

2. Literaturübersicht

2.1. Geschichtlicher Abriss

Laut Thenius, der die Phylogenese der Ratten in der Enzyklopädie des Tierreiches (Grzimek, 1968) darstellte, wurde die braungraue Wanderratte (*Rattus norvegicus*) zum ersten Mal 1553 in Zentraleuropa gesichtet. Dabei erwähnt Conrad Gesner bereits in seinem „*Historiae animalium*“ (1669) eine grosse Population von weissen Ratten mit roten Augen. Andere Autoren (Castle, 1947) behaupteten, dass die „norwegischen“ Ratten nach Westeuropa über die Halbinsel Norwegian im Jahre 1727 gekommen waren. Exakte historische Angaben über die Anwesenheit von *Rattus Norvegicus* in Europa sind aus dem achtzehnten Jahrhundert (z.B. in England 1730, Frankreich 1735, Ostdeutschland 1750, Spanien 1800) bekannt. 1755 wurde die *Rattus Norwegikus* in Nordamerika (Grzimek, 1968) und 1775 (Lantz, 1909) an der Ostküste der USA registriert. Am Anfang des neunzehnten Jahrhunderts gelangten zum ersten Mal mutierte weiße Ratten ins Labor und dienten als Objekte für physiologische Forschungen (McCay, 1973; Savory, 1863; Philipeaux, 1856; Crampe, 1877).

So um das Jahr 1890 begann man mit der Domestikation von Albinos der wilden Wanderratte, mit dem Ziel, diese Tiere dann im Bereich Forschung einzusetzen. 1908 wurden erstmalig in der Geschichte durch Helen Dean King Inzuchtkreuzungen der Albino-Ratten im Institut „Wistar“ in Philadelphia durchgeführt (King, 1919). Dieses Institut begann als erstes, die Tiere labormässig für den wissenschaftlichen Gebrauch zu züchten und lieferte sie auch an andere wissenschaftlichen Institutionen. Aus den ursprünglichen Albinos wurden im Institut „Wistar“ die am meisten verwendeten Stämme Wistar und Sprague Dawley selektiert, die später in die Laboratorien der ganzen Welt Einzug hielten und nachfolgend als Basis für die Zucht vieler anderer bekannter Rattenlinien dienten (Hedrich, 2000).

In Russland wurden bis Ende der fünfziger Jahre in Versuchslaboratorien dieselben Albino-Ratten verwendet. Mit dem Standardisierungsbeginn der Forschungsarbeiten mit Labortieren entstand der Bedarf an differenzierten Rattenstämmen. Die selektierten Stämme dieser Nager wurden Anfang der sechziger Jahre aus den Zuchtlaboren „Wistar“ (USA) und „Charles-River“ (England) importiert. Die ersten Forschungsarbeiten unter Verwendung von Wistar Ratten wurden von Kovalevskii (1963) und von Alekseeva und Mitarbeiter (1964) publiziert. Die

Sprague Dawley Ratten (SD-Ratten) wurden erst später in Forschungsarbeiten eingesetzt (Postnov et al., 1975a, b).

Das Novosibirsker Institut für Zytologie und Genetik der Russischen Akademie der Wissenschaften erhielt die ersten Albino-Ratten im Jahre 1958 (Popova, 1971; Naumenko und Mitarbeiter, 1971; Popova und Naumenko, 1972). Später wurden im „Zentralen Zuchtlabor“ (Moskau) aus den USA („Wistar“) und England („Charles-River“) importierte Wistar und Sprague Dawley Ratten in verschiedenen biologischen Untersuchungen eingesetzt (Koriakina et al., 1979; Konusova und Popova, 1982). Die letzte Auffrischung des Bestandes an Wistar und SD Rattenstämmen erfolgte 1985 im Vivarium des Institutes für Zytologie und Genetik (SO RAN, Novosibirsk). Im Laufe der sich anschließenden 16 Jahre wurden die Ratten dieser zwei Stämme in strenger Isolation und ohne Genotyperneuerung der Populationen gezüchtet.

2.2. Das Verhalten

Das Verhalten der Tiere charakterisiert sich durch deren Reaktion auf eine Veränderung der Umweltbedingungen, die immer als erste registriert werden. Aus dieser Reaktion, die anfangs bei den Neugeborenen nur aus bedingten und unbedingten Reflexen besteht, entstehen später bei heranwachsenden Tieren Verhaltensmuster, biologische Formen und Typen der Verhaltensaktivitäten (Kruschinskij, 1960). Jede Aktivitätsart entspricht einem bestimmten Bedürfnis eines Tieres. Da die Bewegungsaktivität ein Bestandteil eines jeden Verhaltenskomplexes ist, geht das Verhalten mit körperlicher Bewegung (ausser Schlafverhalten), oder auch mit ihrem Mangel einher (Leach et al., 2000). Daher können Aktivitätsmessungen als ein Kriterium zur Einschätzung des physischen und psychischen Wohlbefindens bzw. seiner Beeinträchtigung dienen (Laininger, 1989). Eine geringe Bewegungsaktivität kann Zeichen hohen Stresses (Manosewitz und Joel, 1973) und auch Hinweis auf Angst oder vermindertes Wohlbefinden sein (Nevison et al., 1999). Der optimale Aktivitätslevel kann deshalb nicht bestimmt werden (Beaver, 1989).

Das Erkundungsverhalten:

Erkundungsverhalten bzw. Exploration ist bei Ratten ein natürliches Verhalten, das dem Sammeln von Informationen dient. Es beruht auf dem Bewegungsbedürfnis, der Angst vor neuer Umgebung und dem Drang, diese Umgebung zu untersuchen. Besonderen Platz nimmt das Erkundungsverhalten bei jüngeren Tieren ein. Am Anfang dienen biologische Objekte (z.B. das Muttertier) als Erkundungsobjekte, später kommen andere Gegenstände, mit denen junge Tiere spielen können, dazu. Durch Exploration lernt das Tier, seine Umgebung einzuschätzen, um dann entsprechend auf sie reagieren zu können. Grosse Neugier des Nachwuchses ist eine Ursache dafür, dass sich neue Verhaltensreaktionen zuerst bei jüngeren Tieren entwickeln, und danach von älteren Tieren übernommen werden. Das Erkundungsverhalten ist deshalb eine Form des Lernens (Renner und Rosenzweig, 1987) und Grundlage für die Anpassung an neue Situationen oder Umweltbedingungen (Persch, 1994; Gardner et al., 1975). Tiere, die explorieren und Interesse an ihrer Umwelt zeigen, passen sich erfolgreicher an die neue Situationen an. Besonders für kleine Beutetiere wie Maus und Ratte ist diese Selbsterhaltungsstrategie lebenswichtig, weil sie stets vor Raubtieren auf der Hut sein müssen (Poole, 1992) und deswegen einen starken Drang zur Exploration (Persch, 1994; Scharmann, 1991) entfalten. Daraus kann geschlossen werden, dass diese Verhaltensweise einen gewissen Selektionswert hat (Renner und Rosenzweig, 1987).

In einigen Untersuchungen wurde bemerkt (Renner und Rosenzweig 1986; Renner 1987), dass Ratten, die in reizintensiver Umgebung aufgewachsen waren, eine komplexere Verhaltensorganisation zeigten, als solche, die in reizarmer Umgebung aufwuchsen. Das wird aber teilweise von Roeder et al. (1980) bestritten. Trotzdem wird vermutet, dass in hoher Reizintensität aufgezogene Tiere über erweiterte Informationsmöglichkeiten und bessere Umweltkenntnisse verfügen, die wiederum funktionale Bedeutung in Gefahrensituationen haben können. Aktives Explorationsverhalten kann auch als Merkmal verminderter Angst gewertet werden (Townsend, 1997), weil das Erkundungsverhalten an sich für das Tier ein gewisses Risiko darstellt.

Das Nahrungsaufnahmeverhalten:

Zum Nahrungsaufnahmeverhalten gehören bestimmte Aktivitäten, die mit der Nahrungssuche und Nahrungsaufnahme verbunden sind. Die Nahrungsaktivitäten werden von der Rangstellung

des Tieres in der Gruppenhierarchie und von den zoosozialen Wechselbeziehungen bestimmt (Hsia und Wood-Gush, 1984; Martin und Edwards, 1994). Es konnte beobachtet werden, dass Tiere höheren Ranges drei mal schneller fressen als die Tiere niedrigen Ranges (Hsia und Wood-Gush 1984). Dabei legten die Tiere höherer Rangordnung kürzere Pausen während des Essens ein, während die untergeordneten Tiere längere Pausen machten.

Es gibt auch geschlechtsspezifische Unterschiede im Nahrungsaufnahmeverhalten. Männliche Tiere nehmen deutlich mehr Futter auf als weibliche. Dabei spielen die Körpermasse und der physiologische Zustand der Tiere eine grosse Rolle. Je schwerer das Tier, desto mehr Futter braucht es und nimmt es. Normalerweise nimmt es auch gleichzeitig einen höheren Rang in der Gruppenhierarchie ein. Weibliche Tiere können bei bestimmten physiologischen Zuständen (z.B. Trächtigkeit oder Laktationsphase) viel mehr Futter aufnehmen als üblich.

Andere Verhaltenstypen:

Das Sozialverhalten:

Tiere, die in Gemeinschaften leben (dazu zählen fast alle Nagetiere), bilden soziale Gruppen, in denen die Überlebenschancen höher sind. Das Sozialverhalten der Labormaus ist das auf den Käfigpartner gerichtete Verhalten, das durch bestimmte Aufenthaltsorte b.z.w. Streckenhaltung der Tiere gegeneinander gekennzeichnet wird. Bei den Ratten, die sich in Isolation befinden und keine Kontakte zu anderen Individuen haben, kann sich das Wohlbefinden reduzieren und Angstempfindung und Depressionen steigern. Wenn die Kommunikation mit anderen Tieren wiederhergestellt wird, normalisiert sich der Zustand des Tieres (Gonyou, 1994; Stricklin und Mench 1987). Haemisch (1994) hält die Einbeziehung sozialer Prozesse in die Beurteilung von Haltungsbedingungen sowohl bei männlichen als auch bei weiblichen Tieren für dringend notwendig. Ein Merkmal der sozialen Aktivität ist Aggression, die in bestimmte Aggressionstypen klassifiziert wird (Duisberi, 1981).

Mütterliches Verhalten kennzeichnet sich durch gesteigertes Nahrungsaufnahmeverhalten, die Sorge um den Nachwuchs, Erziehung, Fütterung und Weitergabe von Erfahrung an die jüngeren Tiere. Das Muttertier sondert sich vor der Geburt von anderen Tieren ab, zeigt Unruhe und baut ein Nest. Die Jungtiere zeigen einige Zeit nach der Geburt Spielverhalten. Es dient zur Erkundung der Umwelt, der Erprobung eigener Kräfte, zur Stabilisierung sozialer Beziehungen innerhalb der Gruppe sowohl bei jüngeren (Renner und Rosenzweig, 1986; Smidt et al., 1980;

Pfeuffer, 1996) als auch bei älteren Ratten (Pfeuffer, 1996). Die Tiere spielen nur dann, wenn sie sich sicher fühlen und mit der Umgebung vertraut sind. Das Spielverhalten kann deswegen bei der Ratte teilweise auch als Ausdruck von Wohlbefinden (Smidt et al. 1980) bzw. als Komfortverhalten (Horter, 1986) angesehen werden. Das Komfortverhalten beruht auf mehreren Faktoren, die vom Tier immer als positiv bewertet werden müssen. Dazu gehören z.B. die Umgebungstemperatur, genügende Käfiggröße sowie Futter- und Wassermenge, ruhiges und stressloses „Handling“, und keine Bestandwechsel bzw. eine stabile Hierarchie in der Gruppe (Brain et al., 1993). Beim Hinzukommen eines neuen Tieres in eine bestehende Gruppe werden die Rangordnung und damit das Komfortverhalten gestört und durch Angriffs- und Abwehrverhalten ersetzt (Baskin, 1976). Diese Verhaltenstypen dienen der Hierarchiewiederherstellung (Varley, 1995) und zeigen sich in Form von Kämpfen um die besten Lebensbedingungen (Nikulina et al. 1985; Nikulina und Popova, 1983). Dabei weisen die Tiere aktives (Beobachtung, Weglaufen, Sammeln in einem „Haufen“) und passives (Erstarren im Sitzen oder im Stehen) Abwehrverhalten auf (Lorenz, 1994; Rilov, 1985).

Bei der Vermehrung der Tiere beobachtet man das Sexualverhalten, das auf Geschlechtsreflexen und Geschlechtsaktivitäten basiert (Duisberi, 1981).

2.3. Angst

Angst ist ein unangenehmer neuropsychotischer Zustand in der Erwartung eines stark negativen Ereignisses (Sambraus, 1997) und wird von Flossendorf (1988) als der innere Erregungszustand eines Individuums beschrieben, das sich bedroht fühlt. Angst ist dem Autor zufolge ein emotionaler Alarmzustand, dem die biologische Funktion zukommt, Energien und Kräfte freizusetzen, die bei einer tatsächlichen Gefahr Angriffs- und Fluchtreaktionen ermöglichen. Andererseits kann Angst auch zu Lähmungen und Handlungsunfähigkeit wie beispielsweise zur Schreckstarre führen, wobei sich auch dieses Verhalten als lebensrettend erweisen kann. Nach Takahachi und Mitarbeitern (Takahachi et al., 1980) flüchten Ratten vor einer potentiellen Gefahr nur dann, wenn eine sichere Rückzugsmöglichkeit besteht, wohingegen sie ohne geeignete Fluchtmöglichkeit "Erstarrungsverhalten" zeigen (Bronstein u. Hirsch, 1976).

Grundlage dieses Zustandes ist die Intensivierung der Körperfunktionen, welche die Reaktionsfähigkeit eines Tieres in Bezug auf Kampf oder Flucht erhöhen. An Schutzmechanismen, die die Überlebenschancen der Tiere erhöhen, ist das serotonerge Transmissionssystem beteiligt, das ebenfalls in vorliegender Arbeit untersucht wird.

Die Angstzustände können von unterschiedlichen Symptomen begleitet werden, die in nachfolgender ICD-10 Klassifikation (International Criteria of Diagnostics, 1992) dargestellt sind:

Vegetative Symptome:

Herzklopfen oder erhöhte Herzfrequenz,
Schweißausbrüche,
Fein- oder grobschlägiger Tremor,
Mundtrockenheit.

Andere körperliche Symptome:

Atembeschwerden,
Beklemmungsgefühl,
Thoraxschmerzen oder –Missempfindungen,
Übelkeit, Erbrechen, abdominale Missempfindungen.

Psychische Symptome:

Schwindel, Unsicherheit, Schwäche, Benommenheit,
Derealisation, Depersonalisation,
Angst vor Kontrollverlust, Angst verrückt zu werden, Angst zu sterben.

Weitere Symptome:

Hitzewallungen, Kälteschauer,
Gefühllosigkeit oder Kribbelgefühle,
Erröten oder Zittern, Ruhelosigkeit,
Unfähigkeit, sich zu entspannen.

2.4. Angst beim Menschen und beim Tier

Die neuropsychotischen Zustände wie Angst, Furcht und Emotionalität sind bis heute noch nicht vollkommen untersucht. Ebenso ist der Leidenszustand eines Individuums, der beispielsweise als Folge eines Angstzustandes entsteht, bisher mit wissenschaftlichen Methoden nicht gänzlich erfassbar.

2.4.1. Klassifizierung der Angstzustände beim Menschen

Es kann zwischen zwei Formen der Angst unterschieden werden:

1.) Die "physiologische" Angst – eine emotionale nicht objektgerichtete Reaktion auf Bedrohung, die für die Mitmenschen nachvollziehbar ist. Das ist ein beengendes Gefühl, das beim Erleben des unüberwindlich erscheinenden existentiellen Bedrohtseins (extrem als Todesangst) oder auch bei der vorgestellten Bedrohung auftritt. Dabei geht physiologische Angst mit vegetativen, oben erwähnten, Symptomen einher. In der Natur wird diese Art der Angst als ein Schutz vor einer drohenden Gefahr betrachtet.

2.) Die "pathologische" Angst – ein unangepasster Gemütszustand, der der auslösenden, für Außenstehende unwirklichen Bedrohung nicht entspricht. Das psychische Erscheinungsbild dieser Form von krankhaft gesteigerter Angst kann sehr unterschiedlich sein, fast nur beim Menschen erkennbar und im Tierexperiment kaum nachzuvollziehen. Für Untersuchungen an Menschen existieren daher mehrere Diagnoseverzeichnisse, in denen teilweise unterschiedliche Symptome bzw. Diagnosekriterien festgelegt sind.

Nach der klinischen Klassifizierung DSM-IV (1994) von der amerikanischen psychiatrischen Vereinigung („American Psychiatric Association“) werden die Angstsyndrome folgendermaßen eingeteilt:

- Agoraphobie ohne Panikstörung in der Vorgeschichte
- Panikstörungen mit Agoraphobie
- Panikstörungen ohne Agoraphobie
- Spezifische Phobie
- Soziale Phobie

- Zwangsstörung
- Posttraumatische Belastungsstörung
- Akute Belastungsstörung
- Generalisierte Angststörung
- Angststörung aufgrund eines medizinischen Krankheitsfaktors
- Substanzinduzierte Angststörung
- Nicht näher bezeichnete Angststörung.

Die konkurrierende Klassifikation von psychischen und Verhaltensstörungen ICD-10 (International Criteria of Diagnostics, 1992) von der Weltgesundheitsorganisation (WHO) ähnelt in vielen Punkten der DSM IV und gliedert die angstassoziierten Krankheiten wie folgt: Panikzustände, Angstzustände und Phobien als Neurosen, Angst und Furcht als Ausdruck einer Anpassungsstörung, abnorme Angst bei Isolierung sowie Angst als emotionale Störung im Kindes- und Jugendalter. Diese Klassifikation deckt sich also grösstenteils mit der DSM IV, hat aber Unterschiede, die in der Sichtweise der Panik und Agoraphobie liegen (Edwards, 1991).

Es wurden in der Humanmedizin auch verschiedene Bewertungsskalen entwickelt, um dem Arzt eine Einordnung des Patientenzustandes in eine der zur Verfügung stehenden Klassifizierungen und somit eine adäquate Therapie zu ermöglichen. In der klinischen Forschung werden diese Skalen ebenfalls eingesetzt, um beispielsweise eine anxiogene oder anxiolytische Wirkung einer Substanz zu erfassen.

2.4.2. Definition der Angst beim Tier

Es ist nicht bekannt, ob die Tiere subjektive Angst ähnlich wie der Mensch empfinden (Weiss et al., 2000). Während beim Menschen durch Mitarbeit der Patienten eine genauere Differenzierung der individuellen Angstform weitgehend möglich ist, können bei den Tieren nur Verhaltensäusserungen, ethologische Komponenten und vegetative Symptome zur Interpretation von Angstempfindung herangezogen werden. Bei den Haustieren (hauptsächlich Hunden und Katzen) können die Angstreaktionen in folgenden drei häufigsten Formen einzeln oder in Kombination auftreten (Askew, 1997). Dabei beobachtet man:

- Übermäßige Lautäusserungen (das Bellen und Winseln)

- Destruktives Verhalten (Kratzen an Türen und Wänden)
- Ausscheidungsverhalten (entweder Kotabsatz oder Urinieren oder beides).

Ausserdem beobachtet man bei diesen Tieren verschiedene Formen der Angstaggression.

Bei den Labortieren, wie Ratten und Mäusen, treten in aversiven Situationen ebenfalls typische sympathikotone Symptome auf (Seiferle, 1960):

- Häufiger geringfügiger Kot- und Harnabsatz,
- Harnträufeln (so genanntes Schreckurinieren),
- Zittern,
- Sträuben des Felles,
- Forcierte Herzaktion,
- Weit geöffnete Augen.

Dabei können folgende Verhaltensauffälligkeiten wie unbedachtes Vorwärtsstürmen, abnormales Zusammendrängen, Übereinanderklettern sowie Angstbeißen beobachtet werden (Drawer und Ennulat, 1977; Lorz, 1987).

Möglich sind auch verschiedene Lautäußerungen und Warnsignale (Miczek et al., 1995). Bei Ratten werden sie als Angstäußerung angesehen und liegen sowohl im für das menschliche Ohr wahrnehmbaren Bereich, als auch im Frequenzbereich des Ultraschalles zwischen 20-30 Kilohertz (Noirot, 1972). Nach Juhr (1977) stellen Vokalisationen einen wichtigen Faktor zur Verhaltensbeurteilung bei Ratten dar. Besonders interessant ist dabei der 22 kHz Bereich, da Lautäußerungen in diesem Frequenzgebiet mit Verhaltensformen verbunden sind und einen empfindlicheren Indikator für Angst und Aggressionen darstellen (Juhr, 1990).

Obwohl Angst als psychisches Phänomen bei Tieren nicht messbar ist, kann aus der Bestimmung von Verhaltensweisen, die mit der Angst assoziiert sind, indirekt auf die Angst b.z.w. das Angstniveau geschlossen werden.

2.5. Tierexperimentelle Angsttests

Viele Forscher sind sich einig, dass experimentelle Angstuntersuchungen an Labortieren niemals ein exaktes und charakteristisches Bild eines menschlichen Angstzustandes darstellen werden, aber alle sind sich sicher, dass auch Tiere Angst erleben, und deswegen in angstuntersuchenden

Labortests verwendet werden können. Diese Laboruntersuchungen erlauben, das Angstniveau beim Tier unter verschiedenen Bedingungen zu messen (aversivwirkende, unsichere oder unvorhersehbare Situationen, oder auch unterschiedliche Stimuli, die entweder exterozeptiven oder enterozeptiven Ursprungs sind (File, 1985a)). Solche Verhaltensbesonderheiten der Tiere und auch physiologische Veränderungen können überprüft werden. Um auch die Grundmechanismen der Angst zu erforschen und Substanzen zu untersuchen, die Angst induzieren oder reduzieren können, sind viele tierexperimentelle Angsttests entwickelt worden (Übersichten bei Rodgers et al., 1997; Lister, 1990; Lal und Emmett-Oglesby, 1983). Diese Modelle der Angst wurden entsprechend pharmakologisch durch Substanzen validiert, die beim Menschen bekannte anxiolytische bzw. anxiogene Wirkungsprofile haben. Das Ziel war es, neuentwickelte Pharmaka auf anxiolytische oder anxiogene Weise zu untersuchen. Andererseits eröffnen Angstmodelle am Tier auch die Möglichkeiten, neurobiologische Grundlage der Angst zu erforschen.

2.5.1. Klassifikation der Angsttests

Die Einteilungen der Angstmodelle folgen unterschiedlichen Gesichtspunkten. Sie sind sich aber dennoch grundsätzlich sehr ähnlich. Die Modelle der Angst beim Tier können in solche unterteilt werden, die auf konditioniertem Verhalten basieren, und jene, die auf spontanen oder nichtkonditionierten Antworten beruhen (File, 1992; Griebel, 1995; Green und Hodges, 1991; Lister, 1990; Rodgers und Cole, 1994; Treit, 1985). Treit und Menard (1998) ordneten einigen Angstmodellen bestimmte Formen der Angst zu, wie soziale Phobie oder Acrophobie.

Hier (Abb. 1) wird die am häufigsten gebrauchte Klassifikation betrachtet (Griebel, 1995).

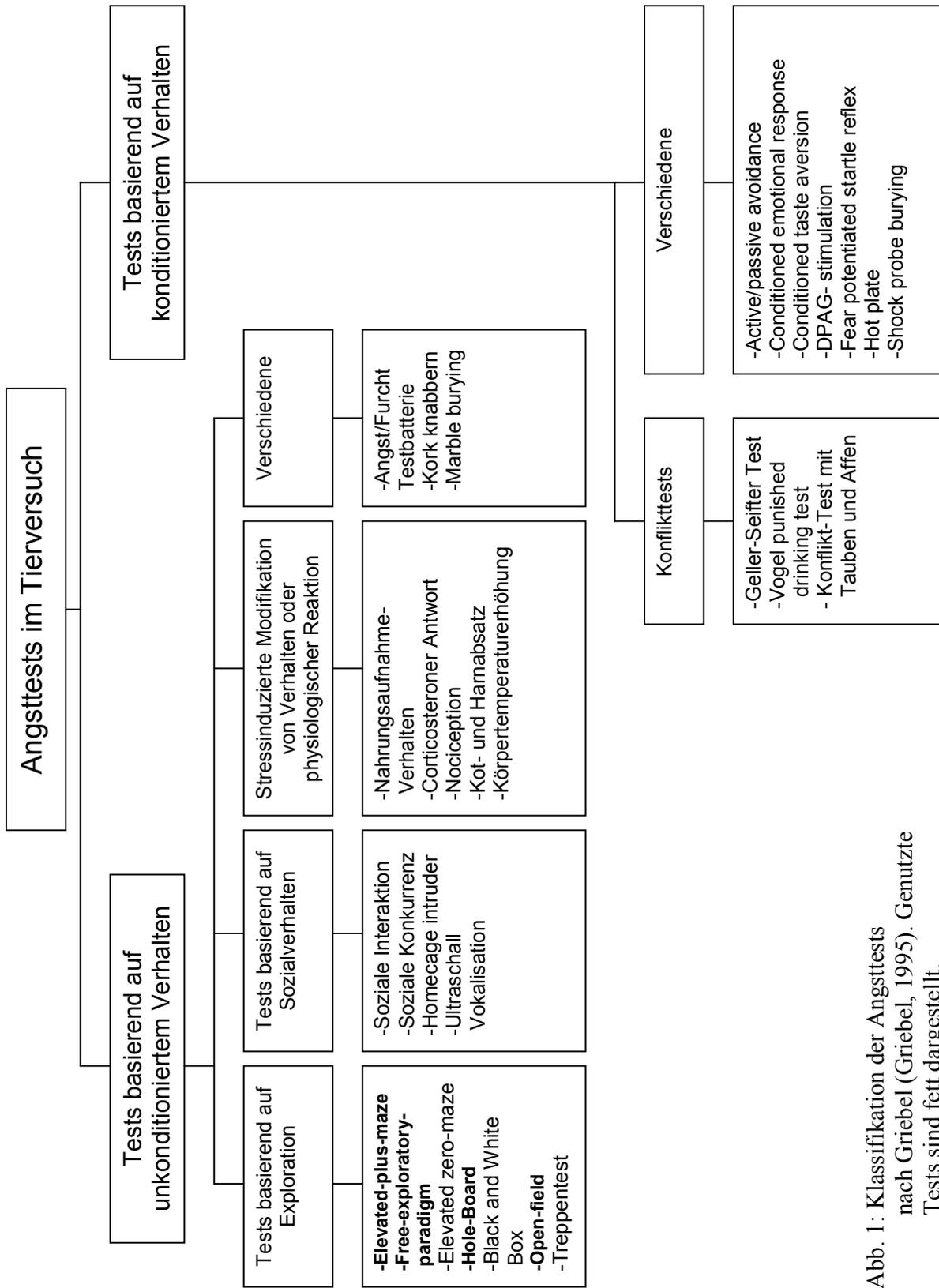


Abb. 1: Klassifikation der Angsttests nach Griebel (Griebel, 1995). Genutzte Tests sind fett dargestellt.

Einige dieser Tests, die öfter als andere durchgeführt werden, werden hier näher betrachtet.

Der Elevated-plus-maze-Test.

Dieser Test basiert auf dem natürlichen Explorationsverhalten, der Neophobie und der Aversion gegenüber erhöhten und exponierten Flächen. Der Vorgänger des Elevated-plus-maze-Tests war der von Montgomery entwickelte ypsilonartige horizontale Versuchsapparat (Montgomery, 1955). Dieser Apparat bestand aus einem wandlosen sowie zwei mit Wänden umrandeten Teilen und wurde 60 cm über dem Boden installiert. In diesem Y-Maze hielten sich die Ratten vorwiegend in den umrandeten Teilen auf.

Handley und Mithani (1984) modifizierten diesen Test und entwickelten daraus eine Apparatur, die aus einem Ständer bestand, an dem horizontal in der Luft schwebend zwei offene Arme und zwei umschlossene Arme befestigt waren. Ängstlichere Tiere vermeiden den Aufenthalt in den offenen Armen und halten sich häufiger in den geschlossenen Armen auf. Deshalb dient ein erhöhter Anteil an Eintritten in die offenen Bereiche (Pellow et al., 1985; Pellow und File, 1986; Rodgers und Cole, 1994) und eine verlängerte Zeit in den offenen Armen als Maß für eine anxiolytische Wirkung einer Substanz (Handley und Mithani, 1984; File und Pellow, 1985; Pellow et al., 1985) oder als Indikator für eine verminderte Ängstlichkeit der Tiere. Zur weiteren Beurteilung des Angstniveaus beim Tier können auch die Parameter der so genannten Risikobereitschaft, SAPs "stretched attended postures" und die "Head dips" - das Hinunterbeugen des Tieres auf den offenen Armen in die Tiefe benützt werden (Cole und Rodgers, 1993; Blanchard et al., 1991; Molewijk et al., 1995). Seit der Validierung des Elevated-plus-maze-Testes für Ratten (Pellow et al., 1985) und Mäuse (Lister, 1987a) ist es das am häufigsten verwendete Angstmodell bei Nagern.

Als eine Modifikation des Elevated-plus-maze-Testes wurde von Shepherd und Mitarbeitern (1994) der Elevated-zero-maze-Test entwickelt. Die vier offenen und geschlossenen Arme mit dem Zentrum, das sich weder den offenen, noch geschlossenen Armen zuordnen lässt, wurden durch eine ringförmige Konstruktion ersetzt. Der Test bietet aber keine zusätzlichen Informationen und wird daher selten verwendet.

Home-cage-emergence-Test:

Dieser Test beruht auf dem natürlichen Explorationsverhalten der Tiere und erwies sich als empfindlicher (Laininger, 1989) für die Emotionalitätsuntersuchungen. In diesem Test wird die Zeit erfasst, die ein Tier braucht, bis es sich aus seinem gewohnten Käfig wagt (File, 1987). Dazu wird der Haltungskäfig aus dem Käfigregal gezogen und der Deckel leicht geöffnet. Während des Testes werden folgende Parameter erfasst:

- Zeit bis zum Heben der Nase auf Höhe des Käfigrandes;
- Zeit bis zum Heben der Vorderpfoten auf Käfigrandhöhe; also die Geschwindigkeit, mit der sich das Tier aus seiner gewohnten Umgebung wagt.

Die durch die Öffnung des Käfigs und die Anwesenheit des Experimentators hervorgerufene Unsicherheit kann bei emotionalen Tieren zur Reduktion des Erkundungsverhaltens führen. Das heißt, dass die Tiere wesentlich mehr Zeit brauchen, bis sie den Kopf oder die Pfoten auf die Höhe des Käfigrandes erheben. Bei Verwendung von anxiolytisch wirksamen Substanzen wird diese Zeit erheblich verkürzt.

Der Free-exploratory-paradigm-Test:

Der Free-exploratory-paradigm-Test entstand auf Basis des Home-cage-emergence-Tests. Dieser Test wird ähnlich sowohl für Mäuse als auch für Ratten durchgeführt. Man verwendet ihn wegen seines einfachen Ablaufes.

Dieses Testprinzip beruht auf einer exploratorischen Reaktion der Tiere in einer neuer Umgebung (Griebel et al., 1993), wo sie sich frei bewegen können und die Wahl zwischen dem bekannten und einem unbekanntem Kompartiment haben. Diese Reaktion wurde von Hughes (1968) und Misslin und Ropartz (1981) als „neugieriges Verhalten“ der Tiere beschrieben. Die Tiere geraten in eine Konfliktsituation zwischen dem Drang, die neue Umgebung zu untersuchen und der aversiven Reaktion gegenüber dem unbekanntem Areal. Diese Methodik benutzend, haben Griebel und Mitarbeiter (1993) speziell für Mäuse einen Test entwickelt, bei dem die Mäuse in einer Box beobachtet werden, in der ein Teil dem Tier bekannt und der andere Teil unbekannt war. Der Test wird im den Mäusen bekannten Tierstall durchgeführt.

Dieser Test wurde später in sofern modifiziert, als dass die Käfige mit den Tieren im bekannten Tierstall nebeneinander gestellt, und die Deckel bis zu der Mitte der Einzelboxen geöffnet wurden. Dabei dienten die Deckel als eine Art Treppe. Die Tiere konnten problemlos aus ihren Boxen herauskommen, und die neue Umgebung und ihre „Nachbarn“ untersuchen. Es wird die Zeit registriert, die die Tiere brauchen um aus den Boxen herauszukommen und wie lange sie draussen bleiben.

Der Hole-Board-Test:

Der Hole-Board-Test ist ein einfacher Test, der die Reaktion von Nagern auf eine neue Umgebung untersucht. Er basiert auf einer gerichteten Exploration der Tiere (Durcan und Lister, 1989). Entwickelt wurde dieser Test von Boissier und Simon (1962) (Übersicht: File und Wardill, 1975a). File (1973) (Übersicht: File und Wardill, 1975a) hat ihn für Mäuse und später für Ratten modifiziert (File und Pope 1974, Übersicht: File und Wardill, 1975a). Das Hole-Board besteht aus einem umrandeten Open-Field (50x50x40 cm), dessen Boden mit Löchern versehen wurde, die so gross sind, dass nur die Nase hindurchpasst (2,5 cm). Die im Hole-Board platzierten Tiere sind von Natur aus neugierig, und stecken zwecks Erkundung ihren Kopf oder ihre Nasen in die Löcher. Der Test dauert zehn Minuten (File und Wardill, 1975b), während dessen die zurückgelegte Strecke (Lokomotion) und die Anzahl der untersuchten Löcher (das so genannte „head-dipping“) erfasst werden. Dabei haben File und Wardill (1975a) festgestellt, dass das „head-dipping“ der Messung von direktem exploratorischem Verhalten entspricht. Eine gesteigerte lokomotorische Aktivität und die Zunahme der Anzahl der untersuchten Löcher sprechen für höhere exploratorische Aktivität (Gerlai, 1996, Bronstein und Hirsch, 1976). Einige Untersuchungen aber zeigten (File, 1977; Lister, 1987a; Durcan und Lister, 1989), dass Exploration und Lokomotion sehr variabel sind, und nicht immer übereinstimmen (File, 1985b). Bei einer Wiederholung des Tests in kurzer Zeit kann auch das Habituationsverhalten mit diesem Versuchsaufbau erfasst werden.

Der Open-field-Test:

Der Open-field-Test wurde von Hall (1934) für Untersuchungen der Emotionalität bei Nagern entwickelt und besteht aus einer 1m x 1m offenen Fläche, die mit 30 cm hohen Wänden umgeben ist. In diesem klassischen Test wird die natürliche Phobie von Ratten und Mäusen (Archer, 1973) vor unbekanntem, grossen, offenen Räumen benützt, die sie gerne meiden. Um die Angst der Tiere in dieser neuen Umgebung zu erhöhen, werden manchmal zusätzlich helles Licht oder Geräusche verwendet. Dabei wird das exploratorische Verhalten unterdrückt, und an erster Stelle tritt verstärkte Thigmotaxis auf (Christmas und Maxwell, 1970; Oliverio et al., 1973).

In diesem Verhaltenstest werden bestimmte Parameter des Tierverhaltens erfasst, wie z.B. zurückgelegte Wegstrecke, Anzahl des Aufrichtens auf die Hinterbeine („Rearings“), Zeit der eigenen Fellpflege („Grooming“), sowie die Zeit, die Tiere aktiv ihre Umgebung untersuchten (Laininger, 1989). Es wird auch die Zeit gemessen, die die Tiere in der Mitte oder an der Umrandung des Open-Fields verbringen (Chaouloff et al., 1995).

Es ist bekannt, dass eine stärkere Beleuchtung des Feldes einen zusätzlich aversiven Reiz darstellt. Aus diesem Grund untersuchten Hlinak und Rozmarova (1986) das Verhalten im Open-field-Test unter rotem („dunklen“) und weißem („hellen“) Licht. Da fast alle Nagetiere nachtaktiv sind, stieg die lokomotorische und exploratorische Aktivität der Tiere unter „dunklem“ Licht deutlich an. Studien des Fress- und Sexualverhaltens bei männlichen Ratten (Calhoun, 1962; Larsson, 1956; Stefanick, 1983) zeigten ebenfalls höhere Aktivitäten bei „dunklem“ Licht. Eine erhöhte Defäkation wird als Zeichen einer gesteigerten Emotionalität (Broadhurst, 1960) betrachtet, ist aber bei der Beurteilung von Angst umstritten (Sheldon, 1968).

Britton und Britton (1981) modifizierten den Open-field-Test weiter und stellten das Futter in einer Box im aversiven Zentrum des Apparates auf. Die Tiere kamen per Tastendruck an das Futter heran. Dabei wurde die Zeit bis zur Futteraufnahme gemessen, und die Zeit, die die Tiere im Inneren der Box verbrachten. Von Bodnoff und Mitarbeiter (1989) wurde dieser Test noch weiter modifiziert. Sie legten das Futter in einer Petrischale ins Zentrum des offenen Feldes und maßen die Zeit bis zur ersten Futteraufnahme. Die verminderte Zeit bis zur ersten Futteraufnahme und die erhöhte Anzahl der Ratten, die gefressen hatten, wurden als die aussagefähigsten Parameter für anxiolytische Effekte bei Ratten angesehen (Rex et al., 1998).

Die Vorteile der dargestellten Tests liegen darin, dass sie einfach durchzuführen sind, dass schnell eine grosse Anzahl von Tieren getestet werden kann und globale Aussagen über die Reaktion eines Tieres, auch nach Manipulationen, möglich sind. Ein Nachteil ist, dass die Wirkung von Pharmaka das Nahrungsaufnahmeverhalten beeinflussen kann.

Der Social-interaction-Test:

Dieser Test wurde von File und Hyde (1978) aus dem Open-Field entwickelt. In diesem Test werden zwei einander unbekannte Tiere gleichen Geschlechtes und Gewichtes 10 Minuten lang beobachtet. Dabei werden die Häufigkeit und die Gesamtzeit des aktiven sozialen Kontaktes zwischen den Tieren erfasst. In dem Test wird die Ungewissheit und Aversivität der Ratten vor unbekannter oder hell erleuchteter Umgebung ausgenutzt (File, 1987). Wenn das Testgebiet bekannt und dunkel beleuchtet ist, kontaktieren bzw. beschnüffeln sich die Tiere öfter (File, 1978). Wird aber der Testraum hell beleuchtet und wirkt aversiv auf die Tiere, geht die Anzahl von sozialen Kontakten rapide zurück. Wenn in einer solchen Situation eine anxiolytisch wirkende Substanz verabreicht wird, ist die soziale Interaktion wieder erhöht (File und Hyde, 1978; File, 1980).

Gruppe der Konflikttests:

Zu dieser Testgruppe gehören die zwei folgenden Tests: der „Geller-Seifter-Test“ und der „Vogel-punished-conflict-Test“.

Das sind klassische Angsttests (Geller und Seifter, 1960; Vogel et al., 1971), die ebenfalls auf einer Konditionierung des Versuchstieres beruhen. Diese Konditionierung basiert auf einer Bestrafung des Tieres (z.B. starkes Licht, Geräusche oder Elektroschocks), die die Futter- bzw. Wasseraufnahme unterdrücken. Beide Modelle bestehen aus zwei Testphasen: die erste Phase der Konditionierung ist bestrafungsfrei und Futter- oder Wasseraufnahme erfolgen ohne Substanzeinfluss; in der zweiten Phase wird die Nahrungsaufnahme mit einem Elektroschock

kombiniert. Eine „anxiolytische“ Wirkung wird angenommen, wenn keine Verminderung der Futteraufnahme während der Bestrafungsphase auftritt.

2.5.2. Bedingungen des Versuchsablaufs

Beim Ablauf von tierexperimentellen Angsttests existiert eine gewisse Variationsmöglichkeit. Von den Testbedingungen und Begleitsituationen hängt das ganze Versuchsergebnis ab. Deswegen ist es notwendig, immer vor Experimentbeginn alle etablierten Versuchsbedingungen zu schaffen und möglichen Vorfällen vorzubeugen. Gelegentliche Störfaktoren können sein:

- Falsche Wahl der Angstmodelle: Es ist sehr wichtig für die Angstuntersuchungen, entsprechende Tests auszuwählen, weil verschiedene Tests unterschiedliche Angstformen widerspiegeln können (Griebel, 1995).
- Sehr wichtig sind ebenfalls die Haltungsbedingungen und das „Handling“. Wenn z.B. die Ratten einzeln gehalten werden, steigern sich das Angstniveau (Janowska et al., 1991) und die lokomotorische Aktivität (Gentsch et al., 1988). Wenn im Gegensatz dazu die Tiere in Gruppen gehalten werden oder häufigen Kontakt mit dem Tierpfleger haben, sinkt die Angst und die Tiere verhalten sich ruhiger (Schmitt und Hiemke, 1998; Andrews und File, 1993).
- Die Lichtverhältnisse stehen mit dem Angstverhalten in direkter Beziehung. Fast alle Nagetiere sind nachtaktiv (Barnett, 1975; Mitchell, 1993), und starke Lichtintensität hat eine aversive Wirkung. McBlane und Mitarbeiter (1992) stellten aber fest, dass eine extreme Beleuchtung während des Testes eine anxiolytische Wirkung haben kann.
- Zusätzliche belastende Faktoren, die den Testdurchgang beeinflussen, sind die Apparaturkonfiguration, die Versuchszeit und die spezifischen Umgebungsbedingungen (Crabbe et al., 1999).
- Auch Stresssituationen sind nicht zu unterschätzen. Mehrere Wissenschaftler berichteten, dass „weicher“ Stress zu einer „Stressadaptation“ und später zu einem reduzierten ängstlichen Verhalten führen kann (Pellow et al., 1985, Lister, 1987b). Starker ständiger Stress erhöht dagegen das Angstverhalten.

- Die Applikation von Substanzen führt zu einer Aktivierung der Tiere und kann deswegen die Ergebnisse des Testes verfälschen. Deshalb ist die Art wichtig, wie die Applikation erfolgt (Rodgers und Cole, 1994).

Mitentscheidend für die Beurteilung des angstassoziierten Verhaltens sind also die Bedingungen des Testes und deren Beständigkeit. Wenn mehrere Tiere in einem Test untersucht werden, so müssen die Testbedingungen für alle Tiere während des gesamten Versuchsdurchganges stabil und identisch sein.

2.5.3. Auswahl der Labortiere

Bei der Untersuchung des angstassoziierten Verhaltens in verschiedenen Laboratorien kommt es oft zu widersprüchlichen Ergebnissen. Daher ist die Auswahl von Versuchstieren bei jeder Forschungsarbeit, in der die Tiere verwendet werden, sehr wichtig. Hierbei sind folgende Kriterien und Parameter der Auswahl zu beachten: Spezies der Tiere, Stamm- oder Linienzugehörigkeit, genetische Faktoren, Geschlecht und Alter. Die Tiere verschiedener Spezies zeigen Verhaltensbesonderheiten, einen spezifischen Stoffwechsel und bei der Gabe von Arzneimitteln (Fernandez-Guasti et al., 1992) unterschiedliche Reaktionen und pharmakokinetische Prozesse (Marcucci et al., 1970). Unterschiedlich ist auch das Gehirnpotential. Eine Korrelation zwischen Verhalten und Hirngrösse ist nachgewiesen und wird als Ursache für die Verhaltensvariabilität angesehen (Diaz, 1988).

Einige Tierarten sind sehr ängstlich, andere zeigen im Gegensatz dazu in Verhaltenstests ein niedriges Angstniveau und höhere Explorationsaktivität. So werden Meerschweinchen als sehr ängstliche Tiere beschrieben (Birmelin, 1990), und es ist sehr schwer, sie in Angsttests zu verwenden. Diese Tiere müssen sich lange Zeit an die Versuchsbedingungen gewöhnen, und möglichst oft Kontakt mit dem Tierpfleger und mit dem Experimentator haben (Rex et al., 1993). Dadurch wird „milderer“ Stress ausgeübt, und die Tiere gewöhnen sich langsam an die neuen und aversiven Situationen. Ratten und Mäuse zeigen im Vergleich zu Meerschweinchen öfter exploratorisches Verhalten.

Ursache für diese variierenden Befunde in verschiedenen Laboratorien können abweichende Umweltbedingungen sein (Walsh und Cummins, 1976) oder auch genetische Unterschiede der

eingesetzten Ratten. Schon seit Anfang der 60er Jahre (Broadhurst, 1958) befasste man sich mit diesem Problem. Es gab zahlreiche Studien, die sich mit dem Einfluss genetischer Faktoren auf das Verhalten von Mäusen (z.B. Porsolt et al., 1978; Trullas und Skolnick, 1993) und Ratten (z.B. Porsolt et al., 1978; Rex et al., 1996; Ramos et al., 1997) befassten, die deren grosse Bedeutung bestätigten. Diese genetischen Unterschiede müssen berücksichtigt und bei der Interpretation widersprüchlicher Testergebnisse beachtet werden (Manosewitz, 1970; Manosewitz und Montemayor, 1972; Bouchon und Will, 1982). Eine grosse Rolle in Verhaltensuntersuchungen spielt die Herkunft unterschiedlicher Rattenstämme bzw. Zuchtlinien. In mehreren Studien wurde gezeigt, dass Labortiere von verschiedenen Züchtern in gleichen Verhaltenstests sehr grosse Unterschiede zeigen können (Kulikov et al., 1997, Rex et al., 1996). File und Vellucci (1979) testeten drei Rattenstämme von drei unterschiedlichen Züchtern in mehreren Verhaltenstests. Dabei wurden das exploratorische Verhalten und bestimmte Neurotransmitter und ihre Metaboliten im Gehirn gemessen. Die drei Rattenstämme zeigten sowohl in den Verhaltens- als auch in den biochemischen Messungen grosse Unterschiede. Es existiert also die feste Regel, dass bei bestimmten Untersuchungen, wenn diese schon begonnen wurden, nur einheitliche Rattenstämme oder Rattenlinien und nur vom selben Züchter stammend benutzt werden dürfen. So werden mögliche falsche Ergebnisse des Verhaltenstests im voraus vermieden.

Das angstassoziierte Verhalten wird außerdem vom Alter der Tiere beeinflusst (File, 1992). Es wurde einerseits nachgewiesen, dass ältere Tiere ängstlicher als jüngere Tiere sind (File, 1990; Frussa-Filho et al., 1991, Imhof et al., 1993). Andererseits ist auch der Einfluss des Alters auf die Wirkung von Pharmaka zu beobachten. Je grösser die Altersspanne der Tiere ist, umso ausgeprägter werden die Unterschiede in den Ergebnissen (Imhof et al., 1993). Das hat offensichtlich mit der Metabolismusveränderung (in erster Linie im Gehirn) und mit unterschiedlicher Pharmakodynamik und -kinetik der eingesetzten Arzneimittel zu tun (File, 1990, Acri et al., 1995). Das Alter der Versuchstiere muss also mitberücksichtigt werden.

Ebenso spielt bei der Durchführung von Verhaltensforschungen das Geschlecht der ausgewählten Labortiere eine grosse Rolle (Blanchard et al., 1993; Johnston und File, 1991). Dies ist besonders wichtig bei Untersuchungen von verschiedenen Pharmaka.

2.6. Das zentrale serotonerge Transmissionssystem

Die Entwicklung der Verhaltenspharmakologie führte zur intensiven Erforschung von Neurotransmittern, Synapsen und Rezeptoren, sowie des strukturellen und funktionellen Geschehens im Gehirn. Neben vielen Mechanismen und Wirkstoffen wurde der Neurotransmitter Serotonin entdeckt und seine bedeutende Rolle in der Entstehung von pathogenen Angstzuständen festgestellt. Es wird hier versucht, einen allgemeinen Überblick über die funktionelle Bedeutung des serotonergen Transmissionssystems sowie über anatomische und physiologische Verhältnisse darzustellen.

2.6.1. Der Neurotransmitter Serotonin

Seit Mitte des 19. Jahrhunderts suchten Physiologen im Körper der Tiere nach einer endogenen vasokonstriktischen Substanz. 1948 isolierte Maurice Rapport aus den Thrombozyten von Rinderblut eine Substanz, die kurz darauf "Vasotonin" genannt und als 5-Hydroxytryptamin (5-HT) (Rapport et al., 1948a) identifiziert wurde. Weil die Substanz im Serum gefunden wurde und den Gefäßtonus erhöhte, wurde sie "Serotonin" genannt. Ende der 40iger Jahre gelang es, Serotonin auch in Form von „dünnen, rhomboidalen blass-gelblichen Kristallen“ (als Sulfat und Pikrat) zu gewinnen (Rapport et al., 1948b). Unabhängig von Rapport und Mitarbeiter fanden Erspamer und Mitarbeiter (1952) eine die enterochromaffinen Zellen der glatten Muskulatur komprimierende Substanz, die als "Enteramin" bezeichnet wurde. Später wurde die Identität von „Serotonin“ und „Enteramin“ festgestellt (Erspamer und Asero, 1952). 1953 wurde Serotonin erstmalig im Zentralnervensystem nachgewiesen (Twarog und Page, 1953). Somit wurden drei Hauptorte mit dem höchsten Serotoningehalt (Thrombozyten, glatte Muskulatur und ZNS) bestimmt. Serotonin wurde später ebenfalls in Vertebraten, Invertebraten und Pflanzen nachgewiesen (Garattini und Valzelli 1965; Fischer 1971; Smith 1971; Azmitia, 2001).

2.6.2. Biosynthese, Abbau und Freisetzung des Serotonins (5-Hydroxytryptamin)

Serotonin ist ein biogenes Indolamin und gehört zur Klasse der Monoamin-Neurotransmitter. Es wird aus der essentiellen Aminosäure L-Tryptophan synthetisiert. In Abbildung 2 sind die wichtigsten Schritte der Biosynthese und Abbauwege des Serotonins dargestellt. Im Normalfall wird 1 % des mit der Nahrung aufgenommenen Tryptophans in Serotonin umgewandelt. Aus dem Blut gelangt Tryptophan durch ein spezielles Transportsystem ins Gehirn und wird dort zur Serotoninsynthese eingesetzt. Die Biosynthese selbst findet im Zytosol des Perikaryons statt, wo sich die Ausgangssubstanz durch enzymatische Einwirkung von Tryptophan-5-Hydroxylase (5-TPH) in 5-Hydroxytryptophan umwandelt. Weiter wird dieses Hydroxylierungsprodukt von aromatischer L-Aminosäure-Decarboxylase katalysiert und in 5-Hydroxytryptamin (5-HT) umgewandelt (Chojnacka-Wojcik, 1995). Die Geschwindigkeit der Serotoninsynthese wird durch 5-TPH bestimmt (Boadle-Biber, 1993). Entstandenes Serotonin wird über das Axoplasma zu den Synapsen transportiert und mittels eines Carriers in Speichervesikel aufgenommen oder in kleinen Mengen im Zytoplasma der terminalen Nervenzellenabschnitte akkumuliert. Ausserdem wird Serotonin in der Nervenzelle auch als Substrat für die Biosynthese von Melatonin und Bufotenin eingesetzt.

Das freigesetzte Serotonin wird später wieder aus dem synaptischen Spalt durch aktiven Transport aufgenommen, der auf der präsynaptischen Membran stattfindet, und erneut in Vesikeln gespeichert oder abgebaut. Die Metabolisierung von Serotonin erfolgt durch die Katalyse mit Hilfe von mitochondrialer Monoaminoxidase-B (MAO-B), wodurch 5-Hydroxyindol-Acetaldehyd entsteht. Dieses wird seinerseits unter Einwirkung von Aldehyd-Dehydrogenase in 5-Hydroxyindol-Essigsäure umgewandelt und mit dem Harn ausgeschieden (Estler, 1994). Die Geschwindigkeit der Abbauprozesse reguliert sich also durch MAO-B.

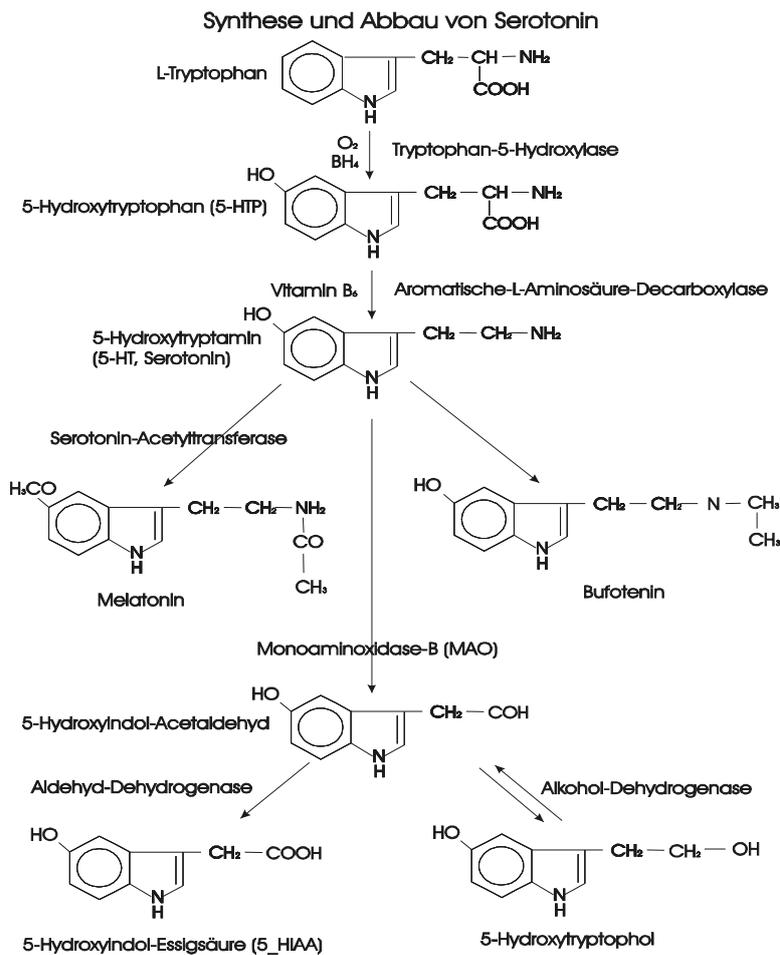


Abb. 2: Biosynthese und Abbau von Serotonin

2.6.3. Verteilung serotonerger Neuronen im ZNS

Die Verteilung der serotonerger Neurone im Gehirn der Säugetiere wurde von Dahlström und Fuxe (1964) untersucht. Steinbusch und Mitarbeiter (1978) entwickelten eine selektivere und sensitivere immunhistochemische Methode, wodurch es gelang, die serotonerger Neurone besser sichtbar zu machen.

Die höchste Konzentration serotonerger Neurone im zentralen Nervensystem (ZNS) findet man in den Raphekernen entlang der Mittellinie des Hirnstamms. Die Raphekerne kann man in zwei Gruppen einteilen: rostrale und kaudale. Zur rostralen Gruppe gehören der Nucleus raphe

dorsales, der Nukleus raphe medianus, der Nukleus raphe pontis, der Nukleus interpeduncularis, zusammen mit dem Nukleus pontis oralis und der hintere Teil des Nukleus raphe dorsales. Zur kaudalen Gruppe gehören Nukleus raphe magnus, Nukleus raphe obscurus und Nukleus raphe pallidus (Paxinos und Watson, 1997). Durch serotonerge Neurone werden z.B. sympathische präganglionäre Neurone, die Motoneuronen des Hirnstamms, dopaminerge Neurone in der Substantia nigra, der intermediären Teile der Hypophyse, weite Teile des Cortex und des Rückenmarks, noradrenerge Neurone im Locus coeruleus, die Schrittmachneurone im Nucleus suprachiasmaticus und Neurone im Hippocampus versorgt und koordiniert (Molliver, 1987; Baumgarten, 1991; Baumgarten und Grozdanovic, 1997).

Ausser den Verbindungen der serotonergen Neuronen zu neuronalen Zellen gibt es zahlreiche diffuse Projektionen auch in nicht-neuronalen Gewebe. So existieren z.B. Kontakte zu den Astrozyten, Tanozyten des dritten Ventrikels, den perizellulären Oligodendroglia oder auch zu den Endothelzellen der Blutgefäße (Van Hartesveldt et al., 1986; Scheibel et al., 1975; Azmitia 1978; Cummings und Felten 1979). Somit kann man sagen, dass jeder Raphekern und fast jede Zelle im Gehirn mit Serotonin versorgt wird (Bunin und Wightman, 1999; Ridet und Privat, 2000).

2.6.4. Serotonin-Rezeptoren: Klassifizierung, Verteilung und funktionelle Bedeutung

Neue Möglichkeiten der serotonergen Forschung wurden durch die Entwicklung von Rezeptorbindungstechniken eröffnet. 1957 forschten Gaddum und Picarelli an Serotoninantagonisten und versuchten als erste, die Serotonin-Rezeptoren einzuteilen (Gaddum und Picarelli, 1957). Sie benannten die an der glatten Muskulatur des Meerschweinchenileums gefundenen Rezeptoren mit dem Buchstaben "D" (für Hemmbarkeit mit Dibenzylin) und "M" (für Hemmbarkeit mit Morphin). Heute wird „D“ als 5-HT₂- und „M“ als 5-HT₃-Rezeptor bezeichnet. Mit der Entwicklung neuer Methoden, wie Radioligandenbindung, Autoradiographie und molekularbiologischen Methoden, wurden Voraussetzungen für vertiefte Rezeptorforschung gegeben (Snyder, 1978) und grosse Schritte in Richtung Rezeptorklassifizierung gemacht (Bennet und Aghajanian, 1974). Nach der Klassifizierung von Hoyer und Mitarbeiter (1994)

wurden alle Rezeptoren nach drei nachfolgenden Kriterien aufgeteilt: a) Substanzzugehörigkeit, b) molekulare Struktur und c) intrazelluläre Transduktionsmechanismen.

Bis zum heutigen Zeitpunkt wurden 14 strukturell, funktionell und pharmakologisch unterschiedliche Subtypen von Serotoninrezeptoren bei Säugetieren und auch beim Menschen, mit Ausnahme des 5-HT_{5B}-Rezeptors, identifiziert (Hoyer und Martin, 1997).

Mit der Verwendung pharmakologischer Substanzen mit höherer spezifischer Affinität gelang es die Verteilung der Serotoninrezeptoren festzustellen: Einige Rezeptorsubtypen lokalisieren sich postsynaptisch (5-HT_{1A}, 5-HT_{2A}, 5-HT_{2C}, 5-HT₃ und 5-HT₄), und rufen dort neuronale Depolarisation oder Hyperpolarisation hervor. Andere Rezeptoren sind präsynaptisch positioniert und regulieren als Autorezeptoren den Ionenfluss (5-HT_{1A}, 5-HT_{1B} und 5-HT_{1D}). Die dritte Rezeptorengruppe lokalisiert sich auf Nervenendigungen nicht serotonerger Neuronen (5-HT_{1B}, 5-HT_{1D}, 5-HT_{2A}, 5-HT_{2C}, 5-HT₃ und 5-HT₄) und reguliert dort die Neurotransmitterausschüttung (Barnes und Sharp, 1999).

Das serotonerge System führt viele wichtige physiologische Funktionen und zahlreiche Regulationen aus, wie Thermoregulation, Schmerz, Aufmerksamkeit, Schlaf, Atmung, Durchblutung und Appetit. Ebenfalls werden auch Lernen sowie aggressives und sexuelles Verhalten kontrolliert (Carli et al., 2000). Es werden sogar Reifung und Proliferation von Zielregionen sowie Synaptogenese und Zelldifferenzierung reguliert. Es wird davon ausgegangen, dass Veränderungen oder Störungen des serotonergen Transmissionssystems im ganzen oder nur einiger Rezeptoren oder Signaltransduktionsmechanismen zu verschiedenen Erkrankungen oder pathologischen Zuständen wie Schizophrenie, Depression, Down-Syndrom, Alzheimer-Demenz, Aufmerksamkeitsstörungen, Autismus oder Alkoholismus beitragen können (Aghajanian et al., 1997). Nach Untersuchungen mit selektiven Antagonisten wurde den 5-HT_{2C}-, 5-HT₃- und 5-HT₄-Rezeptoren eine zentrale Rolle bei der Regulation der Nahrungsaufnahme zugeschrieben.

Neben vielen physiologischen Prozessen ist das serotonerge Transmissionssystem an der Regulation angstassoziierten Verhaltens beteiligt (Handley und M^cBlane, 1993; Rex et al., 1999; Bert et al., 2001). Es wurde eine Serotoninhypothese entwickelt, die die erhöhte Serotoninfreisetzung mit einem gesteigerten Angstverhalten verbindet. So zeigten File und Hyde (1977) sowie Lorens (1978) in ihren Studien nach einer Verminderung der Aktivität des serotonergen Transmissionssystems durch serotoninentpeichernde Substanzen oder durch die

Blockade von Serotoninrezeptoren (Commissaris et al., 1981), ein anxiolytisches Verhalten in Konflikttests, das durch die Gabe von 5-Hydroxytryptophan (5-HTP) wieder aufgehoben werden konnte. Es wurde ebenfalls von Iversen (1984) und Handley und M^cBlane (1993) die wichtige Rolle von 5-HT_{1A} und 5-HT_{2C}-Serotoninrezeptoren an der Entstehung von Angstzuständen nachgewiesen. Thomas und Mitarbeiter (2000) berichteten, dass bei Ratten mit einer Läsion von beiden Raphekernen (medianer und dorsaler) eine verminderte Angstreaktion im Elevated-Plus-Maze bei gleichzeitig massiver Absenkung des Serotoningehalts vorlag. Dies bestätigte die Vermutung, dass erhöhte Aktivität des serotonergen Neurotransmissionssystems angstfördernd wirkt, während Antagonismus oder Reduktion serotonerger Aktivität angstmindernd ist.