorry, P.D.; Berger, G.E. Long-chain omega-3 fatty acids for indicated prevention of psychotic disorders: a randomized, placebo-controlled trial. *Arch. Gen. Psychiatry*, 2010, 67, 146-54.
- Andreasen, N.C.; Olsen, S. Negative v positive schizophrenia. Definition and validation. *Arch. Gen. Psychiatry.*, 1982, 39, 789-94.
- Anfossi, G.; Massucco, P.; Mularoni, E.; Cavalot, F.; Burzacca, S.; Mattiello, L.; Trovati, M. Phentothiazines inhibit collagen-induced thromboxane B2 synthesis and increase forskolin anti-aggregating effects in human platelets. *Gen. Pharmacol.*, 1991, 22, 773-778.
- Anfossi, G.; Trovati, M.; Mularoni, E.; Massucco, P.; Cavalot, F.; Mattiello, L.; Emanuelli, G. Phentothiazine compounds enhance phentolamine effects on platelet aggregation and thromboxane B2 production. *Arch. Int. Pharmacodyn. Ther.*, 1990, 307, 142-61.

## 7. Literaturverzeichnis

- Ansar, S.; Larsen, C.; Maddahi, A.; Edvinsson, L. Subarachnoid hemorrhage induces enhanced expression of thromboxane A2 receptors in rat cerebral arteries. *Brain Res.*, 2010, 1316, 163-72.
- Arolt, V.; Rothermundt, M.; Wandinger, K.P.; Kirchner, H. Decreased in vitro production of interferon-gamma and interleukin-2 in whole blood of patients with schizophrenia during treatment. *Mol. Psychiatry*, 2000, 5, 150-158.
- Autry, A.E.; Monteggia, L.M. Brain-derived neurotrophic factor and neuropsychiatric disorders. *Pharmacol. Rev.*, 2012, 64, 238-58.
- Balu, D.T., Coyle, J.T. Neuroplasticity signaling pathways linked to the pathophysiology of schizophrenia. *Neurosci. Biobehav. Rev.*, 2011, 35, 848-70.
- Bauer, M.; Praschak-Rieder, N.; Kasper, S.; Willeit, M. Is dopamine neurotransmission altered in prodromal schizophrenia? A review of the evidence. *Curr. Pharm. Des.*, 2012, 18, 1568-79.
- Baumann, P.; Hiemke, C.; Ulrich, S.; Eckermann, G.; Gaertner, I.; Gerlach, M.; Kuss, H.J.; Laux, G.; Müller-Oerlinghausen, B.; Rao, M.L.; Riederer, P.; Zernig, G. Arbeitsgemeinschaft für Neuropsychopharmakologie und Pharmakopsychiatrie. The AGNP-TDM expert group consensus guidelines: therapeutic drug monitoring in psychiatry. *Pharmacopsychiatry*, 2004, 37, 243-265.
- Becker, S.; Kortz, L.; Helmschrodt, C.; Thiery, J.; Ceglarek, U. LC-MS-based metabolomics in the clinical laboratory. *J. Chromatogr. B Analyt. Technol. Biomed. Life Sci.*, 2012, 883-884, 68-75.
- Berger, G.E.; Proffitt, T.M.; McConchie, M.; Yuen, H.; Wood, S.J.; Amminger, G.P.; Brewer, W.; McGorry, P.D. Ethyleicosapentaenoic acid in first-episode psychosis: a randomized, placebo- controlled trial. *J. Clin. Psychiatry.*, 2007, 68, 1867-75.
- Berger, G.E.; Smesny, S.; Amminger, G.P. Bioactive lipids in schizophrenia. *Int. Rev. Psychiatry*, 2006, 18, 85-98.
- Berthold-Losleben, M.; Heitmann, S.; Himmerich, H. Antiinflammatory drugs in psychiatry. *Inflamm. Allergy Drug Targets*, 2009, 8, 266-76.
- Bleuler, E. *Dementia praecox oder Gruppe der Schizophrenien*; Deuticke: Leipzig, 1911.
- Brammer, J.P.; Maguire, M.H. Arachidonate metabolism, 5-hydroxytryptamine release and aggregation in human platelets activated by palmitaldehyde acetal phosphatidic acid. *Br. J. Pharmacol.*, 1984, 82, 61-72.

## 7. Literaturverzeichnis

- Bray, N.J.; Leweke, F.M.; Kapur, S.; Meyer-Lindenberg, A. The neurobiology of schizophrenia: new leads and avenues for treatment. *Curr. Opin. Neurobiol.*, 2010, 20, 810-5.
- Brown, A.S.; Hooton, J.; Schaefer, C.A.; Zhang, H.; Petkova, E.; Babulas, V.; Perrin, M.; Gorman, J.M.; Susser, E.S. Elevated maternal interleukin-8 levels and risk of schizophrenia in adult offspring. *Am. J. Psychiatry*, 2004, 161, 889-95.
- Bürki, H.R.; Eichenberger, E.; Sayers, A.C.; White, T.G. Clozapine and the dopamine hypothesis of schizophrenia, a critical appraisal. *Pharmakopsychiatr. Neuropsychopharmakol.*, 1975, 8, 115-21.
- Carey, L.C.; Valego, N.K.; Chen, K.; Rose, J.C. Thyroid hormone regulates renocortical COX-2 and PGE<sub>2</sub> expression in the late gestation fetal sheep. *Reprod. Sci.*, 2008, 15, 598-603.
- Chang, J.; Piperata, S.; Skowronek, M.; Lewis, A.J. Effects of thiazinamium chloride, promethazine and chlorpromazine on thromboxane B2 synthesis, phagocytosis and respiratory burst by rat alveolar macrophages. *Biochem. Pharmacol.*, 1983, 32, 2671-2677.
- Chen, H.; Dzitoyeva, S.; Manev, H. 5-Lipoxygenase in mouse cerebellar Purkinje cells. *Neuroscience.*, 2010, 171, 383-9.
- Cheon Y, Park JY, Modi HR, Kim HW, Lee HJ, Chang L, Rao JS, Rapoport SI. Chronic olanzapine treatment decreases arachidonic acid turnover and prostaglandin E2 concentration in rat brain. *J. Neurochem.*, 2011, 119, 364-76.
- Choi, S.-Y.; Chang, J.; Jiang, B.; Seol, G.-H.; Min, S.-S.; Han, J.- S.; Shin, H.-S.; Gallagher, M.; Kirkwood, A. Multiple receptors coupled to phospholipase C gate long-term depression in visual cortex. *J. Neurosci.*, 2005, 25, 11433-43.
- Coleman, R.A.; Smith, W.L.; Narumiya, S. International Union of Pharmacology classification of prostanoid receptors: properties, distribution, and structure of the receptors and their subtypes. *Pharmacol. Rev.*, 1994, 46, 205-29.
- Connor, C.M.; Crawford, B.C.; Akbarian, S. White matter neuron alterations in schizophrenia and related disorders. *Int. J. Dev. Neurosci.*, 2011, 29, 325-34.
- Das, I.; Khan, N.S. Increased arachidonic acid induced platelet chemiluminescence indicates cyclooxygenase overactivity in schizophrenic subjects. *Prostaglandins Leukot. Essent. Fatty Acids*, 1998, 58, 165-8.

## 7. Literaturverzeichnis

- Davis, K.L.; Kahn, R.S.; Ko, G.; Davidson, M. Dopamine in schizophrenia: a review and reconceptualization. *Am. J. Psychiatry*, 1991, 148, 1474-86.
- Debnath, M.; Cannon, D.M.; Venkatasubramanian, G. Variation in the major histocompatibility complex [MHC] gene family in schizophrenia: Associations and functional implications. *Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry*, 2013, 42, 49-62.
- Di Pietro, N.C.; Seamans, J.K. Dopamine and serotonin interactions in the prefrontal cortex: insights on antipsychotic drugs and their mechanism of action. *Pharmacopsychiatry*, 2007, 40 Suppl 1, 27- 33.
- Di, X.; Chan, R. C.K.; Gong, Q.-Y. White matter reduction in patients with schizophrenia as revealed by voxel-based morphometry: an activation likelihood estimation meta-analysis. *Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry*, 2009, 33, 1390-4.
- Dietrich-Muszalska, A.; Olas, B. Isoprostenes as indicators of oxidative stress in schizophrenia. *World J. Biol. Psychiatry*, 2009, 10, 27-33.
- Dinges, M.M.; Orwin, P.M.; Schlievert, P.M. Exotoxins of *Staphylococcus aureus*. *Clin. Microbiol. Rev.*, 2000, 13, 16-34.
- Drzyzga, L.; Obuchowicz, E.; Marcinowska, A.; Herman, Z.S. Cytokines in schizophrenia and the effects of antipsychotic drugs. *Brain Behav. Immun.*, 2006, 20, 532-545.
- Emsley, R.; Myburgh, C.; Oosthuizen, P.; van Rensburg, S.J. Randomized, placebo-controlled study of ethyl-eicosapentaenoic acid as supplemental treatment in schizophrenia. *Am. J. Psychiatry*, 2002, 159, 1596-8.
- Emsley, R.; Niehaus, D.J.; Koen, L.; Oosthuizen, P.P.; Turner, H.J.; Carey, P.; van Rensburg, S.J.; Maritz, J.S.; Murck, H. The effects of eicosapentaenoic acid in tardive dyskinesia: a randomized, placebocontrolled trial. *Schizophr. Res.*, 2006, 84, 112-20.
- Erhardt, S.; Blennow, K.; Nordin, C.; Skogh, E.; Lindström, L. H.; Engberg, G. Kynurenic acid levels are elevated in the cerebrospinal fluid of patients with schizophrenia. *Neurosci. Lett.*, 2001, 313, 96-8.
- Fenton, W.S.; Dickerson, F.; Boronow, J.; Hibbeln, J.R.; Knable, M. A placebo-controlled trial of omega-3 fatty acid (ethyl eicosapentaenoic acid) supplementation for residual symptoms and cognitive impairment in schizophrenia. *Am. J. Psychiatry*, 2001, 158, 2071-4.
- Fenton, W.S.; Hibbeln, J.; Knable, M. Essential fatty acids, lipid membrane abnormalities, and the diagnosis and treatment of schizophrenia. *Biol. Psychiatr.*, 2000, 47, 8-21.

## 7. Literaturverzeichnis

- Fredriksson, R.; Lagerström, M.C.; Lundin, L.-G.; Schiöth, H.B. The G-protein-coupled receptors in the human genome form five main families. Phylogenetic analysis, paralogon groups, and fingerprints. *Mol. Pharmacol.*, 2003, 63, 1256-72.
- Freeman, M.P.; Hibbeln, J.R.; Wisner, K.L.; Davis, J.M.; Mischoulon, D.; Peet, M.; Keck, P.E.; Marangell, L.B.; Richardson, A.J.; Lake, J.; Stoll, A.L. Omega-3 fatty acids: evidence basis for treatment and future research in psychiatry. *J. Clin. Psychiatry*, 2006, 67, 1954-67.
- Fusar-Poli, P.; Berger, G. Eicosapentaenoic acid interventions in schizophrenia: meta-analysis of randomized, placebo-controlled studies. *J. Clin. Psychopharmacol.*, 2012, 32, 179-85.
- Gao, H.; Peng, B.; Welch, W.J., Wilcox, C.S. Central thromboxane receptors: mRNA expression and mediation of pressor responses. *Am. J. Physiol.*, 1997, 272, 1493-1500.
- Goff, D.C.; Coyle, J.T. The emerging role of glutamate in the pathophysiology and treatment of schizophrenia. *Am. J. Psychiatry*, 2001, 158, 1367-77.
- Himmerich, H.; Berthold-Losleben, M.; Pollmächer, T. The relevance of the TNF-alpha system in psychiatric disorders. *Fortschr. Neurol. Psychiatr.*, 2009, 77, 334-45.
- Himmerich, H.; Fulda, S.; Sheldrick, A.J.; Blümäkers, B.; Rink, L. Interferon-reduction by tricyclic antidepressants. *Int. J. Psychiatry Med.*, 2010, 40, 413-424.
- Himmerich, H.; Kirkby, K.C.; Steinberg, H. From Julius Wagner- Jauregg to biomarkers and immunological therapies. *World J. Biol. Psychiatry*, 2010, 11, 154-5.
- Himmerich, H.; Schmidt, L.; Becker, S.; Kortz, L.; Schönherr, J.; Mergl, R.; Bauer, K.; Sack, U.; Sheldrick, A. J.; Thiery, J.; Ceglarek, U. Impact of clozapine, N desmethyleclozapine and chlorpromazine on thromboxane production in vitro. *Med. Chem.*, 2012, 8, 1032-8.
- Himmerich, H.; Schönherr, J.; Fulda, S.; Sheldrick, A.J.; Bauer, K.; Sack, U. Impact of antipsychotics on cytokine production in-vitro. *J. Psychiatr. Res.*, 2011, 45, 1358-1365.
- Himmerich, H.; Sorge, S.; Kirkby, K.C.; Steinberg, H. Schizophrene Störungen. Die Entwicklung immunologischer Krankheitsund Therapiekonzepte. *Nervenarzt*, 2012, 83, 7-8, 10-2, 14-5.
- Himmerich, H.; Sorge, S.; Kirkby, K.C.; Steinberg, H. Schizophrenic disorders: The development of immunological concepts and therapy in psychiatry. *Nervenarzt*, 2012, 83, 7-15.
- Himmerich, H.; Steinberg, H. Hormone-based classification and therapy concepts in psychiatry. *Fortschr. Neurol. Psychiatr.*, 2011, 79, 384-394.



## 7. Literaturverzeichnis

- Himmerich, H.; Steinberg, H. Hormonelle Krankheits- und Therapiekonzepte in der Psychiatrie. *Fortschr. Neurol. Psychiatr.*, 2011, 79, 384-94.
- Hinze-Selch, D.; Pollmächer, T. In vitro cytokine secretion in individuals with schizophrenia: results, confounding factors, and implications for further research. *Brain Behav. Immun.*, 2001, 15, 282-318.
- Horn, A. S.; Snyder, S. H. Chlorpromazine and dopamine: conformational similarities that correlate with the antischizophrenic activity of phenothiazine drugs. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 1971, 68, 2325-8.
- Horrobin, D.F. Schizophrenia as a prostaglandin deficiency disease. *Lancet*, 1977, 1, 936-937.
- Horrobin, D.F. The membrane phospholipid hypothesis as a biochemical basis for the neurodevelopmental concept of schizophrenia. *Schizophr. Res.*, 1998, 30, 193-208.
- Horrobin, D.F.; Glen, A.I.; Vaddadi, K. The membrane hypothesis of schizophrenia. *Schizophr. Res.*, 1994, 13, 195-207.
- Inagaki, N.; Wada, H. Histamine and prostanoid receptors on glial cells. *Glia*, 1994, 11, 102-9.
- Ishigooka, J.; Shizu, Y.; Wakatabe, H.; Tanaka, K.; Miura, S. Different effects of centrally acting drugs on rabbit platelet aggregation: with special reference to selective inhibitory effects of antipsychotics and antidepressants. *Biol. Psychiatry*, 1985, 20, 866-873.
- Jablensky, A. Subtyping schizophrenia: implications for genetic research. *Mol. Psychiatry.*, 2006, 11, 815-36.
- Kaiya, H.; Imai, H.; Muramatsu, Y.; Nozaki, M.; Fujimura, H.; Adachi, S.; Namba, M. Platelet aggregation response in schizophrenia and prostaglandin E1. *Psychiatry Res.*, 1983, 9, 309-18.
- Kaiya, H.; Uematsu, M.; Ofuji, M.; Nishida, A.; Takeuchi, K.; Nozaki, M.; Idaka, E. Elevated plasma prostaglandin E2 levels in schizophrenia. *J. Neural Transm.*, 1989, 77, 39-46.
- Kaufmann, W.E.; Worley, P.F.; Pegg, J.; Bremer, M.; Isakson, P. COX-2, a synaptically induced enzyme, is expressed by excitatory neurons at postsynaptic sites in rat cerebral cortex. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 1996, 93, 2317-21.
- Kay, S.R.; Sevy, S. Pyramidal model of schizophrenia. *Schizophr. Bull.*, 1990, 16, 537-545.

## 7. Literaturverzeichnis

- Kim, H.; Bang, J.; Chang, H.W.; Kim, J.Y.; Park, K.U.; Kim, S.H.; Lee, K.J.; Cho, C.H., Hwang, I.; Park, S.D.; Ha, E.; Jung, S.W. Anti-inflammatory effect of quetiapine on collagen-induced arthritis of mouse. *Eur. J. Pharmacol.*, 2012, 678, 55-60.
- Kirchner, H.; Kleinicke, C.; Digel, W. A whole-blood technique for testing production of human interferon by leukocytes. *J. Immunol. Methods*, 1982, 48, 213-219.
- Kordi-Tamandani, D.M.; Sahranavard, R.; Torkamanzahi, A. DNA methylation and expression profiles of the brain-derived neurotrophic factor (BDNF) and dopamine transporter (DAT1) genes in patients with schizophrenia. *Mol. Biol. Rep.*, 2012, 39, 10889-93.
- Kortz, L.; Geyer, R.; Ludwig, U.; Planert, M.; Bruegel, M.; Leichtle, A.; Fiedler, G.M.; Thiery, J.; Ceglarek, U. Simultaneous eicosanoid profiling and identification by liquid chromatography and hybrid triple quadrupole-linear ion trap mass spectrometry for metabolomic studies in human plasma. *J. Lab. Med.*, 2009, 33, 341-348.
- Kraepelin, E. *Psychiatrie: Ein Lehrbuch f. Studierende u. Aerzte*, 1910.
- Kulkarni, J.; Hayes, E.; Gavrilidis, E. Hormones and schizophrenia. *Curr. Opin. Psychiatry*, 2012, 25, 89-95.
- Landén, M.; Davidsson, P.; Gottfries, C.-G.; Månsson, J.-E.; Blennow, K. Reduction of the synaptophysin level but normal levels of glycerophospholipids in the gyrus cinguli in schizophrenia. *Schizophr. Res.*, 2002, 55, 83-8.
- Leung, E.; Walsh, L.K.; Pulido-Rios, M.T.; Eglen, R.M. Characterization of putative 5-HT<sub>7</sub> receptors mediating direct relaxation in Cynomolgus monkey isolated jugular vein. *Br. J. Pharmacol.*, 1996, 117, 926-930.
- Lieberman, J.A.; Kane, J.M.; Alvir, J. Provocative tests with psychostimulant drugs in schizophrenia. *Psychopharmacology (Berl.)*, 1987, 91, 415-33.
- Lindenmayer, J.P.; Grochowski, S.; Hyman, R.B. Five factor model of schizophrenia: replication across samples. *Schizophr. Res.*, 1995, 14, 229-34.
- Linderholm, K.R.; Skogh, E.; Olsson, S.K.; Dahl, M.-L.; Holtze, M.; Engberg, G.; Samuelsson, M.; Erhardt, S. Increased levels of kynurenine and kynurenic acid in the CSF of patients with schizophrenia. *Schizophr. Bull.*, 2012, 38, 426-32.
- Lisman, J.E.; Coyle, J.T.; Green, R.W.; Javitt, D.C.; Benes, F.M.; Heckers, S.; Grace, A.A. Circuit-based framework for understanding neurotransmitter and risk gene interactions in schizophrenia. *Trends Neurosci.*, 2008, 31, 234-42.

- Löffler, G. *Biochemie und Pathobiochemie*. Springer, Heidelberg, 2007, 418-424.
- Lwin, A.; Symeon, C.; Jan, F.; Sule, A. Morbidity and mortality in schizophrenia. *Br. J. Hosp. Med.*, 2011, 72, 628-30.
- Malcher-Lopes, R.; Buzzi, M. Glucocorticoid-regulated crosstalk between arachidonic acid and endocannabinoid biochemical pathways coordinates cognitive-, neuroimmune-, and energy homeostasis-related adaptations to stress. *Vitam. Horm.*, 2009, 81, 263-313.
- Marin, C.; Saldaña, M.; Roca-Ferrer, J.; Bonastre, M.; Aguilar, E.; Mullol, J. Striatal and nigral COX-2 expression after chronic typical and atypical neuroleptic administration in rats. *Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry*, 2007, 31, 678-82.
- Marks, F.; Fürstenberger, G. *Prostaglandins, leukotrienes, and other eicosanoids: From biogenesis to clinical application*; Wiley-VCH: Weinheim, New York, 1999.
- Martínez-Gras, I.; Pérez-Nievas, B.G.; García-Bueno, B.; Madrigal, J.L.; Andrés-Esteban, E.; Rodríguez-Jiménez, R.; Hoenicka, J.; Palomo, T.; Rubio, G.; Leza, J.C. The anti-inflammatory prostaglandin 15d-PGJ2 and its nuclear receptor PPARgamma are decreased in schizophrenia. *Schizophr. Res.*, 2011, 128, 15-22.
- Martinotti, G.; Di Iorio, G.; Marini, S.; Ricci, V.; Berardis, D. de; Di Giannantonio, M. Nerve growth factor and brain-derived neurotrophic factor concentrations in schizophrenia: a review. *J. Biol. Regul. Homeost. Agents*, 2012, 26, 347-56.
- McCarthy, M.M. How it's made: organisational effects of hormones on the developing brain. *J. Neuroendocrinol.*, 2010, 22, 736-42.
- McNamara, R.K.; Jandacek, R.; Rider, T.; Tso, P.; Hahn, C.-G.; Richtand, N.M.; Stanford, K.E. Abnormalities in the fatty acid composition of the postmortem orbitofrontal cortex of schizophrenic patients: gender differences and partial normalization with antipsychotic medications. *Schizophr. Res.*, 2007, 91, 37-50.
- Midtvedt, K.; Fauchald, P.; Lien, B.; Hartmann, A.; Albrechtsen, D.; Bjerkely, B.L.; Leivestad, T.; Brekke, I.B. Individualized T cell monitored administration of ATG versus OKT3 in steroid-resistant kidney graft rejection. *Clin. Transplant.*, 2003, 17, 69-74.
- Mitsumori, T.; Furuyashiki, T.; Momiyama, T.; Nishi, A.; Shuto, T.; Hayakawa, T.; Ushikubi, F.; Kitaoka, S.; Aoki, T.; Inoue, H.; Matsuoka, T.; Narumiya, S. Thromboxane receptor activation enhances striatal dopamine release, leading to suppression of GABAergic transmission and enhanced sugar intake. *Eur. J. Neurosci.*, 2011, 34, 594-604.
- Moncada, S.; Vane, J.R. Pharmacology and endogenous roles of prostaglandin endoperoxides, thromboxane A2, and prostacyclin. *Pharmacol. Rev.*, 1978, 30, 293-331. 4

## 7. Literaturverzeichnis

- Moore, S.A.; Yoder, E.; Murphy, S.; Dutton, G.R.; Spector, A.A. Astrocytes, not neurons, produce docosahexaenoic acid (22:6 omega-3) and arachidonic acid (20:4 omega-6). *J. Neurochem.*, 1991, 56, 518-24.
- Moore, S.A.; Yoder, E.; Spector, A.A. Role of the blood-brain barrier in the formation of long-chain omega-3 and omega-6 fatty acids from essential fatty acid precursors. *J. Neurochem.*, 1990, 55, 391-402.
- Muench, J.; Hamer, A.M. Adverse effects of antipsychotic medications. *Am. Fam. Physician*, 2010, 81, 617-622.
- Müller, N. COX-2 inhibitors as antidepressants and antipsychotics: clinical evidence. *Curr. Opin. Investig. Drugs*, 2010, 11, 31-42.
- Müller, N.; Krause, D.; Dehning, S.; Musil, R.; Schennach-Wolff, R.; Obermeier, M.; Möller, H.J.; Klauss, V.; Schwarz, M.J.; Riedel, M. Celecoxib treatment in an early stage of schizophrenia: results of a randomized, double-blind, placebo-controlled trial of celecoxib augmentation of amisulpride treatment. *Schizophr Res.*, 2010, 121, 118-24.
- Müller, N.; Myint, A.-M.; Schwarz, M.J. Immunological treatment options for schizophrenia. *Curr. Pharm. Biotechnol.*, 2012, 13, 1606-13.
- Müller, N.; Myint, A.-M.; Schwarz, M.J. Kynurenine pathway in schizophrenia: pathophysiological and therapeutic aspects. *Curr. Pharm. Des.*, 2011, 17, 130-136.
- Müller, N.; Riedel, M.; Ackenheil, M.; Schwarz, M.J. Cellular and humoral immune system in schizophrenia: a conceptual reevaluation. *World J. Biol. Psychiatry*, 2000, 1, 173-9.
- Müller, N.; Riedel, M.; Scheppach, C.; Brandstätter, B.; Sokullu, S.; Krampe, K.; Ulmschneider, M.; Engel, R.R.; Möller, H.J.; Schwarz, M.J. Beneficial antipsychotic effects of celecoxib add-on therapy compared to risperidone alone in schizophrenia. *Am. J. Psychiatry*, 2002, 159, 1029-34.
- Müller, N.; Schwarz, M.J. Immune system and schizophrenia. *Curr. Immunol. Rev.*, 2010, 6, 213-20.
- Narumiya, S.; Sugimoto, Y.; Ushikubi, F. Prostanoid receptors: Structures, properties, and functions. *Physiol. Rev.*, 1999, 79, 1193-1226.
- Nikolov, R. Arachidonic acid cascade and anti-hypoxic drugs. *Methods Find. Exp. Clin. Pharmacol.*, 1984, 6, 231-234.

## 7. Literaturverzeichnis

- Nilsson, L. K.; Linderholm, K. R.; Engberg, G.; Paulson, L.; Blennow, K.; Lindström, L.H.; Nordin, C.; Karanti, A.; Persson, P.; Erhardt, S. Elevated levels of kynurenic acid in the cerebrospinal fluid of male patients with schizophrenia. *Schizophr. Res.*, 2005, 80, 315-22.
- Nishihara, M.; Yokotani, K.; Inoue, S.; Osumi, Y. U-46619, a selective thromboxane A2 mimetic, inhibits the release of endogenous noradrenaline from the rat hippocampus in vitro. *Jpn. J. Pharmacol.*, 2000, 82, 226-31.
- Ohuoha, D.C.; Hyde, T.M.; Kleinman, J.E. The role of serotonin in schizophrenia: an overview of the nomenclature, distribution and alterations of serotonin receptors in the central nervous system. *Psychopharmacology (Berl.)*, 1993, 112 (Suppl 1), 5-15.
- Paciullo, C.A. Evaluating the association between clozapine and venous thromboembolism. *Am. J. Health Syst. Pharm.*, 2008, 65, 1825-1829.
- Peet, M.; Brind, J.; Ramchand, C.N.; Shah, S.; Vankar, G.K. Two double-blind placebo-controlled pilot studies of eicosapentaenoic acid in the treatment of schizophrenia. *Schizophr Res.*, 2001, 49, 243-51.
- Peet, M.; Horrobin, D.F.; E-E Multicentre Study Group. A doseranging exploratory study of the effects of ethyl-eicosapentaenoate in patients with persistent schizophrenic symptoms. *J. Psychiatr. Res.*, 2002, 36, 7-18.
- Peters, B.D.; Duran, M.; Vlieger, E.J.; Majoie, C.B.; den Heeten, G. J.; Linszen, D.H.; Haan, L. de. Polyunsaturated fatty acids and brain white matter anisotropy in recent-onset schizophrenia: a preliminary study. *Prostaglandins Leukot. Essent. Fatty Acids*, 2009, 81, 61-3.
- Peters, B.D.; Machielsen, M.W. J.; Hoen, W.P.; Caan, M.W.A.; Malhotra, A.K.; Szeszko, P. R.; Duran, M.; Olabbarriaga, S. D.; Haan, L. de. Polyunsaturated Fatty Acid Concentration Predicts Myelin Integrity in Early-Phase Psychosis. *Schizophr. Bull.*, 2013, Epub.
- Pocivavsek, A.; Wu, H.Q.; Potter, M.C.; Elmer, G.I.; Pellicciari, R.; Schwarcz, R. Fluctuations in endogenous kynurenic acid control hippocampal glutamate and memory. *Neuropsychopharmacology* 2011, 36, 2357-67.
- Pogarell, O.; Koch, W.; Karch, S.; Dehning, S.; Müller, N.; Tatsch, K.; Poepperl, G.; Möller, H.-J. Dopaminergic neurotransmission in patients with schizophrenia in relation to positive and negative symptoms. *Pharmacopsychiatry*, 2012, 45 Suppl 1, 36-41.
- Pollmächer, T.; Haack, M.; Schuld, A.; Kraus, T.; Hinze-Selch, D. Effects of antipsychotic drugs on cytokine networks. *J. Psychiatr. Res.*, 2000, 34, 369-382.

## 7. Literaturverzeichnis

- Potvin, S.; Stip, E.; Sepehry, A.A.; Gendron, A.; Bah, R.; Kouassi, E. Inflammatory cytokine alterations in schizophrenia: a systematic quantitative review. *Biol. Psychiatry*, 2008, 63, 801-808.
- Pound, J.D.; Challa, A.; Holder, M.J.; Armitage, R.J.; Dower, S.K.; Fanslow, W.C.; Kikutani, H.; Paulie, S.; Gregory, C.D.; Gordon, J. Minimal crosslinking and epitope requirements for CD40-dependent suppression of apoptosis contrast with those for promotion of the cell cycle and homotypic adhesions in human B cells. *Int. Immunol*, 1999, 11, 11-20.
- Praticò, D. The neurobiology of isoprostanes and Alzheimer's disease. *Biochim. Biophys. Acta*. 2010, 1801, 930-3.
- Rapaport, M.H.; Delrahim, K.K.; Bresee, C.J.; Maddux, R.E.; Ahmadpour, O.; Dolnak, D.; Celecoxib augmentation of continuously ill patients with schizophrenia. *Biol. Psychiatry*, 2005, 57, 1594-6.
- Rappard, F.; Müller, N. Celecoxib Add-on Therapy Does Not Have Beneficial Antipsychotic Effects Over Risperidone Alone in Schizophrenia. *Neuropsychopharmacology*, 2004, 29 (Suppl. 1), 222.
- Remington, G.; Agid, O.; Foussias, G. Schizophrenia as a disorder of too little dopamine: implications for symptoms and treatment. *Expert Rev. Neurother.*, 2011, 11, 589-607.
- Ricciotti, E.; FitzGerald, G.A. Prostaglandins and inflammation. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, 2011, 31, 986-1000.
- Roberts-Crowley, M.L.; Mitra-Ganguli, T.; Liu, L.; Rittenhouse, A.R. Regulation of voltage-gated Ca<sup>2+</sup> channels by lipids. *Cell Calcium*, 2009, 45, 589-601.
- Rogério, A.P.; Anibal, F.F. Role of leukotrienes on protozoan and helminth infections. *Mediators Inflamm.* 2012, 2012, 595694.
- Ross, B.M. Phospholipid and eicosanoid signaling disturbances in schizophrenia. *Prostaglandins Leukotr. Essent. Fatty Acids*, 2003, 69, 407-412.
- Santos, N.C.; Costa, P.; Ruano, D.; Macedo, A.; Soares, M.J.; Valente, J.; Pereira, A.T.; Azevedo, M. H.; Palha, J. A. Revisiting thyroid hormones in schizophrenia. *J. Thyroid Res.*, 2012, 2012, 569147.
- Schönherr, J.; Himmerich, H.; Fulda, S.; Bauer, K.; Sack, U. Zytokinproduktion in vitro unter Einfluss von Antidepressiva. *Nervenheilkunde*, 2011, 30, 884-891.

## 7. Literaturverzeichnis

- Seidel, A.; Arolt, V.; Hunstiger, M.; Rink, L.; Behnisch, A.; Kirchner, H. Increased CD56+ natural killer cells and related cytokines in major depression. *Clin. Immunol. Immunopathol.*, 1996, 78, 83-85.
- Sethom, M.M.; Fares, S.; Bouaziz, N.; Melki, W.; Jemaa, R.; Feki, M.; Hechmi, Z.; Kaabachi, N. Polyunsaturated fatty acids deficits are associated with psychotic state and negative symptoms in patients with schizophrenia. *Prostaglandins Leukot. Essent. Fatty Acids*, 2010, 83, 131-6.
- Simmons, D.L.; Botting, R.M.; Hla, T. Cyclooxygenase isozymes: the biology of prostaglandin synthesis and inhibition. *Pharmacol Rev.*, 2004, 56, 387-437.
- Stauffer, V. L.; Song, G.; Kinon, B. J.; Ascher-Svanum, H.; Chen, L.; Feldman, P.D.; Conley, R.R. Responses to antipsychotic therapy among patients with schizophrenia or schizoaffective disorder and either predominant or prominent negative symptoms. *Schizophr. Res.*, 2012, 134, 195-201.
- Steinberg, H.; Himmerich, H. Emil Kraepelin's habilitation and his thesis: A pioneer work for modern systematic reviews, psychoimmunological research and categories of psychiatric diseases. *World J. Biol. Psychiatry*, 2011, Epub.
- Stolina, M.; Sharma, S.; Lin, Y.; Dohadwala, M.; Gardner, B.; Luo, J.; Zhu, L.; Kronenberg, M.; Miller, P. W.; Portanova, J.; Lee, J. C.; Dubinett, S. M. Specific inhibition of cyclooxygenase 2 restores antitumor reactivity by altering the balance of IL-10 and IL-12 synthesis. *J. Immunol.*, 2000, 164, 361-70.
- Takayasu, M.; Kondo, K.; Terao, S. Endothelin-induced mobilization of Ca<sup>2+</sup> and the possible involvement of platelet activating factor and thromboxane A<sub>2</sub>. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 1989, 160, 751-757.
- Toth, P.; Rozsa, B.; Springo, Z.; Doczi, T.; Koller, A. Isolated human and rat cerebral arteries constrict to increases in flow: role of 20-HETE and TP receptors. *J. Cereb. Blood Flow Metab.*, 2011, 31, 2096-2105.
- van Kammen, D.P.; McAllister-Sistilli, C.G.; Kelley, M.E. In *Current update in psychoimmunology*; Wieselmann, Ed.; Springer: Berlin, Heidelberg, New York, 1997, pp. 51-55.
- van Rossum, J. M. The significance of dopamine-receptor blockade for the mechanism of action of neuroleptic drugs. *Arch. Int. Pharmacodyn. Ther.*, 1966, 160, 492-4.
- Wacker, M.J.; Wilhelm, H.L.; Gomez, S.E.; Floor, E.; Orr, J.A. Role of serotonin in thromboxane A<sub>2</sub>-induced coronary chemoreflex. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.*, 2003, 284, 867-875.

## 7. Literaturverzeichnis

- Werring, D.; Hacking, D.; Losseff, N.; Jäger, H.R.; Walsh, M.; Foong, J. Cerebral venous sinus thrombosis may be associated with clozapine. *J. Neuropsychiatry Clin. Neurosci.*, 2009, 21, 343-345.
- Weschenfelder, J.; Sander, C.; Kluge, M.; Kirkby, K.C.; Himmerich, H. The influence of cytokines on wakefulness regulation: clinical relevance, mechanisms and methodological problems. *Psychiatr. Danub.*, 2012, 24, 112-26.
- Wolkin, A.; Jordan, B.; Peselow, E.; Rubinstein, M.; Rotrosen, J. Essential fatty acid supplementation in tardive dyskinesia. *Am. J. Psychiatry*, 1986, 143, 912-4.
- Wonodi, I.; Stine, O.C.; Sathyaikumar, K.V.; Roberts, R.C.; Mitchell, B.D.; Hong, L.E.; Kajii, Y.; Thaker, G.K.; Schwarcz, R. Downregulated kynurenine 3-monooxygenase gene expression and enzyme activity in schizophrenia and genetic association with schizophrenia endophenotypes. *Arch. Gen. Psychiatry*, 2011, 68, 665-74.
- World Health Organization. ICD-10: International Statistical Classification of Diseases and Related Health Problems; World Health Organization: Geneva, 1994.
- Wu, A.; Ying, Z.; Gomez-Pinilla, F. Docosahexaenoic acid dietary supplementation enhances the effects of exercise on synaptic plasticity and cognition. *Neuroscience*, 2008, 155, 751-9.
- Wu, A.; Ying, Z.; Gomez-Pinilla, F. The interplay between oxidative stress and brain-derived neurotrophic factor modulates the outcome of a saturated fat diet on synaptic plasticity and cognition. *Eur. J. Neurosci.*, 2004, 19, 1699-707.
- Yao, J.K.; Leonard, S.; Reddy, R.D. Membrane phospholipid abnormalities in postmortem brains from schizophrenic patients. *Schizophr. Res.*, 2000, 42, 7-17.
- Zhang, Y.; Chun Chen, D.; Long Tan, Y.; Zhou, D.F. A doubleblind, placebo-controlled trial of celecoxib added to risperidone in first-episode and drug-naive patients with schizophrenia. *Eur. Arch. Psychiatry Clin. Neurosci.*, 2006, 256 (Suppl. 2), II/50.
- Zimmer, L.; Hembert, S.; Durand, G.; Breton, P.; Guilloteau, D.; Besnard, J.C.; Chalon, S. Chronic n-3 polyunsaturated fatty acid diet-deficiency acts on dopamine metabolism in the rat frontal cortex: a microdialysis study. *Neurosci. Lett.*, 1998, 240, 177-81.
- Zimmer, L.; Vancassel, S.; Cantagrel, S.; Breton, P.; Delamanche, S.; Guilloteau, D.; Durand, G.; Chalon, S. The dopamine mesocorticolimbic pathway is affected by deficiency in n-3 polyunsaturated fatty acids. *Am. J. Clin. Nutr.*, 2002, 75, 662-7.



**8. Anlagen**

8.1 Publikation 1 - Mechanisms of Involvement of Eicosanoids and their Precursors in the Pathophysiology and Treatment of Schizophrenia

# Mechanisms of Involvement of Eicosanoids and their Precursors in the Pathophysiology and Treatment of Schizophrenia

Luise Schmidt<sup>1</sup>, Uta Ceglarek<sup>2,3</sup>, Linda Kortz<sup>2,3</sup>, Marcus Hoop<sup>4</sup>, Kenneth Clifford Kirkby<sup>5</sup>, Joachim Thiery<sup>2</sup> and Hubertus Himmerich<sup>1,\*</sup>

<sup>1</sup>Department of Psychiatry and Psychotherapy, University of Leipzig, Leipzig, Germany; <sup>2</sup>Institute of Laboratory Medicine, Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics, University Hospital Leipzig, Leipzig, Germany; <sup>3</sup>LIFE Leipzig Research Center for Civilization Diseases, University of Leipzig, Leipzig, Germany; <sup>4</sup>Institute for Chemical and Bio-Engineering, ETH Zurich, Zurich, Switzerland; <sup>5</sup>Department of Psychiatry, University of Tasmania, Hobart, Tasmania, Australia

**Abstract:** The pathophysiology of schizophrenia has not been fully elucidated but there are converging leads to understanding this complex psychiatric disorder. One family of molecules that may play a crucial role in the development of schizophrenia is the eicosanoids. Review of the literature on eicosanoids in patients with schizophrenia points to findings in three areas: precursor molecules such as polyunsaturated fatty acids (PUFAs) and specifically arachidonic acid (AA), the actions of specific eicosanoids such as thromboxane A2 (TxA<sub>2</sub>), thromboxane B2 (TxB<sub>2</sub>) and prostaglandin E2 (PGE<sub>2</sub>), and enzymes with important functions in eicosanoid metabolism such as cyclooxygenase 2 (COX-2).

It has also been found that classical as well as second generation antipsychotics, drugs used to treat schizophrenia, influence eicosanoid metabolism. For example, clozapine and its metabolite N-desmethylclozapine (NDMC) decreased TxB<sub>2</sub> production *in vitro*.

Eicosanoids and the enzymes involved in their metabolism may provide novel future drug targets. Therapeutic response to COX-2 inhibitors has already been demonstrated in patients at an early stage of schizophrenia. COX-2 inhibitors may exert this therapeutic action through their effects in reducing PGE<sub>2</sub>, type-2 cytokine and kynurenic acid production and strengthening glutamatergic neurotransmission.

**Keywords:** Schizophrenia, antipsychotics, thromboxane A2, thromboxane B2.

## INTRODUCTION

More than a hundred years have passed since Emil Kraepelin (1856-1926) described “dementia praecox” [1], subsequently elaborated in Eugen Bleuler’s (1857-1939) concept of the schizophrenias [2]. However, the etiology, neuropathology and pathophysiology of schizophrenia remain elusive. The 4<sup>th</sup> edition of the Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders (DSM-IV) [3] and the 10<sup>th</sup> revision of the International Classification of Diseases and Related Health Problems (ICD-10) [4] provide specific criteria for diagnosis. However, schizophrenia remains a broad clinical entity defined by subjective symptoms, behavioral signs, and course of illness. Diagnosing schizophrenia remains a diagnostic challenge.

In clinical practice, schizophrenic symptoms are usually divided into “positive” and “negative” symptoms [5] and associated symptoms regarding affectivity and cognition [6, 7]. According to DMS-IV [3], characteristic clinical symptoms include the positive symptoms delusions and hallucinations, and negative symptoms such as disorganized speech,

disorganized behavior, alogia, affective flattening, and avolition. Cognitive symptoms are also common, such as disorganized thinking, slow thinking, difficulty understanding, poor concentration, poor memory, difficulty expressing thoughts, and difficulties integrating thoughts, feelings and behavior. Catatonic symptoms characterized by disturbances in intentional movement and posture can also appear. For the diagnosis of schizophrenia, other causes of the above mentioned symptoms have to be excluded, for example a substance-related disorder or a general medical condition such as a brain tumor that could explain these symptoms.

Over the years, researchers have developed pathophysiological theories for schizophrenia based on biomarkers statistically associated with the disorder. These include genetic or epigenetic factors, structural brain abnormalities on both macroscopic and cytoarchitectural levels, perturbation in synaptic connectivity, neurocognitive dysfunction and neurochemical changes [8-10]. Due to these heterogeneous biological and neuropsychological findings, schizophrenia is assumed to have a multifactorial etiopathogenesis. This combines biological and environmental factors leading to increased vulnerability to the disorder [11]. Interestingly, several of these neurobiological findings have associations with eicosanoids and the enzymes involved in their metabolism.

\*Address correspondence to this author at the Department of Psychiatry, University of Leipzig; Semmelweisstr. 10, 04103 Leipzig, Germany; Tel: +49-(0)341-97-24490; Fax: +49-(0)341-97-24559; E-mail: [Hubertus.Himmerich@medizin.uni-leipzig.de](mailto:Hubertus.Himmerich@medizin.uni-leipzig.de)

## POLYUNSATURATED FATTY ACIDS AND EICOSANOIDS

The term eicosanoids is derived from the Greek word εικοσι, meaning twenty, and refers to the number of their carbon atoms. Eicosanoids are signaling molecules derived from arachidonic acid (AA; see Fig. 1) or other 20 carbon polyunsaturated fatty acids (PUFAs) [12]. Eicosanoids modulate inflammation and immunity in bodily systems, and various processes within the central nervous system. The central nervous system is thought to receive AA from the liver through the bloodstream but additionally, the cerebral endothelium and astrocytes accumulate circulating linoleate, and are able to synthesize AA from linoleate making it available to neurons [13, 14]. Besides AA, important PUFA precursors of eicosanoids include linoleic acid, eicosapentaenoic acid (EPA), docosahexaenoic acid and alpha-linolenic acid.

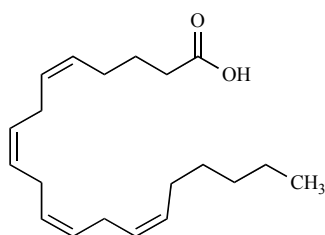


Fig. (1). Chemical structure of arachidonic acid (AA).

There are various types of eicosanoids – (1) the prostaglandins (PG), (2) the prostacyclins (PC), (3) the thromboxanes (Tx), (4) the leukotrienes (LT), (5) the hydroxyeicosatetraenoic acids (HETE), (6) the epoxyeicosatrienoic acids (EET) and (7) the dihydroxyeicosatrienoic acids (DHET). Important prototypes of members of these eicosanoid families are prostaglandin H<sub>2</sub> (PGH<sub>2</sub>; see Fig. 2) which is produced under the influence of the cyclooxygenases (COX)-1 and COX-2 and prostacyclin synthase from arachidonic acid, prostacyclin (see Fig. 3) produced from PGH<sub>2</sub> by the action of prostacyclin synthase, thromboxane A<sub>2</sub> (TxA<sub>2</sub>; see Fig. 4) produced from PGH<sub>2</sub> by the action of thromboxane synthase, and leukotriene A<sub>4</sub> (LTA<sub>4</sub>; see Fig. 5) which is synthesized from AA by 5-lipoxygenase [11]. EETs are formed by the action of cytochrome P450 epoxygenase. The above mentioned enzymes lipoxygenase, cyclooxygenase and cytochrome P450 epoxygenase have been reported expressed in the brain [15, 16]. Important eicosanoids which play a role in the pathophysiology of schizophrenia and their metabolizing enzymes are depicted in (Fig. 6).

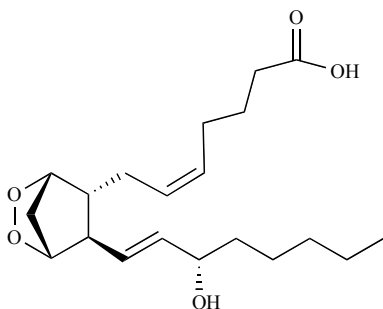


Fig. (2). Chemical structure of prostaglandin H<sub>2</sub> (PGH<sub>2</sub>).

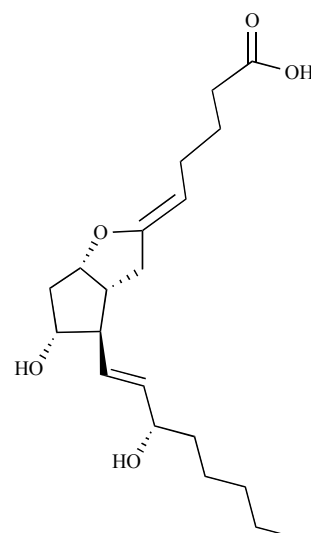


Fig. (3). Chemical structure of prostacyclin (PC).

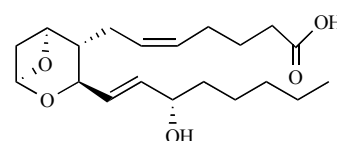


Fig. (4). Chemical structure of thromboxane A<sub>2</sub> (TxA<sub>2</sub>).

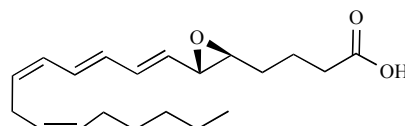


Fig. (5). Chemical structure of leukotriene A<sub>4</sub> (LTA<sub>4</sub>).

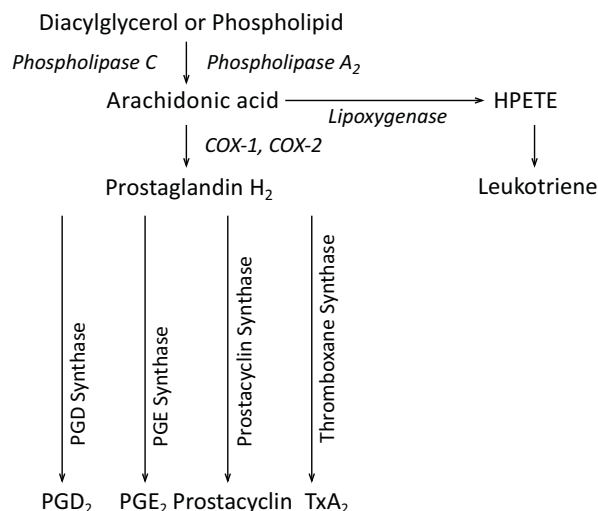


Fig. (6). Important eicosanoids which play a role in the pathophysiology of schizophrenia and their metabolizing enzymes. Abbreviations: Cyclooxygenase 1 (COX-1), cyclooxygenase 2 (COX-2), prostaglandin D<sub>2</sub> (PGD<sub>2</sub>), prostaglandin E<sub>2</sub> (PGE<sub>2</sub>), thromboxane A<sub>2</sub> (TxA<sub>2</sub>), hydroperoxyeicosatetraenoic acid (HPETE).

Eicosanoid receptors are integral membrane proteins, most are G protein-coupled receptors. Eicosanoid receptors

have been found throughout the brain and shown to be linked to second messengers, such as cyclic adenosine monophosphate (cAMP) [17]. These second messengers are also modulated by the activation of dopamine or norepinephrine receptors. Additionally, eicosanoid receptors have been shown to modulate dopaminergic and serotonergic signaling [18, 19] which are important signaling pathways in the pathophysiology of schizophrenia. Besides classical neurotransmitter signaling, eicosanoids also influence hormonal and immunological processes in schizophrenia as detailed below.

As well as their regulating influences on schizophrenia symptoms and contribution to the pathophysiology of schizophrenia, it is important to note that eicosanoids and the enzymes involved in their metabolism are important for basic psychological and physiological functions such as sleep-wake-regulation, which is disturbed in several psychiatric disorders. For example, COX-2 activity and PGD<sub>2</sub> have been shown to induce tiredness and induce sleep [20].

### EICOSANOIDS AND MONOAMINERGIC CHANGES IN SCHIZOPHRENIA

In the 1960's van Rossum [21] postulated a correlation between schizophrenia and the brain dopaminergic system. Over the years, his theory was supported by further research [22-25] and remains a target of present studies [26, 27].

The most telling proof of the dopamine concept is that antipsychotics, effective treatment for schizophrenia, act as dopamine D<sub>2</sub> blockers. On this basis, schizophrenia was construed as a hyperdopaminergic disorder [28]. However, typical anti-dopaminergic antipsychotics have been proven to be effective in controlling positive symptoms, but less effective in treating negative symptoms. Atypical antipsychotics such as clozapine, that act on serotonin (5-HT) receptors as well as D<sub>2</sub> receptors are more effective treatment for negative symptoms in patients with schizophrenia [29]. In addition to dopamine and 5-HT findings, both glutamatergic and  $\gamma$ -aminobutyric acid (GABA) signal transduction have been reported to be altered in schizophrenia [30].

Thromboxanes have also repeatedly been described to mutually influence neurotransmitters altered in schizophrenia [31, 18]. This mutual influence is found in the body's periphery such as in the cardiovascular system as well as in the central nervous system. Regarding 5-HT, thromboxane receptors (TPs) are present on platelets, and stimulation of these receptors by TxA<sub>2</sub> or by TxA<sub>2</sub> receptor agonists activates these platelets leading to the release of 5-HT [32]. Changes in 5-HT reuptake transporter (5-HTT) function lead to alterations in TxA<sub>2</sub> and TxB<sub>2</sub> production within the brain [33]. The brain contains thromboxane receptors on different cell types such as astrocytes [34, 35] and cells of the cerebrovascular system [36]. These receptors are found in brain areas which are important for the pathophysiology of schizophrenia such as the hippocampus [37]. Thromboxane receptors seem not only to play a role in schizophrenia, but also in other psychiatric diseases with impaired cognitive functions and impaired memory such as Alzheimer's disease (AD). Therefore, thromboxane receptor antagonists are currently under investigation as novel therapies for AD [38].

Via the thromboxane receptors, TxA<sub>2</sub> facilitates dopamine release in the striatum and is involved in sucrose intake in mice, which is a dopamine-dependent motivational behavior [18]. Additionally, TxA<sub>2</sub> signaling modulates neurotransmission via glutamatergic N-methyl-d-aspartic acid (NMDA) and GABA receptors [18]. The relevance of these findings in the clinical setting is unclear. A single study by Dietrich-Muszalska and Olas reported no significant difference between TxB<sub>2</sub> plasma levels in patients with schizophrenia and healthy controls [39]. However, all patients in this study were treated with antipsychotics (APs), which may have concealed a difference between patients and healthy controls. The antipsychotic (AP) chlorpromazine (CPZ) has been shown to reduce TxA<sub>2</sub> production [40], and other antipsychotics, allowed as medication in this study may possibly have TxA<sub>2</sub>-reducing properties.

In 1983, Kaiya *et al.* showed that the reduced inhibitory effect of prostaglandin E<sub>1</sub> (PGE<sub>1</sub>) on platelet aggregation in schizophrenia was normalized after antipsychotic medication. In this study, platelet aggregation response to various stimulants, e.g. epinephrine, AA, dopamine and 5-HT, was examined in 18 unmedicated patients, 13 medicated patients, and 13 control subjects. Clinical improvement in patients after antipsychotic medication was significantly correlated with an increase in the platelet aggregation response to AA [41]. Ishigooka *et al.* hypothesized in 1985 that different antipsychotics like mepyramine, promethazine, phentolamine, and clozapine might inhibit the synthesis of prostaglandins or thromboxanes. Therefore they studied these drugs with regard to their effects on aggregation of rabbit platelets and found that these drugs inhibited the platelet aggregation evoked by collagen and AA [42]. In a subsequent study, a dose-dependent negative correlation between the concentrations of chlorpromazine and trifluoperazine on the one hand and thromboxane on the other was demonstrated [40].

In a study by the authors, we investigated whether the antipsychotic clozapine and its metabolite N-desmethylclozapine (NDMC) influence TxA<sub>2</sub> production. We measured levels of thromboxane B<sub>2</sub> (TxB<sub>2</sub>), the metabolite of the very unstable molecule TxA<sub>2</sub>, in unstimulated and stimulated blood samples of 10 healthy female subjects in a whole blood assay. We found that under certain conditions, TxB<sub>2</sub> concentrations were significantly decreased by clozapine, NDMC and chlorpromazine. Knowing that TxA<sub>2</sub> influences neurotransmitter signaling, we concluded that clozapine, NDMC and chlorpromazine possibly act on neurotransmitter systems via modulation of TxA<sub>2</sub> or TxB<sub>2</sub> production [43] in addition to their direct effect on dopamine and 5-HT receptors. The finding that TxA<sub>2</sub> facilitates dopamine release, further suggests that the overactivity of the dopaminergic system in schizophrenic patients could be reduced by restricting TxA<sub>2</sub> production.

### EICOSANOIDS AND IMMUNOLOGICAL CHANGES IN SCHIZOPHRENIA

At the end of the 19<sup>th</sup> and the beginning of the 20<sup>th</sup> century, Emil Kraepelin and Julius Wagner Jauregg (1857–1940) noted that acute infections and fever could exacerbate or diminish symptoms of schizophrenia [44, 45].

Present day immunological hypotheses can include reference to genetic data [46]. Moreover, it has been shown that complications during pregnancy and perinatal infections increase the vulnerability for later onset of schizophrenia; and mothers, whose children suffer from schizophrenia in adolescence, show a significant increase of IL-8 plasma levels during the second trimester [47, 48]. Additionally, infectious diseases like toxoplasmosis during pregnancy bear a higher risk for the child to develop schizophrenia later on [47]. Possibly due to those infectious diseases, patients suffering from schizophrenia have a reduced *in-vitro* production of IL-2 and decreased plasma levels of interferon (IFN)- $\gamma$  which means a reduced type 1 and an increased type 2 immune response [49]. This increased type 2 immune response goes along with findings of elevated IL-4 levels [50], and an association of IL-10 cerebral spinal fluid levels with the severity of the psychotic symptoms in schizophrenic patients [51].

The immunological changes may contribute to dopaminergic dysfunction, leading to the dysbalance in glutaminergic versus dopaminergic neurotransmission seen in schizophrenia due to increased production of kynurenic acid (KYNA) in the brain [52-54]. Besides resulting from infections, these changes may also be caused by an alteration of eicosanoid metabolism, as patients with schizophrenia are reported to have elevated PGE<sub>2</sub> production [55, 56] due to increased COX-2 expression and activity [57]. Other factors contributing to the immunological dysbalance and elevated PGE<sub>2</sub> production in schizophrenic patients could include peroxisome proliferator-activated receptor gamma (PPAR $\gamma$ ) and 15d-prostaglandin J2 (15d-PGJ2) [56]. PGE<sub>2</sub> stimulates the production of type-2 cytokines such as interleukin (IL)-4, IL-5, IL-6 and IL-10 and inhibits the production of type-1 cytokines such as IFN- $\gamma$ , IL-2 and IL-12 [58]. Type-2 cytokines inhibit kynurenine 3-monooxygenase (KMO), the rate-limiting enzyme of the kynurenine pathway. Due to KMO inhibition, kynurenine is not metabolized to 3-hydroxykynurenine via KMO but to KYNA. Indeed, concentrations of KYNA are elevated in the brain and cerebrospinal fluid of schizophrenia patients [59-61]. A study investigating the postmortem tissue of schizophrenic patients found a significant reduction in KMO gene expression and KMO enzyme activity in the frontal eye field (FEF; Brodmann area 6) of these patients [62]. KYNA is a glutamatergic NMDA receptor antagonist and its signaling can therefore disturb the glutamatergic/dopaminergic balance within the brain leading to dopaminergic over-signaling which is typical for schizophrenia [52, 53]. The KYNA elevations may – among other things – aggravate cognitive functions, whereas reductions may improve it. In the methodologically groundbreaking studies of Pocivavsek *et al.*, the effects of acute up- or down-regulation of endogenous KYNA on extracellular glutamate in the hippocampus and on performance in the Morris water maze (MWM) was tested in Sprague–Dawley rats. In this study, KYNA reduced, whereas the specific kynurenine aminotransferase-II inhibitor S-ethylsulfonylbenzoylalanine (ESBA) raised extracellular glutamate levels in the hippocampus. Comparable effects on hippocampal glutamate levels were seen after intra-cerebroventricular application of the KYNA precursor kynurenine. Additionally, intra-cerebroventricular treatment with kynurenine impaired, whereas ESBA improved performance in the MWM. These studies

show that KYNA serves as an endogenous modulator of extracellular glutamate in the hippocampus and regulates hippocampus-related cognitive function [63].

The immunological effects of many current antipsychotics, however, have been proposed to restore in part this immune imbalance and the overproduction of KYNA. On this basis, clinical studies with COX-2 inhibitors have been conducted suggesting favourable effects of this anti-inflammatory therapy in schizophrenia, in particular in an early stage of the disorder [64]. This suggests a central or at least additional role of eicosanoids such as PGE<sub>2</sub> in the pathophysiology of schizophrenia and possibly as a drug target for the treatment of the disorder as we will explain below in more detail.

In summary, schizophrenic patients show an elevated PGE<sub>2</sub> production due to increased COX-2 expression and activity. PGE<sub>2</sub> in turn, stimulates the production of type-2 cytokines which inhibit KMO. Due to KMO inhibition, kynurenine is not metabolized to 3-hydroxykynurenine but to KYNA, a glutamatergic NMDA receptor antagonist. In turn, KYNA disturbs the glutamatergic/dopaminergic balance within the brain leading to dopaminergic over-signaling in schizophrenic patients.

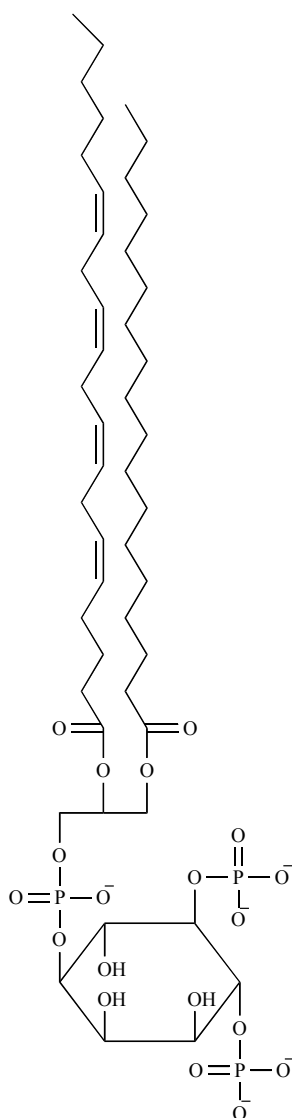
## EICOSANOIDS AND HORMONAL CHANGES IN SCHIZOPHRENIA

From the beginning of the 20<sup>th</sup> century, endocrinological aspects became of increasing interest in the pathophysiology of psychiatric disorders, for example through the psychiatrists Paul Julius Möbius (1853-1907) and Manfred Bleuler (1903-1994), the founder of the new discipline "endocrine psychiatry" [65]. In the case of schizophrenia, sexual hormones like estrogens and thyroid hormones may play a pivotal role as explained below.

Epidemiological and life-cycle data point to significant differences in the incidence and course of schizophrenia between men and women, suggesting a protective role of oestrogen. *In-vitro* and *in-vivo* preclinical researches have confirmed oestradiol's interactions with central neurotransmitter systems implicated in the pathogenesis of schizophrenia. Although results from randomized controlled trials investigating the antipsychotic potential of oestrogen have been promising, the oestrogen hypothesis has not yet been translated into effective clinical practice [66].

Thyroid hormones are crucial during development and in the adult brain. Fluctuations in the levels of thyroid hormones at various times during development and throughout life can impact on manifestations of psychiatric disease and response to treatment. Interrelations between the pituitary-thyroid axis and major neurosignaling systems involved in the pathophysiology of schizophrenia, including the serotonergic, dopaminergic, glutamatergic, and GABAergic networks are described suggesting that deregulation of thyroid hormones is a common feature in schizophrenia [67].

Interestingly, oestradiol is known to increase COX-1 and -2 activity and thereby modulates prostaglandin metabolism [68]. Additionally, oestradiol-induced prostaglandin synthesis has been found to alter glutamatergic neurotransmission [69]. There is also evidence from animal studies that thyroid



**Fig. (7).** Chemical structure of phosphatidylinositol (4,5)-bisphosphate (PIP<sub>2</sub>).

hormones influence COX-2 activity and eicosanoid metabolism [70]. However, there is insufficient data available to postulate a hypothesis linking eicosanoids and their modulating influence on certain hormones, to the pathophysiology of schizophrenia. A reasonable interpretation of these findings is that estrogens and thyroid hormones may lead to schizophrenia by inducing COX-1 and -2 which may lead to increased PGE<sub>2</sub> production.

#### MEMBRANE LIPIDS AND EICOSANOIDS IN SCHIZOPHRENIC PATIENTS

As mentioned above, a pivotal role for fatty acids and specifically PUFA metabolism in the development of schizophrenia has been postulated repeatedly [31], and PUFAs are an essential component of all cells not only in the brain. Major components of cell membranes are phospholipids which form the lipid bilayer. Phospholipids give the

membrane its structure and integrity, as well as providing the lipid environment for the numerous membrane associated and integral proteins, including neurotransmitter receptors, ion channels and transporters [31]. Most phospholipids contain a diglyceride, a phosphate group, and a simple organic molecule such as choline. Membrane phospholipids, for example phosphatidylinositol (4,5)-bisphosphate (PIP<sub>2</sub>), commonly have a PUFA in the 2<sup>nd</sup> position (see Fig. 7). In case of PIP<sub>2</sub>, the PUFA is AA. Some types of phospholipids can be split into products that function as second messengers in signal transduction. PIP<sub>2</sub>, for example, can be split by the enzyme phospholipase C into inositol triphosphate (IP<sub>3</sub>) and diacylglycerol (DAG), which both carry out the functions of the G proteins in response to various stimuli [71]. 5-HT receptors and the metabotropic glutamate receptor are, for example, G protein-coupled receptors (GPCR) [72]; and both types of receptors play a significant role in the pathophysiology of schizophrenia [73, 74]. Thus, PIP<sub>2</sub> forwards afferent signals received by a GPCR such as a 5-HT receptor.

AA can additionally be liberated by lipase cleavage of PIP<sub>2</sub>. In that case, AA opposes the function of PIP<sub>2</sub>. Specifically, AA decreases voltage-gated calcium ion channel availability but increases channel sensitivity [75]. As AA is the raw material for the synthesis of prostaglandins, it seems obvious that phospholipid metabolism may influence prostaglandin signal pathways.

On the basis of clinical and biochemical observations, Horrobin formulated the so-called 'membrane hypothesis of schizophrenia' suggesting that schizophrenia is a disorder in which the metabolism and structure of membrane phospholipids are abnormal in the brain and in other tissues [76, 77]. Specifically, Horrobin and co-workers as well as other research groups found lower PUFA concentrations in the serum, the plasma, in peripheral tissues and in the post-mortem brain of schizophrenia patients compared to normal controls [76, 78-81].

Moreover, white matter abnormalities have been repeatedly demonstrated in schizophrenia [82, 83]. This finding is specifically interesting for the role of PUFAs in the pathophysiology of schizophrenia, because PUFAs may be necessary for the myelinating activity of oligodendrocytes or for myelin maintenance. Indeed, Peters *et al.* [84, 85] showed and later replicated a significant correlation between total PUFA concentration and myelination of a frontotemporal white matter tract in recent-onset schizophrenia patients, using diffusion tensor imaging (DTI) in a magnetic resonance imaging (MRI) study. Therefore, PUFAs may be an important therapeutic target in schizophrenia. In the literature, most studies used EPA and its ester E-EPA for the treatment of schizophrenia. However, the results of systematic reviews are inconclusive [86]. A detailed summary of studies regarding the therapeutic efficacy of PUFAs and specifically E-EPA is shown in (Table 1). PUFAs were also found to have a preventive effect on psychotic disorders in a placebo-controlled trial [87].

As previously mentioned in the section regarding eicosanoids and monoaminergic changes in schizophrenia, dopamine signalling plays a pivotal role in this disorder. Therefore, it is interesting to know that dopaminergic function has also been shown to be affected by PUFAs in animal studies

**Table 1. Overview of Double-blind, Randomized Placebo-controlled Studies Using PUFAs as an Add-on with Antipsychotic Drugs, for Treatment or as Mono-therapy for Prevention of Schizophrenia. The Table Solely Includes Studies Published in Scientific Journals; Adapted from [53]. Abbreviations: Number (N), Polyunsaturated Fatty Acids (PUFAs), Eicosapentaenoic Acid (EPA), Ethyl Eicosapentaenoic Acid (E-EPA), Docosahexaenoic Acid (DHA)**

Authors	Duration of Trial	N	Concomitant Drug	PUFA	Outcome
Berger <i>et al.</i> , 2007 [104]	12 weeks	80	Antipsychotics	E-EPA 2x500 mg/day	no advantage of E-EPA
Emsley <i>et al.</i> , 2002 [105]	12 weeks	40	Antipsychotics	E-EPA 3 g/day	significant advantage of E-EPA
Emsley <i>et al.</i> , 2006 [106]	12 weeks	84	Antipsychotics	E-EPA 2 g/day	no advantage of E-EPA
Fenton <i>et al.</i> , 2001 [107]	16 weeks	44	Antipsychotics	E-EPA 3 g/day	no advantage of E-EPA
Peet <i>et al.</i> , 2001 [108]	3 months	55	Antipsychotics	Eicosapentaenoic acid (EPA) 2 g/day or docosahexaenoic acid (DHA) 2 g/day	significant advantage of EPA
Peet & Horrobin, 2002 [109]	12 weeks	115	Antipsychotics	E-EPA 2 or 4 g/day	significant advantage of EPA 2 g/day
Wokin <i>et al.</i> , 1986 [110]	6 weeks	16	Antipsychotics	gamma-linolenic acid 600 mg/day	no advantage of E-EPA
Amminger <i>et al.</i> , 2010 [87]	12 months	81	None	EPA 700 mg/day, DHA 480 mg/day and tocopherol 7.6 mg/day	PUFAs reduced the risk for a psychotic disorder

[88, 89], although these findings are preliminary. Brain derived neurotrophic factor (BDNF) is another molecule with a potentially important influence on the development of schizophrenia [90, 91]. BDNF is essential for neuronal plasticity and the development of the central nervous system, and is widely implicated in psychiatric diseases [92]. Dietary PUFAs have been found to increase the levels of BDNF in rat hippocampus [93, 94].

AA metabolism was reported to be increased in platelets of drug naive schizophrenic patients and normalized by treatment with antipsychotics. For example, Das and Khan observed an AA-induced chemiluminescence in blood samples from eight newly diagnosed drug-naive schizophrenic patients. After treatment with sulpiride or haloperidol, the chemiluminescence was decreased. The authors concluded that neuroleptic drugs influence AA metabolism [57]. Sethom *et al.* also investigated peripheral blood cells. They examined the profile of membrane PUFAs in patients with schizophrenia before and after antipsychotic medication, by gas chromatography. However they found significantly lower levels of total PUFAs in erythrocyte membranes of schizophrenic patients [95]. To sum up, there are some indications that PUFAs play important mediating roles in the biology of schizophrenia, however, firm conclusions are limited because of the contradictory findings reported in the current literature as depicted in (Table 1).

## TREATMENT IMPLICATIONS

Concluding from the studies discussed here, PUFA and eicosanoid metabolism seem to play a crucial role in the pathophysiology as well as in the treatment of schizophrenia.

(Table 2) shows the various findings regarding PUFAs, eicosanoids and enzymes of eicosanoid metabolism described in this manuscript. Taken together, this data provides convergent evidence for an important role of PUFAs and eicosanoids in the pathophysiology of schizophrenia. However, the ultimate and most challenging proof of this hypothesis is its applicability to clinical treatment. In this respect, several open questions remain.

On the basis of findings that in the serum, plasma, peripheral tissues and the post-mortem brain of schizophrenia patients PUFA concentrations were lower than levels of normal controls [76, 78-81], several studies tested the therapeutic effect of PUFAs on schizophrenia. Most of them used EPA or E-EPA (see Table 1). However, a meta-analysis of randomized controlled trials on symptomatic outcome revealed no beneficial effect of EPA augmentation in schizophrenia [96].

Other important findings regarding eicosanoid metabolism in schizophrenic patients were an increased COX-2 activation resulting in elevated PGE<sub>2</sub> concentration (see Table 2) [55, 57]. PGE<sub>2</sub> stimulates the production of type-2 cytokines in schizophrenic patients, which in turn inhibit KMO leading to an overload of KYNA [52, 53]. This NMDA receptor antagonist may then contribute to the glutamatergic/dopaminergic imbalance typical of schizophrenia. Therefore, COX-2 inhibitors were tested for augmentation of the therapeutic effect of antipsychotics by reducing PGE<sub>2</sub>. (Table 3) provides an overview of double-blind, randomized placebo-controlled studies using COX-2 inhibitors as add-on drug for antipsychotic therapy in schizophrenia. These studies suggest a benefit for augmenting antipsychotic drugs with COX-2 inhibitors in the treatment of schizophrenic patients.

**Table 2. Evidence Available on the Involvement of Eicosanoids in Schizophrenia. The Table Shows Scientific Findings Concerning PUFAs, Eicosanoids, and Enzymes Involved in Eicosanoid Metabolisms in Patients with Schizophrenia and the Effect of Antipsychotic Drugs on these Molecules. For Details See Text. Abbreviations: Polyunsaturated Fatty Acids (PUFAs), Arachidonic Acid (AA), Thromboxane A2 (TxA<sub>2</sub>), Thromboxane B2 (TxB<sub>2</sub>), Prostaglandin E1 (PGE<sub>1</sub>), Prostaglandin E2 (PGE<sub>2</sub>), Cyclooxygenase 1 (COX-1), Cyclooxygenase 2 (COX-2), N-desmethylozapine (NDMC)**

	Molecules	Patients with Schizophrenia	Effects of Antipsychotics	References
Eicosanoids	PUFAs	Lower general PUFA concentration found in serum, plasma, peripheral tissue, erythrocyte membranes and brain of schizophrenic patients, but increased AA activity.	Treatment with sulpiride or haloperidol decreases AA activity	[57, 76, 78-81, 95]
	TxA <sub>2</sub> and TxB <sub>2</sub>	No significant difference between TxB <sub>2</sub> plasma levels in medicated patients with schizophrenia and healthy controls	Treatment with chlorpromazine or trifluoperazine decreases TxA <sub>2</sub> concentration, treatment with clozapine, NDMC, chlorpromazine decreases TxB <sub>2</sub> production	[39, 40, 3]
	PGE <sub>1</sub>	Decreased inhibitory effect on platelet aggregation		[41]
Enzymes	PGE <sub>2</sub>	Elevated production in schizophrenic patients.	Quetiapine decreases PGE <sub>2</sub> levels in mice, olanzapine decreases PGE <sub>2</sub> concentrations in the rat brain. PGE <sub>2</sub> has been proposed as a novel mediator of antipsychotic treatment response.	[87, 111-113]
	COX-1 and -2	Increased expression and activity of COX-1	Haloperidol decreases striatal COX-2 expression in rats.	[52, 53, 57, 114]

**Table 3. Overview of Double-blind, Randomized Placebo-controlled Studies Using COX-2 Inhibitors as Add-on Drug for Antipsychotic Therapy in Schizophrenia, Adapted from [53]**

Authors	Duration of Trial	N	Concomitant Drug	COX-2 Inhibitor	Outcome
Müller <i>et al.</i> , 2002 [97]	5 weeks	50	Risperidone (flexible dose)	Celecoxib 400 mg/day	significant advantage of the COX-2 inhibitor
Rappard and Müller, 2004 [115]	11 weeks	270	Risperidone (flexible dose)	Celecoxib 400 mg/day	no advantage of the COX-2 inhibitor
Rapaport <i>et al.</i> , 2005 [116]	8 weeks	38	Risperidone Olanzapine or (constant dose)	Celecoxib 400 mg/day	no advantage of the COX-2 inhibitor
Zhang <i>et al.</i> , 2006 [117]	12 weeks	40	Risperidone (flexible dose)	Celecoxib 400 mg/day	significant advantage of the COX-2 inhibitor
Akhondzadeh <i>et al.</i> , 2007 [118]	8 weeks	60	Risperidone (fixed dose)	Celecoxib 400 mg/day	significant advantage of the COX-2 inhibitor
Müller <i>et al.</i> , 2010 [99]	6 weeks	49	Amisulpride (flexible dose)	Celecoxib 400 mg/day	significant advantage of the COX-2 inhibitor

However, the overall therapeutic benefit of COX-2 inhibitors in schizophrenia is still controversial. The clinical benefit of COX-2 inhibition in a first prospective, randomized, double-blind trial with the COX-2 inhibitor celecoxib in addition to risperidone treatment in an acute episode of schizophrenia [97] could not be replicated in a second trial done by Müller *et al.*, but further analysis of the data of this failed study revealed that the outcome of the therapy with celecoxib was related to the duration of the disease [98], and the efficacy of celecoxib seemed most pronounced in the first years of schizophrenic disease processes [98]. In a sub-

sequent double-blind, placebo-controlled, randomized trial of amisulpride plus celecoxib versus amisulpride plus placebo in patients with early stage schizophrenia, Müller *et al.* reported a significantly superior therapeutic effect in the celecoxib group compared to placebo [99]. Therefore, COX-2 inhibitors seem to be a specific therapeutic option in early stage schizophrenia. Whether they are also a treatment option for prodromal states of schizophrenia has to be evaluated in further clinical studies. However, for prodromal psychosis, EPA seems to be a feasible treatment option since EPA reduced the risk for development of a psychotic disorder.



der in combination with docosahexaenoic acid and tocopherol [87].

It has not yet been shown whether COX-2 inhibitors or EPA improve or prevent the appearance of schizophrenic symptoms by modulating dopamine signaling. These molecules may exert their beneficial effects via an unknown mechanism, not or not directly related to dopamine signaling. The findings regarding PUFAs, eicosanoids and COX-2 in treatment of schizophrenic patients or with regard to their effects on antipsychotic agents do not answer whether eicosanoids play a role in the development of schizophrenia independently of dopaminergic signaling. Therefore, further clinical studies and trials should collect data regarding eicosanoid metabolism and regarding dopamine signaling. For example, a trial with COX-2 inhibitors could include positron emission tomography (PET) of the dopaminergic system at baseline and during therapy.

TxA<sub>2</sub> had been shown to facilitate dopamine release [18]. Therefore, the overactivity of the dopaminergic system in schizophrenic patients could be reduced by restricting TxA<sub>2</sub> production. As clozapine and chlorpromazine have been shown to decrease TxA<sub>2</sub> production [43], these drugs might – complementary to their direct effect on dopamine and 5-HT receptors – act as antipsychotics by reducing dopamine signaling via the modulation of TxA<sub>2</sub> or TxB<sub>2</sub> production. However, thromboxanes also modulate vasoconstriction and platelet aggregation [19]. Therefore, known side effects of clozapine and similar antipsychotics such as orthostatic hypotension might also be, at least in part mediated by the influence of thromboxanes on the muscle tone of the blood vessels [100]. Additionally, the numerous immunological properties and various side effects of clozapine [101] may be linked to the immunological properties of TxA<sub>2</sub> [102].

As PGE<sub>2</sub>, COX-2, TxA<sub>2</sub> and TxB<sub>2</sub> have been shown to be involved in the pathophysiology of schizophrenia or its treatment, and as lower general PUFA concentration has repeatedly been found in the serum, the plasma, the peripheral tissue, the erythrocyte membranes and the brain of schizophrenic patients (see Table 2), the question arises, whether it would be beneficial to modulate the action or the intake of AA as a precursor molecule of eicosanoids. To reduce PGE<sub>2</sub> and TxA<sub>2</sub> and TxB<sub>2</sub> one could theoretically try to reduce AA availability. However, reduced AA availability may have far-reaching effects on the integrity and function of cell membranes. Additionally, AA is not only used for the production of PGE<sub>2</sub>, COX-2, TxA<sub>2</sub> and TxB<sub>2</sub>, it is also metabolized to leukotrienes via the lipoxygenase pathway [12] which play an important role as signaling molecules in various bodily functions such as immune defense, including defense against bacteria, fungi, and parasites [103]. Therefore, reducing the availability of AA may risk various adverse events and side effects.

The available studies on eicosanoids and schizophrenia are preliminary in nature and the results are partly inconsistent. It is not clear which subgroup of schizophrenic patients might particularly benefit from a treatment targeting eicosanoid metabolism such as COX-2 inhibitors. Additionally, the mechanisms of the interplay between eicosanoids, cytokines, neurotransmitters and hormones are not yet fully understood.

However, eicosanoids which interact with cytokines, neurotransmitters and hormones seem to be one link of a pathophysiological chain that can lead to the development of schizophrenia. In-vivo investigations of the action of antipsychotics on eicosanoid metabolism of patients with schizophrenia may provide deeper insights into the mutual interactions of dopaminergic and serotonergic systems on the one hand and eicosanoid metabolism and signaling on the other hand, and its relevance for the pathophysiology and treatment of schizophrenia.

## CONFLICT OF INTEREST

Prof. Himmerich received speaker honoraria from AstraZeneca, Lilly and Servier, consulting fees from Bristol-Myers Squibb, and chemical substances for study support from AstraZeneca, Novartis and Wyeth. All other authors reported no biomedical financial interests or potential conflicts of interest.

## ACKNOWLEDGEMENTS

The study was supported by the Claussen-Simon-Foundation and by LIFE – Leipzig Research Center for Civilization Diseases, University Leipzig. LIFE is funded by means of the European Union, by the European Regional Development Fund (ERDF) and by means of the Free State of Saxony within the framework of the excellence initiative.

The mentioned sponsors did not have any influence on the review process, the writing of the manuscript and in the decision to submit the paper for publication.

## REFERENCES

- [1] Kraepelin, E. *Psychiatrie: Ein Lehrbuch f. Studierende u. Aerzte*, 1910.
- [2] Bleuler, E. *Dementia praecox oder Gruppe der Schizophrenien*; Deuticke: Leipzig, 1911.
- [3] American Psychiatric Association. *Diagnostic and statistical manual of mental disorders: DSM-IV-TR*; Washington, DC, 2000.
- [4] World Health Organization. *ICD-10: International Statistical Classification of Diseases and Related Health Problems*; World Health Organization: Geneva, 1994.
- [5] Andreasen, N.C.; Olsen, S. Negative v positive schizophrenia. Definition and validation. *Arch. Gen. Psychiatry.*, 1982, 39, 789-94.
- [6] Lindenmayer, J.P.; Grochowski, S.; Hyman, R.B. Five factor model of schizophrenia: replication across samples. *Schizophr. Res.*, 1995, 14, 229-34.
- [7] Kay, S.R.; Sevy, S. Pyramidal model of schizophrenia. *Schizophr. Bull.*, 1990, 16, 537-545.
- [8] Jablensky, A. Subtyping schizophrenia: implications for genetic research. *Mol. Psychiatry.*, 2006, 11, 815-36.
- [9] Bray, N.J.; Leweke, F.M.; Kapur, S.; Meyer-Lindenberg, A. The neurobiology of schizophrenia: new leads and avenues for treatment. *Curr. Opin. Neurobiol.*, 2010, 20, 810-5.
- [10] Balu, D.T.; Coyle, J.T. Neuroplasticity signaling pathways linked to the pathophysiology of schizophrenia. *Neurosci. Biobehav. Rev.*, 2011, 35, 848-70.
- [11] Lwin, A.; Symeon, C.; Jan, F.; Sule, A.. Morbidity and mortality in schizophrenia. *Br. J. Hosp. Med.*, 2011, 72, 628-30.
- [12] Marks, F.; Fürstenberger, G. Prostaglandins, leukotrienes, and other eicosanoids: From biogenesis to clinical application; Wiley-VCH: Weinheim, New York, 1999.
- [13] Moore, S.A.; Yoder, E.; Spector, A.A. Role of the blood-brain barrier in the formation of long-chain omega-3 and omega-6 fatty acids from essential fatty acid precursors. *J. Neurochem.*, 1990, 55, 391-402.
- [14] Moore, S.A.; Yoder, E.; Murphy, S.; Dutton, G.R.; Spector, A.A. Astrocytes, not neurons, produce docosahexaenoic acid (22:6

- omega-3) and arachidonic acid (20:4 omega-6). *J. Neurochem.*, **1991**, *56*, 518-24.
- [15] Chen, H.; Dzitoyeva, S.; Manev, H. 5-Lipoxygenase in mouse cerebellar Purkinje cells. *Neuroscience*, **2010**, *171*, 383-9.
- [16] Kaufmann, W.E.; Worley, P.F.; Pegg, J.; Bremer, M.; Isakson, P. COX-2, a synaptically induced enzyme, is expressed by excitatory neurons at postsynaptic sites in rat cerebral cortex. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **1996**, *93*, 2317-21.
- [17] Coleman, R.A.; Smith, W.L.; Narumiya, S. International Union of Pharmacology classification of prostanoid receptors: properties, distribution, and structure of the receptors and their subtypes. *Pharmacol. Rev.*, **1994**, *46*, 205-29.
- [18] Mitsumori, T.; Furuhashiki, T.; Momiyama, T.; Nishi, A.; Shuto, T.; Hayakawa, T.; Ushikubi, F.; Kitaoka, S.; Aoki, T.; Inoue, H.; Matsuoka, T.; Narumiya, S. Thromboxane receptor activation enhances striatal dopamine release, leading to suppression of GABAergic transmission and enhanced sugar intake. *Eur. J. Neurosci.*, **2011**, *34*, 594-604.
- [19] Wacker, M.J.; Wilhelm, H.L.; Gomez, S.E.; Floor, E.; Orr, J.A. Role of serotonin in thromboxane A2-induced coronary chemoreflex. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.*, **2003**, *284*, 867-75.
- [20] Weschenfelder, J.; Sander, C.; Kluge, M.; Kirkby, K.C.; Himmerich, H. The influence of cytokines on wakefulness regulation: clinical relevance, mechanisms and methodological problems. *Psychiatr. Danub.*, **2012**, *24*, 112-26.
- [21] van Rossum, J. M. The significance of dopamine-receptor blockade for the mechanism of action of neuroleptic drugs. *Arch. Int. Pharmacodyn. Ther.*, **1966**, *160*, 492-4.
- [22] Horn, A. S.; Snyder, S. H. Chlorpromazine and dopamine: conformational similarities that correlate with the antischizophrenic activity of phenothiazine drugs. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **1971**, *68*, 2325-8.
- [23] Bürki, H.R.; Eichenberger, E.; Sayers, A.C.; White, T.G. Clozapine and the dopamine hypothesis of schizophrenia, a critical appraisal. *Pharmakopsychiatr. Neuropsychopharmacol.*, **1975**, *8*, 115-21.
- [24] Lieberman, J.A.; Kane, J.M.; Alvir, J. Provocative tests with psychostimulant drugs in schizophrenia. *Psychopharmacology (Berl.)*, **1987**, *91*, 415-33.
- [25] Davis, K.L.; Kahn, R.S.; Ko, G.; Davidson, M. Dopamine in schizophrenia: a review and reconceptualization. *Am. J. Psychiatry*, **1991**, *148*, 1474-86.
- [26] Pogarell, O.; Koch, W.; Karch, S.; Dehning, S.; Müller, N.; Tatsch, K.; Poepperl, G.; Möller, H.-J. Dopaminergic neurotransmission in patients with schizophrenia in relation to positive and negative symptoms. *Pharmacopsychiatry*, **2012**, *45* (Suppl 1), 36-41.
- [27] Bauer, M.; Praschak-Rieder, N.; Kasper, S.; Willeit, M. Is dopamine neurotransmission altered in prodromal schizophrenia? A review of the evidence. *Curr. Pharm. Des.*, **2012**, *18*, 1568-79.
- [28] Remington, G.; Agid, O.; Foussias, G. Schizophrenia as a disorder of too little dopamine: implications for symptoms and treatment. *Expert Rev. Neurother.*, **2011**, *11*, 589-607.
- [29] Stauffer, V. L.; Song, G.; Kinon, B. J.; Ascher-Svanum, H.; Chen, L.; Feldman, P.D.; Conley, R.R. Responses to antipsychotic therapy among patients with schizophrenia or schizoaffective disorder and either predominant or prominent negative symptoms. *Schizophr. Res.*, **2012**, *134*, 195-201.
- [30] Lisman, J.E.; Coyle, J.T.; Green, R.W.; Javitt, D.C.; Benes, F.M.; Heckers, S.; Grace, A.A. Circuit-based framework for understanding neurotransmitter and risk gene interactions in schizophrenia. *Trends Neurosci.*, **2008**, *31*, 234-42.
- [31] Ross, B.M. Phospholipid and eicosanoid signaling disturbances in schizophrenia. *Prostaglandins Leukot. Essent. Fatty Acids*, **2003**, *69*, 407-12.
- [32] Moncada, S.; Vane, J.R. Pharmacology and endogenous roles of prostaglandin endoperoxidases, thromboxane A2, and prostacyclin. *Pharmacol. Rev.*, **1978**, *30*, 293-331.
- [33] Di Pietro, N.C.; Seamans, J.K. Dopamine and serotonin interactions in the prefrontal cortex: insights on antipsychotic drugs and their mechanism of action. *Pharmacopsychiatry*, **2007**, *40* Suppl 1, 27-33.
- [34] Inagaki, N.; Wada, H. Histamine and prostanoid receptors on glial cells. *Glia*, **1994**, *11*, 102-9.
- [35] Gao, H.; Peng, B.; Welch, W.J.; Wilcox, C.S. Central thromboxane receptors: mRNA expression and mediation of pressor responses. *Am. J. Physiol.*, **1997**, *272*, 1493-1500.
- [36] Ansar, S.; Larsen, C.; Maddahi, A.; Edvinsson, L. Subarachnoid hemorrhage induces enhanced expression of thromboxane A2 receptors in rat cerebral arteries. *Brain Res.*, **2010**, *1316*, 163-72.
- [37] Nishihara, M.; Yokotani, K.; Inoue, S.; Osumi, Y. U-46619, a selective thromboxane A2 mimetic, inhibits the release of endogenous noradrenaline from the rat hippocampus *in vitro*. *Jpn. J. Pharmacol.*, **2000**, *82*, 226-31.
- [38] Praticò, D. The neurobiology of isoprostanes and Alzheimer's disease. *Biochim. Biophys. Acta*, **2010**, *1801*, 930-3.
- [39] Dietrich-Muszalska, A.; Olas, B. Isoprostenes as indicators of oxidative stress in schizophrenia. *World J. Biol. Psychiatry*, **2009**, *10*, 27-33.
- [40] Anfossi, G.; Massucco, P.; Mularoni, E.; Cavalot, F.; Burzacca, S.; Mattiello, L.; Trovati, M. Phenothiazines inhibit collagen-induced thromboxane B2 synthesis and increase forskolin anti-aggregating effects in human platelets. *Gen. Pharmacol.*, **1991**, *22*, 773-8.
- [41] Kaiya, H.; Imai, H.; Muramatsu, Y.; Nozaki, M.; Fujimura, H.; Adachi, S.; Namba, M. Platelet aggregation response in schizophrenia and prostaglandin E1. *Psychiatry Res.*, **1983**, *9*, 309-18.
- [42] Ishigooka, J.; Shizu, Y.; Wakatabe, H.; Tanaka, K.; Miura, S. Different effects of centrally acting drugs on rabbit platelet aggregation: with special reference to selective inhibitory effects of antipsychotics and antidepressants. *Biol. Psychiatry*, **1985**, *20*, 866-73.
- [43] Himmerich, H.; Schmidt, L.; Becker, S.; Kortz, L.; Schonherr, J.; Mergl, R.; Bauer, K.; Sack, U.; Sheldrick, A. J.; Thiery, J.; Ceglarek, U. Impact of clozapine, N-desmethylclozapine and chlorpromazine on thromboxane production *in vitro*. *Med. Chem.*, **2012**, *8*, 1032-8.
- [44] Steinberg, H.; Himmerich, H. Emil Kraepelin's habilitation and his thesis: A pioneer work for modern systematic reviews, psychoimmunological research and categories of psychiatric diseases. *World J. Biol. Psychiatry*, **2011**, Epub.
- [45] Himmerich, H.; Kirkby, K.C.; Steinberg, H. From Julius Wagner-Jauregg to biomarkers and immunological therapies. *World J. Biol. Psychiatry*, **2010**, *11*, 154-5.
- [46] Debnath, M.; Cannon, D.M.; Venkatasubramanian, G. Variation in the major histocompatibility complex [MHC] gene family in schizophrenia: Associations and functional implications. *Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry*, **2013**, *42*, 49-62.
- [47] Berthold-Losleben, M.; Heitmann, S.; Himmerich, H. Anti-inflammatory drugs in psychiatry. *Inflamm. Allergy Drug Targets*, **2009**, *8*, 266-76.
- [48] Brown, A.S.; Hooton, J.; Schaefer, C.A.; Zhang, H.; Petkova, E.; Babulas, V.; Perrin, M.; Gorman, J.M.; Susser, E.S. Elevated maternal interleukin-8 levels and risk of schizophrenia in adult offspring. *Am. J. Psychiatry*, **2004**, *161*, 889-95.
- [49] Himmerich, H.; Berthold-Losleben, M.; Pollmächer, T. The relevance of the TNF-alpha system in psychiatric disorders. *Fortschr. Neurol. Psychiatr.*, **2009**, *77*, 334-45.
- [50] Müller, N.; Riedel, M.; Ackenheil, M.; Schwarz, M.J. Cellular and humoral immune system in schizophrenia: a conceptual re-evaluation. *World J. Biol. Psychiatry*, **2000**, *1*, 173-9.
- [51] van Kammen, D.P.; McAllister-Sistilli, C.G.; Kelley, M.E. In Current update in psychoimmunology; Wieselmann, Ed.; Springer: Berlin, Heidelberg, New York, **1997**, pp. 51-55.
- [52] Müller, N.; Myint, A.-M.; Schwarz, M.J. Kynurenine pathway in schizophrenia: pathophysiological and therapeutic aspects. *Curr. Pharm. Des.*, **2011**, *17*, 130-136.
- [53] Müller, N.; Myint, A.-M.; Schwarz, M.J. Immunological treatment options for schizophrenia. *Curr. Pharm. Biotechnol.*, **2012**, *13*, 1606-13.
- [54] Himmerich, H.; Sorge, S.; Kirkby, K.C.; Steinberg, H. Schizophrenie Störungen. Die Entwicklung immunologischer Krankheits- und Therapiekonzepte. *Nervenarzt*, **2012**, *83*, 7-8, 10-2, 14-5.
- [55] Kaiya, H.; Uematsu, M.; Ofuji, M.; Nishida, A.; Takeuchi, K.; Nozaki, M.; Idaka, E. Elevated plasma prostaglandin E2 levels in schizophrenia. *J. Neural Transm.*, **1989**, *77*, 39-46.
- [56] Martínez-Gras, I.; Pérez-Nievas, B.G.; García-Bueno, B.; Madrigal, J.L.; Andrés-Esteban, E.; Rodríguez-Jiménez, R.; Hoernicka, J.; Palomo, T.; Rubio, G.; Leza, J.C. The anti-inflammatory prostaglandin 15d-PGJ2 and its nuclear receptor PPARgamma are decreased in schizophrenia. *Schizophr. Res.*, **2011**, *128*, 15-22.
- [57] Das, I.; Khan, N.S. Increased arachidonic acid induced platelet chemiluminescence indicates cyclooxygenase overactivity in schizophrenic subjects. *Prostaglandins Leukot. Essent. Fatty Acids*, **1998**, *58*, 165-8.

- [58] Stolina, M.; Sharma, S.; Lin, Y.; Dohadwala, M.; Gardner, B.; Luo, J.; Zhu, L.; Kronenberg, M.; Miller, P. W.; Portanova, J.; Lee, J. C.; Dubinett, S. M. Specific inhibition of cyclooxygenase 2 restores antitumor reactivity by altering the balance of IL-10 and IL-12 synthesis. *J. Immunol.*, **2000**, *164*, 361-70.
- [59] Erhardt, S.; Blennow, K.; Nordin, C.; Skogh, E.; Lindström, L. H.; Engberg, G. Kynurenic acid levels are elevated in the cerebrospinal fluid of patients with schizophrenia. *Neurosci. Lett.*, **2001**, *313*, 96-8.
- [60] Nilsson, L. K.; Linderholm, K. R.; Engberg, G.; Paulson, L.; Blennow, K.; Lindström, L.H.; Nordin, C.; Karanti, A.; Persson, P.; Erhardt, S. Elevated levels of kynurenic acid in the cerebrospinal fluid of male patients with schizophrenia. *Schizophr. Res.*, **2005**, *80*, 315-22.
- [61] Linderholm, K.R.; Skogh, E.; Olsson, S.K.; Dahl, M.-L.; Holtze, M.; Engberg, G.; Samuelsson, M.; Erhardt, S. Increased levels of kynurenic acid and kynurenine in the CSF of patients with schizophrenia. *Schizophr. Bull.*, **2012**, *38*, 426-32.
- [62] Wonodi, I.; Stine, O.C.; Sathyaikumar, K.V.; Roberts, R.C.; Mitchell, B.D.; Hong, L.E.; Kajii, Y.; Thaker, G.K.; Schwarcz, R. Downregulated kynurenine 3-monooxygenase gene expression and enzyme activity in schizophrenia and genetic association with schizophrenia endophenotypes. *Arch. Gen. Psychiatry*, **2011**, *68*, 665-74.
- [63] Pociavsek, A.; Wu, H.Q.; Potter, M.C.; Elmer, G.I.; Pellicciari, R.; Schwarcz, R. Fluctuations in endogenous kynurenic acid control hippocampal glutamate and memory. *Neuropsychopharmacology* **2011**, *36*, 2357-67.
- [64] Müller, N. COX-2 inhibitors as antidepressants and antipsychotics: clinical evidence. *Curr. Opin. Investig. Drugs*, **2010**, *11*, 31-42.
- [65] Himmerich, H.; Steinberg, H. Hormonelle Krankheits- und Therapiekonzepte in der Psychiatrie. *Fortschr. Neurol. Psychiatr.*, **2011**, *79*, 384-94.
- [66] Kulkarni, J.; Hayes, E.; Gavrilidis, E. Hormones and schizophrenia. *Curr. Opin. Psychiatry*, **2012**, *25*, 89-95.
- [67] Santos, N.C.; Costa, P.; Ruano, D.; Macedo, A.; Soares, M.J.; Valente, J.; Pereira, A.T.; Azevedo, M. H.; Palha, J. A. Revisiting thyroid hormones in schizophrenia. *J. Thyroid Res.*, **2012**, *2012*, 569147.
- [68] Amateau, S.K.; McCarthy, M.M. Induction of PGE2 by estradiol mediates developmental masculinization of sex behavior. *Nat. Neurosci.*, **2004**, *7*, 643-50.
- [69] McCarthy, M.M. How it's made: organisational effects of hormones on the developing brain. *J. Neuroendocrinol.*, **2010**, *22*, 736-42.
- [70] Carey, L.C.; Valego, N.K.; Chen, K.; Rose, J.C. Thyroid hormone regulates renocortical COX-2 and PGE2 expression in the late gestation fetal sheep. *Reprod. Sci.*, **2008**, *15*, 598-603.
- [71] Choi, S.-Y.; Chang, J.; Jiang, B.; Seol, G.-H.; Min, S.-S.; Han, J.-S.; Shin, H.-S.; Gallagher, M.; Kirkwood, A. Multiple receptors coupled to phospholipase C gate long-term depression in visual cortex. *J. Neurosci.*, **2005**, *25*, 11433-43.
- [72] Fredriksson, R.; Lagerström, M.C.; Lundin, L.-G.; Schiöth, H.B. The G-protein-coupled receptors in the human genome form five main families. Phylogenetic analysis, paralogon groups, and fingerprints. *Mol. Pharmacol.*, **2003**, *63*, 1256-72.
- [73] Oluoha, D.C.; Hyde, T.M.; Kleinman, J.E. The role of serotonin in schizophrenia: an overview of the nomenclature, distribution and alterations of serotonin receptors in the central nervous system. *Psychopharmacology (Berl.)*, **1993**, *112* (Suppl 1), 5-15.
- [74] Goff, D.C.; Coyle, J.T. The emerging role of glutamate in the pathophysiology and treatment of schizophrenia. *Am. J. Psychiatry*, **2001**, *158*, 1367-77.
- [75] Roberts-Crowley, M.L.; Mitra-Ganguli, T.; Liu, L.; Rittenhouse, A.R. Regulation of voltage-gated Ca<sup>2+</sup> channels by lipids. *Cell Calcium*, **2009**, *45*, 589-601.
- [76] Horrobin, D.F.; Glen, A.I.; Vaddadi, K. The membrane hypothesis of schizophrenia. *Schizophr. Res.*, **1994**, *13*, 195-207.
- [77] Horrobin, D.F. The membrane phospholipid hypothesis as a biochemical basis for the neurodevelopmental concept of schizophrenia. *Schizophr. Res.*, **1998**, *30*, 193-208.
- [78] Yao, J.K.; Leonard, S.; Reddy, R.D. Membrane phospholipid abnormalities in postmortem brains from schizophrenic patients. *Schizophr. Res.*, **2000**, *42*, 7-17.
- [79] Landén, M.; Davidsson, P.; Gottfries, C.-G.; Månsson, J.-E.; Blennow, K. Reduction of the synaptophysin level but normal levels of glycerophospholipids in the gyrus cinguli in schizophrenia. *Schizophr. Res.*, **2002**, *55*, 83-8.
- [80] McNamara, R.K.; Jandacek, R.; Rider, T.; Tso, P.; Hahn, C.-G.; Richtand, N.M.; Stanford, K.E. Abnormalities in the fatty acid composition of the postmortem orbitofrontal cortex of schizophrenic patients: gender differences and partial normalization with antipsychotic medications. *Schizophr. Res.*, **2007**, *91*, 37-50.
- [81] Freeman, M.P.; Hibbeln, J.R.; Wisner, K.L.; Davis, J.M.; Mischoulon, D.; Peet, M.; Keck, P.E.; Marangell, L.B.; Richardson, A.J.; Lake, J.; Stoll, A.L. Omega-3 fatty acids: evidence basis for treatment and future research in psychiatry. *J. Clin. Psychiatry*, **2006**, *67*, 1954-67.
- [82] Di, X.; Chan, R. C.K.; Gong, Q.-Y. White matter reduction in patients with schizophrenia as revealed by voxel-based morphometry: an activation likelihood estimation meta-analysis. *Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry*, **2009**, *33*, 1390-4.
- [83] Connor, C.M.; Crawford, B.C.; Akbarian, S. White matter neuron alterations in schizophrenia and related disorders. *Int. J. Dev. Neurosci.*, **2011**, *29*, 325-34.
- [84] Peters, B.D.; Duran, M.; Vlioger, E.J.; Majoie, C.B.; den Heeten, G. J.; Linszen, D.H.; Haan, L. de. Polyunsaturated fatty acids and brain white matter anisotropy in recent-onset schizophrenia: a preliminary study. *Prostaglandins Leukot. Essent. Fatty Acids*, **2009**, *81*, 61-3.
- [85] Peters, B.D.; Machielsen, M.W. J.; Hoen, W.P.; Caan, M.W.A.; Malhotra, A.K.; Szeszko, P. R.; Duran, M.; Olabarriaga, S. D.; Haan, L. de. Polyunsaturated Fatty Acid Concentration Predicts Myelin Integrity in Early-Phase Psychosis. *Schizophr. Bull.*, **2013**, Epub.
- [86] Berger, G.E.; Smesny, S.; Amminger, G.P. Bioactive lipids in schizophrenia. *Int. Rev. Psychiatry*, **2006**, *18*, 85-98.
- [87] Amminger, G.P.; Schäfer, M.R.; Papageorgiou, K.; Klier, C.M.; Cotton, S.M.; Harrigan, S.M.; Mackinnon, A.; McGorry, P.D.; Berger, G.E. Long-chain omega-3 fatty acids for indicated prevention of psychotic disorders: a randomized, placebo-controlled trial. *Arch. Gen. Psychiatry*, **2010**, *67*, 146-54.
- [88] Zimmer, L.; Hembert, S.; Durand, G.; Breton, P.; Guilloteau, D.; Besnard, J.C.; Chalon, S. Chronic n-3 polyunsaturated fatty acid diet-deficiency acts on dopamine metabolism in the rat frontal cortex: a microdialysis study. *Neurosci. Lett.*, **1998**, *240*, 177-81.
- [89] Zimmer, L.; Vancassel, S.; Cantagrel, S.; Breton, P.; Delamanche, S.; Guilloteau, D.; Durand, G.; Chalon, S. The dopamine mesocorticolimbic pathway is affected by deficiency in n-3 polyunsaturated fatty acids. *Am. J. Clin. Nutr.*, **2002**, *75*, 662-7.
- [90] Kordi-Tamandani, D.M.; Sahranavard, R.; Torkamanzahi, A. DNA methylation and expression profiles of the brain-derived neurotrophic factor (BDNF) and dopamine transporter (DAT1) genes in patients with schizophrenia. *Mol. Biol. Rep.*, **2012**, *39*, 10889-93.
- [91] Martinotti, G.; Di Iorio, G.; Marini, S.; Ricci, V.; Berardis, D. de; Di Giannantonio, M. Nerve growth factor and brain-derived neurotrophic factor concentrations in schizophrenia: a review. *J. Biol. Regul. Homeost. Agents*, **2012**, *26*, 347-56.
- [92] Autry, A.E.; Monteggia, L.M. Brain-derived neurotrophic factor and neuropsychiatric disorders. *Pharmacol. Rev.*, **2012**, *64*, 238-58.
- [93] Wu, A.; Ying, Z.; Gomez-Pinilla, F. The interplay between oxidative stress and brain-derived neurotrophic factor modulates the outcome of a saturated fat diet on synaptic plasticity and cognition. *Eur. J. Neurosci.*, **2004**, *19*, 1699-707.
- [94] Wu, A.; Ying, Z.; Gomez-Pinilla, F. Docosahexaenoic acid dietary supplementation enhances the effects of exercise on synaptic plasticity and cognition. *Neuroscience*, **2008**, *155*, 751-9.
- [95] Sethom, M.M.; Fares, S.; Bouaziz, N.; Melki, W.; Jemaa, R.; Feki, M.; Hechmi, Z.; Kaabachi, N. Polyunsaturated fatty acids deficits are associated with psychotic state and negative symptoms in patients with schizophrenia. *Prostaglandins Leukot. Essent. Fatty Acids*, **2010**, *83*, 131-6.
- [96] Fusar-Poli, P.; Berger, G. Eicosapentaenoic acid interventions in schizophrenia: meta-analysis of randomized, placebo-controlled studies. *J. Clin. Psychopharmacol.*, **2012**, *32*, 179-85.
- [97] Müller, N.; Riedel, M.; Scheppach, C.; Brandstätter, B.; Sokullu, S.; Krampe, K.; Ulmschneider, M.; Engel, R.R.; Möller, H.J.; Schwarz, M.J. Beneficial antipsychotic effects of celecoxib add-on therapy compared to risperidone alone in schizophrenia. *Am. J. Psychiatry*, **2002**, *159*, 1029-34.
- [98] Müller, N.; Schwarz, M.J. Immune system and schizophrenia. *Curr. Immunol. Rev.*, **2010**, *6*, 213-20.

- [99] Müller, N.; Krause, D.; Dehning, S.; Musil, R.; Schennach-Wolff, R.; Obermeier, M.; Möller, H.J.; Klaus, V.; Schwarz, M.J.; Riedel, M. Celecoxib treatment in an early stage of schizophrenia: results of a randomized, double-blind, placebo-controlled trial of celecoxib augmentation of amisulpride treatment. *Schizophr Res.*, **2010**, *121*, 118-24.
- [100] Leung, E.; Walsh, L.K.; Pulido-Rios, M.T.; Eglen, R. M. Characterization of putative 5-HT<sub>7</sub> receptors mediating direct relaxation in Cynomolgus monkey isolated jugular vein. *Br. J. Pharmacol.*, **1996**, *117*, 926-30.
- [101] Pollmächer, T.; Haack, M.; Schuld, A.; Kraus, T.; Hinze-Selch, D. Effects of antipsychotic drugs on cytokine networks. *J. Psychiatr. Res.*, **2000**, *34*, 369-82.
- [102] Ricciotti, E.; FitzGerald, G.A. Prostaglandins and inflammation. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, **2011**, *31*, 986-1000.
- [103] Rogerio, A.P.; Anibal, F.F. Role of leukotrienes on protozoan and helminth infections. *Mediators Inflamm.* **2012**, *2012*, 595694.
- [104] Berger, G.E.; Proffitt, T.M.; McConchie, M.; Yuen, H.; Wood, S.J.; Amminger, G.P.; Brewer, W.; McGorry, P.D. Ethyl-eicosapentaenoic acid in first-episode psychosis: a randomized, placebo-controlled trial. *J. Clin. Psychiatry*, **2007**, *68*, 1867-75.
- [105] Emsley, R.; Myburgh, C.; Oosthuizen, P.; van Rensburg, S.J. Randomized, placebo-controlled study of ethyl-eicosapentaenoic acid as supplemental treatment in schizophrenia. *Am. J. Psychiatry*, **2002**, *159*, 1596-8.
- [106] Emsley, R.; Niehaus, D.J.; Koen, L.; Oosthuizen, P.P.; Turner, H.J.; Carey, P.; van Rensburg, S.J.; Maritz, J.S.; Murck, H. The effects of eicosapentaenoic acid in tardive dyskinesia: a randomized, placebo-controlled trial. *Schizophr. Res.*, **2006**, *84*, 112-20.
- [107] Fenton, W.S.; Dickerson, F.; Boronow, J.; Hibbeln, J.R.; Knable, M. A placebo-controlled trial of omega-3 fatty acid (ethyl eicosapentaenoic acid) supplementation for residual symptoms and cognitive impairment in schizophrenia. *Am. J. Psychiatry*, **2001**, *158*, 2071-4.
- [108] Peet, M.; Brind, J.; Ramchand, C.N.; Shah, S.; Vankar, G.K. Two double-blind placebo-controlled pilot studies of eicosapentaenoic acid in the treatment of schizophrenia. *Schizophr Res.*, **2001**, *49*, 243-51.
- [109] Peet, M.; Horrobin, D.F.; E-E Multicentre Study Group. A dose-ranging exploratory study of the effects of ethyl-eicosapentaenoate in patients with persistent schizophrenic symptoms. *J. Psychiatr. Res.*, **2002**, *36*, 7-18.
- [110] Wolkin, A.; Jordan, B.; Peselow, E.; Rubinstein, M.; Rotrosen, J. Essential fatty acid supplementation in tardive dyskinesia. *Am. J. Psychiatry*, **1986**, *143*, 912-4.
- [111] Kim, H.; Bang, J.; Chang, H.W.; Kim, J.Y.; Park, K.U.; Kim, S.H.; Lee, K.J.; Cho, C.H.; Hwang, I.; Park, S.D.; Ha, E.; Jung, S.W. Anti-inflammatory effect of quetiapine on collagen-induced arthritis of mouse. *Eur. J. Pharmacol.*, **2012**, *678*, 55-60.
- [112] Cheon Y, Park JY, Modi HR, Kim HW, Lee HJ, Chang L, Rao JS, Rapoport SI. Chronic olanzapine treatment decreases arachidonic acid turnover and prostaglandin E2 concentration in rat brain. *J. Neurochem.*, **2011**, *119*, 364-76.
- [113] Adkins, D.E.; Khachane, A.N.; McClay, J.L.; Aberg, K.; Bukszár, J.; Sullivan, P.F.; van den Oord, E.J. SNP-based analysis of neuroactive ligand-receptor interaction pathways implicates PGE2 as a novel mediator of antipsychotic treatment response: data from the CATIE study. *Schizophr. Res.*, **2012**, *135*, 200-1.
- [114] Marin, C.; Saldaña, M.; Roca-Ferrer, J.; Bonastre, M.; Aguilar, E.; Mullol, J. Striatal and nigral COX-2 expression after chronic typical and atypical neuroleptic administration in rats. *Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry*, **2007**, *31*, 678-82.
- [115] Rappard, F.; Müller, N. Celecoxib Add-on Therapy Does Not Have Beneficial Antipsychotic Effects Over Risperidone Alone in Schizophrenia. *Neuropsychopharmacology*, **2004**, *29* (Suppl. 1), 222.
- [116] Rapaport, M.H.; Delrahim, K.K.; Bresee, C.J.; Maddux, R.E.; Ahmadpour, O.; Dolnak, D.; Celecoxib augmentation of continuously ill patients with schizophrenia. *Biol. Psychiatry*, **2005**, *57*, 1594-6.
- [117] Zhang, Y.; Chun Chen, D.; Long Tan, Y.; Zhou, D.F. A double-blind, placebo-controlled trial of celecoxib adds to risperidone in first-episode and drug-naive patients with schizophrenia. *Eur. Arch. Psychiatry Clin. Neurosci.*, **2006**, *256* (Suppl. 2), II/50.
- [118] Akhondzadeh, S.; Tabatabaee, M.; Amini, H.; Ahmadi Abhari, S.A.; Abbasi, S.H.; Behnam, B. Celecoxib as adjunctive therapy in schizophrenia: a double-blind, randomized and placebo-controlled trial. *Schizophr. Res.*, **2007**, *90*, 179-85.

8.2 Publikation 2 - Impact of clozapine, N desmethylozapine and chlorpromazine on thromboxane production in vitro

## Impact of Clozapine, N-Desmethylclozapine and Chlorpromazine on Thromboxane Production *in Vitro*

Hubertus Himmerich<sup>1\*+</sup>, Luise Schmidt<sup>1+</sup>, Susen Becker<sup>3</sup>, Linda Kortz<sup>3,4</sup>, Jeremias Schönherr<sup>1</sup>, Roland Mergl<sup>1</sup>, Katrin Bauer<sup>2</sup>, Ulrich Sack<sup>2</sup>, Abigail J. Sheldrick<sup>5</sup>, Joachim Thiery<sup>3</sup> and Uta Ceglarek<sup>3,4</sup>

<sup>1</sup>Department of Psychiatry and Psychotherapy, University of Leipzig, Leipzig, Germany

<sup>2</sup>Institute of Immunology, Medical Faculty, University of Leipzig, Leipzig, Germany

<sup>3</sup>Institute of Laboratory Medicine, Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics, University Hospital Leipzig, Leipzig, Germany

<sup>4</sup>LIFE – Leipzig Research Center for Civilization Diseases, University of Leipzig, Leipzig, Germany

<sup>5</sup>Department of Psychiatry and Psychotherapy, University of Rostock, Rostock, Germany

\*Both authors contributed equally to the manuscript.

**Abstract:** Thromboxane A<sub>2</sub> (TxA<sub>2</sub>) and the activation of its receptor have been shown to modulate vasoconstriction and platelet aggregation as well as dopaminergic and serotonergic signalling. Dopaminergic and serotonergic systems play a crucial role in the pathophysiology of schizophrenia and these systems are the main targets of antipsychotics (APs). As the first antipsychotic (AP) chlorpromazine (CPZ) has already been shown to reduce TxA<sub>2</sub>, we hypothesized that the AP clozapine and its metabolite N-desmethylclozapine (NDMC) might also influence TxA<sub>2</sub> production.

We measured levels of thromboxane B<sub>2</sub> (TxB<sub>2</sub>), the metabolite of the very unstable molecule TxA<sub>2</sub>, in unstimulated and stimulated blood samples of 10 healthy female subjects in a whole blood assay using toxic shock syndrome toxin-1 (TSST-1) and monoclonal antibody against surface antigen CD3 combined with protein CD40 (OKT3/CD40) as stimulants. Blood was supplemented with the APs CPZ, clozapine or NDMC in one of four different concentrations. Additionally, thromboxane levels were measured in blood without the addition of APs under different stimulation conditions.

Under TSST-1 as well as OKT3/CD40 stimulation, mean TxB<sub>2</sub> concentrations were significantly ( $p < 0.05$ ) decreased by clozapine over all applied concentrations. NDMC led to a decrease in TxB<sub>2</sub> levels under unstimulated conditions as well as under TSST-1 stimulation. CPZ reduced TxB<sub>2</sub> production at low concentrations under unstimulated and TSST-1-stimulated conditions.

Clozapine, NDMC and CPZ possibly act on neurotransmitter systems via modulation of TxA<sub>2</sub> or TxB<sub>2</sub> production. Additionally, known side effects of APs such as orthostatic hypotension may be a result of changes in the concentrations of TxA<sub>2</sub> or TxB<sub>2</sub>.

**Keywords:** Chlorpromazine, clozapine, N-desmethylclozapine, thromboxane A<sub>2</sub>, thromboxane B<sub>2</sub>.

### INTRODUCTION

Arachidonic acid (AA) and its derivatives constitute a major group of signalling molecules between the nervous, immune and hormonal system [1]. Although it is well known that these systems contribute to the development of psychiatric diseases [2, 3], AA and its metabolites are surprisingly not in the focus of psychiatric research.

Nevertheless, some researchers have taken these molecules into account with respect to the pathophysiology of

schizophrenia. In 1977, Horrobin postulated the phospholipid membrane hypothesis of schizophrenia and suggested that schizophrenia might be caused by changes in AA metabolism [4]. There is indeed evidence that schizophrenia may be associated with abnormal metabolism of membrane phospholipids and polyunsaturated fatty acids, particularly of AA and its derivatives [5, 6].

Active AA derivatives are, for example, prostanoids such as thromboxane A<sub>2</sub> (TxA<sub>2</sub>; see Fig. 1) and its metabolite thromboxane B<sub>2</sub> (TxB<sub>2</sub>; see Fig. 2). Thromboxanes act on G protein-coupled thromboxane receptors (TP) to modulate vasoconstriction and platelet aggregation. Additionally, TPs have been shown to modulate dopaminergic and serotonergic signalling [7, 8]; and vice versa, dopamine was reported to stimulate thromboxane synthesis [9].

\*Address correspondence to this author at the Department of Psychiatry, University of Leipzig, Semmelweisstr. 10, 04103 Leipzig, Germany, Tel: +49-(0)341-97-24490; Fax: +49-(0)341-97-24559; E-mail: [Hubertus.Himmerich@medizin.uni-leipzig.de](mailto:Hubertus.Himmerich@medizin.uni-leipzig.de)

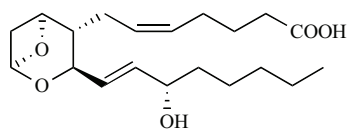


Fig. (1). Chemical structure of thromboxane A2 (TxA2).

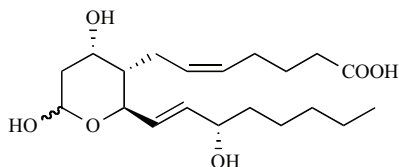


Fig. (2). Chemical structure of thromboxane B2 (TxB2).

Several examples for the mutual influence of TxA2 as well as TxB2 and molecules that act as neurotransmitters can be found in the literature [6, 7]. This mutual influence is not exclusively found in the body's periphery such as in the cardiovascular system, but also in the central nervous system. Regarding serotonin (5-HT), TPs are present on platelets, and stimulation of these receptors by TxA2 or TxA2 receptor agonists activates these platelets leading to the release of 5-HT [10]; and changes in the 5-HT reuptake transporter (5-HTT) function lead to alterations in the TxA2 and TxB2 production within the brain [11]. TxA2 also facilitates dopamine release in the striatum and is involved in sucrose intake in mice which is a dopamine-dependent motivational behaviour [7]. Additionally, TxA2 signalling modulates neurotransmission via N-methyl-D-aspartic acid (NMDA) and  $\gamma$ -aminobutyric acid (GABA) [7].

Interestingly, dopamine, 5-HT, NMDA and GABA signal transduction have been reported to be altered in schizophrenia, and a review of the literature shows that antipsychotics (APs) modulate these disorder-induced changes in the mentioned neurotransmitter systems [11]. Since thromboxanes modulate these neurotransmitter systems, the role of TxA2 and TxB2 in the pathophysiology of schizophrenia and possibly in the therapeutic effects of APs warrants further investigation. Surprisingly, to our knowledge, there is only one study available on the topic where thromboxane levels of schizophrenic patients and healthy controls were compared. In this study, Dietrich-Muszalska and Olas report no significant difference between TxB2 plasma levels of patients suffering from schizophrenia and healthy controls [12]. However, all patients in this study were treated with APs. Therefore, a difference between patients and healthy controls may have been concealed due to pharmacological effects.

It has been shown that phenothiazines, the most famous group of APs, and specifically chlorpromazine (CPZ; see Fig. 3) exert inhibitory action on thromboxane synthesis and thromboxane effects under certain conditions. For example, CPZ has been shown to inhibit collagen-induced TxB2 synthesis [13], to enhance the inhibitory effects of phentolamine on platelet aggregation and TxB2 synthesis [14] and to inhibit platelet aggregation induced by palmitaldehydeacetal phosphatidic acid [15]. CPZ has therefore been assumed to be a blocker of the AA cascade [16] or to inhibit the libera-

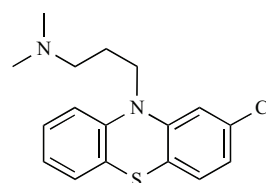


Fig. (3). Chemical structure of chlorpromazine (CPZ).

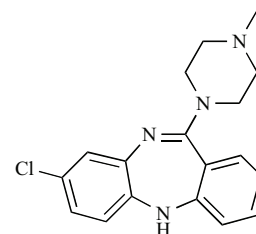


Fig. (4). Chemical structure of clozapine.

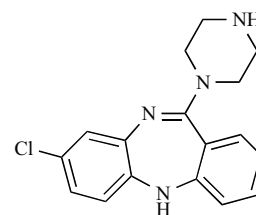


Fig. (5). Chemical structure of N-desmethylclozapine (NDMC).

tion of AA from phospholipids in platelet membranes, possibly by an inhibition of phospholipases [17] such as the phospholipase A2 [18]. However, the inhibitory effects of CPZ on TxB2 production have been reported to be restricted to specific concentrations [19].

Although studies on TxB2 production under the treatment with typical APs such as CPZ have been performed as mentioned above, to our knowledge, the effects of atypical APs such as clozapine (see Fig. 4) and its metabolite N-desmethylclozapine (NDMC; see Fig. 5) on TxB2 production have not yet been investigated. This is noteworthy, as clozapine exhibits side effects which could theoretically be evoked or mediated by thromboxanes. For example, adverse events of clozapine include orthostatic hypotension [20], venous thromboembolism [21] and cerebral venous sinus thrombosis [22]. Additionally, clozapine possibly influences the muscle tone of veins such as the jugular vein as has been shown in experimental studies [23]. As thromboxanes lead to platelet aggregation and are involved in the regulation of the blood flow via vasoconstriction in the body [24] as well as in the brain [25], they could mediate these clozapine-associated side effects. Contrary to the fact that thrombosis is assumed to be a side effect of clozapine, it could be shown that clozapine inhibits the aggregation of rabbit platelets evoked by collagen and arachidonic acid. From these latter findings it has already been hypothesised that clozapine might inhibit the generation of thromboxanes [17], but this assumption has never been examined.

We investigated the influence of CPZ, clozapine and NDMC on TxB2 production *in-vitro*. In earlier *in-vitro* ex-



periments, we learned that it is not advisable to test the effect of psychopharmacological agents on the blood in-vitro without stimulation. Therefore, we used a whole blood assay using toxic shock syndrome toxin-1 (TSST-1) or the anti-CD3 antibody (OKT3) in combination with the stimulatory protein CD40 which can be found on antigen presenting cells (OKT3/CD40) as stimulants as described earlier [26, 27]. Nevertheless, we also report the influence of these drugs on TxB2 in unstimulated blood for the sake of completeness.

OKT3 blocks T cell function [28] while CD40 stimulates other immune cells. This allows an estimation of the influence of stimulation without the contribution of T cells. We recently started to use a whole blood assay with TSST-1-stimulation as an in-vitro approach to test the properties of psychopharmacological agents [29]. TSST-1 is a staphylococcal-secreted exotoxin that is responsible for the toxic shock syndrome. TSST-1 leads to non-specific binding of MHC II with T cell receptors, resulting in polyclonal T cell activation and increased cytokine production [30].

To reduce inter-individual variability by minimizing the influence of age and gender and therefore not to disguise the effect of APs on TxB2 secretion, we only used the blood of young and healthy female subjects. One has to keep in mind while reading this article that this is a pilot study which does not claim to obtain representative data for all ages, sexes and psychiatric conditions.

## METHODS AND MATERIAL

**Subjects:** Ten healthy female subjects without any history of psychiatric disorders between 22 and 45 years of age (mean: 29.9±8.67 (SD) years) were included. The use of immunomodulatory agents, illegal drugs or regular alcohol consumption excluded subjects from study enrolment. Subjects were screened for psychiatric disorders by an experienced psychiatrist using the Structured Clinical Interview for DSM-IV (SKID-I). The presence of a psychiatric disorder also led to exclusion from study enrolment.

**Experimental procedure:** The whole blood assay was performed as described previously [31, 32]. Blood was taken from all subjects once with a heparin-monovette (Sarstedt, Nürtingen, Germany) and examined in a whole blood assay starting within 1-2 h after blood collection. Cell concentration was adjusted at  $3-4 \times 10^9$  cells/l using RPMI 1640 medium (Biochrom, Berlin, Germany). Subsequently, 100 µl of this blood plus RPMI solution were introduced into a tube and mixed with 100 µl pure psychopharmacological substance plus RPMI, resulting in a final cell concentration of  $1,5-2 \times 10^9$  cells/l. The intended final concentrations of psychotropic drugs in this mixture were chosen according to the therapeutic drug monitoring (TDM) expert group of the Association of Neuropsychopharmacology and Pharmacopsychiatry (AGNP) consensus guidelines: Therapeutic drug monitoring in psychiatry [33].

We used maximum therapeutic concentrations of 300 ng/ml for CPZ, 600 ng/ml for clozapine and 600 ng/ml for NDMC. We additionally applied the 0.25-, 0.5- and 2-fold maximal therapeutic concentration. The control condition was blood without any psychopharmacological substance. The design of this study is depicted in Table 1. CPZ was

obtained from Sigma-Aldrich Laborchemikalien GmbH (Seelze, Germany). Clozapine and NDMC were kindly provided by Novartis Pharma.

For stimulation of blood cells, 5 µg/ml recombinant TSST-1 or 100 ng/ml OKT3/CD40 was used. All tubes were covered and samples were incubated in an atmosphere of 5 % CO<sub>2</sub> and 37 °C for 48 h. Cell-free supernatants were harvested after incubation and stored at -70 °C.

As TxB2 is the metabolite of the very unstable molecule TxA<sub>2</sub>, we measured levels of TxB2 using liquid chromatography in combination with tandem mass spectrometry (LC-MS-based metabolomics) [34]. Eicosanoid measurement was performed as previously described [35]. Briefly, for eicosanoid quantification, serum samples were processed by protein precipitation and off-line solid phase extraction. Fast chromatographic separation was achieved on a Kinetex C-18 core-shell column (2.1x100 mm, 2.6 µm; Phenomenex, Aschaffenburg, Germany) with a Shimadzu Prominence UFLC system (Shimadzu Europe, Duisburg, Germany). Mass spectrometric analysis was performed on an API 5500 QTrap instrument (AB SCIEX, Framingham, Massachusetts, USA) applying electrospray ionization in negative mode.

**Statistical analysis:** Because of the small number of data points, descriptive statistics were reported using non-parametric measures, and comparisons between TxB2 concentrations in unstimulated and stimulated blood without and with different concentrations of APs were undertaken with non-parametric paired Wilcoxon tests. Due to the explorative nature of this study, an uncorrected p-value below 0.05 was considered significant.

**Ethics:** The study was approved by the local Ethics Committee of the Medical Faculty of the University of Leipzig (#351-10-13122010).

## RESULTS

The most consistent and robust finding of this study is that under OKT3/CD40 as well as TSST-1 stimulation, clozapine led to a significant decrease in TxB2 levels over all applied concentrations ( $p < 0.01$ ). Additionally, its metabolite NDMC decreased TxB2 levels significantly in the unstimulated condition ( $p < 0.05$ ) and under TSST-1 ( $p < 0.01$  for the 0.5-, 1- and 2-fold of the maximum therapeutic concentration;  $p < 0.05$  for the 0.25-fold concentration). CPZ also reduced TxB2 levels under low drug concentrations in unstimulated and TSST-1-stimulated blood. For details regarding the descriptive statistics as well as comparisons between TxB2 levels, see Table 2. Fig. (6) illustrates an LC-MS chromatogram of thromboxane B<sub>2</sub> levels in the TSST-1 stimulated blood with and without addition of clozapine in the 0.25 fold of the maximum therapeutic concentration.

Due to difficulties in detecting TxB2 in unstimulated blood with the applied method, several TxB2 values are missing. In 4 of 10 samples, TxB2 concentrations could not be detected. Under stimulated conditions, TxB2 values could be measured in most of the cases. In all stimulated samples under different conditions, TxB2 could be determined in at least N=9 of 10 samples.

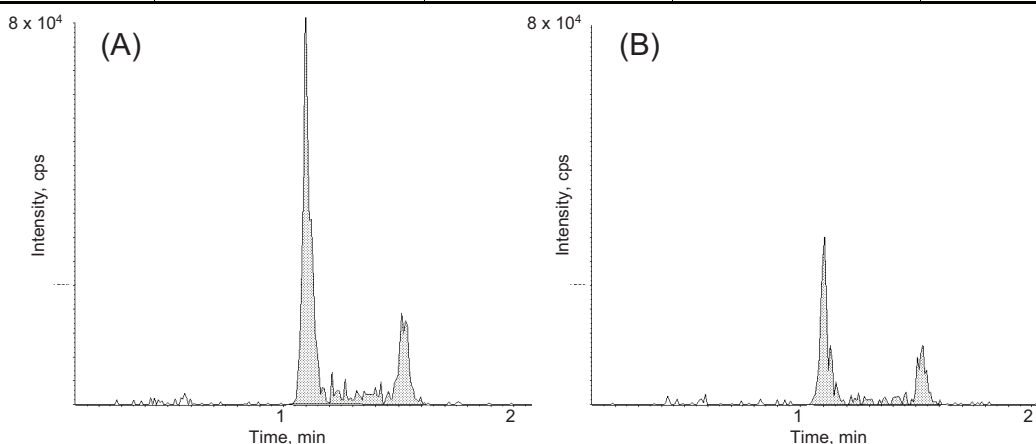


**Table 1. Design of the Study: TxB2 Concentration was Measured in the Whole Blood Approach of Each of the 10 Healthy Female Subjects Under the Following Conditions: Blood Without Stimulation, Blood Stimulated with OKT3/CD40 or with TSST-1 (3 Measurements Without Application of APs). To each of these 3 Conditions, Clozapine, NDMC or CPZ (3 Different Substances) was added in 4 Concentrations Each (36 Measurements). Therefore, TxB2 was Measured Under 36+3=39 Conditions. Concentrations are shown as Relative as well as Absolute Concentrations**

Stimulations	APs	Relative Concentration	Absolute Concentration
no stimulation	Clozapine	0.25-fold	150 ng/ml
		0.5-fold	300 ng/ml
		1-fold	600 ng/ml
		2-fold	1200 ng/ml
	NDMC	0.25-fold	150 ng/ml
		0.5-fold	300 ng/ml
		1-fold	600 ng/ml
		2-fold	1200 ng/ml
	CPZ	0.25-fold	75 ng/ml
		0.5-fold	150 ng/ml
		1-fold	300 ng/ml
		2-fold	600 ng/ml
OKT3/CD40	Clozapine	0.25-fold	150 ng/ml
		0.5-fold	300 ng/ml
		1-fold	600 ng/ml
		2-fold	1200 ng/ml
	NDMC	0.25-fold	150 ng/ml
		0.5-fold	300 ng/ml
		1-fold	600 ng/ml
		2-fold	1200 ng/ml
	CPZ	0.25-fold	75 ng/ml
		0.5-fold	150 ng/ml
		1-fold	300 ng/ml
		2-fold	600 ng/ml
TSST-1	Clozapine	0.25-fold	150 ng/ml
		0.5-fold	300 ng/ml
		1-fold	600 ng/ml
		2-fold	1200 ng/ml
	NDMC	0.25-fold	150 ng/ml
		0.5-fold	300 ng/ml
		1-fold	600 ng/ml
		2-fold	1200 ng/ml
	CPZ	0.25-fold	75 ng/ml
		0.5-fold	150 ng/ml
		1-fold	300 ng/ml
		2-fold	600 ng/ml
3 measurements in the blood without APs	3 (stimulations) x 3 (APs) x 4 (concentrations) =36 measurements		

**Table 2. Median and Interquartile Range (IQR) of Thromboxane (Tx) B2 Concentrations Measured in Unstimulated Blood, in OKT3/CD40- or TSST-1-stimulated Blood with or without APs at Different Concentrations: the 0.25-, 0.5-, 1- and 2-fold of the Maximum Therapeutic Dose. The 1-fold Maximum Therapeutic Doses were: 300 ng/ml for CPZ, 600 ng/ml for Clozapine and 600 ng/ml for NDMC. \* Significant Difference Compared to the Respective Blood (without Stimulation, with OKT3/CD40 or with TSST-1) without APs ( $p < 0.05$ ), \*\* ( $p < 0.01$ ).**

TxB2 [ng/ml]	Median (IQR); N	Median (IQR); N	Median (IQR); N	Median (IQR); N
<b>no stimulation</b>				
unstimulated blood without APs	6.15 (11.24); N=6			
	<i>0.25-fold concentration</i>	<i>0.5-fold concentration</i>	<i>1-fold concentration</i>	<i>2-fold concentration</i>
Clozapine	2.55; (4.00); N=8	2.56 (2.66); N=7	2.11 (5.32); N=9	4.64 (2.27); N=6
NDMC	1.17 (1.42); N=8 *	1.38 (2.83); N=8 *	2.13 (2.52); N=8 *	1.73 (2.74); N=8 *
CPZ	1.17 (3.43); N=9 *	1.85 (5.28); N=8 *	3.51 (10.48); N=9	5.96 (13.47); N=8
<b>OKT3/CD40 stimulation</b>				
stimulated blood without APs	11.16 (5.52); N=10			
	<i>0.25-fold concentration</i>	<i>0.5-fold concentration</i>	<i>1-fold concentration</i>	<i>2-fold concentration</i>
Clozapine	8.59 (5.23); N=10 **	8.42 (2.95); N=10 **	7.30 (4.71); N=10 **	7.58 (3.73); N=9 **
NDMC	9.26 (4.03); N=10	10.05 (6.08); N=9 *	9.81 (4.19); N=10	8.33 (5.97); N=10
Chlorpromazine	10.84 (6.99); N=10	11.34 (5.66); N=9	10.70 (4.86); N=10	10.45 (7.08); N=9
<b>TSST-1 stimulation</b>				
stimulated blood without APs	14.65 (5.04); N=10			
	<i>0.25-fold concentration</i>	<i>0.5-fold concentration</i>	<i>1-fold concentration</i>	<i>2-fold concentration</i>
Clozapine	10.02 (6.64); N=10 **	11.08 (5.98); N=10 **	10.38 (5.76); N=9 **	10.93 (5.20); N=10 **
NDMC	12.32 (4.84); N=10 *	11.34 (7.49); N=10 **	11.49 (7.20); N=9 **	11.80 (5.12); N=10 **
CPZ	13.20 (4.68); N=10 *	13.72 (6.82); N=10	14.91 (8.87); N=9	13.32 (6.13); N=10



**Fig. (6).** LC-MS chromatogram of thromboxane B2: (A) TSST-1 stimulated blood (B) TSST-1 stimulated blood with addition of clozapine (0.25 fold). Two signals are present in the chromatogram due to the 11-hydroxy thromboxane B2 anomers. Abbreviations: counts per second (cps), minutes (min).

## DISCUSSION

We tested the influence of CPZ, clozapine and its metabolite NDMC on TxB2 production *in-vitro* using a whole blood assay. As to be expected from the literature, CPZ reduced TxB2 production under certain conditions. Here we could demonstrate significant effects in low doses of CPZ

without additional stimulation and under TSST-1 stimulation.

The most consistent and robust finding of this study is that under OKT3/CD40 as well as TSST-1 stimulation, clozapine led to a significant decrease in TxB2 levels over all applied concentrations ( $p < 0.01$ ). Additionally, its metabolite

NDMC reduced TxB2 production under TSST-1 stimulation and in unstimulated blood. Therefore, one has to assume that clozapine and its metabolite decrease the synthesis of TxA2 and its metabolite TxB2.

The obtained results may have implications regarding clozapine's mechanism of antipsychotic action as well as the pathophysiology of clozapine's side effects. As TxA2 increases 5-HT [10] as well as dopamine signalling [7], the antipsychotic action of clozapine and NDMC might unfold via modulation of the dopamine and 5-HT system via blocking TxA2 production in addition to direct antagonistic effects at dopamine and 5-HT receptor level. Known side effects of clozapine such as orthostatic hypotension might also be, at least in part mediated by the influence of thromboxanes on the muscle tone of the blood vessels [23]. Additionally, the numerous immunological properties and various side effects of clozapine [3, 36] may be linked to the immunological properties of TxA2 [37].

As stated above, this is a small pilot study and the level of significance was not controlled for multiple testing. Therefore, all effects need to be independently replicated. The reported data on TxB2 alterations are derived from an in-vitro assay using human blood of healthy subjects. Hence, these limitations must be taken into account when drawing conclusions. The reported findings are of preliminary nature. To our knowledge, this is the first study investigating the effect of clozapine and NDMC on thromboxane production. However, these data provide an alternative and complementary viewpoint to established neurotransmitter hypotheses of schizophrenia and to the current opinion regarding the mechanisms of how antipsychotics work.

We used this stimulated in-vitro approach for methodological reasons as well as for reasons of chemical metrology. Methodological reasons include the comparability with other studies [29, 38-41] and the approximation of the *in-vitro* condition to the natural conditions in the human body where dynamic processes such as immune stimulation regularly take place. From the viewpoint of chemical metrology, it is advisable to stimulate the production of molecules such as thromboxanes into a range which is safer to measure to avoid false measurements. As one can see in Table 2, in the stimulated blood, a minimum of 9 of 10 TxB2 concentrations was detectable, whereas in the unstimulated blood, we had more missing values due to measurement problems because of too low TxB2 concentrations. The practicability of this approach has been demonstrated in several former studies [26, 29] in which we made the experience that these experiments are relatively easy to perform.

On the other hand, we can not exclude that testing APs in the framework of a stimulation paradigm may cause artifacts due to a specific interaction of the APs with the stimulant. Nevertheless, in-vitro stimulation paradigms serve as a simulation of the dynamic nature of the normal life of blood cells and in-vitro paradigms using immunological stimulation methods have been established during the last two decades in psychopharmacological research and a number of comparable *in-vitro* studies with relevant scientific impact are available [26, 29, 31, 32, 38-41].

## CONCLUSION

Thromboxanes are known to modulate 5-HT [10] as well as dopamine signalling [7], and thromboxanes have been shown to be involved in the regulation of systems in which typical side effects of clozapine and its metabolite NDMC take place. Therefore, we conclude from the finding of a decrease in thromboxane synthesis under clozapine and its metabolite NDMC that thromboxanes seem to be involved in the antipsychotic effects as well as the side effects of these drugs.

## CONFLICT OF INTEREST

Prof. Himmerich received speaker honoraria from Astra-Zeneca, Lilly and Servier, consulting fees from Bristol-Myers Squibb, and chemical substances for study support from AstraZeneca, Novartis and Wyeth. All other authors reported no biomedical financial interests or potential conflicts of interest.

## ACKNOWLEDGEMENTS

The study was supported by the Claussen-Simon-Foundation and by LIFE – Leipzig Research Center for Civilization Diseases, University Leipzig. LIFE is funded by means of the European Union, by the European Regional Development Fund (ERDF) and by means of the Free State of Saxony within the framework of the excellence initiative. Novartis Pharma supported the study by providing the pure substances of clozapine and N-desmethylclozapine. The mentioned sponsors did not have any influence on the study design, the collection, analysis and interpretation of data, the writing of the report and in the decision to submit the paper for publication.

## REFERENCES

- [1] Malcher-Lopes, R.; Buzzi, M. Glucocorticoid-regulated crosstalk between arachidonic acid and endocannabinoid biochemical pathways coordinates cognitive-, neuroimmune-, and energy homeostasis-related adaptations to stress. *Vitam. Horm.*, **2009**, *81*, 263-313.
- [2] Himmerich, H.; Steinberg, H. Hormone-based classification and therapy concepts in psychiatry. *Fortschr. Neurol. Psychiatr.*, **2011**, *79*, 384-394.
- [3] Himmerich, H.; Sorge, S.; Kirkby, K.C.; Steinberg, H. Schizophrenic disorders: The development of immunological concepts and therapy in psychiatry. *Nervenarzt*, **2012**, *83*, 7-15.
- [4] Horrobin, D.F. Schizophrenia as a prostaglandin deficiency disease. *Lancet*, **1977**, *1*, 936-937.
- [5] Fenton, W.S.; Hibbeln, J.; Knable, M. Essential fatty acids, lipid membrane abnormalities, and the diagnosis and treatment of schizophrenia. *Biol. Psychiatr.*, **2000**, *47*, 8-21.
- [6] Ross, B.M. Phospholipid and eicosanoid signaling disturbances in schizophrenia. *Prostaglandins Leukotr. Essent. Fatty Acids*, **2003**, *69*, 407-412.
- [7] Mitsumori, T.; Furuyashiki, T.; Momiyama, T.; Nishi, A.; Shuto, T.; Hayakawa, T.; Ushikubi, F.; Kitaoka, S.; Aoki, T.; Inoue, H.; Matsuoka, T.; Narumiya, S. Thromboxane receptor activation enhances striatal dopamine release, leading to suppression of GABAergic transmission and enhanced sugar intake. *Eur. J. Neurosci.*, **2011**, *34*, 594-604.
- [8] Wacker, M.J.; Wilhelm, H.L.; Gomez, S.E.; Floor, E.; Orr, J.A. Role of serotonin in thromboxane A2-induced coronary chemoreflex. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.*, **2003**, *284*, 867-875.
- [9] Alanko, J.; Riutta, A.; Vapaatalo, H.; Mucha, I. Catecholamines decrease leukotriene B3 and increase thromboxane B2 synthesis in A23 187-stimulated human whole blood. *Prostaglandins*, **1991**, *42*, 279-287.

- [10] Moncada, S.; Vane, J.R. Pharmacology and endogenous roles of prostaglandin endoperoxidases, thromboxane A<sub>2</sub>, and prostacyclin. *Pharmacol. Rev.*, **1975**, *30*, 293-331.
- [11] Di Pietro, N.C.; Seamans, J.K. Dopamine and serotonin interactions in the prefrontal cortex: insights on antipsychotic drugs and their mechanism of action. *Pharmacopsychiatry*, **2007**, *40*(Suppl 1), 27-33.
- [12] Dietrich-Muszalska, A.; Olas, B. Isoprostenes as indicators of oxidative stress in schizophrenia. *World J. Biol. Psychiatry*, **2009**, *10*, 27-33.
- [13] Anfossi, G.; Massucco, P.; Mularoni, E.; Cavalot, F.; Burzacca, S.; Mattiello, L.; Trovati, M. Phenothiazines inhibit collagen-induced thromboxane B<sub>2</sub> synthesis and increase forskolin anti-aggregating effects in human platelets. *Gen. Pharmacol.*, **1991**, *22*, 773-778.
- [14] Anfossi, G.; Trovati, M.; Mularoni, E.; Massucco, P.; Cavalot, F.; Mattiello, L.; Emanuelli, G. Phenothiazine compounds enhance phentolamine effects on platelet aggregation and thromboxane B<sub>2</sub> production. *Arch. Int. Pharmacodyn. Ther.*, **1990**, *307*, 142-61.
- [15] Brammer, J.P.; Maguire, M.H. Arachidonate metabolism, 5-hydroxytryptamine release and aggregation in human platelets activated by palmitaldehyde acetal phosphatidic acid. *Br. J. Pharmacol.*, **1984**, *82*, 61-72.
- [16] Takayasu, M.; Kondo, K.; Terao, S. Endothelin-induced mobilization of Ca<sup>2+</sup> and the possible involvement of platelet activating factor and thromboxane A<sub>2</sub>. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **1989**, *160*, 751-757.
- [17] Ishigooka, J.; Shizu, Y.; Wakatabe, H.; Tanaka, K.; Miura, S. Different effects of centrally acting drugs on rabbit platelet aggregation: with special reference to selective inhibitory effects of antipsychotics and antidepressants. *Biol. Psychiatry*, **1985**, *20*, 866-873.
- [18] Nikolov, R. Arachidonic acid cascade and anti-hypoxic drugs. *Methods Find. Exp. Clin. Pharmacol.*, **1984**, *6*, 231-234.
- [19] Chang, J.; Piperata, S.; Skowronek, M.; Lewis, A.J. Effects of thiazinamium chloride, promethazine and chlorpromazine on thromboxane B<sub>2</sub> synthesis, phagocytosis and respiratory burst by rat alveolar macrophages. *Biochem. Pharmacol.*, **1983**, *32*, 2671-2677.
- [20] Muench, J.; Hamer, A.M. Adverse effects of antipsychotic medications. *Am. Fam. Physician*, **2010**, *81*, 617-622.
- [21] Paciullo, C.A. Evaluating the association between clozapine and venous thromboembolism. *Am. J. Health Syst. Pharm.*, **2008**, *65*, 1825-1829.
- [22] Werring, D.; Hacking, D.; Losseff, N.; Jäger, H.R.; Walsh, M.; Foong, J. Cerebral venous sinus thrombosis may be associated with clozapine. *J. Neuropsychiatry Clin. Neurosci.*, **2009**, *21*, 343-345.
- [23] Leung, E.; Walsh, L.K.; Pulido-Rios, M.T.; Eglan, R.M. Characterization of putative 5-HT<sub>7</sub> receptors mediating direct relaxation in Cynomolgus monkey isolated jugular vein. *Br. J. Pharmacol.*, **1996**, *117*, 926-930.
- [24] Narumiya, S.; Sugimoto, Y.; Ushikubi, F. Prostanoid receptors: Structures, properties, and functions. *Physiol. Rev.*, **1999**, *79*, 1193-1226.
- [25] Toth, P.; Rozsa, B.; Springo, Z.; Doczi, T.; Koller, A. Isolated human and rat cerebral arteries constrict to increases in flow: role of 20-HETE and TP receptors. *J. Cereb. Blood Flow Metab.*, **2011**, *31*, 2096-2105.
- [26] Himmerich, H.; Schönherr, J.; Fulda, S.; Sheldrick, A.J.; Bauer, K.; Sack, U. Impact of antipsychotics on cytokine production *in-vitro*. *J. Psychiatr. Res.*, **2011**, *45*, 1358-1365.
- [27] Schönherr, J.; Himmerich, H.; Fulda, S.; Bauer, K.; Sack, U. Zytokinproduktion *in vitro* unter Einfluss von Antidepressiva. *Nervenheilkunde*, **2011**, *30*, 884-891.
- [28] Midtvedt, K.; Fauchald, P.; Lien, B.; Hartmann, A.; Albrechtsen, D.; Bjerkely, B.L.; Leivestad, T.; Brekke, I.B. Individualized T cell monitored administration of ATG versus OKT3 in steroid-resistant kidney graft rejection. *Clin. Transplant.*, **2003**, *17*, 69-74.
- [29] Himmerich, H.; Fulda, S.; Sheldrick, A.J.; Blümäkers, B.; Rink, L. Interferon- $\gamma$  reduction by tricyclic antidepressants. *Int. J. Psychiatry Med.*, **2010**, *40*, 413-424.
- [30] Dinges, M.M.; Orwin, P.M.; Schlievert, P.M. Exotoxins of *Staphylococcus aureus*. *Clin. Microbiol. Rev.*, **2000**, *13*, 16-34.
- [31] Kirchner, H.; Kleinicke, C.; Digel, W. A whole-blood technique for testing production of human interferon by leukocytes. *J. Immunol. Methods*, **1982**, *48*, 213-219.
- [32] Seidel, A.; Arolt, V.; Hunstiger, M.; Rink, L.; Behnisch, A.; Kirchner, H. Increased CD56<sup>+</sup> natural killer cells and related cytokines in major depression. *Clin. Immunol. Immunopathol.*, **1996**, *78*, 83-85.
- [33] Baumann, P.; Hiemke, C.; Ulrich, S.; Eckermann, G.; Gaertner, I.; Gerlach, M.; Kuss, H.J.; Laux, G.; Müller-Oerlinghausen, B.; Rao, M.L.; Riederer, P.; Zernig, G. Arbeitsgemeinschaft für Neuropsychopharmakologie und Pharmakopsychiatrie. The AGNP-TDM expert group consensus guidelines: therapeutic drug monitoring in psychiatry. *Pharmacopsychiatry*, **2004**, *37*, 243-265.
- [34] Becker, S.; Kortz, L.; Helmschrodt, C.; Thiery, J.; Ceglarek, U. LC-MS-based metabolomics in the clinical laboratory. *J. Chromatogr. B Anal. Technol. Biomed. Life Sci.*, **2012**, *883-884*, 68-75.
- [35] Kortz, L.; Geyer, R.; Ludwig, U.; Planert, M.; Bruegel, M.; Leichte, A.; Fiedler, G.M.; Thiery, J.; Ceglarek, U. Simultaneous eicosanoid profiling and identification by liquid chromatography and hybrid triple quadrupole-linear ion trap mass spectrometry for metabolomic studies in human plasma. *J. Lab. Med.*, **2009**, *33*, 341-348.
- [36] Pollmächer, T.; Haack, M.; Schulz, A.; Kraus, T.; Hinze-Selch, D. Effects of antipsychotic drugs on cytokine networks. *J. Psychiatr. Res.*, **2000**, *34*, 369-382.
- [37] Ricciotti, E.; FitzGerald, G.A. Prostaglandins and inflammation. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, **2011**, *31*, 986-1000.
- [38] Potvin, S.; Stip, E.; Sephry, A.A.; Gendron, A.; Bah, R.; Kouassi, E. Inflammatory cytokine alterations in schizophrenia: a systematic quantitative review. *Biol. Psychiatry*, **2008**, *63*, 801-808.
- [39] Drzyzga, L.; Obuchowicz, E.; Marciniowska, A.; Herman, Z.S. Cytokines in schizophrenia and the effects of antipsychotic drugs. *Brain Behav. Immun.*, **2006**, *20*, 532-545.
- [40] Hinze-Selch, D.; Pollmächer, T. *In vitro* cytokine secretion in individuals with schizophrenia: results, confounding factors, and implications for further research. *Brain Behav. Immun.*, **2001**, *15*, 282-318.
- [41] Arolt, V.; Rothermundt, M.; Wandinger, K.P.; Kirchner, H. Decreased *in vitro* production of interferon-gamma and interleukin-2 in whole blood of patients with schizophrenia during treatment. *Mol. Psychiatry*, **2000**, *5*, 150-158.

**9. Erklärung über die eigenständige Abfassung der Arbeit**

Hiermit erkläre ich, dass ich die vorliegende Arbeit selbständig und ohne unzulässige Hilfe oder Benutzung anderer als der angegebenen Hilfsmittel angefertigt habe. Ich versichere, dass Dritte von mir weder unmittelbar noch mittelbar geldwerte Leistungen für Arbeiten erhalten haben, die im Zusammenhang mit dem Inhalt der vorgelegten Dissertation stehen, und dass die vorgelegte Arbeit weder im Inland noch im Ausland in gleicher oder ähnlicher Form einer anderen Prüfungsbehörde zum Zweck einer Promotion oder eines anderen Prüfungsverfahrens vorgelegt wurde. Alles aus anderen Quellen und von anderen Personen übernommene Material, das in der Arbeit verwendet wurde oder auf das direkt Bezug genommen wird, wurde als solches kenntlich gemacht. Insbesondere wurden alle Personen genannt, die direkt an der Entstehung der vorliegenden Arbeit beteiligt waren.

.....

Datum

.....

Unterschrift

## 10. Lebenslauf und wissenschaftlicher Werdegang

### 10.1 Lebenslauf

Name und Vorname:	Schmidt, Renate Luise
Geburtsdatum:	22.11.1987
Geburtsort:	Borna
Derzeitige Position:	Assistenzärztin für Orthopädische Chirurgie, Unfall- und Handchirurgie des HELIOS Klinikums Borna
Ausbildung:	
Seit 07/2013	Assistenzärztin für Orthopädische Chirurgie, Unfall- und Handchirurgie, des HELIOS Klinikums Borna
Seit 02/2011	Promotion an der Klinik und Poliklinik für Psychiatrie, Universität Leipzig
11/2012	Erfolgreicher Abschluss der Ärztlichen Prüfung
2008 – 2012	Klinisches Studium an der Universität Leipzig
09/2008	Erfolgreicher Abschluss des ersten Abschnitts der ärztlichen Prüfung
2006 – 2008	Vorklinisches Studium an der Universität Leipzig
06/2006	Abschluss: Allgemeine Hochschulreife (Abitur)
1998 – 2006	Wiprecht-Gymnasium-Groitzsch
1994 – 1998	Grundschule Groitzsch

### 10.2 Publikationen

- Schmidt, L.; Ceglarek, U.; Kortz, L.; Hoop, M.; Kirkby, K.C.; Thiery, J.; Himmerich, H. Mechanisms of Involvement of Eicosanoids and their Precursors in the Pathophysiology and Treatment of Schizophrenia. *Med Chem.*, 2013, 9, 763-767.
- Himmerich, H.; Schmidt, L.; Becker, S.; Kortz, L.; Schonherr, J.; Mergl, R.; Bauer, K.; Sack, U.; Sheldrick, A. J.; Thiery, J.; Ceglarek, U. Impact of clozapine, N-desmethylclozapine and chlorpromazine on thromboxane production in vitro. *Med. Chem.*, 2012, 8, 1032-8.

### 10.3 Posterpräsentationen

- 11. Research Festival Leipzig 2012, Leipzig, 2012: „Impact of clozapine, N-desmethylclozapine and chlorpromazine on thromboxane production in-vitro”
- Deutsche Gesellschaft für Psychiatrie, Psychotherapie und Nervenheilkunde (DGPPN), Berlin, 2012: „Impact of clozapine, N-desmethylclozapine and chlorpromazine on thromboxane production in-vitro.”

## 11. Danksagung

Leider lässt sich eine wahrhafte Dankbarkeit mit Worten nicht ausdrücken.

Johann Wolfgang von Goethe

Dennoch möchte ich an dieser Stelle meinen Dank an all diejenigen richten, die mich bei dieser Arbeit unterstützten.

Allen voran möchte ich mich bei meinem Doktorvater Herrn Prof. Dr. Hubertus Himmerich bedanken. Nicht nur für die Überlassung des Themas, sondern auch für die zahllosen Gespräche, in denen er mir mit Rat und Tat zur Seite stand und mir wertvolle Hinweise zur Anfertigung meiner Arbeit gab.

Weiterhin möchte ich meiner Zweitbetreuerin Frau PD Dr. Uta Ceglarek und ihren Mitarbeiterinnen Dr. Susen Becker, Juliane Dorow, Linda Kortz, Babette Niescher und Christin Helmschrodt danken, die mir während der nervenaufreibenden Zeit im Labor immer wieder hilfsbereit unter die Arme griffen und so den experimentellen Teil meiner Arbeit entscheidend voran brachten.

In diesem Zusammenhang gilt mein Dank auch Herrn Prof. Dr. Ulrich Sack und Frau Katrin Bauer sowie Herrn Jeremias Schönherr, in deren Untersuchungen meine Arbeit ihre Grundlagen findet.

Der Claussen-Simon-Stiftung danke ich für die Finanzierung der Studie und der Fa. Novartis, für die Bereitstellung der Reinsubstanz von Clozapin und NDMC.

Herrn Prof. Dr. Joachim Thiery danke ich für wichtige Ratschläge zur Literaturrecherche und konstruktive Hinweise zur Ausformulierung der Arbeitshypothese.

Mein ganz persönlicher Dank gilt meiner Familie und meinen Freunden, die mir in all den Jahren immer den Rücken stärkten, mich motivierten und mit viel Geduld und Liebe dafür sorgten, dass ich heute meinen beruflichen Traum leben kann.