

Ann-Kathrin Barbara Ilg  
Dr. med.

## **Welchen Beitrag kann die Chemogenetik in der neurowissenschaftlichen Verhaltensforschung leisten? Eine kritische Analyse am Beispiel der Untersuchung kognitiver Flexibilität unter Hemmung präfrontaler Projektionsneurone in Ratten**

Fach/Einrichtung: Physiologie  
Doktorvater: Prof. Dr. med. Andreas Draguhn

Chemogenetik bezeichnet eine Methode, mit der Neurone in vivo selektiv aktiviert oder inhibiert werden können. Hiermit kann der Einfluss der manipulierten Neurone auf das Verhalten von Versuchstieren untersucht werden. Innerhalb der chemogenetischen Verfahren haben sich vor allem DREADDs (Designer Receptors Exclusively Activated By Designer Drugs) etabliert, synthetische G-Protein-gekoppelte Rezeptoren. Über intrakranielle Virusinjektionen können für DREADDs codierende Gensequenzen in gewünschte Hirnareale eingebracht werden. Liganden, wie das häufig verwendete Clozapin-N-Oxid, können nach systemischer Verabreichung das Feuerverhalten der manipulierten Neurone kurzzeitig verändern. Idealerweise sollten diese Liganden keinen Einfluss auf andere neuronale Prozesse haben. Studien offenbarten jedoch grundlegende Probleme der DREADD-Technik, insbesondere bezüglich des Liganden Clozapin-N-Oxid. Zur Lösung der Problematik wird diskutiert statt Clozapin-N-Oxid das als Antipsychotikum bekannte Clozapin in niedriger Dosierung (z.B. 0.1 mg/kg) als Liganden einzusetzen.

Teil 1: Anhand eines Verhaltensexperimentes unter DREADD-Anwendung werden beispielhaft aktuelle Probleme aufgezeigt. Es sollte untersucht werden, inwiefern die neuronale Projektion des medialen präfrontalen Kortex zum Nucleus accumbens für die kognitive Flexibilität in Ratten relevant ist. Kognitive Flexibilität beschreibt das Vermögen, Änderungen von Umweltbedingungen zu erkennen und das Verhalten entsprechend anzupassen. Die kognitive Flexibilität wurde mithilfe einer extradimensionalen Set-Shift-Aufgabe objektiviert, bei der Ratten Verhaltensregeln erlernen sowie Regelwechsel erkennen mussten. Nach intrakranieller Virusinjektion exprimierten die entsprechenden Neurone inhibitorisch wirkende DREADDs. Eine erste Kohorte führte den Set-Shift unter Verwendung von Clozapin-N-Oxid als DREADD-Liganden durch. Es zeigte sich am zweiten Experimentaltag eine leicht erhöhte kognitive Flexibilität in der Verum-Gruppe. Um auszuschließen, dass die Effekte durch Clozapin-N-Oxid selbst bedingt waren, wurde eine zweite Kohorte unter angepassten Experimentalbedingungen durchgeführt. Entgegen den Erwartungen zeigten sich in dieser keine signifikanten Unterschiede. Möglicherweise sind die Ergebnisse aufgrund methodischer Einschränkungen beeinträchtigt. Für eine weitergehende Untersuchung dieser wurde ein zweiter Experimentaltag durchgeführt.

Teil 2: Voraussetzung für die oben beschriebene Verwendung niedrig-dosierten Clozapins als alternativen Liganden ist, dass die zu verwendende Niedrigdosis keine DREADD-unabhängigen Verhaltenseffekte auslöst. Um dies zu prüfen, untersucht Teil 2 verschiedene Verhaltenstests nach systemischer Gabe niedrig-dosierten Clozapins (0.1 mg/kg + ergebnisabhängig zusätzliche Dosen) in sonst unbehandelten Ratten. Entgegen den Erwartungen führte niedrig-dosiertes Clozapin verglichen mit Vehikel-Injektionen zu Auswirkungen auf verschiedene Verhaltensaspekte. In der Set-Shift-Aufgabe zeigte sich eine

erhöhte kognitive Flexibilität. In einem Offenfeld-Experiment reduzierten Clozapin-Dosen von 0.05, 0.1 und 1 mg/kg dosisabhängig die motorische Aktivität. Auch in einem erhöhten Plus-Labyrinth zur Untersuchung von Ängstlichkeit zeigten sich dosisabhängige Veränderungen. In einem sozialen Interaktionstest und einer verzögerte Alternationsaufgabe zur Testung des Arbeitsgedächtnisses ergaben sich hingegen keine Unterschiede.

Aufgrund der in dieser Arbeit dargelegten Ergebnisse müssen bereits veröffentlichte DREADD-Studien kritisch hinterfragt werden. Die Verwendung von Niedrigdosis-Clozapin als alternativen DREADD-Liganden kann wie Clozapin-N-Oxid zu DREADD-unabhängigen Verhaltenseffekten führen und muss unter Betrachtung aller Vor- und Nachteile sorgfältig abgewogen werden. In zukünftigen Studien sind umfangreiche Kontrollgruppen bei Anwendung von DREADD- und anderen chemogenetischen Techniken unabdingbar.