

Aus der Klinik für Anästhesiologie
mit Schwerpunkt operative Intensivmedizin
der Medizinischen Fakultät Charité - Universitätsmedizin Berlin

DISSERTATION

Einfluss von 3,4-Methylenedioxyamphetamin (MDMA)
auf die hormonelle Stressantwort und das Angstverhalten
bei Ratten

zur Erlangung des akademischen Grades
Doctor medicinae (Dr. med.)

vorgelegt der Medizinischen Fakultät
Charité - Universitätsmedizin Berlin

von

Tilman Frederik Josef Reinhart

Datum der Promotion: 26. Juni 2022

Dem Anfang - meinen Eltern

Inhaltsverzeichnis

1	<i>Abkürzungsverzeichnis</i>	5
2	<i>Abbildungsverzeichnis</i>	6
3	<i>Abstract</i>	7
4	<i>Einleitung</i>	9
4.1	Einführung in die Substanz 3,4-Methylenedioxyamphetamin	9
4.2	Wirkmechanismen von 3,4-Methylenedioxyamphetamin	11
4.2.1	Neurotransmitter vermittelte Wirkmechanismen	11
4.2.2	Neuroendokrine Wirkung.....	12
4.3	Fragestellung der Arbeit	13
4.3.1	3,4-Methylenedioxyamphetamin und Stressmodulation	13
4.3.2	3,4-Methylenedioxyamphetamin und Angst.....	14
5	<i>Material und Methoden</i>	17
5.1	Allgemeine Haltungsbedingungen	17
5.2	Substanzzufuhr, Dosisfindung und Herstellung	17
5.3	Wahl des tierexperimentellen Angstmodells	18
5.4	Testverfahren	19
5.4.1	Blutabnahmen	19
5.4.2	Verhaltensbeobachtung im ACTIFRAME®-System.....	20
5.4.2.1	Open-Field	21
5.4.2.2	Shock-Probe-Conflict-Procedure	22
5.5	Versuchsplan	23
5.5.1	Vorversuch Deprivation	23
5.5.2	Hauptversuch	23
5.6	Bearbeitung des Rohmaterials	26
5.6.1	Bestimmung der Plasmakonzentrationen von Corticosteron und β -Endorphin	26
5.6.2	Auswertung der ACTIFRAME®-Daten.....	29
5.7	Datenbearbeitung und Statistik	29

6	<i>Ergebnisse</i>	31
6.1	Vorversuch	31
6.1.1	Einfluss von Flüssigkeitsdeprivation auf Stresshormone	31
6.2	Hauptversuch	32
6.2.1	Akuteffekt von MDMA auf die Plasmakonzentrationen von Corticosteron und β-Endorphin	32
6.2.2	Akuteffekt von MDMA auf das Verhalten im Raum (Open-Field) und das Verhalten im Umgang mit einer Schockelektrode (Shock-Probe-Conflict).....	34
6.2.2.1	Verhalten im Raum (Open-Field).....	34
6.2.2.2	Umgang mit einer Schockelektrode (Shock-Probe-Conflict).....	36
7	<i>Diskussion</i>	39
7.1	Diskussion von Dosis und Applikationsweg	39
7.2	Akuteffekte von 3,4-Methylendioxyamphetamin auf die Sekretion von Corticosteron und β-Endorphin mit und ohne externen Stressor	41
7.2.1	Stressinduzierte Sekretion von Corticosteron und β-Endorphin	41
7.2.2	Ausschüttung von Corticosteron und β-Endorphin durch 3,4-Methylendioxyamphetamin	42
7.2.3	Diskussion der Ergebnisse	44
7.3	Akuteffekte von 3,4-Methylendioxyamphetamin auf das Angstempfinden	45
7.3.1	Tiermodelle der Angst	45
7.3.2	Anxiogene/anxiolytische Wirkung von 3,4-Methylendioxyamphetamin	47
7.3.3	Diskussion der Ergebnisse	49
8	<i>Literatur</i>	53
9	<i>Eidesstattliche Versicherung</i>	71
10	<i>Lebenslauf</i>	72
11	<i>Danksagung</i>	74

1 Abkürzungsverzeichnis

2CB	2,5-Dimethoxy-4-Bromophenethylamine
CPM	Counts per Minute
ACTH	Adrenocorticotropes Hormon (Corticotropin)
ARCI-LSD	Addiction Research Centre Inventory - LSD
CRH	Corticotropin-Releasing-Hormon
EMCDDA	European Monitoring Centre for Drugs and Drug Addiction
EPM	Elevated Plus Maze
EDTA	Ethylendiamintetraacetat
FMP	Forschungsinstitut für Molekulare Pharmakologie
HHN	Hypothalamus-Hypophysen-Nebennierenrinden
LSD	Lysergsäurediethylamid
LSE	Lichtschränkeneinheit
MDA	3,4-Methylendioxyamphetamin
MDEA	3,4-Methylendioxyethylamphetamin
MDMA	3,4-Methylendioxymethamphetamin
POMC	Proopiomelanocortin
POMS	Profile of Mood States
PMA	Para-Methoxyamphetamin
PMMA	Para-Methoxymethamphetamin
RIA	Radioimmunoassay
STI	State Trait Inventory
UNODC	United Nations Office on Drugs and Crime
VAS	Visual Analogue Scale

2 Abbildungsverzeichnis

Abb. 1:	Phenylethylamin und 3,4-Methylenedioxyamphetamin sowie strukturverwandte Verbindungen	9
Abb. 2:	Schematische Aufsicht auf eine ACTIFRAME®-Messstation	21
Abb. 3:	Ecken und Zentrumseinteilung der Testkäfig-Grundfläche	22
Abb. 4:	Angebotene MDMA-Trinklösung und aufgenommene Dosis MDMA	25
Abb. 5:	Versuchsablaufplan Hauptversuch	26
Abb. 6:	Effekt von Flüssigkeitsdeprivation auf die Plasmakonzentration von Corticosteron und β -Endorphin	31
Abb. 7:	Effekt von MDMA auf die Plasmakonzentration von Corticosteron und β -Endorphin	33
Abb. 8:	Dosis MDMA und Ausnutzung des zur Verfügung stehenden Raumes.....	34
Abb. 9:	Effekt von MDMA auf den Aufenthaltsort.....	35
Abb. 10:	Effekt von MDMA auf die Lokomotion.....	36
Abb. 11:	Effekt von MDMA auf die Raumnutzung in einem Testkäfig mit Shock-Probe	37
Abb. 12:	Effekt von MDMA auf das Verhalten im Schockbereich	38

3 Abstract

Das Phenylethylaminderivat 3,4-Methylendioxyamphetamin (MDMA, Ecstasy) als Hauptvertreter der Klasse der Entactogene hat vielfältige Wirkungen auf die neuroendokrine Modulation von Stress und das Angsterleben. Auch wenn seit mehr als 40 Jahren die Substanz im Fokus wissenschaftlicher Arbeiten und psychotherapeutischer Sitzungen steht, ist der Effekt von MDMA auf die humorale Stressachse (Corticoide/Endorphine) insbesondere im Zusammenspiel mit einem externen Stressor kaum untersucht. Die bisher gewonnenen Erkenntnisse zur Angstmodulation detektieren sowohl eine anxiogene wie anxiolytische Wirkung von MDMA. Vor diesem Hintergrund untersuchte die vorliegende Arbeit bei männlichen Wistar-Ratten zum einen die Wirkung von MDMA auf den durch einen Stressor induzierten Anstieg der Plasmakonzentration der beiden Stresshormone Corticosteron und β -Endorphin. Zum anderen wurde das Angstverhalten der Ratten in zwei etablierten Angstmodellen der Thigmotaxis im Open-Field-Modell und der Shock-Probe-Conflict-Procedure (SPCP) quantifiziert.

Es zeigten sich keine Unterschiede in den Corticosteron-Plasmakonzentrationen zwischen Kontroll-Tieren (N = 16) und Tieren nach Einnahme von MDMA (N = 26) weder in Ruhe (Kontrolle: $35,9 \pm 8,8$ ng/ml; Substanz: $45,8 \pm 6,3$ ng/ml) noch nach einem externen Stressor (Blutabnahme) (Kontrolle: $84,9 \pm 10,6$ ng/ml; Substanz: $99,8 \pm 12,7$ ng/ml). Gleiches zeigte sich für die β -Endorphin-Konzentrationen in Ruhe (Kontrolle: $165,0 \pm 20,4$ fmol/ml; Substanz: $127,8 \pm 13,3$ fmol/ml) und nach Stressor (Kontrolle: $237,3 \pm 27,8$ fmol/ml; Substanz: $209,9 \pm 23,8$ fmol/ml).

In der Untersuchung der Thigmotaxis im Open-Field-Modell ließ sich nach Einnahme von MDMA eine Verminderung der Vermeidung von offenen Flächen im Sinne eines anxiolytischen Effektes zeigen: so hielten sich Kontrolltiere (N = 8) im Untersuchungszeitraum (60 Minuten) mehr als doppelt so viel in den geschützten Käfigecken auf wie die Substanztiere (N = 16) (Kontrolle: $56,4 \pm 0,5$ %; Substanz: $26,5 \pm 4,5$ %, $p < 0,001$). Die Substanztiere hielten sich mehr als dreimal so viel im Zentrum auf wie die Kontrolltiere (Kontrolle: $8,1 \pm 2,0$ %; Substanz: $26,5 \pm 5,4$ %, $p = 0,03$). In der SPCP dagegen ließ sich ein anxiogener Effekt von MDMA feststellen: die Substanztiere hielten sich bezogen auf den Untersuchungszeitraum (60 Minuten) dreimal seltener in der Nähe der Schockelektrode auf (Kontrolle: $16,8 \pm 1,5$ %; Substanz: $6,0 \pm 1,0$ %, $p < 0,001$).

Die vorliegenden Ergebnisse zeigen, dass MDMA keinen Effekt auf die hormonale Stressantwort bei Ratten hat. Während MDMA ohne spezifischen Angstauslöser bei Ratten eine eher anxiolytische Wirkung hat, steigert es das angstgetriggerte Vermeidungsverhalten im verwendeten Tiermodell.

[3,4-methylenedioxymethamphetamine (MDMA, ecstasy) is a phenethylamine derivative and the main representative of the class of entactogens. It exerts various effects on neuroendocrine stress modulation and on the experience of anxiety. The substance has been the subject of scientific work for over 40 years. However, the effects of MDMA on the humoral stress axis (corticoids/endorphins), above all in combination with external stressors, have barely been investigated. Insights regarding anxiety modulation gained so far have detected both anxiogenic and anxiolytic effects. Therefore, here we studied the effects of MDMA on the increase of plasma concentrations of the two stress hormones corticosterone and β -endorphin at baseline and after a stressor in male Wistar rats. Furthermore, the anxiety behavior of the rats was evaluated by using two established anxiety models: the thigmotaxis in an open-field model and the shock-probe-conflict-procedure (SPCP).

The results showed no differences in plasma concentrations of corticosterone between the control group animals (n=16) and the group of animals after administration of MDMA (substance group; n=26) neither at rest (control: 35.9 ± 8.8 ng/ml; substance: 45.8 ± 6.3 ng/ml) nor after an external stressor (control: 84.9 ± 10.6 ng/ml; substance: 99.8 ± 12.7 ng/ml). Same was observed regarding the β -endorphin concentrations at rest (control: 165.0 ± 20.4 fmol/ml; substance: 127.8 ± 13.3 fmol/ml) and after a stressor (control: 237.3 ± 27.8 fmol/ml; substance: 209.9 ± 23.8 fmol/ml).

The examinations of thigmotaxis in an open-field model showed that after ingestion of MDMA rats increasingly avoided open spaces in the sense of an anxiolytic effect, i.e. during the evaluation period (60 mins) control group animals (n=8) remained twice as frequently in the corners of the cage than substance animals (n=16) (control: 56.4 ± 0.5 %; substance: 26.5 ± 4.5 %, $p < 0.001$). Substance animals remained over three times as frequently in the center of the cage than the control animals (control: 8.1 ± 2.0 %; substance: 26.5 ± 5.4 %, $p = 0.03$). In SPCP however, an anxiogenic effect of MDMA could be established. During the evaluation period (60 mins) the substance animals were three times less likely to remain in the vicinity of the shock electrode (control: 16.8 ± 1.5 %; substance: 6.0 ± 1.0 %, $p < 0.001$).

The results of these experiments prove that MDMA has no effect on the hormonal stress response in rats. Without specific anxiety triggers MDMA shows rather anxiolytic effects in rats, however it increases the anxiety-triggered avoidance behavior in the animal model used.]

4 Einleitung

4.1 Einführung in die Substanz 3,4-Methylenedioxyamphetamin

3,4-Methylenedioxyamphetamin (MDMA) ist ein erstmalig Anfang des 20. Jahrhunderts synthetisiertes ringsubstituiertes Phenylethylamin¹⁻³. Strukturell zeigt MDMA sowohl Merkmale von Amphetamin ähnlichen Stimulanzien, ist aber auch dem Halluzinogen Meskalin im Aufbau verwandt^{2,4}. Die Summenformel ist $C_{11}H_{15}NO_2$; Abbildung 1 zeigt die Strukturformel von MDMA und der chemisch verwandten Verbindungen modifiziert nach Capela et al.¹. Als freie Base ist MDMA nicht wasserlöslich, als Salz diverser Säuren jedoch sehr gut und von bitterem Geschmack.

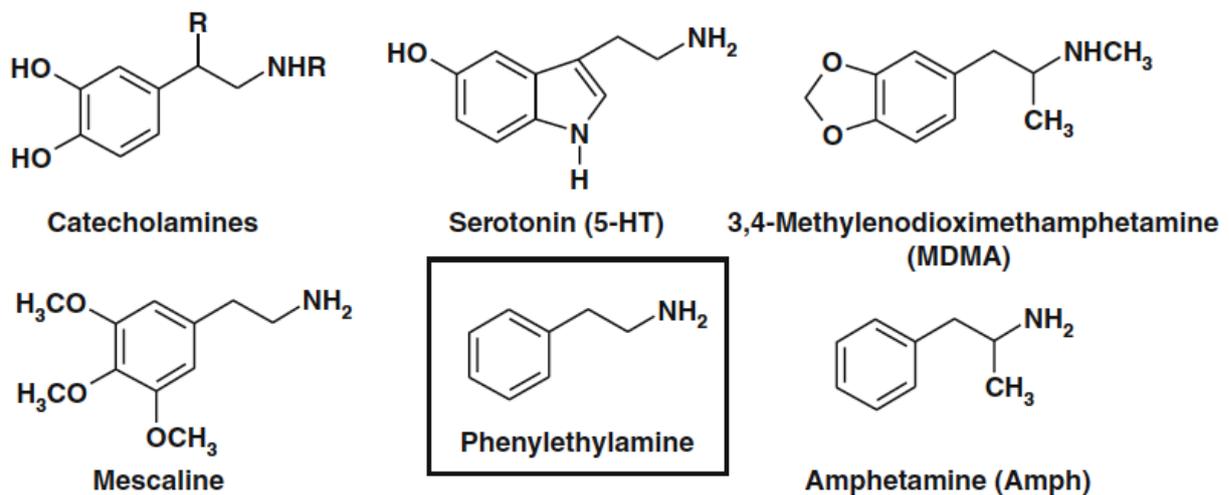


Abb. 1: Phenylethylamin und 3,4-Methylenedioxyamphetamin sowie strukturverwandte Verbindungen

Das erste Patent zur Synthese von MDMA aus Safrol unter dem Namen „Methylsafrylamin“ hielt die Firma E. Merck, datiert auf den 24. Dezember 1912⁵. Für die in der Literatur häufig geäußerte Behauptung, die Substanz wäre ursprünglich als Appetitzügler entwickelt², gibt es nach neueren Recherchen keine Grundlage. Vielmehr wurde MDMA von der Fa. Merck nur als Präkursor für weitere chemische Synthesen patentiert^{5,6}. Allerdings kam es in den nächsten Jahrzehnten nie zur Vermarktung und MDMA geriet - abgesehen von wenigen tierexperimentellen pharmakologischen Tests durch die Fa. Merck 1927 und 1959⁵ - in wissenschaftliche Vergessenheit.

Im Jahr 1953 führte die Universität Michigan im Auftrag des US-Militärs toxikologische Untersuchungen an mehreren Tierspezies (u. a. an Mäusen und Ratten) durch, deren Ergebnisse nach Freigabe durch das Militär 1969 im Jahr 1973 veröffentlicht wurden⁷. In diesen Untersuchungen wurden keine Hinweise auf neurotoxische Wirkungen von MDMA gesehen.

Mit der intensiven Verwendung von MDMA ab dem Jahr 1976 durch den Psychiater Leo Zeff bei angeblich über einhundert nicht veröffentlichten Sitzungen rückte die psychomimetische Wirkung von MDMA in den letzten beiden Dekaden des 20. Jahrhunderts in den Fokus der Psychotherapie⁸⁻¹¹. Man schätzt, dass in den frühen 80er Jahren des 20. Jahrhunderts MDMA unter der Bezeichnung „Adam“ in über eintausend privaten psychotherapeutischen Praxen eingesetzt wurde¹. Das Interesse der Psychotherapie an 3,4-Methylendioxyamphetamin lag an dessen komplexen Effekten, die sich durch eine stimulierende Wirkung, eine anxiolytische Komponente mit erniedrigter Hemmschwelle und Abwehrlockerung sowie ein Gefühl der Verbundenheit mit sich und anderen Menschen mit erhöhter Bereitschaft zur Kommunikation auszeichnen¹²⁻¹⁶. Für Substanzen, die diese besonderen Wirkungen erzielen, führte David E. Nichols den Begriff einer neuen Klasse von Verbindungen ein, die er als „Entaktogene“ bezeichnete, hergeleitet aus den Wortteilen „tactus“ (Verbindung), „en“ (inner) und „gen“ (erzeugt), also ein „in-Verbindung-mit-sich-selbst-Treten“ bezeichnen sollte¹⁷.

Zeitgleich mit der Verbreitung in der Psychotherapie entwickelte sich eine zunehmende missbräuchliche Verwendung von MDMA zuerst in den USA, woran auch das Umgangsverbot im Jahr 1985 durch die Klassifizierung als „Schedule I Drug“ durch die Drug Enforcement Agency (DEA) nichts änderte¹⁸. Vor allem an der Westküste der USA wurde MDMA unter dem Markennamen „Ecstasy“ oder auch „XTC“ verkauft¹. Die Verbreitung in Europa erfolgte ab den späten 80er Jahren des letzten Jahrhunderts im Rahmen der Rave- und Technokultur. Insbesondere über die Mittelmeerinsel Ibiza und deren Acid-House-Veranstaltungen mit vielen internationalen Teilnehmern erfolgte die Weiterverbreitung nach Zentraleuropa und nach Großbritannien¹⁸ trotz der Tatsache, dass die meisten dieser Länder den Verkauf und Besitz dieser Substanz frühzeitig gesetzlich stark einschränkten¹⁹.

Der letzte Bericht der United Nations Office on Drugs and Crime (UNODC) von 2019 schätzt, dass im Jahr 2017 0,2-0,8 % der globalen Bevölkerung zwischen 15 und 64 Jahren, also zwischen 8,4 und 40 Millionen Menschen, zumindest einmal in ihrem Leben „Ecstasy“ konsumiert haben. Die Prävalenz für West- und Zentraleuropa liegt wie in den USA mit 0,9 % sogar noch über dem globalen Durchschnitt. Die weltweit höchste Prävalenz wird aus Australien und Neuseeland (2,2 %) berichtet²⁰. Bei der Interpretation der Zahlen ist zu beachten, dass unter dem Begriff „Ecstasy“ weltweit verschiedene psychoaktive Substanzen angeboten werden, so zum Beispiel neben MDMA und dessen Analoga (MDA, MDEA, PMA, PMMA) auch neuere psychoaktive Substanzen (einschließlich z. B. 2CB)²⁰.

Weitere Konsumdaten aus dem letzten Bericht des European Monitoring Centre for Drugs and Drug Addiction (EMCDDA) von 2019 belegen, dass in der Gruppe der 15- bis 34-jährigen 2,1 Millionen Menschen in den letzten 12 Monaten MDMA konsumiert haben. Es wird geschätzt, dass

in der Europäischen Union 13,7 Millionen Menschen in der Altersgruppe zwischen 15 und 64 Jahren während ihres Lebens MDMA probiert haben ²¹. Diese Zahlen zeigen eindrücklich, dass der Missbrauch vom MDMA ein global weiterhin stark verbreitetes Phänomen ist.

4.2 Wirkmechanismen von 3,4-Methylenedioxyamphetamin

4.2.1 Neurotransmitter vermittelte Wirkmechanismen

Die durch Neurotransmitter vermittelte Wirkung von MDMA beruht nach tierexperimentellen und humanbiologischen Untersuchungen aktuell auf drei Hauptmechanismen:

Zum einen wirkt MDMA als indirekter monoaminerges Agonist, d.h. MDMA stimuliert die Ausschüttung vor allem von Serotonin, in geringerem Maße aber auch von Noradrenalin und Dopamin ²²⁻²⁴. Im Vergleich zu Methamphetamin ist die Freisetzung von Serotonin durch MDMA 10-fach höher und die von Dopamin 6-fach niedriger ²⁵.

Zum anderen inhibiert MDMA durch Bindung an monoaminerge Transportsysteme, wie den Transporter für Serotonin (SERT), Noradrenalin (NAT) und Dopamin (DAT), den Re-Uptake der entsprechenden Neurotransmitter aus dem synaptischen Spalt und verlängert und potenziert damit deren Wirkung. In Zellkulturuntersuchungen mit geklonten Transportern (SERT, NAT und DAT) ließ sich zeigen, dass die Inhibierung des SERT stärker als die des NAT und noch stärker als die des DAT war ²⁶. Diese Ergebnisse waren konkordant zu den Untersuchungen an Ratten-Synaptosomen ²⁷. Auch Daten, die aus Mikrodialyse-Experimenten an Ratten gewonnen wurden, bestätigten die deutliche Wirkung von MDMA auf die Konzentrationserhöhung von Serotonin im Zentralnervensystem ^{28,29}. Insbesondere in der ausgeprägten Wirkung auf den Neurotransmitter Serotonin unterscheidet sich die Substanz MDMA vom klassischen Metamphetamin (primär adrenerg) aber auch vom Kokain (primär dopaminerg).

Zum dritten inhibiert MDMA das Enzym Tryptophanhydroxylase, das limitierend für die Rate der Serotoninbiosynthese ist ^{1,14,30}. Für Ratten wurde gezeigt, dass nach einmaliger Gabe von MDMA die Inhibition der Tryptophanhydroxylase nach einer Woche immer noch nachweisbar war ³¹. Dies wird, neben der akuten Serotonindepletion, als eine der Ursachen der anhaltenden depressiven Stimmung nach MDMA-Einnahme gesehen ^{16,32}.

Dass das serotonerge System verantwortlich für die beobachteten MDMA vermittelten Verhaltenseffekte ist, ist sowohl bei Tieren ³³⁻³⁵ wie auch beim Menschen belegt ^{36,37}. Besonders der Agonismus am Serotonin-Rezeptor 5-HT_{1A/B} wird hierfür verantwortlich gemacht. So löst beispielsweise der experimentelle 5-HT_{1A}-Agonist RU24969 dem MDMA qualitativ ähnliche Effekte aus ³⁸ und weist eine Kreuztoleranz zu MDMA auf ³⁹. Auch konnte die MDMA vermittelte

Wirkung auf die Lokomotion durch den experimentellen 5-HT_{1B/D}-Antagonisten GR127935 inhibiert werden und war verringert bei 5-HT_{1B}-Knockout Mäusen ^{34,40,41}.

Dagegen wird der Agonismus am 5-HT_{2A}- und 5-HT_{2C}-Rezeptor für die beschriebene leicht halluzinogene Potenz der substituierten Phenylethylamine wie MDMA, aber auch des Meskalins und Lysergsäurediethylamids (LSD) sowie auch seiner Analoga (Ergoline) verantwortlich gemacht ^{1,6,42,43}. Neben der Affinität des MDMA für die 5-HT₂-Rezeptoren humaner kortikaler Neuronen ist diese auch für die von Ratten gut beschrieben ^{44,45}. Im Vergleich zu stark halluzinogenen Substanzen wie dem LSD ist die Affinität des MDMA am 5-HT₂-Rezeptor jedoch um den Faktor 300-10.000 geringer, was die deutlich schwächere halluzinogene Wirkung erklärt ⁴⁵.

Auch wenn die dargelegten serotonergen Interaktionen für die beobachteten Effekte von MDMA verantwortlich gemacht werden, spielen auch dopaminerge D1- und D2-Rezeptoren ^{23,46,47} und adrenerge Rezeptoren z. B. bei der MDMA vermittelten Beeinflussung der Lokomotion eine Rolle ⁴⁸.

4.2.2 Neuroendokrine Wirkung

Die meisten Arbeiten, die sich mit der Erforschung der neuroendokrinen Wirkungen von MDMA beschäftigten, untersuchen den Effekt der Substanz auf die Freisetzung von Corticoiden:

Nash et al. konnten bei Ratten zeigen, dass 30 Minuten nach der einmaligen intraperitonealen Injektion von MDMA die Serumkonzentrationen von Corticosteron und Prolaktin dosisabhängig anstiegen. Die maximale Serumkonzentration war bei einer Dosis von 10 mg/kg MDMA sowohl für Corticosteron als auch für Prolaktin nach 60 Minuten erreicht, wobei die Corticosteronkonzentration für ca. 4 Stunden erhöht blieb, hingegen fiel die Prolaktinkonzentration zügig ab und war nach 4 Stunden nicht mehr erhöht ⁴⁹. Zu ähnlichen Ergebnissen kamen auch Connor et al., die weiblichen Sprague-Dawley Ratten allerdings mit 20 mg/kg sehr hohe Dosen MDMA intraperitoneal applizierten ⁵⁰.

Seibert et al. konnten bei Versuchen an gesunden Probanden zeigen, dass die orale Einnahme von 125 mg MDMA die maximale Corticosteronkonzentration im Serum etwa um den Faktor 5 steigert, hier waren bis zu 6 Stunden nach Einnahme erhöhte Konzentrationen nachweisbar mit einem Peak nach 60-120 Minuten ⁵¹. Grob et al. zeigten, dass es ab einer oralen MDMA-Dosis von 0,5-0,75 mg/kg zur Ausschüttung von adrenocorticotropem Hormon (ACTH) und Prolaktin bei Probanden kam ⁵². Ähnliches zeigten Mas et al. für die Gabe von 75 und 125 mg MDMA; auch hier kam es zu einem signifikanten Anstieg der Plasmakonzentration von Prolaktin und Cortisol mit einem Peak nach 60-120 Minuten ⁵³.

Mehrere humanbiologische Arbeiten wiesen ebenso eine durch MDMA gesteigerte Sekretion von Oxytocin und Vasopressin bei gesunden Probanden nach ⁵⁴⁻⁵⁶, was auch den in-vitro Untersuchungen von Mary Forsling an Rattengehirnen entsprach ^{57,58}.

Relativ wenige Arbeiten gibt es zur Wirkung von MDMA auf die Sekretion von Neuropeptiden. So untersuchten Hanson et al. die Ausschüttung von Substanz P, Neurotensin und dem Opioidpeptid Dynorphin bei Ratten nach singulärer Injektion von 10 mg/kg MDMA und wiesen eine deutliche nigrale und striatale Erhöhung von Neurotensin und Dynorphin im Rattenhirn nach ⁵⁹.

In der vorliegenden Literatur findet sich keine Arbeit, die eine Wirkung von MDMA auf die Sekretion von Endorphinen und insbesondere dem β -Endorphin, einem starken Agonisten am μ -Opiat-Rezeptor, direkt untersucht hätte. Aus theoretischen Überlegungen heraus gilt jedoch eine MDMA vermittelte Ausschüttung von β -Endorphin als überaus wahrscheinlich: zum einen führt, wie oben beschrieben, die MDMA-Einnahme zur Ausschüttung von ACTH ^{52,60}. Da ACTH und β -Lipotropin, der Vorläufer des β -Endorphin, aus demselben Präkursor Proopiomelanocortin (POMC) entstehen, wird mit einer hypophysären Sekretion von ACTH auch immer β -Lipotropin freigesetzt, das weiter in γ -Lipotropin und β -Endorphin proteolytisch gespalten wird ^{61,62}. Diese Wirkung auf die Hypothalamus-Hypophysen-Achse ist bereits seit längerem sowohl für Amphetamin wie auch für Kokain bei Ratten nachgewiesen ⁶³⁻⁶⁵. Weiterhin zeigten Koenig et al., dass ganz allgemein die Stimulation von 5-HT-Rezeptoren mit selektiven und unselektiven 5-HT_{A1}-Agonisten zur Sekretion von Corticosteron und β -Endorphin bei Ratten führt ⁶⁶. Harris et al. beschreiben eine durch MDMA-Einnahme gesteigerte Sekretion von Dehydroepiandrosteron beim Menschen, für das Stomati et al. eine Korrelation zur Höhe der β -Endorphin Plasmakonzentration zeigen konnten ^{67,68}.

4.3 Fragestellung der Arbeit

4.3.1 3,4-Methylenedioxyamphetamin und Stressmodulation

Der Missbrauch von MDMA in der Rave-Szene als „Partydroge“ steht in engem Kontext mit der Verwendung in Clubs zur Steigerung des intensiven Tanz- und Musikerlebens. Dieses Setting mit lauter, bassbetonter Musik und Dunkelheit, durchbrochen von Lichteffekten, sowie räumlicher Enge erscheint als eine das Individuum unter deutlichen Stress setzende Umgebung. Da wie oben dargelegt MDMA die Nebenniere stimuliert und zur gesteigerten Sekretion von Corticosteron und Cortisol führt, stellt sich die Frage, wie hier Stress interagiert. So konnte Parrott beispielsweise zeigen, dass bei Clubgängern, die MDMA einnahmen, die Cortisolkonzentration im Speichel um bis zu 800 % im Vergleich zur MDMA abstinenten Kontrollgruppe anstieg ⁶⁹. Wolff

et al. wiesen bei Clubgängern, die akut MDMA eingenommen hatten, eine etwa doppelt so hohe Cortisolkonzentration im Urin nach wie bei Clubgängern, die im MDMA-Screening negativ getestet wurden⁷⁰. Interpretiert man den Anstieg des Cortisols als eine hormonelle Stressantwort zur unspezifischen Erhöhung des Aktivitätslevels im Sinne des klassischen Cannonschen Flucht- oder Kampf-Konzepts und versteht man die Ausschüttung von Endorphinen als eine sinnhafte Erweiterung dieses Konzepts⁶², so ist von Interesse, ob gleichzeitig mit der Nebennierenrindenaktivierung auch eine erhöhte Endorphinsekretion durch MDMA nachweisbar ist und sekundär, ob hierdurch eine Stressmodulation stattfindet. Dies könnte dann eine Erklärung für die Umwandlung eines eigentlich negativen Stressors (Clubsetting) in ein positives Empfinden sein.

Auch wenn es aus physiologischen Überlegungen (4.2.2) heraus wahrscheinlich scheint, dass MDMA zur gesteigerten Freisetzung vom β -Endorphin führt, fehlen bis dato valide Daten sowohl aus humanen wie auch aus tierexperimentellen Arbeiten, die sich mit der direkten Wirkung von MDMA auf die Ausschüttung von Endorphinen beschäftigen. Weiterhin fehlen Arbeiten, die sich mit der Wirkung von MDMA auf die Nebenniere und auf die Opioidausschüttung in Anwesenheit eines Stressors beschäftigen, also der Frage nachgehen, inwieweit MDMA hierdurch eine Stressmodulation induziert. Die einzige verfügbare Arbeit, die die MDMA-Einnahme unter einem externen Stressor (laute Musik) untersucht, beschäftigt sich mit der chronischen Einnahme und der Auswirkung von Stress auf die freiwillige Substanzaufnahme⁷¹.

So soll im ersten Untersuchungsteil der vorliegenden Arbeit im kontrollierten Tierexperiment die Modulation eines definierten externen Stressors durch MDMA untersucht werden. Hierzu werden folgende Hypothesen aufgestellt:

- 1. Die einmalige Gabe von MDMA führt unabhängig von einem externen Stressor zu einer akuten Erhöhung der Plasmakonzentrationen von Corticosteron und β -Endorphin bei Ratten.*
- 2. Die einmalige Gabe von MDMA verändert (moduliert) die durch einen externen Stressor induzierte Sekretion von Corticosteron und β -Endorphin bei Ratten.*

4.3.2 3,4-Methylenedioxyamphetamin und Angst

In engem Zusammenhang mit einer eventuellen Stressmodulation durch MDMA steht auch die Wirkung von MDMA auf das Erleben von Angst, also die Frage nach einer anxiogenen oder anxiolytischen Wirkung von MDMA. Hierzu gibt es einige Daten aus humanbiologischen und tierexperimentellen Arbeiten vornehmlich an Ratten aber auch an Mäusen.

In Untersuchungen an Probanden zeigten Tancer et al. nach Einnahme von MDMA (1,5 -2 mg/kg) eine deutliche Zunahme von Angstempfinden ^{72,73}. Diese anxiogene Wirkung ließ sich durch die Vorbehandlung mit Fluoxetin, einem selektiven Serotonin-Reuptake-Inhibitor, deutlich mildern ⁷⁴.

Mehrere Forschergruppen untersuchten u. a. die Wirkung von MDMA auf das Angsterleben mittels Selbsteinschätzungsskalen (ARCI-LSD). Hier zeigte sich für mittlere MDMA-Dosen von 1-2 mg/kg eine Zunahme der Angstempfindung ^{72,73,75-77}.

Im Gegensatz zu diesen Untersuchungen konnte Liechti et al. an gesunden Probanden einen anxiolytischen Effekt nach Gabe von MDMA (1,5 mg/kg) nachweisen. Durch Vorbehandlung mit dem Dopamin-Antagonist Haloperidol zeigte sich dagegen eine ausgeprägte anxiogene Wirkung von MDMA ⁷⁸.

Nach einer Übersichtsarbeit von Dumont und Verkes spricht die vorliegende Literatur am ehesten für eine Zunahme des Angstempfindens unter MDMA beim Menschen ¹³.

Im tierexperimentellen Bereich finden sich einige Untersuchungen zur Wirkung von sowohl akuter (einmaliger) als auch chronischer (wiederholter) Gabe von MDMA auf das Angstempfinden von Nagetieren (überwiegend Ratten, weniger Mäuse).

Die meisten Studien der wiederholten Gabe von MDMA zeigten einen anxiogenen Effekt ⁷⁹⁻⁸⁴. In fast allen diesen Arbeiten wurde das Elevated Plus Maze (EMP) Testsystem benutzt. Dieses Modell eines teils geschlossenen, teils offenen Labyrinthsystems auf zwei Ebenen basiert auf dem Konflikt zwischen dem Explorationsbedürfnis und dem Bedürfnis, offene, ungeschützte und erhöhte Räume zu meiden ⁸⁵. Zwei Arbeiten zeigten dagegen anxiolytische Effekte ^{86,87}; beide nutzten EPM aber auch die Untersuchung im Open-Field-Modell.

Die Ergebnisse aus den tierexperimentellen Arbeiten, die die Anxiolyse/Anxiogenese nach akuter (einmaliger) Gabe von MDMA untersuchten, sind widersprüchlich. Während mehre Arbeiten, für den Dosisbereich von 1-10 mg/kg nach intraperitonealer Gabe einen anxiogenen Effekt im EPM nachwiesen, zeigten diese im höheren Dosisbereich von 8-20 mg/kg anxiolytische Wirkung ⁸⁸⁻⁹².

Bemerkenswert ist die Arbeit von Morley & McGregor, die für einmalige Gaben von MDMA in aufsteigenden Dosen (1,25-5 mg/kg) die anxiogene/anxiolytische Wirkung in fünf Testmodellen bei Ratten untersuchten. Die Ergebnisse zeigten bei gleicher Dosis sowohl anxiogene als auch anxiolytische Wirkungen von MDMA je nach benutztem Angstmodell ⁹³.

Die Arbeiten, die das Sozialverhalten von Ratten nach singulärer Gabe von MDMA (1 x 5 mg) untersuchten, kamen ebenso zu konträren Ergebnissen, während Morley et al. im sozialen Interaktionstest eine anxiolytische Wirkung nachweisen konnten, zeigten Bhattacharya et al. eine anxiogene Antwort im selben Dosisbereich ^{88,93}.

Wie die Betrachtung der tierexperimentellen Literatur zeigt, ist die Frage, ob MDMA anxiogen oder anxiolytisch wirkt, weiterhin nicht eindeutig beantwortet, wenngleich man den Eindruck erhält, MDMA könnte im Niedrigdosisbereich anxiogen, im Hochdosisbereich anxiolytisch wirken. Zu einer ähnlichen Einschätzung kommt auch die Arbeitsgruppe um Joao Capela: „The anxiogenic effect seems to be dose-dependent, since low doses (4 to 7.5 mg/kg) produce anxiogenic effects, meanwhile high doses (10 to 15 mg/kg) were found to be ‘anxiolytic-like’ both in mice and rats.“¹.

In allen vorliegenden Veröffentlichungen erfolgte die Gabe der Substanz parenteral (subkutan, intraperitoneal). Arbeiten zur Wirkung nach oraler und damit schmerzfreier Applikation fehlen. Dies könnte eine Auswirkung auf das Angstepfinden gerade in der frühen Phase nach Einnahme der Substanz haben.

Im zweiten Teil der vorliegenden tierexperimentellen Arbeit soll daher die folgende Hypothese geprüft werden:

- 3. Die einmalige orale Applikation von MDMA im niedrigen bzw. moderaten Dosisbereich verändert das Angstepfinden von Ratten am ehesten im Sinne einer anxiogenen Wirkung.*

5 Material und Methoden

Die Erlaubnis zur Durchführung der Tierversuchsreihen wurde nach Prüfung durch die Tierversuchskommission vom Landesamt für Gesundheit und Soziales (LAGeSo) des Landes Berlin unter der Genehmigungsnummer G 0376/96 erteilt.

5.1 Allgemeine Haltungsbedingungen

Alle Versuchsreihen wurden mit männlichen Ratten des Anzuchtstammes Wistar:Han durchgeführt. Diese entstammten den Beständen des Institutes für Veterinärmedizin und gesundheitlichen Verbraucherschutz. Die Tiere der Hauptversuche waren bei Auslieferung 6 Wochen alt mit einem Gewicht von 390-600 g. Die Tiere, mit denen der Vorversuch durchgeführt wurde, waren ein Jahr alt und entstammten einer anderen abgeschlossenen Versuchsreihe mit weitem zeitlichem Abstand zu dieser (> 6 Monate).

Alle Tiere wurden randomisiert in Gruppen zu drei bzw. vier Tieren in Standard-Makrolonkäfige (Typ IV) mit den Maßen 40 x 60 x 20 cm gesetzt. Die individuelle Markierung erfolgte mit einem permanent Filzmarker (Edding AG, Ahrensburg) auf den Schwänzen. Innerhalb der ersten 14 Tage erfolgte eine Phase der Gewöhnung an den Menschen, in dem die Tiere täglich für ca. 15-20 Minuten aus dem Käfig in die Hand genommen wurden. Auch das regelmäßige Umsetzen der Tiere zur Käfigsäuberung wurde diesem Zwecke entsprechend ausgebaut. Ziel dieses Rattenhandlings war es, den durch die menschliche Berührung ausgelösten Stress zu verringern bzw. zu vermeiden.

Alle Tiere wurden in klimatisierten Räumen mit einer Temperatur von 18-22 °C und einer Luftfeuchtigkeit von 40-60 % gehalten. Der Hell-Dunkel-Rhythmus von jeweils 12 Stunden Dauer wurde artifiziell erzeugt (Dunkelphase 16:00-4:00 Uhr, Hellphase 4:00-16:00 Uhr). Als Futter erhielten die Tiere ALTROMIN® 1324 (Altromin Spezialfutter GmbH & Co. KG, Lage) sowie in der versuchsfreien Zeit Wasser *ad libitum*. Verbrauchs- und Gewichtsdaten wurden halbwochentlich, in der Versuchszeit täglich erhoben. Futtermittelverbrauch und Gewicht wurden per Neigungsschaltgewichtswaage (REWETO®, Bizerba SE & Co. KG, Balingen) und der Flüssigkeitsverbrauch mittels elektronischer Präzisionswaage (PM4600®, Mettler Toledo International Inc., Columbus Ohio) ermittelt.

5.2 Substanzzufuhr, Dosisfindung und Herstellung

Da der erste Teil dieser Arbeit die Auswirkung von MDMA auf stressabhängige Hormone (Corticosteron, β -Endorphin) untersuchte, wurde im Sinne möglichst stressfreier Bedingungen die

orale Selbstverabreichung von MDMA als Trinklösung zur Applikation gewählt. Auch für den zweiten Teil der Arbeit, der die Auswirkungen von MDMA auf angstabhängiges Verhalten untersuchte, erschien es sinnvoll, die schmerzfreie Applikationsform der oralen Selbstverabreichung zu wählen, um eine anxiogene Wirkung durch eine schmerzhafteste Prozedur zu vermeiden.

Ziel dieser Arbeit war es weiterhin, schon diskrete Effekte von MDMA zu detektieren und, da u. a. Verhaltensexperimente durchgeführt wurden, insbesondere die Gefahr von Überdosierungen zu vermeiden.

Nach Durchsicht der Literatur, die einen tierexperimentellen Dosisbereich von 0,5-20 mg/kg ergab, wurde beschlossen, auch in Analogie zu den typischen humanbiologischen Dosen von 1-4 mg/kg⁹³⁻⁹⁶ in einem niedrigen bis moderaten Dosisbereich zwischen 1-5 mg/kg zu arbeiten.

Die Herstellung von 3,4-Methylenedioxyamphetamin erfolgte durch die Bundesopiumstelle am Bundesinstitut für Arzneimittel und Medizinprodukte (Bonn). Die Lieferung erfolgte als kristallines (+/-)3,4-Methylenedioxyamphetamin-Hydrochlorid mit einem garantierten Reinheitsgrad von $\geq 99,9\%$. Zu Versuchszwecken wurde es mit gereinigtem Wasser in Lösung gebracht.

5.3 Wahl des tierexperimentellen Angstmodells

Zur Testung der anxiogenen/anxiolytischen Wirkung vom MDMA im Tiermodell kamen zwei etablierte Modelle zum Einsatz:

1. Open-Field/Thigmotaxis: Setzt man eine Ratte in eine ihr unbekannte quadratische Arena (Open-Field), so hält sich das Tier vorwiegend an den wandnahen Arealen der Testarena und insbesondere in den Ecken auf (Thigmotaxis). Die Ratte vermeidet den Aufenthalt im offenen (ungeschützten) Raum. Angst äußert sich hier im Vermeiden des zentralen Bereiches des Open-Fields. Ein anxiolytischer Effekt entspricht so einem gehäuften bzw. verlängerten Aufenthalt im Zentrumsbereich⁹⁷⁻¹⁰⁰.
2. Shock-Probe-Conflict-Procedure: In diesem von Meert et al. 1986 eingeführten Modell wird die Ratte einem typischen Konflikt zwischen Annäherung und Vermeidung ausgesetzt. In einem Open-Field-Areal ist an einer Stelle eine Schockelektrode eingesetzt. Das in die Anordnung gesetzte Tier wird die neue Umgebung explorieren und hier in Kontakt mit der Elektrode kommen, der zu einem Schmerzreiz führt. Im weiteren Testverlauf steht das Tier im Konflikt zwischen dem Erkundungsverhalten einerseits und

der Vermeidung des aversiven Reizes andererseits. In der modifizierten Form wird der Kontakt mit der Schockelektrode zu Beginn des Versuches erzwungen. Im folgenden Testverlauf wird dann das räumliche Verhalten des Nagers insbesondere in Bezug auf die Schockelektrode beobachtet. Angst führt zu einem Meiden der Elektrode bzw. des Elektrodenbereichs, anxiolytische Effekte zeigen sich durch vermehrte Kontakte mit der Elektrode bzw. durch vermehrte Aufenthalte oder eine verlängerte Aufenthaltszeit in der Nähe der Schockelektrode ¹⁰⁰⁻¹⁰².

5.4 Testverfahren

5.4.1 Blutabnahmen

Als Parameter für die Stressreaktion der Tiere wurden Corticosteron und β -Endorphin im Plasma gemessen. Nach einer ersten Abnahme (Basalwert) erfolgte im Abstand von 20-30 Minuten eine zweite Blutabnahme (Stresswert). Der Basalwert diente hierbei als Ausgangswert, der nach dem schmerzvermittelten Stress der ersten Blutabnahme gewonnene zweite Wert als Indikator für den akuten, durch die Blutabnahme selbst induzierten Stress. Die Blutabnahmen erfolgten immer eine Stunde nach Einsetzen der Dunkelphase. Zur Beleuchtung während der Blutabnahme wurden Rotlichtstrahler (2-3 Lux) verwendet. Zwischen den beiden Blutabnahmen wurden die Tiere wieder in den Gruppenkäfig zurückgesetzt.

Die Abnahme der Blutproben erfolgte aus einer der seitlichen Schwanzvenen der Tiere. Hierzu wurde der Schwanz für ca. eine Minute in warmem Wasser erwärmt, um die Durchblutung der Venen zu fördern, dadurch bessere Punktionsbedingungen zu schaffen und die Abnahme zu erleichtern. Dann folgte die Punktion der Vene mittels einer 0,55 x 25 mm Kanüle (Sterican[®], B. Braun Melsungen AG, Melsungen), die vorher mit zehnpromzentiger Ethylendiamin-tetraessigsäure-Lösung (Sigma-Aldrich Chemie AG, Schnelldorf) gespült worden war. Das austretende Blut wurde in einem Reaktionsgefäß mit 1,5 ml Fassungsvermögen (Brand GmbH & Co. KG, Wertheim) mit 5 μ l fünfprozentiger EDTA-Lösung aufgefangen.

Um Tiere an den Ablauf zu gewöhnen, wurden das Anwärmen des Schwanzes und das Halten der Tiere mehrmals geübt. Die Entnahme musste spätestens fünf Minuten nach Beginn der Prozedur beendet sein, was in einigen Fällen zum Ausfall einer Probe führte. Die Proben wurde sofort in Eis gelagert und anschließend bei 4 °C mit 12.000 g in einer Tischzentrifuge (MICROSPIN[®] 24S, Sorvall Instruments DuPont, Wilmington, Delaware) für sieben Minuten zentrifugiert. Danach wurde der klare Überstand (Blutplasma) abpipettiert und der Bodensatz verworfen. Vom Blutplasma wurden 10 μ l pro Probe für die Bestimmung des Corticosteron

entnommen, der Rest (20-180 µl) wurde zur Bestimmung der β -Endorphinkonzentration verwendet. Bis zur endgültigen Bestimmung wurden die Proben für 3-6 Monate bei -80 °C eingefroren.

5.4.2 Verhaltensbeobachtung im ACTIFRAME®-System

Beim ACTIFRAME®-System handelt es sich um ein Bewegungsregistriersystem, das von der Firma GERB Elektronik, Berlin, in Kooperation mit dem Institut für Neuropsychopharmakologie der Freien Universität Berlin entwickelt wurde. Seine Aufgabe ist die Messung der Schwerpunktkoordinaten eines sich in einem Lichtschrankenraster bewegendes kleinen Tieres. Die Evaluation dieses Modells für Kleintiere erfolgte an anderer Stelle ¹⁰³.

Das ACTIFRAME®-System ist ein modulares Rahmensystem, das mit je 16 Lichtstrahlen in x- und y-Richtung pro Rahmen arbeitet. Die Schwerpunktkoordinaten werden berechnet aus dem „Schatten“, den das Tier in x- und y-Richtung wirft. Jeweils die Mitte dieses Schattens repräsentiert die gesuchte Koordinate (Abbildung 2). Bei einer ungeradzahligem Anzahl von Lichtschrankenunterbrechungen entspricht der Wert genau dem mittleren der unterbrochenen Strahlen. Bei einer geraden Zahl liegt der Wert dagegen in der Mitte zwischen zwei Lichtschranken. Aus diesem Grund wird der Abstand zweier benachbarter Lichtschranken als zwei Lichtschrankeneinheiten (LSE) definiert. Jede registrierte Koordinate kann somit ganzzahlige Beträge von 1 bis 31 annehmen. Der Testkäfig ist quadratisch und hat eine innere Kantenlänge von 39 cm. Die Lichtschranken sind äquidistant angebracht, so dass gilt: 1 LSE = 1,11 cm. Jeder Lichtschrankenrahmen ist mit einer intelligenten Steuereinheit verbunden und bildet mit dieser eine Messstation. Die Steuereinheit fragt die Lichtschrankensensoren in einem einstellbaren Abfragerhythmus ab, berechnet die Schwerpunktkoordinaten und speichert diese. Ein Steuerrechner fragt alle angeschlossenen Messstationen zyklisch ab und lässt sich die Koordinatenpaare mit dem Zeitpunkt der Registrierung von der Steuereinheit übermitteln. Diese Werte werden als Binärdaten gespeichert und können offline durch spezielle Software (ARNO und PAPA; Institut für Neuropsychopharmakologie, Freie Universität Berlin) ausgewertet werden. In den verwendeten Versuchsreihen wurden je zwei Rahmen aufeinandergestellt, so dass neben der Lokomotion in x- und y-Richtung auch die in z-Richtung (Aufrichten) bestimmt werden konnte. Mit einem solchen System können grundsätzlich 32 Lokomotionsparameter bestimmt werden.

Diese Messstationen wurden in zwei Testszenarien nämlich als Open-Field-Test und als Test mit modifizierter Shock-Probe-Conflict-Procedure eingesetzt.

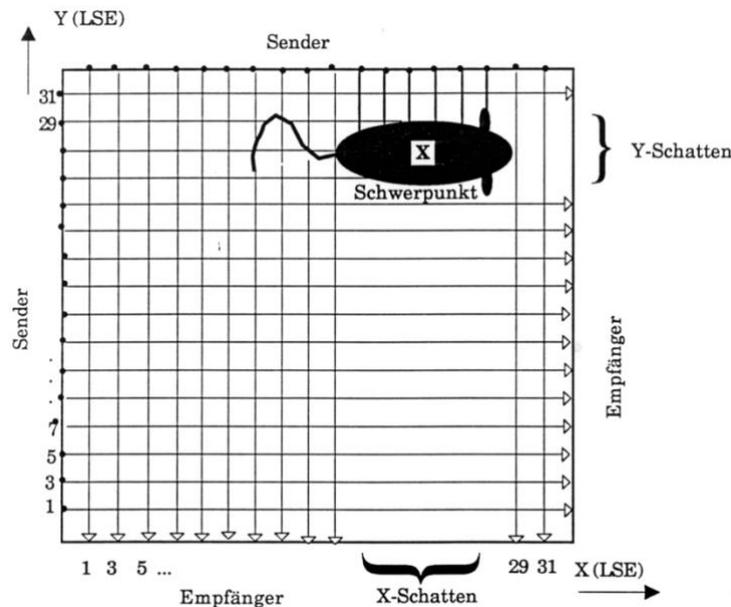


Abb. 2: Schematische Aufsicht auf eine ACTIFRAME®-Messstation

Ermittlung der Schwerpunktkoordinaten (hier: $x = 22$; $y = 27$), LSE = Lichtschrankeneinheit. Für detaillierte Erklärung siehe Text.

5.4.2.1 Open-Field

Hier dient der quadratische Rahmen als ungeschützte Arena. Beobachtet wird das räumliche Verhalten des Tieres und der Lokomotion über einen definierten Zeitraum von 60 Minuten anhand der vier Parameter:

1. **% Eckenaufenthalt:** Zur Berechnung des % Eckenaufenthaltes werden für jedes Testintervall die relativen Aufenthaltsdauern (in %) in den vier Eckenbereichen addiert. Siehe Abbildung 3 zur Definition der Ecken.
2. **% Zentrumsaufenthalt:** Die Berechnung erfolgt analog zu 1. Gemessen wird die relative Aufenthaltsdauer (in % des Zeitintervalls) des Tier-Schwerpunkts im Zentralbereich des Versuchskäfigs. Siehe Abbildung 3 zur Definition des Zentrums.
3. **% Ruhezeit:** Dieser Parameter ist definiert als der Zeitanteil (in %) am Messintervall, den das Tier mit „Ruhens“ zugebracht hat. „Ruhens“ ist das Verweilen an einem Ort (ohne Berücksichtigung stationärer Bewegungen) über eine Zeitspanne von mindestens 10 Sekunden.
4. **% Laufzeit:** Analog zum Zeitanteil des „Ruhens“ kann auch der Anteil des „Laufens“ in jedem Messintervall berechnet werden. „Laufen“ ist definiert als schnelle Lokomotion, bei der das Versuchstier seinen Standort nicht länger als 1 Sekunde beibehält.

5. % Raumnutzung: Die Raumnutzung wird definiert als prozentualer Anteil an der Nutzung des gesamten zur Verfügung stehenden Raumes im Messintervall. Eine Raumnutzung von 100 % bedeutet hier, dass jeder örtliche Punkt im Rahmen vom Tier im Verlauf begangen wurde.

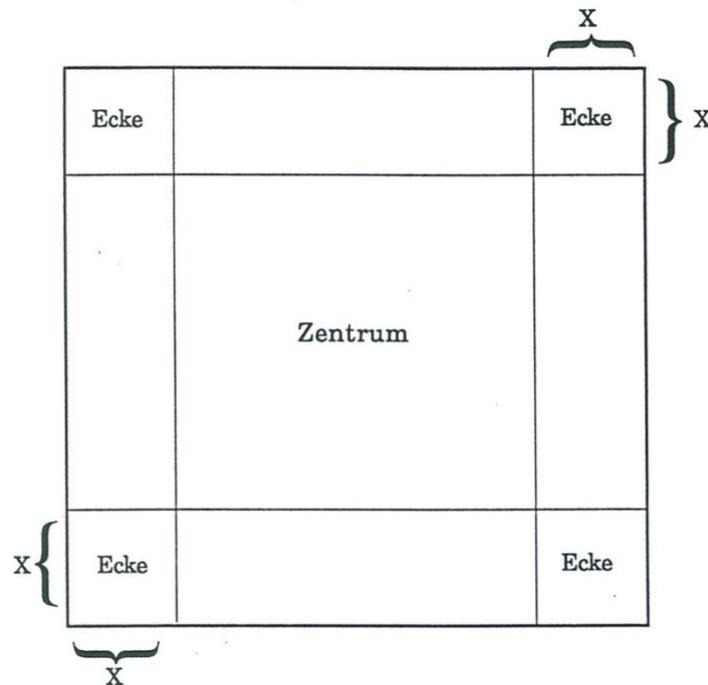


Abb. 3: Ecken und Zentrumseinteilung der Testkäfig-Grundfläche
 X = Eckenvorgabe (entspricht 8 LSE)

5.4.2.2 Shock-Probe-Conflict-Procedure

Hier ist in einer Ecke eine Schockelektrode (Intensität 1 mA) angebracht. Der Kontakt des Tieres mit der Schockelektrode wird direkt vor Beginn des Versuchs einmalig erzwungen. Im folgenden Testverlauf wird dann über 60 Minuten das räumliche Verhalten des Tieres in Bezug auf die Elektrode beobachtet. Hierbei wird ein sogenannter Schockbereich definiert als derjenige Quadrant des Rahmens, in dem die Schockelektrode angebracht ist.

Beobachtet werden, wie lange sich das Versuchstier im Schockbereich aufhält (als Anteil in % des Messintervalls von 60 Minuten) und wie oft es sich aufrichtet. Aufrichtung ist definiert als jede Vertikalregistrierung der Messplätze, die eine Mindestdauer von 500 ms nicht unterschreitet und von vorausgehenden wie nachfolgenden Aufrichthandlungen durch eine Pause von mindestens 500 ms getrennt ist. Die Dauer der Aufrichthandlung bleibt unberücksichtigt.

5.5 Versuchsplan

In dieser Versuchsreihe sollen die akuten Effekte von MDMA nach einmaliger oraler Selbstverabreichung untersucht werden in Hinblick auf

- Freisetzung der Stresshormone Corticosteron und β -Endorphin mit und ohne Stressor (Stressmodulation)
- Anxiolyse/Anxiogenese getestet als Thigmotaxis im Open-Field-Modell und als Shock-Probe-Conflict-Procedure. Mitbeobachtet wurden die Lokomotionsparameter „Laufen“ und „Ruhen“ sowie „Raumausnutzung“.

Da diese Versuchsreihe sich mit den akuten Wirkungen von MDMA beschäftigte, war es notwendig, dass die Versuchstiere eine definierte Substanzmenge per oral in einem definierten Zeitraum zu sich nahmen. Erreicht wurde dies, indem die Tiere in Flüssigkeitsdeprivation gehalten wurden: 23 Stunden hatten die Tiere keinen Zugriff auf Wasser. Nur für eine Stunde pro Tag erhielten die Tiere freien Zugang zu Wasser, das in Wasser gelöste MDMA sollte in dieser Stunde restlos aufgenommen werden.

5.5.1 Vorversuch Deprivation

In einem Vorversuch wurde geklärt, ob die Deprivation selbst einen Einfluss auf die Konzentration der Stresshormone sowohl in Bezug auf die Basalwerte als auch auf die Stressantwort hatte. Hierzu wurden 16 männliche Wistar-Ratten, die nicht an den späteren Versuchsreihen teilnahmen, randomisiert in zwei Gruppen aufgeteilt und je zu viert in einem Käfig gehalten. Eine Kontrollgruppe à 8 Tieren wurde unter normalen Haltungsbedingungen mit freiem Zugang zu Wasser und Futter über den Tagesverlauf hinweg gehalten, während der Interventionsgruppe für 23 Stunden keine Möglichkeit der Flüssigkeitsaufnahme gewährt wurde. Während der letzten Stunde wurden die Tiere dieser Gruppe in Einzelkäfige gesetzt und erhielten für 60 Minuten Wasser *ad libitum*. Danach wurden die Tiere wieder in die Gruppenkäfige zurückgesetzt. Während einer Startphase von sieben Tagen wurden die Tiere an diesen Ablauf gewöhnt. Zwischen dem 8. und dem 21. Tag nach Beginn der Deprivationsbehandlung erfolgten bei allen Tieren zufälligerweise zwei Blutabnahmen nach dem obigen Ablauf. Dies erfolgte für alle Tiere eine Stunde vor Aufhebung der Flüssigkeitsdeprivation.

5.5.2 Hauptversuch

Für den Hauptversuch wurden 48 Tiere in 3 Gruppen randomisiert: einer Kontrollgruppe mit 16 Tieren, die Wasser erhalten sollte, einer sogenannten L-Gruppe („Low“) von 16 Tieren, die MDMA

in niedriger Konzentration erhalten sollte, und einer H-Gruppe („High“) von 16 Tieren, die MDMA in einer hohen Konzentration erhalten sollte.

In jeder Gruppe wurden die Tiere zu viert in einem Käfig gehalten. Jedes Tier erhielt im zeitlichen Verlauf des Versuchs zwei Behandlungen, zum einen eine Blutabnahmeserie bestehend aus zwei Blutentnahmen und zum anderen ein Aufenthalt im ACTIFRAME[®]-System für 60 min zur Verhaltensaufzeichnung. Das ACTIFRAME[®]-System wurde für die Hälfte der Tiere (N = 24, 8 aus jeder Gruppe) als Open-Field Test verwandt, die andere Hälfte der Tiere wurden einer Shock-Probe-Conflict-Procedure ausgesetzt.

Somit sollte es nach der Versuchsplanung 48 Blutentnahmen von 16 L-Gruppentieren, 16 H-Gruppentieren und 16 Kontrolltieren geben. Verhaltensaufzeichnungen über 60 Minuten als Open-Field-Test sollten für 24 Tiere (8 aus jeder Gruppe), Shock-Probe-Prozeduren für die anderen 24 Tieren mit ebenfalls 8 Tieren je Gruppe vorhanden sein.

Fünf Tage vor dem Start der Experimente begann für die betreffenden Tiere die Flüssigkeitsdeprivation nach dem Schema des Vorversuchs. 23 Stunden ohne Wasser im Gruppenkäfig folgte eine Stunde mit freiem Wasserzugriff im Einzelkäfig. Am Tag des Experiments erhielten die randomisierten Untersuchungstiere zum gleichen Zeitpunkt für 15 Minuten 10 ml Flüssigkeit angeboten. Die Kontrolltiere (N = 16) erhielten Wasser, die L-Gruppe (N = 16) erhielt eine wässrige Lösung mit einer Konzentration von 100 mg/l MDMA, die H-Gruppe mit 200 mg/l MDMA angeboten. Unter der Berücksichtigung des Vorversuchs, in dem die flüssigkeitsdeprivierten Tiere immer 10 ml und mehr aus Wasserflaschen tranken, sollten durch das Angebot von unterschiedlichen MDMA-Konzentrationen zwei Dosisgruppen geschaffen werden, eine Niedrigdosisgruppe mit einer mittleren MDMA-Dosis von etwa 2 mg/kg und eine Hochdosisgruppe von zirka 4 mg/kg Rattengewicht. Nach der Trinkphase von 15 Minuten wurden die Tiere zufällig entweder der Blutabnahme oder dem ACTIFRAME[®]-Experiment unterzogen.

Zwischen den beiden Blutabnahmen lag eine Zeitspanne von 30 Minuten, die die Tiere im Gruppenkäfig verbrachten. Die ACTIFRAME[®]-Versuche wurden für 60 Minuten entweder als Open-Field oder Shock-Probe-Conflict-Procedure durchgeführt. Nach den Experimenten erhielten alle Tiere für 45 Minuten Wasser. Nach einem ersten Versuchszyklus von ca. vier Wochen hatten alle Tiere entweder eine Blutentnahme erhalten oder an einem ACTIFRAME[®]-Versuch teilgenommen. In einem genauso durchgeführten zweiten Zyklus, der 5 Wochen nach dem ersten Zyklus durchgeführt wurde und ebenso vier Wochen dauerte, erhielten die Tiere dann das jeweils korrespondierende Experiment: die Tiere, die im ersten Zyklus die Blutabnahmen erhalten hatten, erhielten jetzt den Verhaltenstest, die, die im ersten Zyklus dem Verhaltenstest unterzogen wurden, erhielten jetzt Blutabnahmen.

Leider zeigte sich in der anschließenden Auswertung der aufgenommen Substanzdosen, dass diese von der angebotenen Lösungskonzentration (0,01%ige *versus* 0,02%ige MDMA-Lösung) unerwartet unabhängig waren.

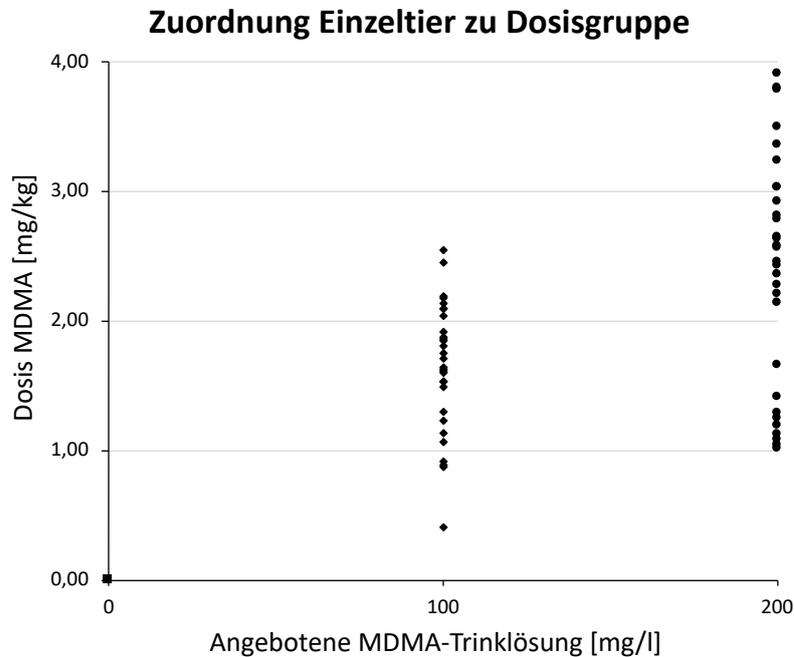


Abb. 4: Angebotene MDMA-Trinklösung und aufgenommene Dosis MDMA

Über beide Zyklen erhielten 30 Tiere die niedrige Konzentration (MDMA 100 mg/l), 32 Tiere die hohe Konzentration (MDMA 200 mg/l) und 32 Tiere erhielten Wasser (Kontrollgruppe). Der Vergleich der aufgenommenen MDMA-Dosis in Abhängigkeit von der angebotenen Trinklösung zeigte, dass sich die aufgenommenen MDMA-Dosen in weiten Bereichen überlappten. Eine Zuordnung der Tiere zu einer Hoch- bzw. Niedrigdosis anhand der angebotenen Behandlung (Trinklösung) war daher nicht möglich.

Abbildung 4 zeigt die aufgenommene MDMA-Dosis in Abhängigkeit von der angebotenen MDMA-Trinklösung. Es ist evident, dass sich die aufgenommene Dosis MDMA in weiten Bereichen überlappt, somit war eine Zuordnung der Tiere in eine Hochdosis-Substanzgruppe und eine Niedrigdosis-Substanzgruppe anhand der durchgeführten Behandlung, also dem Angebot der Hoch- und Niedrigkonzentrationstrinklösung, nicht erlaubt.

In Konsequenz musste in der Folge von dem originären Versuchsprotokoll, das sich auch die Untersuchung der Auswirkung von zwei unterschiedlichen Dosisgruppen auf Stresshormone und Verhalten zum Ziel gesetzt hatte, abgewichen werden, um die wissenschaftliche Güte nicht zu gefährden. In der Betrachtung der Wirkung von MDMA auf die in dieser Arbeit untersuchten Parameter wird daher im Folgenden nur noch zwischen den beiden Gruppen bestehend aus Kontrolltieren und Substanztieren unabhängig von der angebotenen Konzentration der MDMA-Lösung unterschieden.

Im Verlauf des Versuchs verstarben zwei Tiere aus der Substanzgruppe vor der Blutentnahme des zweiten Zyklus. Bei weiteren 4 Tieren aus der Substanzgruppe gelang es aus technischen Gründen nicht, eine komplette Blutserie zu gewinnen. Daher konnten nur von 42 Tieren (16 aus der Kontrollgruppe und 26 aus der Substanzgruppe) Hormonbestimmungen gewonnen werden. Abbildung 5 gibt einen schematischen Überblick über den Versuchsablauf.

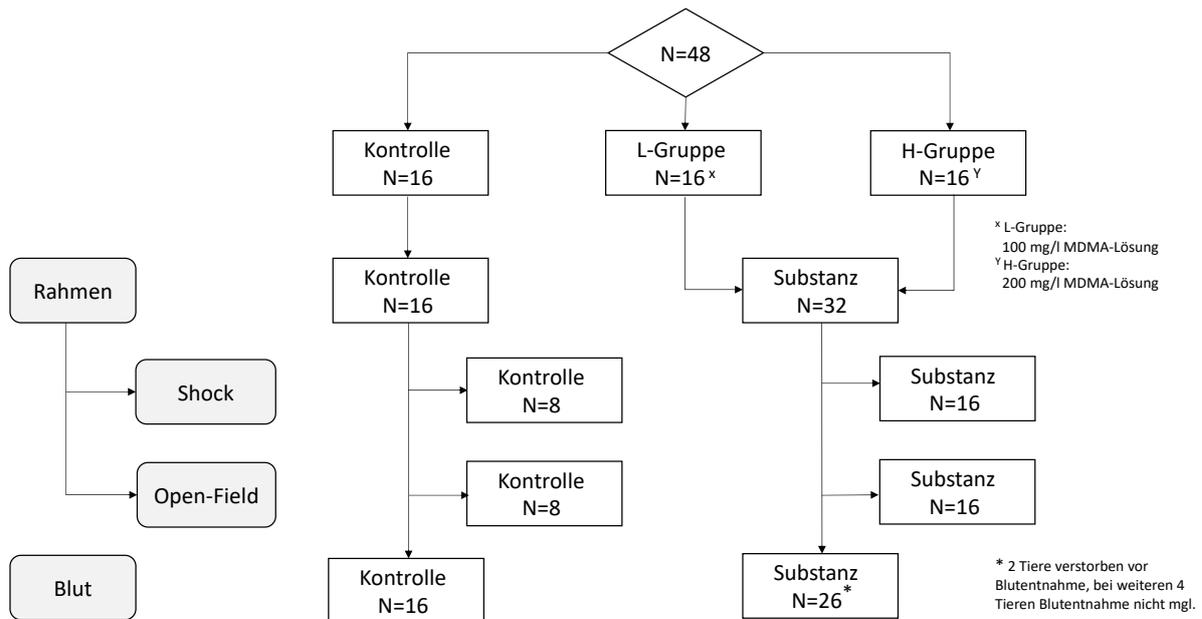


Abb. 5: Versuchsablaufplan Hauptversuch

Von 48 Tieren erhielten 16 die Kontrollbehandlung (Wasser), 16 Tiere erhielten als L-Gruppe eine niedrigkonzentrierte (100 mg/l), 16 Tiere als H-Gruppe eine hochkonzentrierte (200 mg/l) MDMA-Lösung. Letztlich wurden die L- und H-Gruppen nach retrospektiver Ermittlung der aufgenommenen MDMA-Dosen, die sich in weiten Bereichen überlappten, als eine Substanzgruppe zusammengeführt. Im Versuchsverlauf starben 2 Tiere vor der Blutabnahme, bei weiteren 4 Tieren gelang diese nicht, so dass Blutwerte nur von 42 Tieren zur Verfügung standen.

5.6 Bearbeitung des Rohmaterials

5.6.1 Bestimmung der Plasmakonzentrationen von Corticosteron und β -Endorphin

Die Bestimmung der Plasmakonzentrationen erfolgte mittels eines Radio-Immuno-Assays (RIA). Prinzipiell werden hierzu die zu bestimmenden Substanzen zunächst aus den Proben extrahiert (siehe unten), so dass sie in möglichst reiner Form vorliegen. Anschließend wird eine definierte Menge Probe mit radioaktiv markierter Reinsubstanz und einem spezifischen Antikörper versetzt. Der nicht an Antikörper gebundene Teil der Substanz wird dann (z. B. mit Hilfe von Aktivkohle) aus dem Ansatz entfernt und die verbleibende Radioaktivität bestimmt. Da die in der Probe enthaltene und die zugesetzte, radioaktiv markierte Substanz um den Antikörper konkurrieren, ist die verbleibende Radioaktivität umso höher, je geringer die Konzentration der Substanz in der

Probe war. Die genaue Konzentration lässt sich mit Hilfe einer Eichkurve ermitteln. Es lagen für jedes Tier Plasmaproben aus den verschiedenen Versuchen vor, die bei -80 °C eingefroren worden waren. Diese wurden nun zunächst aufgetaut und dann einem Extraktionsverfahren unterzogen.

Im Falle des Corticosterons wurde die Extraktion mittels einer Säulenchromatographie durchgeführt. Als Säule dienten mit Trägermaterial Extrelut[®]20 (Merck KGaA, Darmstadt) gefüllte 45 mm Glaspipetten. Als Fließmittel wurden 2,4 ml reines Dichlormethan (Merck KGaA, Darmstadt) verwendet. Es wurde in Glasreagenzgläsern aufgefangen und anschließend abgedampft. Die Probe wurde dann erneut in 1 ml Dichlormethan aufgenommen, geschüttelt, um eventuell an den Glaswänden verbliebene Substanz zu lösen, und erneut abgedampft. Abschließend wurde die Probe in 0,5 ml Phosphatpuffer (Na_2HPO_4 ; KH_2PO_4 ; pH 7.4; Natriumazid; Rinder Albumin) aufgenommen und gründlich geschüttelt. Alle weiteren Schritte erfolgten dann auf Eis bei 4 °C . Bei der Extraktion war jede 15. Probe eine Standardblutprobe mit gleichbleibender Konzentration, die mitextrahiert wurde, um später systematische Veränderungen der Messung, die z. B. durch unterschiedlich lange Wartezeiten entstehen können, nachzuweisen. Da die Proben nicht in einem Lauf analysiert werden konnten, gestatteten diese Werte gleichzeitig einen Vergleich zwischen den Läufen. Innerhalb eines Laufs wurden grundsätzlich alle Proben des gleichen Tieres und gleich viele Proben von Tieren aus Isolations- und Gruppenhaltung analysiert. Außerdem wurde jeweils nach 20 Proben eine leere Probe extrahiert, um auszuschließen, dass durch unsauberes Arbeiten Corticosteron in die Proben gelangt war.

Für den RIA wurden dann 100 μl Probe zusammen mit 100 μl Lösung mit Tritium (^3H) markiertem Corticosteron (NEN, Dreieich) und 100 μl spezifischem Antikörper (3-Oxime-Corticosteron-Antikörper vom Kaninchen, Pharmakologisches Institut der Ruprecht-Karls-Universität, Heidelberg) in Polystyrol-Röhrchen (4,5 ml; Greiner Bio-One International GmbH, Frickenhausen) gegeben und über mindestens vier Stunden bei 4 °C inkubiert. Anschließend wurden 750 μl in Phosphatpuffer suspendierte Aktivkohle zugesetzt (0,5 g Aktivkohle und 0,05 g Dextran je 100 ml Puffer) und die Lösung bei 4 °C mit 2.000 g über 12 Minuten zentrifugiert. Der Überstand wurde in Szintillationsgefäße des Typs Pony Vial (Canberra-Packard GmbH, Dreieich) mit 4 ml Szintillatorflüssigkeit der Marke Ultima Gold[®] (Canberra-Packard GmbH, Dreieich) gegeben. Diese setzt die beim radioaktiven Zerfall freiwerdende β -Strahlung in Lichtenergie um. Dabei löst jedes beim Zerfall eines Tritiumatoms freiwerdende Elektron mehrere Lichtblitze aus. In einem Flüssigkeitsszintillationszähler (Packard 1600TR; Canberra-Packard GmbH, Dreieich) mit einem speziell auf Tritium abgestimmten Programm konnten dann die Lichtsignale je Minute (counts per minute; cpm) bestimmt werden, die proportional zu dem radioaktiven Zerfall pro Minute sind. Mit

jedem Ansatz lief eine eigene, vor dem jeweiligen RIA erstellte Eichreihe mit (25, 50, 100, 250, 500, 1.000 und 2.000 pg Corticosteron je Probe), über die später die Corticosteron-Konzentration in den Proben bestimmt werden konnte. Es wurden in allen Fällen Doppelbestimmungen vorgenommen, also je Probe zwei getrennte Ansätze inkubiert und gemessen. Alle Werte lagen nach diesem Vorgehen zunächst als cpm-Werte vor. An die Werte der Eichreihe wurde dann eine Exponentialkurve angepasst, aus der die Konzentrationen der übrigen Proben bestimmt wurden. Diese Anpassung der Eichkurve sowie die Zuordnung der Konzentrationen erfolgte hierbei mittels eines für RIAs vorgesehenen Verfahrens innerhalb des Programmpakets GraphPad Prism (Version 1.03; GraphPad Software, San Diego, Kalifornien). Die Werte der Doppelbestimmungen wurden hierbei zu einem Wert gemittelt. Bei einer Abweichung der Doppelproben von mehr als 30 % wurden die Werte nicht verwendet. Dies war in keinem Fall notwendig. Die mittlere Abweichung zwischen den Doppelbestimmungen lag bei 6 ± 5 %. Aus den erhaltenen Werten der Corticosteronmenge je Probe ließ sich dann auf den Plasmagehalt an Corticosteron rückschließen. Am Ende der Analysen lagen alle Werte in ng/ml Plasma vor. In allen Fällen, in denen eine Leerprobe analysiert worden war, konnte kein Corticosteron nachgewiesen werden. Ein Messfehler durch Verschmutzung der Proben konnte entsprechend ausgeschlossen werden. Der ermittelte Variationskoeffizient lag für beide Läufe zwischen 8 und 12 %. Beide Läufe unterschieden sich nicht signifikant voneinander.

Die Bestimmung der β -Endorphinkonzentrationen wurde unter Leitung von Dr. Furkert am Forschungsinstitut für molekulare Pharmakologie (FMP) in Berlin selbstständig durchgeführt. Auch hier wurde zunächst das β -Endorphin extrahiert und anschließend eine radioimmunologische Analyse durchgeführt. Für die Extraktion wurden die eingefrorenen Plasmatropfen aufgetaut und mit 900 μ l Trifluoressigsäure (0,1 %) und 50 μ l Ameisensäure (98 %) versetzt. Es wurde das automatisierte Extraktionssystem Aspek XL (Amimed Analysetechnik, Lengsfeld) eingesetzt, das mit Sep-Pak Vac C18 Extraktionssäulen (Waters GmbH, Eschenborn) versehen war. Die Proben wurden auf die Säulen aufgetragen und anschließend zunächst mit 5 ml Trifluoressigsäure (0,1 %) und dann mit 4,5 ml Acetonitril (80 % in 1%iger Trifluoressigsäure) gespült. Die Proben wurden danach aufgefangen und in einem Vakuumrotationsverdampfer (Alpha RVC; Christ, Osterode) getrocknet.

Für den darauffolgenden RIA wurden die getrockneten Proben in 500 μ l Phosphatpuffer (Na_2HPO_4 ; KH_2PO_4 ; pH 7,4; zusätzlich 0,12 M Natriumchlorid; 2 % EDTA; 0,02 % Triton XI00; 0,1 % Natriumazid und 0,2 % Rinder Serum Albumin) aufgenommen und bei 4 °C für 10 Minuten bei 4.200 g zentrifugiert, um einige nicht lösliche Komponenten zu entfernen. Die Proben wurden dann mit 100 μ l β -Endorphin spezifischem Antikörper vom Kaninchen (Biogenesis, Poole,

England) versetzt und für 24 Stunden bei 4 °C inkubiert. Anschließend wurden 100 µl mit radioaktivem Jod (¹²⁵I) markiertem β-Endorphin (Amersham-Buchler GmbH, Braunschweig) zugegeben und die Proben für weitere 24 Stunden inkubiert. Um das freie und das an den Antikörper gebundene β-Endorphin zu trennen, wurden nach dieser Zeit 250 µl suspendierte an eine feste Phase gebundene Antikörper vom Schaf zugegeben, die für den Kaninchenantikörper spezifisch waren. Nach einer Inkubationszeit von 45 Minuten bei 4 °C wurde die Probe bei 4.200 g für 10 Minuten zentrifugiert, der Überstand verworfen und die im Sediment verbliebene Radioaktivität in einem Gamma-Counter ermittelt. Innerhalb jedes Laufes wurde eine Eichreihe mitanalysiert, mit deren Hilfe die Konzentration aus der ermittelten Radioaktivität bestimmt werden konnte. Der Variationskoeffizient innerhalb eines Ansatzes lag bei diesem Verfahren zwischen fünf und elf Prozent.

5.6.2 Auswertung der ACTIFRAME®-Daten

Alle durch die ACTIFRAME®-Rahmen erhobenen Rohdaten wurden mittels spezieller Softwareprogramme weiterbearbeitet. Zur Anwendung kamen die institutseigenen Programme ARNO und PAPA.

Durch das Programm ARNO können die ACTIFRAME®-Rohdaten derart weiterverarbeitet werden, dass in frei wählbaren Zeitintervallen, die nur über der Abtastfrequenz der ACTIFRAME®-Rahmen liegen müssen, die Anzahl der Beobachtungen in diesem Zeitintervall für jedes Tier einzeln summiert werden. Diese Daten können entweder ausgedruckt werden oder zur Weiterverarbeitung durch andere Programme beispielsweise zur statistischen Auswertung im ASCII-Format exportiert werden.

Zweck des Programms PAPA ist eine räumliche Darstellung der Beobachtungen in einem frei wählbaren Zeitintervall bezogen auf das ACTIFRAME®-Koordinatensystem. So kann das räumliche Verhalten der Tiere (Raumausnutzung, Eckenaufenthalt, Zentrumsaufenthalt) im Rahmen grafisch dargestellt werden. Durch Wahl eines geeigneten Cut-offs lässt sich so die Raumnutzung der Tiere gut visualisieren. Diese Darstellungen können ausgedruckt werden oder zur Weiterverarbeitung durch ein Grafikprogramm im HGL-Format exportiert werden.

5.7 Datenbearbeitung und Statistik

Zur Schätz- und Prüfstatistik wurden die auszuwertenden Daten (Trink- und Gewichtsdaten, exportierte ACTIFRAME®-Daten, Plasmakonzentrationswerte der Hormone) in das Statistikprogramm SPSS® Version 26 (IBM Deutschland GmbH, Ehningen) oder SigmaStat® Version 4.0 (Systat Software GmbH, Erkrath) importiert. Nach Prüfung auf Normalverteilung

(Shapiro-Wilk) und Varianzhomogenität (Levene) erfolgte zuerst eine deskriptive Statistik und dann die entsprechende Anwendung parametrischer bzw. nichtparametrischer Testverfahren. Unterschiede wurden als statistisch signifikant bewertet, wenn die Irrtumswahrscheinlichkeit $p \leq 0,05$ betrug. Soweit nicht anders angegeben erfolgt die Datenangabe immer als Stichprobenmittelwert mit dem Standardfehler des Mittelwerts als Streuungsmaß. Die Erstellung der Abbildungen erfolgte durch das Programm MS EXCEL[®], die Erstellung der Monografie mit dem Programm MS WORD[®], beide in der Version 2013 (Microsoft, Dublin).

6 Ergebnisse

6.1 Vorversuch

6.1.1 Einfluss von Flüssigkeitsdeprivation auf Stresshormone

Eine wesentliche Voraussetzung zur Untersuchung der Frage, ob MDMA einen Einfluss auf die Veränderung der Hormone Corticosteron bzw. β -Endorphin hat, ist es auszuschließen, dass die durchgeführte 23-stündige Flüssigkeitsdeprivation der Tiere, die die vollständige Einnahme der wässrigen MDMA-Lösung sichern soll, *per se* keinen Einfluss auf die Plasmakonzentrationen obiger Stresshormone hat und dies sowohl bezüglich der sogenannten Basalwerte der Hormone, also dem Wert zum Zeitpunkt der Blutabnahme (0 Minuten), als auch den Stresswerten 30 Minuten nach der ersten Abnahme.

Hierzu wurden zwei Gruppen gebildet, eine Kontrollgruppe mit 8 Tieren und eine Deprivationsgruppe ebenfalls mit 8 Tieren. Allen Tieren wurde zum selben Zeitpunkt Blut entnommen. Diese Abnahme wurde nach 30 Minuten wiederholt.

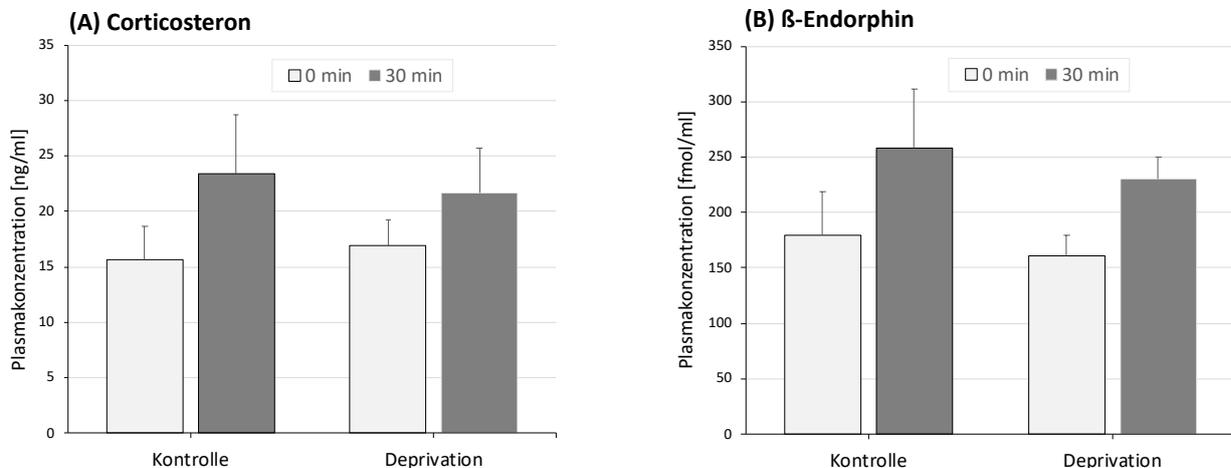


Abb. 6: Effekt von Flüssigkeitsdeprivation auf die Plasmakonzentration von Corticosteron und β -Endorphin
 Vergleich der Plasmakonzentrationen der Stresshormone Corticosteron und β -Endorphin von flüssigkeitsdeprivierten Tieren und nichtdeprivierten Kontrolltieren zum Zeitpunkt 0 (Basalwert) und 30 min nach Basalwertabnahme (Stresswert). **(A)** Corticosteron. **(B)** β -Endorphin. N = 16 (8/8). Daten als Mittelwerte mit Standardfehler. Kein signifikanter Unterschied zwischen den Gruppen ($p > 0,05$; One Way ANOVA).

Abbildung 6 zeigt den Vergleich der Plasmakonzentrationen der Kontrolltiere und der Deprivationsgruppe jeweils für Corticosteron (Abbildung 6A) und β -Endorphin (Abbildung 6B). Zwischen der Kontrollgruppe und der Deprivationsgruppe besteht bezüglich der Plasmakonzentrationen von Corticosteron, sowohl zum Zeitpunkt 0 Minuten (Kontrolle: $15,6 \pm 3,1$ mg/ml; Deprivation: $16,9 \pm 2,4$ mg/ml) und 30 Minuten danach (Kontrolle: $23,3 \pm 5,4$ mg/ml;

Deprivation: $21,7 \pm 4,0$ mg/ml), wie auch bezüglich der Differenz beider Werte, also des Anstiegs der Corticosteronkonzentration, kein signifikanter Unterschied. Ebenso ist für die Konzentration von β -Endorphin kein signifikanter Unterschied zwischen den Kontrolltieren und den Deprivationstieren für den Zeitpunkt 0 Minuten (Kontrolle: $179,9 \pm 38,7$ fmol/ml; Deprivation: $161,5 \pm 18,1$ fmol/ml) und 30 Minuten (Kontrolle: $257,8 \pm 53,1$ fmol/ml; Deprivation: $230,4 \pm 19,4$ fmol/ml) sowie für den Anstieg nachweisbar.

Zusammenfassend kann festgestellt werden, dass die Flüssigkeitsdeprivation hier zu keiner Veränderung in den untersuchten Hormonplasmakonzentrationen führt, weder bezüglich der Basalwerte (0 Minuten) noch der Stresswerte nach 30 Minuten oder der Höhe des Anstiegs zwischen den beiden Zeitpunkten. Dies ist die wesentliche Voraussetzung für die nächsten Versuchsreihen, da somit auftretende Veränderungen in der Plasmakonzentration der untersuchten Hormone nicht auf den etwaigen Stressor einer Flüssigkeitsdeprivation *per se* zurückzuführen sind.

6.2 Hauptversuch

6.2.1 Akuteffekt von MDMA auf die Plasmakonzentrationen von Corticosteron und β -Endorphin

In dieser Versuchsreihe wurde geprüft, inwieweit die Aufnahme von MDMA bezüglich einer Kontrollgruppe, die nur Wasser erhielt, zu einer Veränderung in den Plasmakonzentrationen von Corticosteron und β -Endorphin bei den untersuchten Ratten führt.

Abbildung 7 zeigt die untersuchten Hormonkonzentrationen für Corticosteron (Abbildung 7A) und β -Endorphin (Abbildung 7B).

Die gemessenen Corticosteronkonzentrationen im Plasma der Kontrolltiere unterschieden sich weder zum Zeitpunkt 0 Minuten (Kontrolle: $35,9 \pm 8,8$ ng/ml; Substanz: $45,8 \pm 6,3$ ng/ml) noch zum Zeitpunkt 30 Minuten (Kontrolle: $84,9 \pm 10,6$ ng/ml; Substanz: $99,8 \pm 12,7$ ng/ml) von denen der Tiere, die MDMA bekommen hatten. Auch die Differenz der Corticosteronspiegel zwischen den beiden Messzeitpunkten ergab keinen signifikanten Unterschied zwischen den beiden Versuchsgruppen (Kontrolle: $48,9 \pm 11,3$ ng/ml; Substanz: $54,0 \pm 9,3$ ng/ml).

Innerhalb der Gruppen war der Anstieg der Corticosteronkonzentration von Zeitpunkt 0 Minuten zu Zeitpunkt 30 Minuten sowohl in der Kontrollgruppe ($48,9 \pm 11,3$ ng/ml) als auch in der Substanzgruppe ($54,0 \pm 9,3$ ng/ml) signifikant ($p < 0,001$).

Für die β -Endorphinkonzentrationen fanden sich zum Zeitpunkt 0 Minuten (Kontrolle: $165,0 \pm 20,4$ fmol/ml; Substanz: $127,8 \pm 13,3$ fmol/ml) als auch zum Zeitpunkt 30 Minuten nach Abnahme des Basalwertes (Kontrolle: $237,3 \pm 27,8$ fmol/ml; Substanz: $209,9 \pm 23,8$ fmol/ml), wie auch für den Anstieg im Gruppenvergleich keine signifikanten Unterschiede. Innerhalb einer Gruppe war der Anstieg der β -Endorphinkonzentration von Zeitpunkt 0 Minuten zu Zeitpunkt 30 Minuten sowohl in der Kontrollgruppe ($72,2 \pm 13,6$ fmol/ml) als auch für die Substanzgruppe ($82,1 \pm 15,7$ fmol/ml) signifikant ($p < 0,001$).

Die mittlere aufgenommene MDMA-Dosis lag in der Substanzgruppe bei $2,0 \pm 0,2$ mg/kg Körpergewicht.

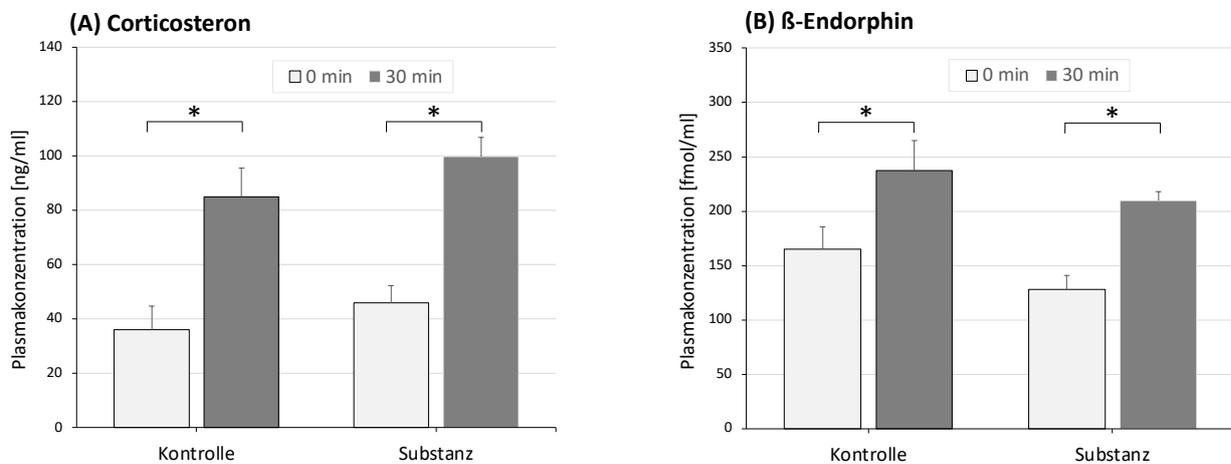


Abb. 7: Effekt von MDMA auf die Plasmakonzentration von Corticosteron und β -Endorphin

Vergleich der Plasmakonzentrationen der Stresshormone Corticosteron und β -Endorphin nach einmaliger Gabe von Wasser (Kontrolle) und MDMA (Substanz). 15 Minuten nach Gabe der Testsubstanz erfolgte die erste Blutabnahme zur Bestimmung des Basalwertes (Zeitpunkt 0), nach weiteren 30 Minuten die zweite Abnahme zur Bestimmung des Stresswertes (Zeitpunkt 30). **(A)** Corticosteron. **(B)** β -Endorphin. N = 42 (16/26). Daten als Mittelwerte mit Standardfehler. Kein signifikanter Unterschied zwischen den Gruppen ($p > 0,05$, ANOVA post hoc Tukey). Signifikanter Anstieg von Corticosteron und β -Endorphin zwischen den beiden Abnahmezeitpunkten innerhalb der beiden Behandlungsgruppen (jeweils $p < 0,001$, mixed ANOVA).

Zusammenfassend zeigte sich:

1. die Durchführung einer Blutentnahme führte zu einem Anstieg der Hormone Corticosteron und β -Endorphin bei allen Tieren im Sinne einer Stressreaktion
2. die einmalige Gabe von MDMA zeigte sowohl für die basalen Corticosteron- und β -Endorphin-Plasmakonzentrationen als auch auf deren Anstiege als Reaktion auf einen externen Stressor (1. Blutabnahme) keine signifikanten Unterschiede zwischen der Kontrollgruppe und der Substanzgruppe

6.2.2 Akuteffekt von MDMA auf das Verhalten im Raum (Open-Field) und das Verhalten im Umgang mit einer Schockelektrode (Shock-Probe-Conflict)

Nach der forcierten Einnahme von Wasser, niedrigkonzentrierter MDMA-Lösung (100 mg/l) bzw. hochkonzentrierter MDMA-Lösung (200 mg/l) erfolgte die Verbringung der insgesamt 48 Tiere in zwei Zyklen à 24 Tiere in die ACTIFRAME®-Rahmenkäfige zur Aufzeichnung von Lokomotion und räumlichem Verhalten.

24 Tiere (Kontrolle N = 8, Substanz N = 16) wurden einem Open-Field-Test unterzogen, die anderen 24 Tiere (Kontrolle N = 8, Substanz N = 16) wurden einem Shock-Probe-Conflict-Test ausgesetzt.

6.2.2.1 Verhalten im Raum (Open-Field)

In diesem ersten Experiment zum Verhalten wurde zunächst untersucht, inwieweit die Höhe der aufgenommenen MDMA-Dosis die Ausnutzung des zur Verfügung stehenden Raumes beeinflusst. Hierzu wurde die Raumnutzung aller Tiere der Substanzgruppe ausgewertet, deren mittlere MDMA-Dosis bei $2,4 \pm 0,2$ mg/kg lag.

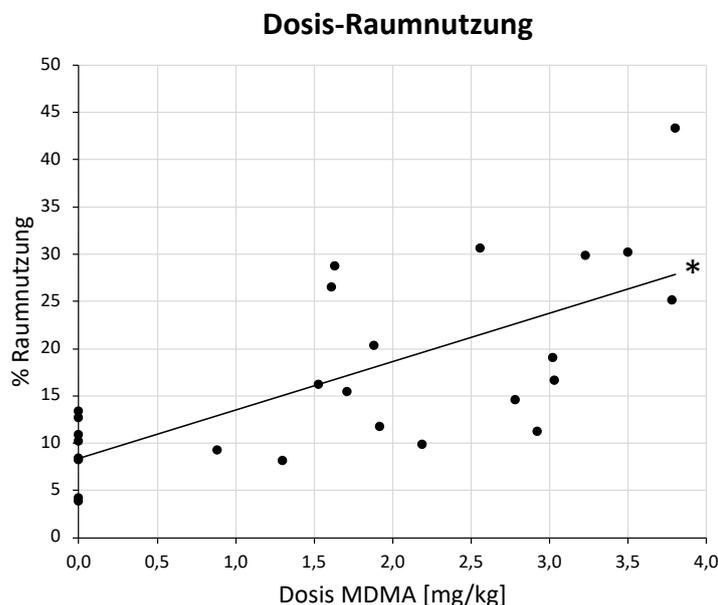


Abb. 8: Dosis MDMA und Ausnutzung des zur Verfügung stehenden Raumes

15 Minuten nach Gabe der Testsubstanz wurde das Tier für 60 Minuten in einen Testkäfig (open field) gesetzt. N = 24. Signifikante Korrelation bezüglich aufgenommener Dosis MDMA und Raumnutzung ($p < 0,001$; Lineare Regressionsanalyse; $R = 0,72$). Je höher die aufgenommene Dosis MDMA, desto mehr wurde der zur Verfügung stehende Raum genutzt.

Abbildung 8 zeigt die Raumnutzung bezogen auf die aufgenommene Dosis als lineare Regressionsanalyse. Mit einem $R = 0,72$ besteht eine signifikante Korrelation bzgl. der Höhe der MDMA-Dosis und der Ausnutzung des Raumes ($p < 0,001$). In anderen Worten: je mehr MDMA

bezogen auf das Rattengewicht aufgenommen wurde, desto mehr wurde vom gesamten zur Verfügung stehenden Raum betreten.

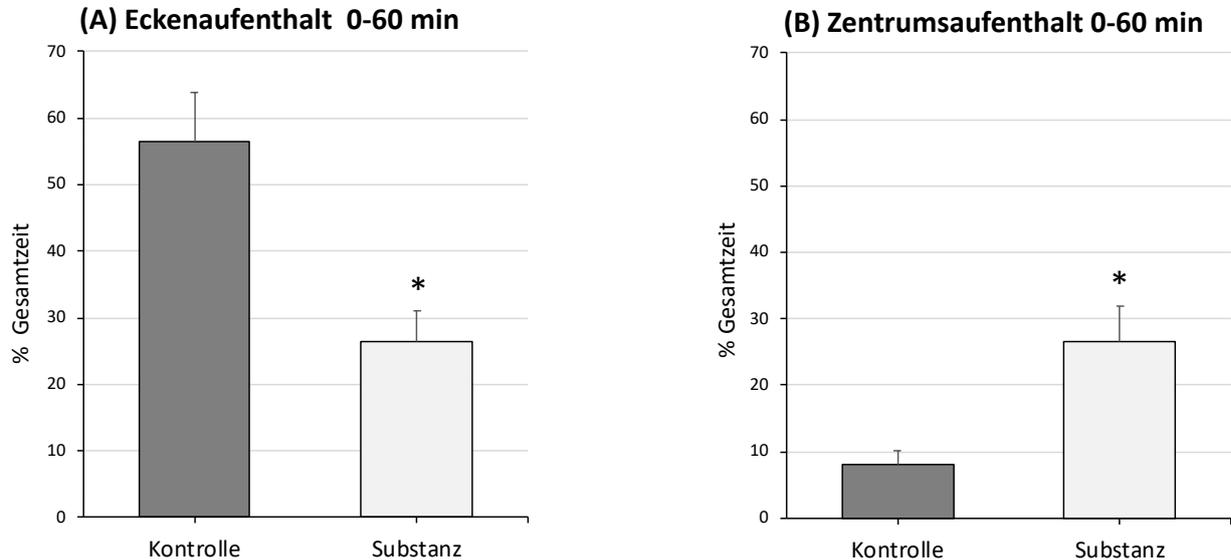


Abb. 9: Effekt von MDMA auf den Aufenthaltsort

Vergleich zwischen Kontrollgruppe (Wasser) und Substanzgruppe (MDMA). N = 24 (8/16). 15 Minuten nach Gabe der Testsubstanz wurde das Tier für 60 Minuten in einen Testkäfig (Open-Field) gesetzt. **(A)** Eckenaufenthalt. **(B)** Zentrumsaufenthalt. Daten als Mittelwert mit Standardfehler. Signifikanter Unterschied zwischen der Kontrollgruppe und der Substanzgruppe bezüglich Eckenaufenthalt (* p = 0,001; t-Test) und Zentrumsaufenthalt (* p = 0,03; t-Test).

Neben der Untersuchung zur gesamten Raumnutzung wurde beobachtet, wie häufig sich die Tiere der jeweiligen Gruppe in den Ecken und im Zentrum des Rahmensystems während der Versuchsdauer von 60 Minuten aufhielten. Abbildung 9 zeigt die Auswertung für den Vergleich der Eckenaufenthalte (Abbildung 9A) sowie der Zentrumsaufenthalte (Abbildung 9B) für die Kontrollgruppe und die Substanzgruppe.

Die Tiere der Kontrollgruppe hielten sich in gut der Hälfte der untersuchten Zeit in den Ecken des Rahmens auf und damit kumulativ mehr als doppelt so viel wie die Tiere der Substanzgruppe, die sich etwa ein Viertel der untersuchten Zeit in den Ecken aufhielten (Kontrolle: 56,4 ± 7,5 %, Substanz: 26,5 ± 4,5 %, p = 0,001; t-Test). Im Zentrum hielten sich die MDMA exponierten Tiere zu ca. ein Viertel der Untersuchungszeit auf und damit mehr als dreimal so häufig wie die Tiere der Kontrollgruppe, die sich weniger als ein Zehntel der Zeit im Zentrum aufhielten (Kontrolle: 8,1 ± 2,0 %; Substanz: 26,5 ± 5,4 %, p = 0,03; t-Test).

Untersucht man das Lokomotionsverhalten der Tiere in den Rahmensystemen anhand der Parameter „Laufzeit“ (Abbildung 10A) und „Ruhezeit“ (Abbildung 10B), verstanden als Anteil dieser Zeiten an der gesamten Untersuchungszeit von 60 Minuten, so zeigt sich, dass die Tiere in der Substanzgruppe im Mittel etwa 1,6-mal häufiger laufen als die Kontrolltiere (Kontrolle: 2,6 ± 0,4 %; Substanz: 4,1 ± 0,4 %, p = 0,02; t-Test).

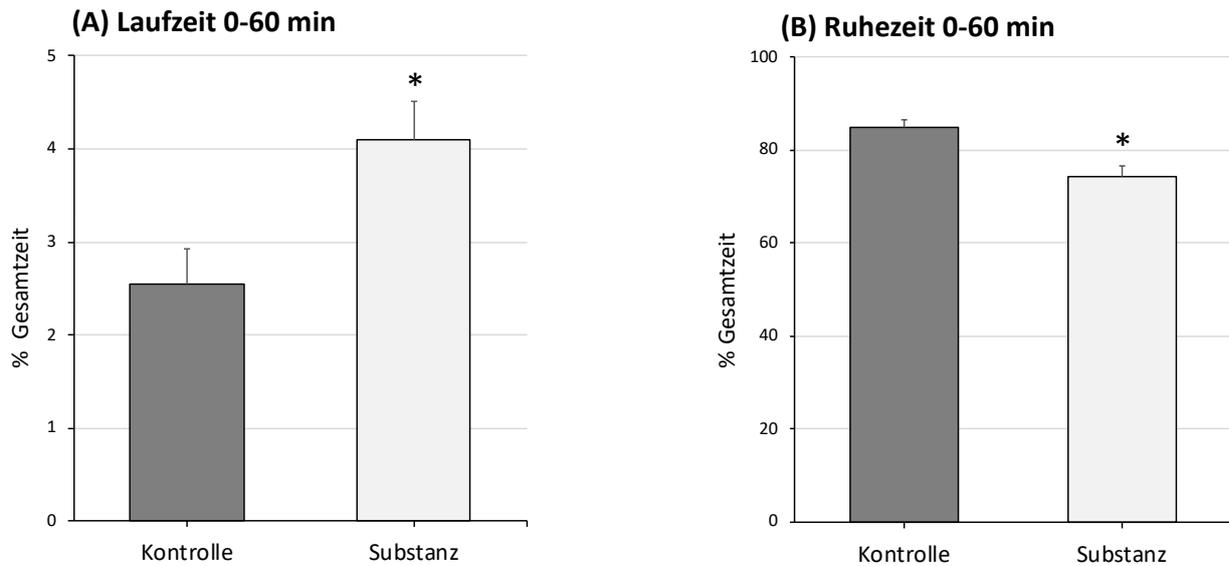


Abb. 10: Effekt von MDMA auf die Lokomotion

Vergleich zwischen Kontrollgruppe (Wasser) und Substanzgruppe (MDMA). N = 24 (8/16). 15 Minuten nach Gabe der Testsubstanz wurde das Tier für 60 Minuten in einen Testkäfig (Open-Field) gesetzt. (A) Laufzeit. (B) Ruhezeit. Daten als Mittelwert mit Standardfehler. Signifikanter Unterschied zwischen Kontrolle und Substanzgruppe bezüglich der Laufzeit (* p = 0,02; t-Test) und der Ruhezeit (* p = 0,006; t-Test).

Hinsichtlich der Ruhezeit war festzustellen, dass die Substanztiere etwa 75 % der Zeit ruhten, während die Tiere der Kontrollgruppe dies ungefähr zu 85 % der Zeit taten und damit relevant mehr ruhten (Kontrolle: $85,1 \pm 1,5$ %; Substanz: $74,3 \pm 2,4$ %, p = 0,006; t-Test).

6.2.2.2 Umgang mit einer Schockelektrode (Shock-Probe-Conflict)

Abbildung 11 zeigt die Übersicht der räumlichen Nutzung des Rahmens mit einer Schockelektrode für die Kontrollgruppe (Abbildung 11A) und die Substanzgruppe (Abbildung 11B). Die Schockelektrode (Blitzsymbol) war in der rechten hinteren Ecke in den Käfig eingebracht. Die Darstellung erfolgt als Konturplot mit einem Cut-Off-Wert von 7,5 % der Gesamtaufenthaltszeit. Die Schraffurstärke drückt die Häufigkeit des Aufenthaltes an einem Ort in Bezug zur gesamten Untersuchungszeit (hier 60 Minuten) in einem Bereich aus. Der Vergleich Kontrolle zu Substanz zeigte für die Tiere der Kontrollgruppe einen deutlich häufigeren Aufenthalt im Sonderbereich, definiert als rechter hinterer Quadrant, in dem die Schockelektrode hing. Während sowohl in der Kontroll- wie in der Substanzgruppe die direkte Umgebung der Schockelektrode nicht betreten wurde, mieden die Tiere der Substanzgruppe den Eintritt in den gesamten Quadranten des Sonderbereiches (Abbildung 11A und 11B).

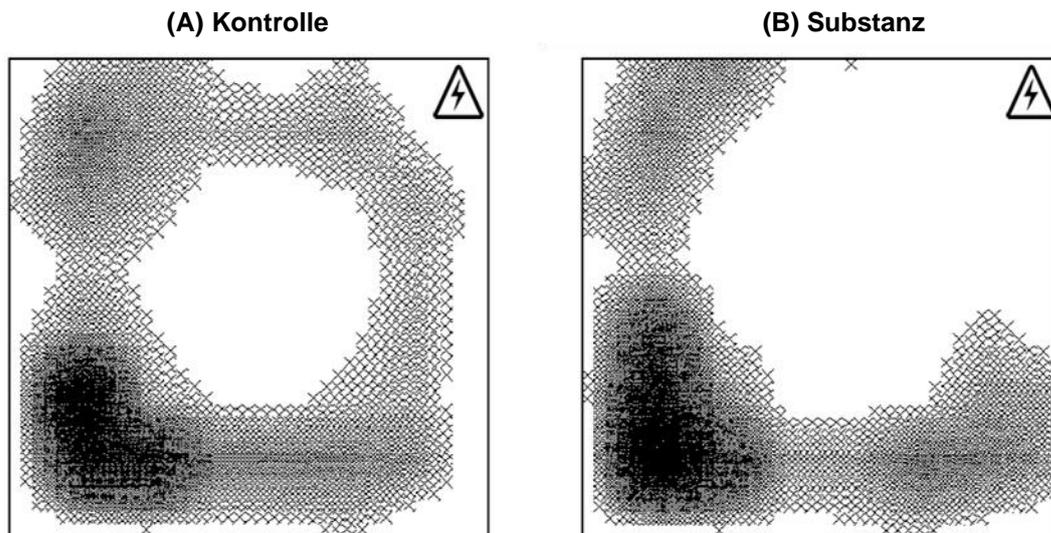


Abb. 11: Effekt von MDMA auf die Raumnutzung in einem Testkäfig mit Shock-Probe

Vergleich der Raumnutzung nach einmaliger Gabe von Wasser (Kontrolle) und MDMA (Substanz). N = 24 (8/16). 15 Minuten nach Gabe der Testsubstanz wurde das Tier für 60 Minuten in den Testkäfig gesetzt, in dessen rechter oberer Ecke sich die Schockelektrode (Blitzsymbol) befand. Konturanalyse: die Schraffurstärke entspricht der Aufenthaltshäufigkeit aller Tiere einer Gruppe im Testkäfig. Cut-off-Wert: 7,5 % der Gesamtaufenthaltszeit. Die Tiere der Substanzgruppe vermieden großräumig den Aufenthalt im Bereich der Schockelektrode.

Abbildung 12 zeigt die statistische Auswertung des Verhaltens der beiden Gruppen im Umgang mit der Schockelektrode. Untersucht wurden hier zum einen der Parameter „Aufenthalt im Schockbereich als Teil der Gesamtkäfigzeit“ (Abbildung 12A) sowie des Parameters „Anzahl der Aufrichtungen im Schockbereich“ (Abbildung 12B) als Ausdruck des explorativen Verhaltens. Wie bereits der Konturplot der Abbildung 11 vermuten lässt, bestätigt sich ein statistisch signifikanter Unterschied des Aufenthaltes im Schockbereich zwischen den Gruppen. Bezüglich der Kontrollgruppe hielten sich die Tiere der Substanzgruppen im Beobachtungszeitraum von 60 Minuten etwa dreimal seltener im Schockbereich auf (Kontrolle: $16,8 \pm 1,5$ %; Substanz: $6,0 \pm 1,0$ %, $p < 0,001$; t-Test), hinsichtlich der Anzahl der Aufrichtungen im Schockbereich gab es keinen signifikanten Unterschied zwischen den Gruppen (Kontrolle: $23,5 \pm 5,5$ Aufrichtungen; Substanz: $17,5 \pm 4,9$ Aufrichtungen, $p = 0,46$; t-Test).

Die mittlere aufgenommene MDMA-Dosis in der Substanzgruppe lag bei $1,6 \pm 0,1$ mg/kg.

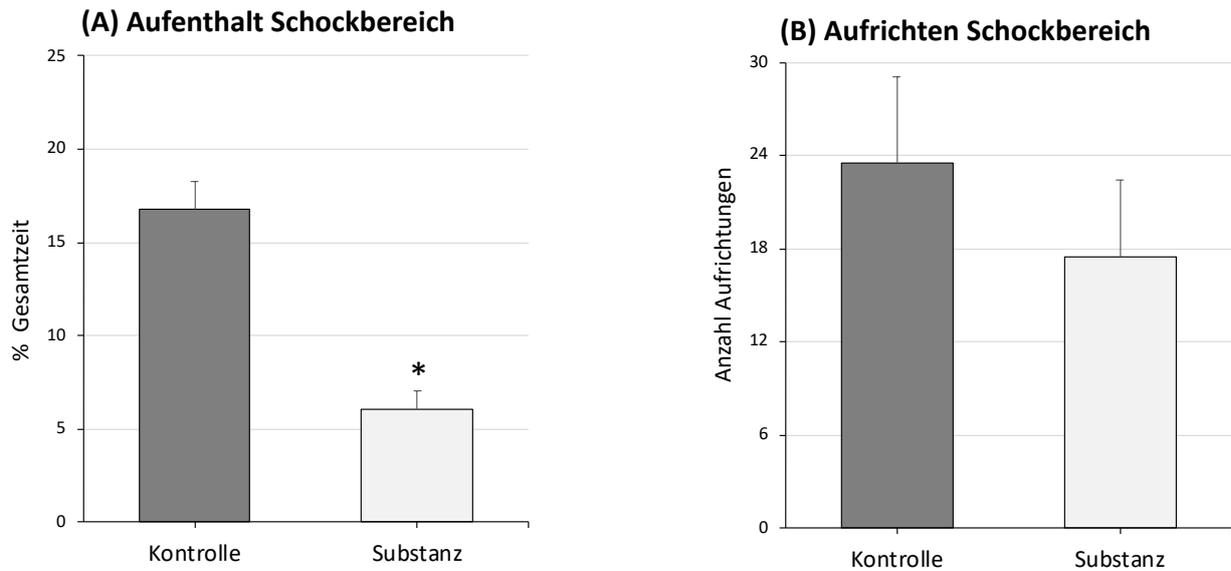


Abb. 12: Effekt von MDMA auf das Verhalten im Schockbereich

Vergleich zwischen Kontrollgruppe (Wasser) und Substanzgruppe (MDMA). N = 24 (8/16). 15 Minuten nach Gabe der Testsubstanz wurde das Tier für 60 Minuten in den Testkäfig mit einer Schockelektrode gesetzt. Als Schockbereich wurde das Käfigviertel definiert, in dem sich die Schockelektrode befand. (A) Aufenthalt im Schockbereich. (B) Aufrichten im Schockbereich. Daten als Mittelwert mit Standardfehler. Signifikanter Unterschied zwischen der Kontrollgruppe und der Substanzgruppe bezüglich „Aufenthalt im Schockbereich“ (* $p < 0,001$; t-Test). Kein signifikanter Unterschied zwischen den Gruppen bezüglich „Aufrichten im Schockbereich“ ($p > 0,05$; t-Test).

7 Diskussion

Im ersten Teil dieser Arbeit wurde untersucht, inwieweit die einmalige, orale Einnahme von MDMA Auswirkungen auf die Plasmakonzentration von Corticosteron und β -Endorphin hat. Untersucht wurden die Basalwerte der Hormone sowie die Stresswerte nach dem Einsatz eines externen Stressors. Als Stressor diente hier die Blutabnahme des Basalwertes.

Als Ergebnisse zeigten sich:

1. MDMA hatte keinen Einfluss auf die basalen Konzentrationen von Corticosteron und β -Endorphin.
2. Die Nutzung einer Blutentnahme als externen Stressor führte zu einem signifikanten Anstieg der Stresshormone Corticosteron und β -Endorphin.
3. MDMA modulierte nicht die durch einen Stressor verursachten Änderungen der Konzentrationen von Corticosteron und β -Endorphin.

Im zweiten Teil der Arbeit wurde der Frage nachgegangen, inwieweit die singuläre orale Einnahme von MDMA einen anxiolytischen bzw. anxiogenen Effekt hat.

Resultate waren hier:

4. Im tierexperimentellen Angstmodell Open-Field zeigte sich hinsichtlich der Thigmotaxis ein anxiolytischer Effekt von MDMA. Des Weiteren zeigten sich deutliche Effekte von MDMA auf die Steigerung der Lokomotion und der Raumausnutzung.
5. Im tierexperimentellen Angstmodell der Shock-Probe-Conflict-Procedure zeigte sich ein anxiogener Effekt von MDMA.

7.1 Diskussion von Dosis und Applikationsweg

Betrachtet man die vorliegende Literatur zu MDMA hinsichtlich der Themenfelder neuroendokrine Untersuchungen und Untersuchung zum Angstempfinden in den tierexperimentellen Arbeiten, so findet sich keine Arbeit, die die Substanz nicht parenteral zugeführt hat. Die wesentlichen Arbeiten zu den neuroendokrinen Effekten basieren auf der intraperitonealen Gabe von MDMA in einem Dosisbereich von 1 x 1 mg/kg bis hin zu 2 x 20 mg/kg für vier Tage^{49,50,104,105}.

Die relevanten Untersuchungen zur anxiolytischen/anxiogenen Wirkung nutzen für die Untersuchungen der akuten Effekte von MDMA nach einmaliger Substanzgabe Dosisbereiche

zwischen 1 x 1 mg/kg bis zu 1 x 20 mg/kg, alle als intraperitoneale Injektionen. Hierzu liegen Arbeiten an Ratten ^{88,89,91,93,106,107} und an Mäusen vor ^{15,90,92,108-110}.

Auch in den Arbeiten, die die chronischen Effekte von MDMA, also die Mehrfachgabe der Substanz u. a. im Hinblick auf das Angstempfinden untersuchten, erfolgte die Applikation von MDMA ausschließlich invasiv-parenteral, mehrheitlich intraperitoneal ^{79-84,111-114}, in drei Arbeiten auch als subkutane Gabe ^{86,87,115}.

Auch wenn die Vorteile der parenteralen Substanzzufuhr evident sind, da diese bezüglich Aufnahmezeitpunkt und garantierter Mengenzufuhr kontrolliert stattfinden, erschien eine invasive Zufuhr für die Fragestellung dieser Arbeit nicht sinnvoll. So wiesen beispielsweise Moldow & Fischmann nach, dass bei Ratten nach intraperitonealer Injektion allein von Kochsalz die Corticosteron-Plasmakonzentration nach 10 und 20 Minuten deutlich anstieg. Ein Effekt, den sie für β -Endorphin im Weiteren nicht beobachten konnten ⁶³. Dies war übereinstimmend mit früheren Untersuchungen von Dallman & Jones, die bei Ratten eine stressinduzierte Corticosteronsekretion u. a. für einen subkutanen „Injektionsstress“ beobachteten ¹¹⁶.

Um in dieser Arbeit eine Beeinflussung der ersten (stressfreien) Hormonbestimmung bzw. eine anxiogene Wirkung durch eine schmerzhaft Substanzinjektion zu vermeiden, wurde als erste Untersuchung dieser Art die orale Selbstverabreichung von MDMA gewählt. Um eine verlässliche Aufnahme der Trinklösung zu erzielen, waren die Tiere kurzzeitig flüssigkeitsdepriviert, was – wie im Vorversuch gezeigt – *a priori* keine Auswirkungen auf die untersuchten Hormonplasmakonzentrationen hatte. Dies entspricht der Arbeit von Heiderstadt et al., die zeigte, dass eine Restriktion auf eine 15 minütige Trinkphase pro 24 Stunden zu keiner Änderung des Verhaltens im Open-Field bzw. zu Veränderungen in den Corticosteronkonzentrationen führt ¹¹⁷. Eine Futterrestriktion erfolgte in dieser Arbeit nicht; hierfür ist bekannt, dass diese anxiolytische Effekte im EPM-Test und der akustischen Schreckreaktion hat ¹¹⁸, sowie das explorative Verhalten im Open-Field-Test fördert ¹¹⁷.

Die im Vorversuch gesammelte Erfahrung der vollständigen oralen Aufnahme der Trinklösung nach Flüssigkeitsdeprivation, die eine zuverlässige Dosierung durch Aufnahme der gesamten dargebotenen Flüssigkeit gewährleisten sollte, konnte während des Hauptversuchs nicht reproduziert werden. Dies führte dazu, dass das ursprüngliche Versuchsdesign mit der Untersuchung von zwei Behandlungsgruppen (MDMA 100 mg/l und MDMA 200 mg/l) und einer Kontrollgruppe aufgegeben werden musste (5.5.2). Somit wurden sämtliche durchgeführten Tests (Blutentnahmen und Verhaltensbeobachtungen) nicht wie ursprünglich geplant mit einer niedrigen und einer hohen MDMA-Dosis durchgeführt, sondern es erfolgte letztlich nur eine Auswertung im Vergleich Substanz versus Kontrolle. Die mittlere MDMA-Dosis lag hierdurch für

die Blutentnahmen bei $2,0 \pm 0,2$ mg/kg. Für die Verhaltensbeobachtungen lagen die mittleren MDMA-Dosen für den Shock-Probe-Conflict-Test bei $1,6 \pm 0,1$ mg/kg und für den Open-Field-Test bei $2,4 \pm 0,2$ mg/kg. Diese Werte entsprechen relativ gut der ursprünglich geplanten Niedrigdosisgruppe und damit der Intention der Arbeit insbesondere MDMA-Wirkungen im niedrig-moderaten Dosisbereich zu detektieren.

Vergleicht man hierzu die aufgeführte Literatur, so findet sich, dass die meisten Arbeiten mit einer intraperitonealen MDMA-Dosis zwischen 8-15 mg/kg durchgeführt wurden. Mehrere Arbeiten verschiedener Arbeitsgruppen zeigten durch Plasmakonzentrationsmessungen, dass mit einer einmaligen intraperitonealen Gabe von 10 mg/kg MDMA bei Ratten eine Plasmaspitzenkonzentration (C_{max}) von 1.000 ng/ml bis > 2.000 ng/ml erreicht werden konnte¹¹⁹⁻¹²². Für die orale und subkutane Verabreichung von 10 mg/kg MDMA ergab sich eine C_{max} von ca. 1.000 ng/ml¹¹⁹.

Postuliert man bei einer üblichen humanen oralen Einmaldosis von 1-2 mg/kg MDMA eine C_{max} von ca. 200-400 ng/ml^{53,121,123,124}, dann arbeiten viele der tierexperimentellen Arbeiten, die sich mit neuroendokrinen und Verhaltenseffekten von MDMA beschäftigen, in einem 3- bis 10-fach zu hohem Dosierungsbereich bezogen auf humanbiologische Daten⁸⁷. Nach Baumann et al. werden humanbiologischen Daten entsprechende Plasmakonzentrationen auch bei der Ratte durch die Gabe von 2 mg/kg MDMA erreicht¹¹⁹. Finnegan et al. konnten für drei Dosen (7,5 mg/kg, 15 mg/kg, 30 mg/kg) postmortal bei Ratten zeigen, dass orale und subkutane Gaben zu vergleichbaren Effekten der zentralnervösen Serotonindepletion führen¹²⁵.

7.2 Akuteffekte von 3,4-Methylen-dioxy-methamphetamin auf die Sekretion von Corticosteron und β -Endorphin mit und ohne externen Stressor

7.2.1 Stressinduzierte Sekretion von Corticosteron und β -Endorphin

Unter Stress versteht man ganz allgemein einen Zustand der Disharmonie, bzw. nach Walter Cannon eine Bedrohung der Homöostase¹²⁶⁻¹²⁹. Schon in der ursprünglichen Definition von Hans Selye in den dreißiger Jahren des 20. Jahrhunderts wurde unter einem Stressor jeder Stimulus verstanden, der in der Lage ist, die Homöostase zu beeinflussen¹³⁰.

Das primäre neuroendokrine System der humanen Stressantwort ist die Hypothalamus-Hypophysen-Nebennierenrinden-Achse (HHN-Achse) mit der Sekretion von Corticotropin-Releasing-Hormon (CRH) aus den paraventriculären Kernen des Hypothalamus und der konsekutiven Freisetzung von ACTH aus dem Hypophysenvorderlappen und Cortisol aus der

Zona fasciculata der Nebennierenrinde. Während Cortisol das primäre endogene Glucocorticoid der Nebenniere des Menschen und auch der meisten Säugetiere ist, stellt Corticosteron das relevante Glucocorticoid von Ratten und Mäusen dar ¹³¹⁻¹³³. Wie viele andere Nagetiere sind auch diese beiden Spezies aufgrund des Fehlens des Enzyms 17-Hydroxylase in der Zona fasciculata der Nebenniere nicht in der Lage, relevante Mengen von Cortisol zu produzieren ^{133,134}. Nach Exposition gegenüber einem Stressor ist üblicherweise nach 5-10 Minuten eine ACTH-Freisetzung und nach 10-20 Minuten eine maximale Erhöhung der Corticosteron-Plasmakonzentrationen zu beobachten ⁶⁴.

Die Aktivierung der HHN-Achse durch Freisetzung von CRH und die Bindung an seinen Rezeptor im Hypophysenvorderlappen führt zur Synthese von Proopiomelanocortin (POMC). Aus diesem Präkursor werden neben ACTH über zehn weitere Peptide wie auch β -Endorphin abgespalten. Diese Freisetzung von β -Endorphin aus POMC findet neben der Adenohypophyse auch in hypothalamischen Kerngebieten statt ^{126,127,135-137}.

Exemplarisch sei hier auf die Arbeiten von Young & Akil verwiesen, die eine Freisetzung von ACTH und β -Endorphin bei Ratten, die einem akuten und chronischen Stressor durch Zufuhr von elektrischen Fußschocks ausgesetzt waren, bereits Ende des letzten Jahrhunderts nachgewiesen haben ^{138,139}.

Sowohl β -Endorphin als auch Cortisol/Corticosteron supprimiert die CRH/ACTH-Sekretion im Sinne eines negativen Feed-Back-Regelkreises, was zur Dämpfung der Stressantwort führt ^{135,140-143}.

Neben der neuroendokrinen Achse existiert bei allen Wirbeltieren auch die Sympathiko-Medullo-Adrenale-Achse, die durch Stress aktiviert zu einer gesteigerten Ausschüttung von Katecholaminen (Adrenalin und Noradrenalin) führt ¹²⁶, was jedoch in der vorliegenden Arbeit nicht untersucht wurde.

7.2.2 Ausschüttung von Corticosteron und β -Endorphin durch 3,4-Methylen-dioxy-meth-amphetamin

Neben der Aktivierung der neuroendokrinen HHN-Achse durch Stress ist diese auch für mehrere addiktive Substanzen mit heterogenen Wirkmechanismen wie Amphetamine, Kokain, Alkohol, Opiate etc. bekannt ^{64,126}. Ebenfalls sind für therapeutisch regelhaft eingesetzte Substanzen wie z. B. Benzodiazepine und trizyklische Antidepressiva, wie auch atypische Antidepressiva Aktivierungen der HHN-Achse beschrieben ¹⁴⁴⁻¹⁴⁷.

Für MDMA ist die Aktivierung der HHN-Achse, gemessen an der Sekretion von ACTH oder Cortisol bzw. Corticosteron, seit langem sowohl für den Menschen als auch für Labornagetiere gut beschrieben. In einer Metaanalyse von Dumont & Verkes wurden in 11 von 12 plazebo-kontrollierten humanbiologischen Studien erhöhte Cortisolwerte nach oraler Einnahme von MDMA (75-150 mg) detektiert; die einzige Studie ohne nachweisbaren Effekt untersuchte eine sehr niedrige MDMA-Dosierung von 0,5 mg/kg¹³.

Exemplarisch zeigten Nash et al. bei Ratten für die intraperitoneale Gabe von MDMA in fünf Dosierungsschritten von 1-20 mg/kg ab 3 mg/kg einen dosisabhängigen Anstieg der Plasmakonzentration für Corticosteron mit einem Maximum nach einer Stunde *post injectionem*. In derselben Arbeit konnte auch nachgewiesen werden, dass Antagonisten am 5-HT₂-Rezeptor (Ketanserin und Mianserin) sowie der Serotonin-Reuptake-Inhibitor Fluoxetin zu einer signifikanten Inhibition der MDMA vermittelten Corticosteronsekretion führt⁴⁹.

Dies lässt eine serotoninvermittelte Aktivierung der HHN-Achse durch MDMA vermuten, was gut zu Untersuchungen passt, die (neben einer cholinergen) auch eine serotonerge Stimulation der CRH-freisetzenden Neurone fanden^{141,148}.

Bereits 1982 postulierten Bruni, Hawkins & Yen: „[...] 5-HT is a potent stimulator of both β -EP [β -Endorphin] and ACTH release and the increase in plasma concentrations of ACTH and β -EP induced by stress are probably mediated, at least in part, by central serotonergic mechanisms.“¹⁴⁹.

Dies wurde bestätigt durch Untersuchungen an Probanden, in denen die Gabe von 5-HT_{1A}-Agonisten (Buspiron und Gepiron) zu einem signifikanten Anstieg von ACTH, Cortisol und auch β -Endorphin führten^{150,151}. Auch bei Ratten führte die Gabe von unselektiven 5-HT-Agonisten wie auch selektiven 5-HT_{1A}-Agonisten dosisabhängig zur Freisetzung von Corticosteron und β -Endorphin^{66,152}.

Wenngleich mehrere Arbeiten mit Labornagern darlegten, dass die akute MDMA-Verabreichung innerhalb von 20-30 Minuten zu einer signifikanten dosisabhängigen Corticosteronsekretion führte, die 4-6 Stunden anhielt^{49,50,105}, so findet sich in der Literatur keine Arbeit, die eine MDMA induzierte β -Endorphin-Sekretion zum Gegenstand hat.

Nur aus obigen theoretischen Überlegungen heraus ist eine simultane Ausschüttung von β -Endorphin nach MDMA-Applikation anzunehmen. Dies war einer der zu untersuchenden Parameter der vorliegenden Arbeit.

7.2.3 Diskussion der Ergebnisse

In der vorliegenden Arbeit konnte nach einmaliger oraler Verabreichung einer mittleren Dosis MDMA von 2 mg/kg (0,9-3,9 mg/kg) keine Auswirkung auf die Sekretion von Corticosteron und β -Endorphin im Vergleich zu einer Wasserkontrollgruppe nachgewiesen werden. Dies betrifft sowohl die basalen Hormonkonzentrationen als auch die nach einem Stressor gemessenen Hormonkonzentrationen.

Gut gezeigt werden konnte dagegen, dass grundsätzlich ein Stressor (hier durch die Blutabnahme) zu einem signifikanten Anstieg von Corticosteron als auch β -Endorphin führte. In dieser Untersuchung kommt es im Mittel etwa zu einem 140-prozentigen bzw. 117-prozentigen Anstieg von Corticosteron in der Kontroll- bzw. Substanzgruppe. Für β -Endorphin liegt die Zunahme bei etwa 110 % für die Kontrollgruppe und bei 64 % für die Substanzgruppe (Abbildung 7). Dieses Ergebnis ist in guter Übereinstimmung mit anderen Untersuchungen, die eine Aktivierung der HHN-Achse durch schmerzhafte Stimuli (z. B. Fußschocks) beschrieben haben^{138,139,153}. Dies wurde auch in rezenten Untersuchungen bestätigt¹⁵⁴⁻¹⁵⁶.

Warum letztlich MDMA keinen Effekt auf die Sekretion von Corticosteron und β -Endorphin in dieser Arbeit zeigt, obwohl in der tierexperimentellen Literatur zumindest für die Glucocorticoidsekretion eine deutliche Wirkung nachgewiesen ist^{49,50,105}, bleibt Mutmaßungen überlassen:

Möglich wäre, dass letztlich die applizierten Dosen von MDMA nicht wirksam waren. Zum einen wäre es möglich, dass die Dosis zu niedrig war: wie unter 5.1 dargelegt, lagen in fast allen publizierten Arbeiten die applizierten MDMA-Gaben bei 10 mg/kg (intraperitoneal), auch wenn in der Arbeit von Nash et al. ein Corticosteronanstieg bereits ab einem Schwellenwert von 3 mg/kg (intraperitoneal) beschrieben ist⁴⁹. Auch wäre denkbar, dass die orale Gabe von 2 mg/kg im Mittel letztlich keine relevanten Wirkkonzentrationen der Substanz hinsichtlich der neuroendokrinen (wohl aber bzgl. der Verhaltens-) Effekte aufbaut. So zeigt die Arbeit von Baumann et al., dass nach oraler Gabe von 2 mg/kg MDMA bei Ratten eine gegenüber der subkutanen Gabe deutlich niedrigere Spitzenplasmakonzentration gemessen wurde und die Plasma-Halbwertszeit nur bei 45 Minuten lag (gegenüber 7-9 Stunden bei Menschen)¹¹⁹. Es wäre denkbar, dass zumindest bei der zweiten Blutabnahme, die mindestens 60 Minuten nach dem Beginn des Substanzangebots erfolgte, keine ausreichenden Wirkkonzentrationen (mehr) vorhanden waren. Dies würde dann bedeuten, dass das Fehlen der untersuchten und postulierten stressmodulierenden Wirkung von MDMA mit der gänzlich fehlenden Substanzwirkung verwechselt wird. Ob die initial geplante Hochdosisgruppe einen Effekt gezeigt hätte, muss spekulativ bleiben. Retrospektiv bleibt

kritisch festzuhalten, dass eine Messung der MDMA-Plasmakonzentration zeitgleich mit den Hormonbestimmungen hier viele Unklarheiten beseitigt hätte. Einen parenteralen zugunsten des oralen Applikationsweg zu wählen, hätte aber aus den bereits oben ausführlich diskutierten Gründen die zu untersuchenden Parameter zu stark beeinflusst. Mit all diesen Limitationen bleibt als Ergebnis dennoch festzuhalten, dass in dieser Untersuchung eine Wirkung von MDMA auf die Sekretion von Corticosteron und β -Endorphin nicht feststellbar war.

7.3 Akuteffekte von 3,4-Methylenedioxyamphetamin auf das Angstempfinden

7.3.1 Tiermodelle der Angst

Seit den 60er-Jahren des 20. Jahrhunderts wurden unzählige Tiermodelle der Angst in der Forschung genutzt. Viele dieser über 30 Modelle beruhen darauf, das Verhalten der Tiere gegenüber einem schmerzhaften bzw. stressenden Stimulus mit und ohne Wirkung der zu untersuchenden Substanz zu beobachten¹⁵⁷. Damals stellte die Gruppe der Benzodiazepine die einzig zugelassenen anxiolytischen Medikamente, so dass die ersten Modelle bezüglich ihrer Sensitivität gegenüber der anxiolytischen Wirkung von Benzodiazepinen validiert wurden^{158,159}. Die Testmodelle der Angst, die üblicherweise bei Labornagern zum Einsatz kommen, untersuchen das Angstverhalten der Tiere, in dem diese in eine Konfliktsituation gebracht werden. Fast immer besteht dieser Konflikt zwischen dem den Tieren angeborenen Verhalten (z. B. Explorationsdrang, Futteraufnahme) und dem Wunsch einen aversiven Reiz zu vermeiden. Das Tier wird einem akuten Stressor ausgesetzt und das dadurch beeinflusste Verhalten wird im Hinblick auf das Verhältnis von Exploration und Vermeidung gewertet^{108,160}.

Hierfür werden zwei unterschiedliche, verhaltensbiologische Modellgruppen eingesetzt^{85,157,159,161}, für deren Tests detaillierte Protokolle beschrieben sind¹⁶²:

- Klassische ethologische Modelle (unkonditionierte Tests): diese untersuchen mehrheitlich den Konflikt zwischen der natürlichen Neugierde der Tiere den nichtbekannten neuen Raum zu erforschen (Explorationsdrang) und der Aversion offene oder helle Bereiche zu betreten. Typische Testsysteme hierfür sind der in der ursprünglichen Form von Hall bereits 1934 beschriebene Open-Field-Test, der Elevated-Plus-Maze-Test^{153,163}, die Light/Dark-Box^{164,165} sowie der soziale Interaktionstest^{166,167}. Auch eine Exposition gegenüber Fressfeinden bzw. deren Gerüchen gehört zu diesen Testsystemen¹⁶⁰.

- Konditionierte Tests: hierzu gehören die Tests mit klassischer Konditionierung, in denen ein angeborenes Verhalten durch einen (aversiven) Reiz konditioniert wird (z. B. bestrafte Lokomotion, konditionierte Ultraschall-Vokalisation, angstpotenziertes Erschrecken). Konditionierte operante Konflikttests nutzen positives Reinforcement (Belohnung) oder häufiger negatives Reinforcement (Bestrafung) wie beispielsweise im Geller-Seifter-Test und im Vogel-Conflict-Test ^{160,168,169}.

Obige Tests sind pharmakologisch meist an Benzodiazepinen, aber auch an Serotoninagonisten, wie z. B. Buspiron, einem 5-HT_{1A}-Agonisten, validiert ^{157,159,160,170,171}. Zur Beurteilung der Testgüte ist jedoch zu berücksichtigen, dass die alleinige pharmakologische Validierung eines Tests diesen nicht zu einem generellen Angstmodell erhebt und kein einziges gebräuchliches tierexperimentelles Angstmodell anxiolytisch wirksame Substanzen identifiziert ohne einige falsch positive oder falsch negative Ergebnisse zu erheben ^{85,172}.

In Kenntnis dieser methodischen Limitationen wurde in vorliegender Arbeit zur Untersuchung der anxiolytischen/anxiogenen Wirkung von MDMA je ein Testmodell aus dem Bereich der unkonditionierten und der konditionierten Konflikt-Modelle gewählt.

Als unkonditioniertes Testmodell für Angst wurde das Open-Field-Modell gewählt, ursprünglich ein Test, der v. a. nicht erlerntes Verhalten untersucht und auf der angeborenen Angst von Nagern vor offenen Flächen gepaart mit einer Neophobie beruht ^{85,160,164}. Dieses Modell ist durch die Verwendung der ACTIFRAME®-Rahmen technisch zuverlässig und ein gut untersuchtes Angstmodell bei Nagetieren, das zudem als sensitiv bezüglich der anxiolytischen Effekte von Benzodiazepinen und Serotoninrezeptoragonisten insbesondere am 5-HT_{1A}-Rezeptor gilt ¹⁷³.

Thigmotaxis, als Bestreben des Nagetier-Wildtyps offene Flächen zu vermeiden und sich hauptsächlich in der Nähe von Wänden aufzuhalten ^{174,175}, ist sowohl für Ratten als auch für Mäuse ein seit über 40 Jahren etabliertes Angstmodell, wobei eine Abschwächung der Thigmotaxis einem anxiolytischen, eine Verstärkung einem anxiogenen Substanzeffekt gleichgesetzt wird ¹⁰⁰. Als zu untersuchende Parameter für Thigmotaxis wurde der Aufenthalt in den geschützten Ecken bzw. der Aufenthalt im Zentrum untersucht. In mehreren Arbeiten an Mäusen und Ratten wurden diese Parameter als gut geeignet zur Untersuchung von substanzinduzierter Anxiolyse bewertet ^{99,100,164,176}. Anxiogen wirkende Substanzen führen zu einer Zunahme der Verweildauer in den peripheren Arealen und zu einer Abnahme der Verweildauer im Zentrum der Testumgebung ^{177,178}. Wichtig für Untersuchungen im Open-Field ist, dass die Anordnung dem Tier unbekannt sein muss, da sich die substanzinduzierte Verhaltensweise des Tieres bei einer Wiederholung qualitativ ändert ¹⁷⁹; ähnliches gilt für äußere Bedingungen wie beispielsweise die Beleuchtung ¹⁸⁰.

Als Konflikttest wurde die Shock-Probe-Conflict-Procedure eingesetzt. In diesem von Meert & Colpaert 1986 eingeführten und gegen verschiedene, insbesondere auch in das Serotoninsystem eingreifende Substanzen validierte Modell wird das Tier einem typischen Konflikt zwischen Exploration der Elektrode und Vermeiden des elektrischen Schocks ausgesetzt ¹⁰¹. Beobachtet wird das räumliche Verhalten, insbesondere in Bezug auf die Elektrode ^{102,181}. Im Vergleich zu anderen Tests, die als aversiven Reiz eine Schockelektrode einsetzen, bietet er u. a. Vorteile hinsichtlich des Fehlens der Notwendigkeit einer Futterdeprivation und einer Schockschwellenwertbestimmung; er benötigt nur eine Testung und vermeidet dadurch Gedächtnis-Interaktionsprobleme, die bei sukzessiven Testungen auftreten können ^{102,181}.

7.3.2 Anxiogene/anxiolytische Wirkung von 3,4-Methylenedioxyamphetamin

Nach ersten Arbeiten in den 1960er und 1970er Jahren ¹⁸²⁻¹⁸⁴ steht spätestens seit der Formulierung der sogenannten klassischen Hypothese von Iversen (1984) das serotonerge neuronale System im Fokus der Angstforschung. Nach dieser führt eine serotonerge Inhibierung zu Anxiolyse, eine Aktivierung zur Anxiogenese ¹⁸⁵. So ist es nachvollziehbar, dass auch MDMA als vornehmlich Serotonin liberalisierende Substanz hinsichtlich der Wirkung auf das Angstempfinden in humanbiologischen wie tierexperimentellen Arbeiten in den folgenden Jahrzehnten untersucht wurde ⁴³. Da die Psychotherapie des endenden 20. Jahrhunderts ein großes Interesse an der angstmodulierenden Wirkung von MDMA hatte, gibt es hierzu eine Vielzahl von Untersuchungen an Probanden. Diese Untersuchungen werden gerade in jüngster Zeit wieder aktuell, in der MDMA als Therapieoption bei der Behandlung des posttraumatischen Schmerzsyndroms Gegenstand wissenschaftlicher Untersuchung ist ¹⁸⁶. So hat die US Food and Drug Administration 2017 zwei multizentrische, randomisierte, kontrollierte Phase III Studien (MAPP1, MAPP2; www.ClinicalTrials.gov identifiers NCT04077437, NCT03537014) zu diesem Thema zugelassen, deren Abschlüsse für 2021 erwartet werden ^{187,188}.

In einer Übersichtsarbeit von Dumont & Verkes ¹³ finden sich entsprechend 36 plazebo-kontrollierte Arbeiten, in denen u. a. die angstmodulierende Wirkung von MDMA anhand verschiedener psychologischer Testsysteme bei gesunden Probanden untersucht wurde. Der untersuchte Dosisbereich lag bei 0,5-2,1 mg/kg oral eingenommenem MDMA. In der Mehrheit der Arbeiten wurde eine anxiogene Wirkung festgestellt. Je nach verwandtem Test wurde ein mehr oder weniger stark ausgeprägter anxiogener Effekt nachgewiesen, eine anxiolytische Wirkung wurde in keiner Arbeit detektiert. Alle Testsysteme basieren auf subjektiver Skalierung des Angstempfindens anhand von Fragebögen. Zur Anwendung kamen ARCI LSD ^{72,73,75-77}, EWL Anxiety & Apprehension Anxiety ^{36,37,78,96,189}, State-Trait Inventory ^{37,78}, POMS Anxiety ^{72,73,75,190},

OAV Anxious Ego Dissolution ^{36,37,78,96,189,191}, AS Nervous ⁷⁵, VAS Anxious ^{72,73} und SDEQ Tension ^{13,67}.

Betrachtet man die tierexperimentelle Literatur, finden sich fast 30 kontrollierte Arbeiten, die MDMA in Angstmodellen vornehmlich bei Ratten aber auch bei Mäusen untersuchten. Fast die Hälfte dieser Arbeiten untersuchte die mehrmalige bzw. chronische Gabe von MDMA, häufig als Cross-over-Untersuchungen mit anderen Substanzen (Ethanol, Kokain, d-Amphetamin, Heroin). Allen Testtieren wurde MDMA parenteral appliziert, die kumulative Dosis lag zwischen 8, 75 ¹¹² und 100 mg/kg ¹¹³, die maximale Verabreichungsdauer lag zwischen einem ¹¹⁴ und zehn Tagen ¹¹³. Die verwendeten Angstmodelle waren EPM, Open-Field, Light/Dark-Box, Emergence und Soziale Interaktion. Die Ergebnisse waren widersprüchlich: während einige Arbeiten einen anxiolytischen Effekt nach mehrmaliger Gabe von MDMA im EPM-Modell ^{86,87,112} bzw. Open-Field-Modell ⁸⁶ nachweisen konnten, zeigte die Mehrheit der Arbeiten einen anxiogenen Effekt im EPM-Modell ^{62,79,81,84,112}, in der Langzeitbeobachtung im Emergence-Modell ^{82,83}, im Sozialen Interaktionstest ^{80,82,83} sowie in der Light/Dark-Box ^{111,113}. An Untersuchungen bei Mäusen in der Light/Dark-Box und der Sozialen Interaktion fanden sich keine angstmodulierenden Wirkungen ¹¹⁴. Interessant ist insbesondere die Arbeit von Karimi et al., die verschiedene Dosisbereiche über ein 7-Tage-Intervall untersuchte und in einem Dosisbereich von 1,25 mg/kg/d und 2,5 mg/kg/d eine anxiolytische Wirkung, für 5 mg/kg/d und 10 mg/kg/d dagegen eine anxiogene Wirkung im EPM zeigte ¹¹². Ähnliches zeigte die Veröffentlichung von Cox et al., die MDMA für die Dauer von vier Tagen verabreichten und nur im hohen (1 x 10 mg/kg/d) und nicht im niedrigen Dosisbereich (1 x 5 mg/kg/d) einen anxiogenen Effekt im Open-Field und der Dark/Light-Box nachweisen konnten.

Die Arbeiten, die sich mit der akuten Wirkung von MDMA auf das Angstempfinden beschäftigen, sind ähnlich divergent: die meisten Arbeiten untersuchten die anxiogene/anxiolytische Potenz von MDMA im EPM-Modell und im Open-Field-Modell ^{88-93,108}. Als weitere Testsysteme kamen v.a. Soziale Interaktionstests ^{15,88,106,107,110} seltener das Emergence-, HoleBoard-, Light-/Dark-Box- und Predator-Geruchs-Exposition-Modell zum Einsatz ^{93,107-109}. Zur Anwendung kamen meist mehrere aufsteigende Dosierungen von MDMA typischerweise 1 mg/kg, 8 mg/kg und 15 mg/kg, wobei die Untersuchung von Ferraz de Paula et al. sogar Dosierungen von minimal 0,2 mg/kg (bis 20 mg/kg) einsetzte ¹⁰⁸. Während sich in fast allen Arbeiten bis zu einem Dosisbereich von 8 mg/kg eine anxiogene Wirkung in den Angstmodellen zeigte, gab es Untersuchungen ⁸⁹⁻⁹², die für einen hohen Dosisbereich von > 8mg/kg (bis zu 20 mg/kg) anxiolytische Effekte detektierten.

Zusammenfassend muss man daher feststellen, dass die Effekte von MDMA bei chronischer wie auch akuter Wirkung bei Labortieren weiterhin widersprüchlich sind.

Eine Erklärung hierfür mag sein, dass in verschiedenen Angstmodellen bei unterschiedlichen Dosen getestet wurde⁹⁰. Allerdings fanden beispielsweise Morley & McGregor im Sozialen Interaktionstest bei Ratten einen anxiolytischen Effekt von MDMA, während Bhattacharya et al. im gleichen Testmodell bei gleicher Dosis dagegen über eine anxiogene Wirkung berichteten^{88,93}. Die Untersuchung von Green & McGregor gibt Hinweise darauf, dass möglicherweise das basale Angstlevel des untersuchten Stamms bzw. die untersuchte Spezies zu den beobachteten unterschiedlichen Resultaten führte¹⁹². So scheinen Mäuse im Allgemeinen weniger empfänglich für die Wirkung von MDMA im Vergleich zu Ratten zu sein¹⁵. Ludwig et al. konnten in ihrer Arbeit an Ratten sogar Unterschiede in Abhängigkeit vom basalen Angstlevel der Einzeltiere, also einer Abhängigkeit von der angeborenen Ängstlichkeit nachweisen⁸⁶.

Morley et al. sehen in der Widersprüchlichkeit der Ergebnisse dagegen gar eine „duale Wirkung von MDMA“ auf das Angstempfinden und diskriminieren für Ratten in Tiermodellen der generalisierten Angst einen anxiogenen Effekt für den Dosisbereich von 2,5-10 mg/kg MDMA und einen milden anxiolytischen Effekt bei 20 mg/kg MDMA¹⁰⁷.

Andere Autoren sehen die dosisabhängige, gegensätzliche Wirkung von MDMA auf das Angstempfinden als Beleg dafür, dass verschiedene pharmakologische Mechanismen, die noch nicht völlig geklärt sind, den anxiogenen/anxiolytischen Effekten zugrunde liegen¹⁹³.

7.3.3 Diskussion der Ergebnisse

In der vorliegenden Arbeit konnte nach einmaliger oraler Verabreichung von MDMA mit einer mittleren Dosis von 2,4 mg/kg (0,9-3,8 mg/kg) im thigmotaktischen Verhalten im Open-Field-Modell eine anxiolytische Wirkung festgestellt werden.

Als Messparameter zur Untersuchung der Thigmotaxis in vorliegender Arbeit wurde der Aufenthalt in den Ecken (geschützter Bereich) und im Zentrum (offene Fläche) bestimmt (Abbildung 9).

Die im Vergleich zu den Kontrolltieren geringere Aufenthaltszeit in den Ecken ($26,5 \pm 4,5$ % *versus* $56,4 \pm 7,5$ % Gesamtzeit) und erhöhte Aufenthaltszeit im Zentrum ($26,5 \pm 5,4$ % *versus* $8,1 \pm 2,0$ % Gesamtzeit) entsprechen einer abgeschwächten Thigmotaxis bei den Substanztieren und damit einer MDMA induzierten anxiolytischen Wirkung.

Vergleicht man diese Ergebnisse mit anderen Arbeiten in der Literatur, die im Open-Field-Modell MDMA bezüglich der Wirkung auf die Thigmotaxis (Ecken-/Zentrumsaufenthalt) untersucht haben, findet sich in der Arbeit von Morley et al. nach einmaliger intraperitonealer Gabe von 5 mg/kg MDMA ein Thigmotaxis verstärkendes Verhalten¹⁰⁷. Ferraz de Paula et al. zeigten ebenso für Mäuse nach Einmalgabe von 5-20 mg/kg MDMA eine dosisabhängige Zunahme der Thigmotaxis im Open-Field-Modell; für 0,2 mg/kg und 1 mg/kg konnte dagegen kein Unterschied im Peripherie-/Zentrumsaufenthalt nachgewiesen werden¹⁰⁸. Dagegen findet sich in Arbeiten, die die Untersuchung der Effekte von MDMA nach wiederholter Gabe zum Inhalt haben, eine weniger ausgeprägte Thigmotaxis. So zeigten Kolyaduke et al. für junge Ratten, dass sich diese unter MDMA-Wirkung seltener in den Ecken des Modells aufhalten als die Kontrolltiere¹¹³. Die Arbeitsgruppe um Ludwig dagegen zeigte bereits für die erste (von fünf) MDMA-Injektionen (5 mg/kg) eine deutlich Aktivitätssteigerung der Ratten im Zentrum im Sinne einer Inhibition der Thigmotaxis⁸⁶. Cox et al. wiederum fanden in ihren Untersuchungen nur für eine Hochdosisgruppe, die täglich 10 mg/kg MDMA über vier Tage erhielt, eine Verstärkung des thigmotaktischen Verhaltens im Open-Field. Die Dosisgruppe, der täglich 5 mg/kg für vier Tage injiziert wurde, zeigte keinen Unterschied bezüglich des Zentrumsaufenthalts zu Kontrolltieren.

Zur Interpretation des thigmotaktischen Verhaltens ist eine Betrachtung des Lokomotionsverhaltens der Tiere in Abhängigkeit von der Behandlung unabdingbar. Hierzu wurden die Gruppen bezüglich der Laufzeiten und der Ruhezeiten im Open-Field-Modell verglichen. Es zeigte sich für die Substanzgruppe eine um den Faktor 1,6 gesteigerte lokomotorische Aktivierung (Laufzeiten) und eine um 10 % kürzere Ruhezeit (Abbildung 10). Diese Resultate entsprechen den meisten tierexperimentellen Open-Field-Untersuchungen, die nach einmaliger Injektion von MDMA eine dosisabhängige Steigerung der lokomotorischen Aktivität bei Ratten nachweisen^{34,35,41,108,194-200}.

Darüber hinaus zeigt diese Arbeit einen deutlichen, linear von der MDMA-Dosis abhängigen Effekt auf die Ausnutzung des zur Verfügung stehenden Raumes (Abbildung 8). Auch wenn vergleichbare Arbeiten hierzu fehlen, könnte dies mit einer anxiolytischen Wirkung der Substanz im Sinne eines ungehemmten Explorationsverhaltens und/oder einer Entkoppelung von der Thigmotaxis in Verbindung gebracht werden⁴⁷. Allerdings bemerken manche Autoren kritisch, dass eine Stimulanzien bzw. MDMA induzierte Hyperlokomotion im Open-Field-Test fälschlicherweise mit einem explorativen Aufenthalt verwechselt werden kann^{85,108,167}. Dies mag in der vorliegenden Arbeit für die dosisabhängige Raumnutzung relevant sein, auch könnte die Zunahme des Zentrumsaufenthalts theoretisch die Folge ungerichteter Hyperlokomotion sein. Allerdings zeigt sich zusätzlich eine MDMA vermittelte Reduktion des Eckenaufenthaltes. In der

Kombination mit dem gesteigerten Zentrumsaufenthalt entspricht dies einer Inhibition des thigmotaktischen Verhaltens und damit obiger Literatur (s. 7.3.1) folgend einer Anxiolyse.

Bei den Tieren, die der Shock-Probe-Conflict-Procedure ausgesetzt waren, zeigte sich bei einer niedrigeren mittleren MDMA-Dosis von 1,6 mg/kg (0,4-2,4 mg/kg) eine deutlich anxiogene Wirkung im Sinne einer Vermeidung des Eintritts in den Schockbereich (Abbildungen 11 und 12). Eine signifikante Reduktion der Aufrichtungen im Schockbereich als Ausdruck des verringerten explorativen Verhaltens des Tieres im Schockbereich ließ sich in dieser Arbeit nicht nachweisen (Abbildung 12), auch wenn mehrere Arbeiten (unabhängig von einem aversiven Reiz) eine Abnahme des Aufrichtens als eine Wirkung von MDMA bei Nagetieren nachweisen konnten ^{33,108,198}.

Für Nagetiere ist gut beschrieben, dass ein milder elektrischer Reiz (z. B. als Fußschock) zu einer ausgeprägten Stressantwort führt ¹⁶⁰. So kann man der Übersichtsarbeit von Guy Griebel entnehmen, dass viele tierexperimentelle Arbeiten, die sich allgemein der Untersuchung von Angst und dem serotonergen System widmen, einen Shock-Probe-Conflict als Testmodell (meist als Shock-Probe/Burying-Test) nutzen, so dass dieser Test gerade hinsichtlich der serotoninvermittelten Mechanismen der Angst als gut evaluiert angesehen werden kann ¹⁵⁷. Durchsucht man die medizinischen Datenbanken (MEDLINE bzw. EMBASE) findet sich jedoch keine Arbeit, die die Effekte von MDMA auf das Angstempfinden speziell anhand der Shock-Probe-Conflict-Procedure untersucht, hier ist die vorliegende Arbeit aktuell die einzige, die in diesem Test einen anxiogenen Effekt nachweisen konnte.

Zusammenfassend wurde auch in dieser Arbeit das aus der Literatur bekannte Phänomen der unterschiedlichen Wirkung von MDMA auf das Angstempfinden je nach untersuchtem tierexperimentellen Angstmodell gesehen. Während im Open-Field-Modell eine anxiolytische Wirkung festgestellt wurde, zeigte sich im Shock-Probe-Conflict-Test eine starke anxiogene Wirkung.

Die in der Literatur beschriebene Dosis-Dualität mit einer anxiogenen Wirkung im unteren Dosisbereich (< 5 mg/kg) und einer konträren anxiolytischen Wirkung im oberen Dosisbereich (> 8-10 mg/kg) ^{89,90,112} ist als Erklärung hierfür auszuschließen, da die aufgenommenen Dosen in beiden untersuchten Angstmodellen deutlich im unteren Dosisbereich lagen.

Interessant ist hierbei die Arbeit von Morley & McGregor, die gleiche MDMA-Dosen in verschiedenen Tiermodellen untersuchten und divergente Resultate fanden. Sie postulieren, dass unterschiedliche Modelle verschiedene Angstkomponenten erfassen könnten, die von MDMA selektiv moduliert werden könnten ⁹³. Richard Lister bemerkt hierzu treffend: „It is

important to appreciate that just because a drug exerts an anxiolytic effect in one context does not mean that it will exert a similar effect in other contexts“⁸⁵.

Folgt man den Ausführungen von Guy Griebel, so wäre die in dieser Arbeit nachgewiesene anxiolytische Wirkung von MDMA im Open-Field-Test eine Anxiolyse, die sich auf einen Subtyp der Angst, der mit unkontrollierbarem Stress verknüpft ist, bezieht. Griebel nennt diesen Subtyp „depressive Angst“, während die anxiogene Wirkung im Shock-Probe-Conflict-Test die Wirkung auf einen Angst-Subtyp abbildet, der assoziiert ist mit kontrollierbaren, aversiven (schmerzhaften) Ereignissen, von ihm bezeichnet als „antizipatorische Angst“¹⁵⁷.

Hier muss die Schlussfolgerung von Karimi et al., dass MDMA dosisabhängig zu unterschiedlichen Antworten des Angstverhaltens führen kann¹¹², auch durch die Ergebnisse dieser Arbeit dahingehend ergänzt werden, dass MDMA auf unterschiedliche Subtypen von Angst gegensätzlich wirken kann.

So bleibt auch nach über 40 Jahren tierexperimenteller Angstforschung mit MDMA der Bedarf an weiteren Untersuchungen an evaluierten unterschiedlichen Modellen evident.

8 Literatur

1. Capela JP, Carmo H, Remião F, Bastos ML, Meisel A, Carvalho F. Molecular and cellular mechanisms of ecstasy-induced neurotoxicity: an overview. *Mol Neurobiol* 2009; 39(3): 210-271.
2. Shulgin AT. The background and chemistry of MDMA. *J Psychoact Drugs* 1986; 18(4): 291-304.
3. Steele TD, McCann UD, Ricaurte GA. 3,4-Methylenedioxyamphetamine (MDMA, "ecstasy"): pharmacology and toxicology in animals and humans. *Addiction* 1994; 89(5): 539-51.
4. Kalant H. The pharmacology and toxicology of "ecstasy" (MDMA) and related drugs. *CMAJ* 2001; 165(7): 917-28.
5. Freudenmann RW, Oxler F, Bernschneider-Reif S. The origin of MDMA (ecstasy) revisited: the true story reconstructed from the original documents. *Addiction* 2006; 101(9): 1241-1245.
6. Bernschneider-Reif S, Oxler F, Freudenmann RW. The origin of MDMA ("ecstasy") - separating the facts from the myth. *Pharmazie* 2006; 61(11): 966-72.
7. Hardman HF, Haavik CO, Seevers MH. Relationship of the structure of mescaline and seven analogs to toxicity and behavior in five species of laboratory animals. *Toxicol Appl Pharmacol* 1973; 25(2): 299-309.
8. Greer GR, Tolbert R. The therapeutic use of MDMA. In: Peroutka SJ (Hg.) *Ecstasy: The Clinical, Pharmacological and Neurotoxicological Effects of the Drug MDMA*. Kluwe Academic Publishers Boston 1990, S. 21-35.
9. Greer GR, Tolbert R. A method of conducting therapeutic sessions with MDMA. *J Psychoactive Drugs* 1998; 30(4): 371-379.
10. Grinspoon L, Bakalar JB. Can drugs be used to enhance the psychotherapeutic process? *Am J Psychother* 1986; 40(3): 393-404.
11. Shulgin AT. History of MDMA. In: Peroutka SJ (Hg.) *Ecstasy: The Clinical, Pharmacological and Neurotoxicological Effects of the Drug MDMA*. Kluwe Academic Publishers Boston 1990, S. 1-20.

12. Defrese GDR. 3,4-Methylenedioxyamphetamine (MDMA): A neuropsychopharmacologic review in research of its mechanisms of action. In: Räsch Christian BJR (Hg.) *Jahrbuch für Ethnomedizin und Bewusstseinsforschung*. VWB-Verlag Berlin 1996, S. 81-114.
13. Dumont GJ, Verkes RJ. A review of acute effects of 3,4-methylenedioxyamphetamine in healthy volunteers. *J Psychopharmacol* 2006; 20(2): 176-87.
14. Kovar KA. Chemistry and pharmacology of hallucinogens, entactogens and stimulants. *Pharmacopsychiatry* 1998; 31 Suppl 2: 69-72.
15. Navarro JF, Rivera A, Maldonado E, Cavas M, de la Calle A. Anxiogenic-like activity of 3,4-methylenedioxyamphetamine ("ecstasy") in the social interaction test is accompanied by an increase of c-fos expression in mice amygdala. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 2004; 28(2): 249-254.
16. Parrott AC. Human psychobiology of MDMA or "ecstasy": an overview of 25 years of empirical research. *Hum Psychopharmacol* 2013; 28(4): 289-307.
17. Nichols DE. Differences between the mechanism of action of MDMA, MBDB, and the classic hallucinogens. Identification of a new therapeutic class: entactogens. *J Psychoactive Drugs* 1986; 18(4): 305-13.
18. Pentney AR. An exploration of the history and controversies surrounding MDMA and MDA. *J Psychoactive Drugs* 2001; 33(3): 213-221.
19. Morton J. Ecstasy: pharmacology and neurotoxicity. *Curr Opin Pharmacol* 2005; 5(1): 79-86.
20. UNODC. World Drug Report 2019. <https://wdr.unodc.org/wdr2019> (2019), letzter Zugriff: 21. März 2021
21. EMCDDA. Europäischer Drogenbericht 2019: Trends und Entwicklungen. https://www.emcdda.europa.eu/publications/edr/trends-developments/2019_en (2019), letzter Zugriff: 21. März 2021
22. Johnson MP, Hoffman AJ, Nichols DE. Effects of the enantiomers of MDA, MDMA and related analogues on [³H]serotonin and [³H]dopamine release from superfused rat brain slices. *Eur J Pharmacol* 1986; 132(2-3): 269-276.
23. Nash JF, Nichols DE. Microdialysis studies on 3,4-methylenedioxyamphetamine and structurally related analogues. *Eur J Pharmacol* 1991; 200(1): 53-58.

24. Schmidt CJ, Levin JA, Lovenberg W. In vitro and in vivo neurochemical effects of methylenedioxymethamphetamine on striatal monoaminergic systems in the rat brain. *Biochem Pharmacol* 1987; 36(5): 747-755.
25. Michael White C. How MDMA's pharmacology and pharmacokinetics drive desired effects and harms. *J Clin Pharmacol* 2014; 54(3): 245-52.
26. Han DD, Gu HH. Comparison of the monoamine transporters from human and mouse in their sensitivities to psychostimulant drugs. *BMC Pharmacol* 2006; 6: 6.
27. Rothman RB, Baumann MH, Dersch CM, Romero DV, Rice KC, Carroll FI, Partilla JS. Amphetamine-type central nervous system stimulants release norepinephrine more potently than they release dopamine and serotonin. *Synapse* 2001; 39(1): 32-41.
28. Gudelsky GA, Nash JF. Carrier-mediated release of serotonin by 3,4-methylenedioxymethamphetamine: implications for serotonin-dopamine interactions. *J Neurochem* 1996; 66(1): 243-249.
29. Yamamoto BK, Spanos LJ. The acute effects of methylenedioxymethamphetamine on dopamine release in the awake-behaving rat. *Eur J Pharmacol* 1988; 148(2): 195-203.
30. Stone DM, Stahl DC, Hanson GR, Gibb JW. The effects of 3,4-methylenedioxymethamphetamine (MDMA) and 3,4-methylenedioxyamphetamine (MDA) on monoaminergic systems in the rat brain. *Eur J Pharmacol* 1986; 128(1-2): 41-48.
31. Schmidt CJ, Taylor VL. Depression of rat brain tryptophan hydroxylase activity following the acute administration of methylenedioxymethamphetamine. *Biochem Pharmacol* 1987; 36(23): 4095-4102.
32. Logan BK, Couper FJ. 3,4-Methylenedioxymethamphetamine - Effects on human performance and behavior. *Forensic Sci Rev* 2003; 15(1): 11-28.
33. Callaway CW, Wing LL, Geyer MA. Serotonin release contributes to the locomotor stimulant effects of 3,4-methylenedioxymethamphetamine in rats. *J Pharmacol Exp Ther* 1990; 254(2): 456-64.
34. Fletcher PJ, Korth KM, Robinson SR, Baker GB. Multiple 5-HT receptors are involved in the effects of acute MDMA treatment: studies on locomotor activity and responding for conditioned reinforcement. *Psychopharmacology (Berl)* 2002; 162(3): 282-91.

35. Kehne JH, Ketteler HJ, McCloskey TC, Sullivan CK, Dudley MW, Schmidt CJ. Effects of the selective 5-HT_{2A} receptor antagonist MDL 100,907 on MDMA-induced locomotor stimulation in rats. *Neuropsychopharmacology* 1996; 15(2): 116-124.
36. Liechti ME, Baumann C, Gamma A, Vollenweider FX. Acute psychological effects of 3,4-methylenedioxymethamphetamine (MDMA, "ecstasy") are attenuated by the serotonin uptake inhibitor citalopram. *Neuropsychopharmacology* 2000; 22(5): 9.
37. Liechti ME, Saur MR, Gamma A, Hell D, Vollenweider FX. Psychological and physiological effects of MDMA ("ecstasy") after pretreatment with the 5-HT₂ antagonist ketanserin in healthy humans. *Neuropsychopharmacology* 2000; 23(4): 396-404.
38. Rempel NL, Callaway CW, Geyer MA. Serotonin_{1B} receptor activation mimics behavioral effects of presynaptic serotonin release. *Neuropsychopharmacology* 1993; 8(3): 201-211.
39. Callaway CW, Geyer MA. Tolerance and cross-tolerance to the activating effects of 3,4-methylenedioxymethamphetamine and a 5-hydroxytryptamine_{1B} agonist. *J Pharmacol Exp Ther* 1992; 263(1): 318-326.
40. McCreary AC, Bankson MG, Cunningham KA. Pharmacological studies of the acute and chronic effects of (+)-3,4-methylenedioxymethamphetamine on locomotor activity: role of 5-hydroxytryptamine_{1A} and 5-hydroxytryptamine_{1B/1D} receptors. *J Pharmacol Exp Ther* 1999; 290(3): 965-973.
41. Scarce-Levie K, Viswanathan SS, Hen R. Locomotor response to MDMA is attenuated in knockout mice lacking the 5-HT_{1B} receptor. *Psychopharmacology (Berl)* 1999; 141(2): 154-161.
42. Egan CT, Herrick-Davis K, Miller K, Glennon RA, Teitler M. Agonist activity of LSD and lisuride at cloned 5HT_{2A} and 5HT_{2C} receptors. *Psychopharmacology (Berl)* 1998; 136(4): 409-414.
43. Green AR, Mehan AO, Elliott JM, O'Shea E, Colado MI. The pharmacology and clinical pharmacology of 3,4-methylenedioxymethamphetamine (MDMA, "ecstasy"). *Pharmacol Rev* 2003; 55(3): 463-508.
44. Battaglia G, Brooks BP, Kulsakdinun C, De Souza EB. Pharmacologic profile of MDMA (3,4-methylenedioxymethamphetamine) at various brain recognition sites. *Eur J Pharmacol* 1988; 149(1-2): 159-163.

45. Sadzot B, Baraban JM, Glennon RA, Lyon RA, Leonhardt S, Jan CR, Titeler M. Hallucinogenic drug interactions at human brain 5-HT₂ receptors: implications for treating LSD-induced hallucinogenesis. *Psychopharmacology (Berl)* 1989; 98(4): 495-499.
46. Bubar MJ, Pack KM, Frankel PS, Cunningham KA. Effects of dopamine D₁- or D₂-like receptor antagonists on the hypermotive and discriminative stimulus effects of (+)-MDMA. *Psychopharmacology (Berl)* 2004; 173(3-4): 326-336.
47. Risbrough VB, Masten VL, Caldwell S, Paulus MP, Low MJ, Geyer MA. Differential contributions of dopamine D₁, D₂, and D₃ Receptors to MDMA-induced effects on locomotor behavior patterns in mice. *Neuropsychopharmacology* 2006; 31(11): 2349-2358.
48. Selken J, Nichols DE. Alpha1-adrenergic receptors mediate the locomotor response to systemic administration of (+/-)-3,4-methylenedioxymethamphetamine (MDMA) in rats. *Pharmacol Biochem Behav* 2007; 86(4): 622-630.
49. Nash JF, Meltzer HY, Gudelsky GA. Elevation of serum prolactin and corticosterone concentrations in the rat after the administration of 3,4-methylenedioxymethamphetamine. *J Pharmacol Exp Ther* 1988; 245(3): 873-879.
50. Connor TJ, McNamara MG, Finn D, Currid A, O'Malley M, Redmond AM, Kelly JP, Leonard BE. Acute 3,4-methylenedioxymethamphetamine(MDMA) administration produces a rapid and sustained suppression of immune function in the rat. *Immunopharmacology* 1998; 38(3): 253-260.
51. Seibert J, Hysek CM, Penno CA, Schmid Y, Kratschmar DV, Liechti ME, Odermatt A. Acute effects of 3,4-methylenedioxymethamphetamine and methylphenidate on circulating steroid levels in healthy subjects. *Neuroendocrinology* 2014; 100(1): 17-25.
52. Grob CS, Poland RE, Chang L, Ernst T. Psychobiologic effects of 3,4-methylenedioxymethamphetamine in humans: methodological considerations and preliminary observations. *Behav Brain Res* 1996; 73(1-2): 103-107.
53. Mas M, Farre M, de la Torre R, Roset PN, Ortuno J, Segura J, Cami J. Cardiovascular and neuroendocrine effects and pharmacokinetics of 3,4-methylenedioxymethamphetamine in humans. *J Pharmacol Exp Ther* 1999; 290(1): 136-45.
54. Henry JA, Fallon JK, Kicman AT, Hutt AJ, Cowan DA, Forsling M. Low-dose MDMA ("ecstasy") induces vasopressin secretion. *Lancet Lond Engl* 1998; 351(9118): 1784.
55. Parrott AC. Oxytocin, cortisol and 3,4-methylenedioxymethamphetamine: neurohormonal aspects of recreational "ecstasy". *Behav Pharmacol* 2016; 27(8): 649-658.

56. Wolff K, Tsapakis EM, Winstock AR, Hartley D, Holt D, Forsling ML, Aitchison KJ. Vasopressin and oxytocin secretion in response to the consumption of ecstasy in a clubbing population. *J Psychopharmacol* 2006; 20(3): 400-410.
57. Forsling M, Fallon JK, Kicman AT, Hutt AJ, Cowan DA, Henry JA. Arginine vasopressin release in response to the administration of 3,4-methylenedioxymethamphetamine ("ecstasy"): is metabolism a contributory factor? *J Pharm Pharmacol* 2001; 53(10): 1357-1363.
58. Forsling ML, Fallon JK, Shah D, Tilbrook GS, Cowan DA, Kicman AT, Hutt AJ. The effect of 3,4-methylenedioxymethamphetamine (MDMA, "ecstasy") and its metabolites on neurohypophysial hormone release from the isolated rat hypothalamus. *Br J Pharmacol* 2002; 135(3): 649-656.
59. Hanson GR, Merchant KM, Johnson M, Letter AA, Bush L, Gibb JW. Effects of MDMA-like drugs on CNS neuropeptide systems. In: Peroutka SJ (Hg.) *Ecstasy: The Clinical, Pharmacological and Neurotoxicological Effects of the Drug MDMA*. Kluwe Academic Publishers Boston 1990, S. 213-224.
60. Pacifici R, Zuccaro P, Farre M, Pichini S, Di Carlo S, Roset PN, Lopez CH, Ortuno J, Segura J, et al. Immunomodulating activity of MDMA. *Ann N Acad Sci* 2000; 914: 215-24.
61. Harno E, Gali Ramamoorthy T, Coll AP, White A. POMC: The physiological power of hormone processing. *Physiol Rev* 2018; 98(4): 2381-2430.
62. Morley JE. The endocrinology of the opiates and opioid peptides. *Metabolism* 1981; 30(2): 195-209.
63. Moldow RL, Fischman AJ. Cocaine induced secretion of ACTH, beta-endorphin, and corticosterone. *Peptides* 1987; 8(5): 819-822.
64. Armario A. Activation of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis by addictive drugs: different pathways, common outcome. *Trends Pharmacol Sci* 2010; 31(7): 318-325.
65. Sarnyai Z, Bíró E, Telegdy G. Cocaine-induced elevation of plasma corticosterone is mediated by different neurotransmitter systems in rats. *Pharmacol Biochem Behav* 1993; 45(1): 209-214.
66. Koenig JI, Gudelsky GA, Meltzer HY. Stimulation of corticosterone and beta-endorphin secretion in the rat by selective 5-HT receptor subtype activation. *Eur J Pharmacol* 1987; 137(1): 1-8.

67. Harris DS, Baggott M, Mendelson JH, Mendelson JE, Jones RT. Subjective and hormonal effects of 3,4-methylenedioxymethamphetamine (MDMA) in humans. *Psychopharmacology (Berl)* 2002; 162(4): 396-405.
68. Stomati M, Rubino S, Spinetti A, Parrini D, Luisi S, Casarosa E, Petraglia F, Genazzani AR. Endocrine, neuroendocrine and behavioral effects of oral dehydroepiandrosterone sulfate supplementation in postmenopausal women. *Gynecol Endocrinol* 1999; 13(1): 15-25.
69. Parrott AC, Lock J, Conner AC, Kissling C, Thome J. Dance clubbing on MDMA and during abstinence from Ecstasy/MDMA: prospective neuroendocrine and psychobiological changes. *Neuropsychobiology* 2008; 57(4): 165-180.
70. Wolff K, Tsapakis EM, Pariante CM, Kerwin RW, Forsling ML, Aitchison KJ. Pharmacogenetic studies of change in cortisol on ecstasy (MDMA) consumption. *J Psychopharmacol* 2012; 26(3): 419-428.
71. Reinhard C, Wolffgramm J. Long-term voluntary consumption of MDMA and THC in rats is modified by individual and situational factors. *Addict Biol* 2006; 11(2): 131-44.
72. Tancer ME, Johanson CE. The subjective effects of MDMA and mCPP in moderate MDMA users. *Drug Alcohol Depend* 2001; 65(1): 97-101.
73. Tancer M, Johanson C-E. Reinforcing, subjective, and physiological effects of MDMA in humans: a comparison with d-amphetamine and mCPP. *Drug Alcohol Depend* 2003; 72(1): 33-44.
74. Tancer M, Johanson C-E. The effects of fluoxetine on the subjective and physiological effects of 3,4-methylenedioxymethamphetamine (MDMA) in humans. *Psychopharmacology (Berl)* 2007; 189(4): 565-573.
75. Cami J, Farré M, Mas M, Roset PN, Poudevida S, Mas A, San L, de la Torre R. Human pharmacology of 3,4-methylenedioxymethamphetamine ("ecstasy"): psychomotor performance and subjective effects. *J Clin Psychopharmacol* 2000; 20(4): 455-466.
76. Farré M, de la Torre R, Mathúna BO, Roset PN, Peiró AM, Torrens M, Ortuño J, Pujadas M, Camí J. Repeated doses administration of MDMA in humans: pharmacological effects and pharmacokinetics. *Psychopharmacology (Berl)* 2004; 173(3-4): 364-375.
77. Hernández-López C, Farré M, Roset PN, Menoyo E, Pizarro N, Ortuño J, Torrens M, Camí J, de La Torre R. 3,4-Methylenedioxymethamphetamine (ecstasy) and alcohol interactions in humans: psychomotor performance, subjective effects, and pharmacokinetics. *J Pharmacol Exp Ther* 2002; 300(1): 236-244.

78. Liechti ME, Vollenweider FX. Acute psychological and physiological effects of MDMA ("ecstasy") after haloperidol pretreatment in healthy humans. *Neuropsychopharmacology* 2000; 10(4): 289-295.
79. Cassel J-C, Riegert C, Rutz S, Koenig J, Rothmaier K, Cosquer B, Lazarus C, Birtheimer A, Jeltsch H, et al. Ethanol, 3,4-methylenedioxymethamphetamine (Ecstasy) and their combination: long-term behavioral, neurochemical and neuropharmacological effects in the rat. *Neuropsychopharmacology* 2005; 30(10): 1870-1882.
80. Fone KCF, Beckett SRG, Topham IA, Swettenham J, Ball M, Maddocks L. Long-term changes in social interaction and reward following repeated MDMA administration to adolescent rats without accompanying serotonergic neurotoxicity. *Psychopharmacology (Berl)* 2002; 159(4): 437-444.
81. Gurtman CG, Morley KC, Li KM, Hunt GE, McGregor IS. Increased anxiety in rats after 3,4-methylenedioxymethamphetamine: association with serotonin depletion. *Eur J Pharmacol* 2002; 446(1-3): 89-96.
82. McGregor IS, Gurtman CG, Morley KC, Clemens KJ, Blokland A, Li KM, Cornish JL, Hunt GE. Increased anxiety and "depressive" symptoms months after MDMA ("ecstasy") in rats: drug-induced hyperthermia does not predict long-term outcomes. *Psychopharmacology (Berl)* 2003; 168(4): 465-474.
83. Morley KC, Gallate JE, Hunt GE, Mallet PE, McGregor IS. Increased anxiety and impaired memory in rats 3 months after administration of 3,4-methylenedioxymethamphetamine ("ecstasy"). *Eur J Pharmacol* 2001; 433(1): 91-99.
84. Sumnall HR, O'Shea E, Marsden CA, Cole JC. The effects of MDMA pretreatment on the behavioural effects of other drugs of abuse in the rat elevated plus-maze test. *Pharmacol Biochem Behav* 2004; 77(4): 805-814.
85. Lister RG. Ethologically-based animal models of anxiety disorders. *Pharmacol Ther* 1990; 46(3): 321-340.
86. Ludwig V, Mihov Y, Schwarting RK. Behavioral and neurochemical consequences of multiple MDMA administrations in the rat: role of individual differences in anxiety-related behavior. *Behav Brain Res* 2008; 189(1): 52-64.
87. Piper BJ, Meyer JS. Memory deficit and reduced anxiety in young adult rats given repeated intermittent MDMA treatment during the periadolescent period. *Pharmacol Biochem Behav* 2004; 79(4): 723-731.

88. Bhattacharya SK, Bhattacharya A, Ghosal S. Anxiogenic activity of methylenedioxymethamphetamine (Ecstasy): An experimental study. *Biog Amines* 1998; 14(3): 217-237.
89. Ho YJ, Pawlak CR, Guo L, Schwarting RK. Acute and long-term consequences of single MDMA administration in relation to individual anxiety levels in the rat. *Behav Brain Res* 2004; 149(2): 135-44.
90. Lin HQ, Burden PM, Christie MJ, Johnston GA. The anxiogenic-like and anxiolytic-like effects of MDMA on mice in the elevated plus-maze: a comparison with amphetamine. *Pharmacol Biochem Behav* 1999; 62(3): 403-408.
91. Mehan AO, Moran PM, Elliott M, Young AJ, Joseph MH, Green R. A study of the effect of a single neurotoxic dose of 3,4-methylenedioxymethamphetamine (MDMA; "ecstasy") on the subsequent long-term behaviour of rats in the plus maze and open field. *Psychopharmacology (Berl)* 2002; 159(2): 167-175.
92. Navarro JF, Maldonado E. Acute and subchronic effects of MDMA ("ecstasy") on anxiety in male mice tested in the elevated plus-maze. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 2002; 26(6): 1151-1154.
93. Morley KC, McGregor IS. (+/-)-3,4-methylenedioxymethamphetamine (MDMA, "ecstasy") increases social interaction in rats. *Eur J Pharmacol* 2000; 408(1): 41-49.
94. Boot BP, McGregor IS, Hall W. MDMA (Ecstasy) neurotoxicity: assessing and communicating the risks. *Lancet* 2000; 355(9217): 1818-1821.
95. Topp L, Hando J, Dillon P, Roche A, Solowij N. Ecstasy use in Australia: patterns of use and associated harm. *Drug Alcohol Depend* 1999; 55(1-2): 105-115.
96. Vollenweider FX, Gamma A, Liechti M, Huber T. Psychological and cardiovascular effects and short-term sequelae of MDMA ("ecstasy") in MDMA-naïve healthy volunteers. *Neuropsychopharmacology* 1998; 19(4): 241-251.
97. Kraeuter A-K, Guest PC, Sarnyai Z. The open field test for measuring locomotor activity and anxiety-like behavior. In: Guest PC (Hg.) *Pre-Clinical Models*. Springer New York 2019, S. 99-103.
98. Rex A, Stephens DN, Fink H. "Anxiolytic" action of diazepam and abecarnil in a modified open field test. *Pharmacol Biochem Behav* 1996; 53(4): 1005-11.

99. Simon P, Dupuis R, Costentin J. Thigmotaxis as an index of anxiety in mice. Influence of dopaminergic transmissions. *Behav Brain Res* 1994; 61(1): 59-64.
100. Treit D, Fundytus M. Thigmotaxis as a test for anxiolytic activity in rats. *Pharmacol Biochem Behav* 1988; 31(4): 959-62.
101. Meert TF, Colpaert FC. The shock probe conflict procedure. A new assay responsive to benzodiazepines, barbiturates and related compounds. *Psychopharmacology (Berl)* 1986; 88(4): 445-50.
102. Wolffgramm J, Heyne A. Social isolation antagonizes diazepam actions and shock-avoidance behaviour of rats. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol* 1998; 337: 448.
103. Okorn SS. *Computer-gestützte Aktivitätsmessungen bei Ratten unter Einfluss von Buprenorphin vor und nach einer Thorakotomie*. Dissertation, Ludwig-Maximilians-Universität München, <https://edoc.ub.uni-muenchen.de/2414> (2004), letzter Zugriff: 20. März 2021.
104. McNamara MG, Kelly JP, Leonard BE. Some behavioural and neurochemical aspects of subacute (+/-)3,4-methylenedioxymethamphetamine administration in rats. *Pharmacol Biochem Behav* 1995; 52(3): 479-484.
105. McNamara MG, Kelly JP, Leonard BE. The effect of acute MDMA administration on body temperature, serum corticosterone and neurotransmitter concentrations in male and female rats. *Hum Psychopharmacol Clin Exp* 1995; 10(5): 373-383.
106. Ando RD, Benko A, Ferrington L, Kirilly E, Kelly PAT, Bagdy G. Partial lesion of the serotonergic system by a single dose of MDMA results in behavioural disinhibition and enhances acute MDMA-induced social behaviour on the social interaction test. *Neuropharmacology* 2006; 50(7): 884-896.
107. Morley KC, Arnold JC, McGregor IS. Serotonin (1A) receptor involvement in acute 3,4-methylenedioxymethamphetamine (MDMA) facilitation of social interaction in the rat. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 2005; 29(5): 648-657.
108. Ferraz-de-Paula V, Stankevicius D, Ribeiro A, Pinheiro ML, Rodrigues-Costa EC, Florio JC, Lapachinske SF, Moreau RLM, Palermo-Neto J. Differential behavioral outcomes of 3,4-methylenedioxymethamphetamine (MDMA-ecstasy) in anxiety-like responses in mice. *Braz J Med Biol Res* 2011; 44(5): 428-437.

109. Maldonado E, Navarro JF. Effects of 3,4-methylenedioxymethamphetamine (MDMA) on anxiety in mice tested in the light-dark box. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 2000; 24(3): 463-472.
110. Maldonado E, Navarro JF. MDMA ("ecstasy") exhibits an anxiogenic-like activity in social encounters between male mice. *Pharmacol Res* 2001; 44(1): 27-31.
111. Cox BM, Shah MM, Cichon T, Tancer ME, Galloway MP, Thomas DM, Perrine SA. Behavioral and neurochemical effects of repeated MDMA administration during late adolescence in the rat. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 2014; 48: 229-235.
112. Karimi S, Jahanshahi M, Gholipour MJ. The effect of MDMA-induced anxiety on neuronal apoptosis in adult male rats' hippocampus. *Folia Biol (Praha)* 2014; 60(4): 187-191.
113. Kolyaduke OV, Hughes RN. Increased anxiety-related behavior in male and female adult rats following early and late adolescent exposure to 3,4-methylenedioxymethamphetamine (MDMA). *Pharmacol Biochem Behav* 2013; 103(4): 742-749.
114. Ros-Simó C, Ruiz-Medina J, Valverde O. Behavioural and neuroinflammatory effects of the combination of binge ethanol and MDMA in mice. *Psychopharmacology (Berl)* 2012; 221(3): 511-525.
115. Winslow JT, Insel TR. Serotonergic modulation of rat pup ultrasonic vocal development: studies with 3,4-methylenedioxymethamphetamine. *J Pharmacol Exp Ther* 1990; 254(1): 212-220.
116. Dallman MF, Jones MT. Corticosteroid feedback control of ACTH secretion: effect of stress-induced corticosterone secretion on subsequent stress responses in the rat. *Endocrinology* 1973; 92(5): 1367-1375.
117. Heiderstadt KM, McLaughlin RM, Wright DC, Walker SE, Gomez-Sanchez CE. The effect of chronic food and water restriction on open-field behaviour and serum corticosterone levels in rats. *Lab Anim* 2000; 34(1): 20-28.
118. Maniscalco JW, Zheng H, Gordon PJ, Rinaman L. Negative energy balance blocks neural and behavioral responses to acute stress by "silencing" central glucagon-like peptide 1 signaling in rats. *J Neurosci* 2015; 35(30): 10701-10714.
119. Baumann MH, Zolkowska D, Kim I, Scheidweiler KB, Rothman RB, Huestis MA. Effects of dose and route of administration on pharmacokinetics of (+or-)-3,4-methylenedioxymethamphetamine in the rat. *Drug Metab Dispos* 2009; 37(11): 2163-2170.

120. Meyer JS, Piper BJ, Vancollie VE. Development and characterization of a novel animal model of intermittent MDMA ("ecstasy") exposure during adolescence. *Ann N Y Acad Sci* 2008; 1139: 151-163.
121. Upreti VV, Eddington ND. Fluoxetine pretreatment effects pharmacokinetics of 3,4-methylenedioxymethamphetamine (MDMA, ECSTASY) in rat. *J Pharm Sci* 2008; 97(4): 1593-1605.
122. Valtier S, Phelix CF, Cody JT. Analysis of MDMA and its metabolites in urine and plasma following a neurotoxic dose of MDMA. *J Anal Toxicol* 2007; 31(3): 138-143.
123. De la Torre R, Farré M, Ortuño J, Mas M, Brenneisen R, Roset PN, Segura J, Camí J. Non-linear pharmacokinetics of MDMA ("ecstasy") in humans. *Br J Clin Pharmacol* 2000; 49(2): 104-109.
124. Kolbrich EA, Goodwin RS, Gorelick DA, Hayes RJ, Stein EA, Huestis MA. Plasma pharmacokinetics of 3,4-methylenedioxymethamphetamine after controlled oral administration to young adults. *Ther Drug Monit* 2008; 30(3): 320-332.
125. Finnegan KT, Ricaurte GA, Ritchie LD, Irwin I, Peroutka SJ, Langston JW. Orally administered MDMA causes a long-term depletion of serotonin in rat brain. *Brain Res* 1988; 447(1): 141-144.
126. Armario A. The hypothalamic-pituitary-adrenal axis: what can it tell us about stressors? *CNS Neurol Disord Drug Targets* 2006; 5(5): 485-501.
127. Charmandari E, Tsigos C, Chrousos G. Endocrinology of the stress response. *Annu Rev Physiol* 2005; 67: 259-284.
128. Chrousos GP, Gold PW. The concepts of stress and stress system disorders. Overview of physical and behavioral homeostasis. *JAMA* 1992; 267(9): 1244-1252.
129. Smith SM, Vale WW. The role of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis in neuroendocrine responses to stress. *Dialogues Clin Neurosci* 2006; 8(4): 383-395.
130. Selye H. A syndrome produced by diverse nocuous agents. *Nature* 1936; 138: 32.
131. Buckingham JC. Glucocorticoids: exemplars of multi-tasking. *Br J Pharmacol* 2006; 147 Suppl 1: S258-268.
132. Raff H. CORT, Cort, B, corticosterone, and now cortistatin: enough already! *Endocrinology* 2016; 157(9): 3307-3308.

133. Whitworth JA, Schyvens CG, Zhang Y, Mangos GJ, Kelly JJ. Glucocorticoid-induced hypertension: from mouse to man. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 2001; 28(12): 993-996.
134. Gallo-Payet N, Battista M-C. Steroidogenesis-adrenal cell signal transduction. *Compr Physiol* 2014; 4(3): 889-964.
135. Habib KE, Gold PW, Chrousos GP. Neuroendocrinology of stress. *Endocrinol Metab Clin North Am* 2001; 30(3): 695-728; vii-viii.
136. Mains RE, Eipper BA, Ling N. Common precursor to corticotropins and endorphins. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1977; 74(7): 3014-3018.
137. Vuong C, Van Uum SHM, O'Dell LE, Lutfy K, Friedman TC. The effects of opioids and opioid analogs on animal and human endocrine systems. *Endocr Rev* 2010; 31(1): 98-132.
138. Young EA, Akil H. Corticotropin-releasing factor stimulation of adrenocorticotropin and beta-endorphin release: effects of acute and chronic stress. *Endocrinology* 1985; 117(1): 23-30.
139. Young E, Akil H. Changes in releasability of ACTH and beta-endorphin with chronic stress. *Neuropeptides* 1985; 5(4-6): 545-548.
140. Bali A, Randhawa PK, Jaggi AS. Stress and opioids: role of opioids in modulating stress-related behavior and effect of stress on morphine conditioned place preference. *Neurosci Biobehav Rev* 2015; 51: 138-150.
141. Calogero AE, Bagdy G, Szemeredi K, Tartaglia ME, Gold PW, Chrousos GP. Mechanisms of serotonin receptor agonist-induced activation of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis in the rat. *Endocrinology* 1990; 126(4): 1888-1894.
142. Keller-Wood ME, Dallman MF. Corticosteroid inhibition of ACTH secretion. *Endocr Rev* 1984; 5(1): 1-24.
143. Nakagawasai O, Tadano T, Tan No K, Niiijima F, Sakurada S, Endo Y, Kisara K. Changes in beta-endorphin and stress-induced analgesia in mice after exposure to forced walking stress. *Methods Find Exp Clin Pharmacol* 1999; 21(7): 471-476.
144. Armario A, García-Marquez C. Tricyclic antidepressants activate the pituitary-adrenal axis in the rat. Tolerance to repeated drug administration. *Eur J Pharmacol* 1987; 140(2): 239-244.
145. Gomez F, Graugés P, Martín M, Armario A. The effect of chronic administration of antidepressants on the circadian pattern of corticosterone in the rat. *Psychopharmacology (Berl)* 1998; 140(2): 127-134.

146. Perićić D, Lakić N, Manev H. Effect of diazepam on plasma corticosterone levels. *Psychopharmacology (Berl)* 1984; 83(1): 79-81.
147. Torrellas A, Guaza C, Borrell J. Effects of acute and prolonged administration of chlordiazepoxide upon the pituitary-adrenal activity and brain catecholamines in sound stressed and unstressed rats. *Neuroscience* 1980; 5(12): 2289-2295.
148. Fuller RW. Serotonin receptors involved in regulation of pituitary-adrenocortical function in rats. *Behav Brain Res* 1996; 73(1-2): 215-219.
149. Bruni JF, Hawkins RL, Yen SS. Serotonergic mechanism in the control of beta-endorphin and ACTH release in male rats. *Life Sci* 1982; 30(15): 1247-1254.
150. Anderson IM, Cowen PJ, Grahame-Smith DG. The effects of gepirone on neuroendocrine function and temperature in humans. *Psychopharmacology (Berl)* 1990; 100(4): 498-503.
151. Meltzer HY, Maes M. Effects of buspirone on plasma prolactin and cortisol levels in major depressed and normal subjects. *Biol Psychiatry* 1994; 35(5): 316-323.
152. Sapun DI, Farah JM, Mueller GP. Evidence that a serotonergic mechanism stimulates the secretion of pituitary beta-endorphin-like immunoreactivity in the rat. *Endocrinology* 1981; 109(2): 421-426.
153. Pellow S, Chopin P, File SE, Briley M. Validation of open:closed arm entries in an elevated plus-maze as a measure of anxiety in the rat. *J Neurosci Methods* 1985; 14(3): 149-167.
154. Kavushansky A, Kritman M, Maroun M, Klein E, Richter-Levin G, Hui K-S, Ben-Shachar D. β -endorphin degradation and the individual reactivity to traumatic stress. *Eur Neuropsychopharmacology* 2013; 23(12): 1779-1788.
155. Palma BD, Suchecki D, Tufik S. Differential effects of acute cold and footshock on the sleep of rats. *Brain Res* 2000; 861(1): 97-104.
156. Rabasa C, Muñoz-Abellán C, Daviu N, Nadal R, Armario A. Repeated exposure to immobilization or two different footshock intensities reveals differential adaptation of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis. *Physiol Behav* 2011; 103(2): 125-133.
157. Griebel G. 5-Hydroxytryptamine-interacting drugs in animal models of anxiety disorders: more than 30 years of research. *Pharmacol Ther* 1995; 65(3): 319-395.
158. Shekhar A, McCann UD, Meaney MJ, Blanchard DC, Davis M, Frey KA, Liberzon I, Overall KL, Shear MK, et al. Summary of a National Institute of Mental Health workshop: Developing animal models of anxiety disorders. *Psychopharmacology (Berl)* 2001; 157(4): 327-339.

159. Treit D, Engin E, McEown K. Animal models of anxiety and anxiolytic drug action. In: Stein MB, Steckler T (Hg.) *Behavioral Neurobiology of Anxiety and its Treatment. Current Topics in Behavioral Neurosciences, Bd. 2*. Springer Berlin 2010, S. 121-160.
160. Campos AC, Fogaça MV, Aguiar DC, Guimarães FS. Animal models of anxiety disorders and stress. *Braz J Psychiatry* 1999 2013; 35 Suppl 2: S101-111.
161. Green S, Hodges H. Animal models of anxiety. In: Willner P (Hg.) *Behavioural Models in Psychopharmacology: Theoretical, Industrial and Clinical Perspectives*. Cambridge University Press New York 1991, S. 21-49.
162. File SE, Lippa AS, Beer B, Lippa MT. Animal tests of anxiety. *Curr Protoc Neurosci* 2004; Chapter 8: Unit 8.3.
163. Handley SL, Mithani S. Effects of alpha-adrenoceptor agonists and antagonists in a maze-exploration model of "fear"-motivated behaviour. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol* 1984; 327(1): 1-5.
164. Crawley J, Goodwin FK. Preliminary report of a simple animal behavior model for the anxiolytic effects of benzodiazepines. *Pharmacol Biochem Behav* 1980; 13(2): 167-170.
165. Crawley JN. Neuropharmacologic specificity of a simple animal model for the behavioral actions of benzodiazepines. *Pharmacol Biochem Behav* 1981; 15(5): 695-699.
166. File SE. The use of social interaction as a method for detecting anxiolytic activity of chlordiazepoxide-like drugs. *J Neurosci Methods* 1980; 2(3): 219-238.
167. File SE. Animal models for predicting clinical efficacy of anxiolytic drugs: social behaviour. *Neuropsychobiology* 1985; 13(1-2): 55-62.
168. Geller I. The acquisition and extinction of conditioned suppression as a function of the baseline reinforcer. *J Exp Anal Behav* 1960; 3: 235-240.
169. Vogel JR, Beer B, Clody DE. A simple and reliable conflict procedure for testing anti-anxiety agents. *Psychopharmacologia* 1971; 21(1): 1-7.
170. Rodgers RJ. Animal models of "anxiety": where next? *Behav Pharmacol* 1997; 8(6-7): 477-496.
171. Treit D. Anxiolytic effects of benzodiazepines and 5-HT_{1A} agonists: animal models. In: Rodgers RJ, Cooper SJ (Hg.) *5-HT_{1A} Agonists, 5-HT₃ Antagonists and Benzodiazepines: Their Comparative Behavioural Pharmacology*. John Wiley Chichester 1991, S. 107-132.

172. Treit D. Animal models for the study of anti-anxiety agents: a review. *Neurosci Biobehav Rev* 1985; 9(2): 203-222.
173. Bourin M, Petit-Demoulière B, Dhonnchadha BN, Hascöet M. Animal models of anxiety in mice. *Fundam Clin Pharmacol* 2007; 21(6): 567-574.
174. Barnett SA. *The Rat: A Study in Behavior (Revised Edition)*. Australian National University Press Canberra 1976, S. 157.
175. Grossen NE, Kelley MJ. Species-specific behavior and acquisition of avoidance behavior in rats. *J Comp Physiol Psychol* 1972; 81(2): 307-310.
176. Nichols NF, Scheurer PJDK. Center time: a test for anxiolytic activity in rats. *Soc Neurosci Abstr* 1987; 13: 274.15.
177. Clément Y, Le Guisquet A-M, Venault P, Chapouthier G, Belzung C. Pharmacological alterations of anxious behaviour in mice depending on both strain and the behavioural situation. *PLoS One* 2009; 4(11): e7745.
178. Fraser LM, Brown RE, Hussin A, Fontana M, Whittaker A, O'Leary TP, Lederle L, Holmes A, Ramos A. Measuring anxiety- and locomotion-related behaviours in mice: a new way of using old tests. *Psychopharmacology (Berl)* 2010; 211(1): 99-112.
179. Christmas AJ, Maxwell DR. A comparison of the effects of some benzodiazepines and other drugs on aggressive and exploratory behaviour in mice and rats. *Neuropharmacology* 1970; 9(1): 17-29.
180. Walsh RN, Cummins RA. The open-field test: a critical review. *Psychol Bull* 1976; 83(3): 482-504.
181. Heyne A, Wolffgramm J. Avoidance behavior against an anxiogenic stimulus: interactions between social deprivation and anxiolysis. In: Elsner N, Roth G (Hg.) *Brain - Perception - Cognition: Proceedings of the 18th Göttingen Neurobiology Conference*. Georg Thieme Verlag Stuttgart 1990, S. 442.
182. Graeff FG, Schoenfeld RI. Tryptaminergic mechanisms in punished and nonpunished behavior. *J Pharmacol Exp Ther* 1970; 173(2): 277-283.
183. Robichaud RC, Sledge KL. The effects of p-chlorophenylalanine on experimentally induced conflict in the rat. *Life Sci* 1969; 8(17): 965-969.
184. Stein L, Wise CD, Belluzzi JD. Effects of benzodiazepines on central serotonergic mechanisms. *Adv Biochem Psychopharmacol* 1975; (14): 29-44.

185. Iversen SD. 5-HT and anxiety. *Neuropharmacology* 1984; 23(12B): 1553-1560.
186. Bahji A, Forsyth A, Groll D, Hawken ER. Efficacy of 3,4-methylenedioxymethamphetamine (MDMA)-assisted psychotherapy for posttraumatic stress disorder: a systematic review and meta-analysis. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 2020; 96: 109735.
187. Feduccia AA, Jerome L, Yazar-Klosinski B, Emerson A, Mithoefer MC, Doblin R. Breakthrough for Trauma Treatment: Safety and Efficacy of MDMA-Assisted Psychotherapy Compared to Paroxetine and Sertraline. *Front Psychiatry* 2019; 10: 650.
188. Multidisciplinary Association for Psychedelic Studies. MAPS, <https://maps.org/research/mdma/ptsd/phase3> (2020), letzter Zugriff: 20. März 2021.
189. Gamma A, Buck A, Berthold T, Liechi ME, Vollenweider FX, Hell D. 3,4-Methylenedioxymethamphetamine (MDMA) modulates cortical and limbic brain activity as measured by [$H_2^{15}O$]-PET in healthy humans. *Neuropsychopharmacology* 2000; 23(4): 388-395.
190. Lamers CTJ, Ramaekers JG, Muntjewerff ND, Sikkema KL, Samyn N, Read NL, Brookhuis KA, Riedel WJ. Dissociable effects of a single dose of ecstasy (MDMA) on psychomotor skills and attentional performance. *J Psychopharmacol* 2003; 17(4): 379-387.
191. Frei E, Gamma A, Pascual-Marqui R, Lehmann D, Hell D, Vollenweider FX. Localization of MDMA-induced brain activity in healthy volunteers using low resolution brain electromagnetic tomography (LORETA). *Hum Brain Mapp* 2001; 14(3): 152-165.
192. Green AR, McGregor IS. On the anxiogenic and anxiolytic nature of long-term cerebral 5-HT depletion following MDMA. *Psychopharmacology (Berl)* 2002; 162(4): 448-450.
193. Cole JC, Sumnall HR. The pre-clinical behavioural pharmacology of 3,4-methylenedioxymethamphetamine (MDMA). *Neurosci Biobehav Rev* 2003; 27(3): 199-217.
194. Bankson MG, Cunningham KA. Pharmacological studies of the acute effects of (+)-3,4-methylenedioxymethamphetamine on locomotor activity: role of 5-HT_(1B/1D) and 5-HT₂ receptors. *Neuropsychopharmacology* 2002; 26(1): 40-52.
195. Bengel D, Murphy DL, Andrews AM, Wichems CH, Feltner D, Heils A, Mössner R, Westphal H, Lesch KP. Altered brain serotonin homeostasis and locomotor insensitivity to 3,4-methylenedioxymethamphetamine ("ecstasy") in serotonin transporter-deficient mice. *Mol Pharmacol* 1998; 53(4): 649-655.

196. Dafters RI. Effect of ambient temperature on hyperthermia and hyperkinesis induced by 3,4-methylenedioxymethamphetamine (MDMA or "ecstasy") in rats. *Psychopharmacology (Berl)* 1994; 114(3): 505-508.
197. Gold LH, Koob GF. Methysergide potentiates the hyperactivity produced by MDMA in rats. *Pharmacol Biochem Behav* 1988; 29(3): 645-648.
198. O'Loinsigh ED, Boland G, Kelly JP, O'Boyle KM. Behavioural, hyperthermic and neurotoxic effects of 3,4-methylenedioxymethamphetamine analogues in the Wistar rat. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 2001; 25(3): 621-38.
199. Palenicek T, Hlinak Z, Bubenikova-Valesova V, Votava M, Horacek J. An analysis of spontaneous behavior following acute MDMA treatment in male and female rats. *Neuro Endocrinol Lett* 2007; 28(6): 781-8.
200. Spanos LJ, Yamamoto BK. Acute and subchronic effects of methylenedioxymethamphetamine [(+/-)MDMA] on locomotion and serotonin syndrome behavior in the rat. *Pharmacol Biochem Behav* 1989; 32(4): 835-40.

9 Eidesstattliche Versicherung

„Ich, Tilman Frederik Josef Reinhart, versichere an Eides statt durch meine eigenhändige Unterschrift, dass ich die vorgelegte Dissertation mit dem Thema: *„Einfluss von 3,4-Methylendioxyamphetamin (MDMA) auf die hormonelle Stressantwort und das Angstverhalten bei Ratten [Effects of 3,4-methylendioxyamphetamine (MDMA) on hormonal stress response and anxiety-related behaviour in rats]“* selbstständig und ohne nicht offengelegte Hilfe Dritter verfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel genutzt habe.

Alle Stellen, die wörtlich oder dem Sinne nach auf Publikationen oder Vorträgen anderer Autoren/innen beruhen, sind als solche in korrekter Zitierung kenntlich gemacht. Die Abschnitte zu Methodik (insbesondere praktische Arbeiten, Laborbestimmungen, statistische Aufarbeitung) und Resultaten (insbesondere Abbildungen, Graphiken und Tabellen) werden von mir verantwortet. Ich versichere ferner, dass ich die in Zusammenarbeit mit anderen Personen generierten Daten, Datenauswertungen und Schlussfolgerungen korrekt gekennzeichnet und meinen eigenen Beitrag sowie die Beiträge anderer Personen korrekt kenntlich gemacht habe (siehe Anteilserklärung). Texte oder Textteile, die gemeinsam mit anderen erstellt oder verwendet wurden, habe ich korrekt kenntlich gemacht. Meine Anteile an etwaigen Publikationen zu dieser Dissertation entsprechen denen, die in der untenstehenden gemeinsamen Erklärung mit dem/der Erstbetreuer/in, angegeben sind. Für sämtliche im Rahmen der Dissertation entstandenen Publikationen wurden die Richtlinien des ICMJE (International Committee of Medical Journal Editors; www.icmje.org) zur Autorenschaft eingehalten. Ich erkläre ferner, dass ich mich zur Einhaltung der Satzung der Charité - Universitätsmedizin Berlin zur Sicherung Guter Wissenschaftlicher Praxis verpflichte.

Weiterhin versichere ich, dass ich diese Dissertation weder in gleicher noch in ähnlicher Form bereits an einer anderen Fakultät eingereicht habe.

Die Bedeutung dieser eidesstattlichen Versicherung und die strafrechtlichen Folgen einer unwahren eidesstattlichen Versicherung (§§156, 161 des Strafgesetzbuches) sind mir bekannt und bewusst.“

Berlin, den 20.3.2021

(T. Reinhart)

Anteilserklärung an etwaigen erfolgten Publikationen: entfällt

10 Lebenslauf

Mein Lebenslauf wird aus datenschutzrechtlichen Gründen in der elektronischen Version meiner Arbeit nicht veröffentlicht.

11 Danksagung

Herrn Prof. Dr. med. Jörg Weimann danke ich für die bereichernden, sachlichen Diskussionen, das prüfende und ausbessernde Auge und seine stete Bereitschaft diese Arbeit unter seiner wissenschaftlichen Leitung zu finalisieren.

Herrn Prof. em. Dr. rer. nat. J. Woffgramm bin ich zu Dank verpflichtet für die Auswahl des Themas, die Begleitung der ersten wissenschaftlichen Gehversuche und die EDV- und Statistik-Betreuung.

Herrn Dr. Jens Furkert vom Leibniz Forschungsinstitut für molekulare Pharmakologie (FMP) danke ich für die Anleitung und technische Unterstützung bei der Durchführung und Auswertung der β -Endorphin-RIA.

Dem Tierpfleger-Team des Instituts für Neuropsychopharmakologie der Freien Universität Berlin gilt ein großes Wort des Dankes für die sachkundige Unterstützung beim Umgang mit den Versuchstieren.

Mein Dank gehört auch *Frau Alexandra Manger* für die Hilfe bei der Übersetzung ins Englische und *Frau Ursula Reinhart* für die gewissenhafte Durchsicht der Endversion.

Mein besonderer Dank geht an *Frau Dr. med. Kati Jordan*, die immer an mich glaubte und mir unzählige Male den Freiraum geschaffen hat, der mir den Abschluss dieser Arbeit ermöglichte.