

2 Literaturübersicht

2.1 Angst

2.1.1 Das Angstphänomen beim Menschen

Angst ist das beim Erleben oder der Vorstellung einer unüberwindlich erscheinenden Bedrohung auftretende Gefühl des existentiellen Bedrohtseins, das von vegetativen Symptomen begleitet wird und im Gegensatz zur Furcht nicht objektgerichtet ist (Roche Lexikon Medizin, 1984). Sie ist ein häufig vorkommender und normaler emotionaler Zustand mit erhöhter Wachsamkeit und Erregbarkeit, ausgelöst durch eine unbekannte oder vermeintliche Gefahr in der näheren Umgebung (Belzung, 1995). Angst gehört zu den Schutzmechanismen eines jeden Individuums und warnt dieses vor Gefahren. Bei manchen Menschen ist die Angstantwort unproportional zur Art und Größe des Reizes (Belzung, 1995). Die Folge können schwere Angstzustände mit Übergang in depressive Zustände sein. Ungefähr 5-10 Prozent der Weltbevölkerung leidet an leichteren Formen der pathologischen Angst oder Angststörungen, ohne daß tägliche Routineabläufe beeinflußt werden, z.B. in Form von Panikattacken, posttraumatischen Streßanfälligkeiten oder generalisierter Angst. Es wird vermutet, daß spezifische menschliche Angstzustände eine unangemessene Reaktion bzw. eine Fehlaktivierung verschiedener Stufen des normalen angepaßten Abwehrverhaltens widerspiegeln (Deakin und Graeff, 1991; Marks und Nesse, 1994).

Die somatischen Krankheitssymptome werden durch eine akute Erhöhung des Sympathikotonus verursacht. Tachykardie, Blutdrucksteigerung, Schweißausbruch, Muskelzittern etc. sind die Folge und können im Sinne eines *circulus vitiosus* zur Potenzierung der Angst beitragen (Seiferle, 1960). Ungelöst ist bislang die Frage, ob unterschiedliche Angstformen auf diskreten neurobiologischen Mechanismen beruhen (Lister, 1990).

2.1.2 Das Angstphänomen beim Tier

Grundsätzlich ist Angst beim Tier ein Schutzmechanismus. Dieser ermöglicht es dem Tier, durch Anpassung der Körperfunktionen angemessen auf den angstausslösenden Reiz zu reagieren (*fight- oder flight-Reaktionen*). Typische sympathikotone Symptome sind häufiger geringfügiger Kot- und Harnabsatz, Harnträufeln (sogenanntes Schreckurinieren), Schweißausbruch, Zittern, Sträuben des Felles, forcierte Herzaktion und weit geöffnete Augen, Nasenlöcher und Maul (Seiferle, 1960). Daneben können folgende Verhaltensauffälligkeiten beobachtet werden: unbedachtes Vorwärtsstürmen, abnormales Zusammendrängen, Übereinanderklettern, Angstbeißen (Drawer und Ennulat, 1977; Lorz, 1987) und Angstimmobilität (*freezing*)

(Anderson, 1987). Möglich sind zudem verschiedene Lautäußerungen. Bei Ratten werden sie als Angstäußerung angesehen und liegen im Frequenzbereich des Ultraschalles zwischen 20-30 Kilohertz (Noirot, 1972). Enger gefaßt wird der Frequenzbereich zwischen 22-28 Kilohertz als Signal gegenüber Eindringlingen und als Warnsignal für andere Ratten (Miczek et al., 1995). Sie werden in einer Reihe von gefährlichen Situationen emittiert, wie zum Beispiel bei der Separation von Rattenbabies von ihrer Mutter (Gardner, 1995) oder der Anwesenheit eines Eindringlings (Blanchard et al., 1991b).

2.1.3 Klassifizierung der Angst

Grundsätzlich kann man sowohl beim Menschen als auch beim Tier zwei Angstformen unterscheiden. Erstens die Charakterangst (trait-anxiety), die als fortdauernde Charaktereigenschaft eines Individuums angesehen wird und sich nicht von Moment zu Moment ändert. Zweitens die Stadiumsangst (state-anxiety), die ein Individuum zu einem bestimmten Zeitpunkt empfindet und die durch einen bedrohenden Reiz gesteigert wird (Lister, 1990; Belzung, 1995). Im klinischen Alltag werden unterschiedliche Systematiken zur diagnostischen Einteilung der pathologischen Zustände des Angstepfindens beim Menschen verwendet. Die Weltgesundheitsorganisation (WHO) gliedert in ihrer Einteilung, der ICD-10 (International Criteria of Diagnostics), angstassoziierte Krankheiten wie folgt: Panikzustände, Angstzustände und Phobien als Neurosen, Angst und Furcht als Ausdruck einer Anpassungsstörung, abnorme Angst bei Isolierung sowie Angst als emotionale Störung im Kindes- und Jugendalter (World Health Organisation, 1992). Die amerikanische psychiatrische Vereinigung (American Psychiatric Association) nimmt in ihrer Klassifikation, dem DSM-IV (Diagnostics and Statistical Manual of Psychiatric Disorders), eine Unterteilung in Angststadien (Panik, generalisierte Angstzustände und Zwangs- und Besessenheitsstörungen), Phobien und posttraumatische Streßanfälligkeiten vor (American Psychiatric Association, 1994). Hauptunterschiede der konkurrierenden Klassifizierungen liegen in der Sichtweise der Panik und Agoraphobie (Edwards, 1991).

Für die Klinik wurden verschiedene Bewertungsskalen entwickelt, um dem Arzt eine Einordnung des Patientenzustandes in eine der zur Verfügung stehenden Klassifizierungen und somit eine adäquate Therapie zu ermöglichen. Die gebräuchlichsten Skalen sind die von Hamilton 1959 entwickelte HAM-A-Angstskala (14-item Anxiety Scale), die CGI-Skala (Clinical Global Impression Severity of Illness) (Kramer et al., 1995), die PGI-Skala (Physicians Global Improvement Scale) (Sheehan, 1980) und die PSS-Skala (Panic Symptoms Scale) (Van Megen et al., 1997).

Diese Uneinheitlichkeit in der Bewertung und Klassifizierung menschlicher angstinduzierter Verhaltensweisen gibt einen Einblick in die Problematik, die sich beim experimentellen Arbeiten mit Tieren zur Erforschung angstassoziierter Verhaltensweisen stellen. Während beim Menschen durch Mitarbeit der Patienten eine genauere Differenzierung der individuellen Angstform weitgehend möglich ist, können in Tiermodellen nur Verhaltensäußerungen und ethologische Komponenten zur Interpretation von Versuchsergebnissen herangezogen werden.

2.1.4 Tiermodelle / Modelle der Angst

Um die Grundmechanismen der Angst zu erforschen und Substanzen zu untersuchen, die Angst induzieren oder abschwächen können, sind etliche Tiermodelle entwickelt worden (Übersichten bei Rodgers et al., 1997a; Lister, 1990; Lal und Emmett-Oglesby, 1983). Tiermodelle der Angst basieren auf der Präsentation eines Stimulus, der entweder exterozeptiven oder enterozeptiven Ursprungs ist. In beiden Fällen wird die von der Angst abhängige Variable mit dem Auftreten eines offensichtlichen Verhaltens gekoppelt, das sich durch den Stimulus ändert. Die meisten dieser Modelle sind Varianten von Bestrafungsprozeduren (klassische Modelle) und intuitiv an das Gedankenmodell der Angst beim Menschen gekoppelt (Lal und Emmett-Oglesby, 1983).

Bei der Anwendung von Tiermodellen ist zu beachten, daß die Ergebnisse streng genommen nur für die Kriterien interpretiert werden, die dem Modell zugrunde liegen (Overmier und Patterson, 1988). Eine pharmakologische Validierung von Tiermodellen der Angst erfolgt durch Substanzen, die beim Menschen bekannte anxiolytische bzw. anxiogene Wirkungsprofile haben. Für die Anxiolyse waren es in der Regel Stoffe aus der Substanzklasse der Benzodiazepine, die allerdings in hohen Dosen sedative, antikonvulsive und zentral muskelrelaxierende Eigenschaften besitzen (Green und Hodges, 1991). Seitdem die klinische anxiolytische Wirksamkeit von Buspiron bekannt ist (Glaser und Traber, 1985), dessen klinisches Wirkungspotential anfangs unterschätzt wurde (Goa und Ward, 1986), erfolgt heute eine teilweise Revalidierung bekannter Tiermodelle der Angst mit dieser Substanz (Rodgers, 1997). Es zeigte sich, daß Anxiolytika der Klasse der Benzodiazepine sehr beständige Effekte in konditionierten Modellen liefern, die auf Verhaltensweisen wie Schreckimmobilisation, Erschrecken, Vergraben beruhen, im Gegensatz zu Modellen, die Flucht als Verhaltensantwort beinhalten (Green und Hodges, 1991; Sanger et al., 1994; Treit, 1994). Der Agonist des serotonergen 5-HT_{1A}-Rezeptors Buspiron ist, mit Ausnahme der traditionellen Konflikttests und im speziellen dem Geller-Seifter-Test, gleichfalls wirksamer in Modellen, die keine Fluchtreaktionen beinhalten (Sanger et al., 1994; Barret und Vanover, 1993; Treit, 1994; Griebel, 1995). Neben diesen Beobachtungen ist es erwähnenswert, daß im Hippokampus, einer

Gehirnstruktur die wichtig ist für die Analyse von Gefühlen, eine hohe Konzentration an postsynaptischen 5-HT_{1A}-Rezeptoren gefunden wurde (Pazos et al., 1987) und daß intrahippokampal appliziertes Buspiron in gleicher Weise wirkt wie Serotonin, indem es die Feuerungsrate von hippokampalen Pyramidenzellen hemmt (Rowan und Anwyl, 1987). Desweiteren wurde eine signifikante Korrelation zwischen hippokampalen Diazepam-Konzentrationen und der anxiolytischen Aktivität festgestellt (Campbell et al., 1980). Diese Ergebnisse sprechen für ein signifikantes Maß an Übereinstimmung zwischen Benzodiazepinen und Buspiron bei deren Wirkungsweise in Tiermodellen.

Tiermodelle der Angst wurden bis vor ein paar Jahren unterteilt in solche, die konditioniertes Verhalten beinhalten, und jene, die auf spontanen oder nicht-konditionierten Antworten beruhen (File, 1992; Green und Hodges, 1991; Lister, 1990; Rodgers und Cole, 1994; Treit, 1985).

Tier- (Verhaltens-) modelle der Angst	
Konditionierte Antworten	Nicht-konditionierte Antworten
<p>a.) <u>Konflikt-Tests</u> Geller-Seifter-Konflikt-Test Tauben- und Affen-Konflikt-Test Vogels bestrafes Trinken</p> <p>b.) <u>Andere Tests</u> Aktive-, Passive-Vermeidung Konditionierte emotionale Antworten (CER) Konditioniertes unterdrücktes Trinken (CSD) Konditionierte Ultraschall-Vokalisation Konditioniertes defensives Vergraben dPAG-induzierte Flucht Angst potenziertes Erschrecken Bestrafte Lokomotion</p>	<p>a.) <u>Explorationstest</u> Elevated-plus-maze-Test Freie-Erkundung Hell-, Dunkel-Erkundung Open-field Treppentest Zero-maze</p> <p>b.) <u>Sozialverhaltenstests</u> Separationsinduzierte Ultraschall-Vokalisation Soziale Konkurrenz Soziale Interaktion</p> <p>c.) <u>Anti-Eindringling-Tests</u> Angst-, Abwehr-Testbatterie Furcht-, Abwehr-Testbatterie Menschliche Bedrohungsstests für Primaten Abwehr-Testbatterie bei Mäusen</p> <p>d.) <u>Andere Tests</u> Angebot unbekanntes Futters Schmerzinduzierte Ultraschall-Vokalisation Verhaltensantwort auf Erschrecken</p>

Tab. 2-1 Aufzählung einiger allgemein gebräuchlicher Tiermodelle der Angst (angepaßt an Rodgers und Cole, 1994; Griebel, 1995).

Jede dieser beiden Kategorien kann noch weiter unterteilt werden in Modelle, welche Verhaltensantworten unterdrücken bzw. Modelle die solche Antworten provozieren (Handley, 1991). Obwohl Modelle, die auf nicht-konditionierten Verhaltensweisen (z.B. Spontanverhalten) beruhen, einfacher durchzuführen sind, da die Versuchstiere kein Training benötigen und weniger empfänglich sind für Einflüsse, die aus Erinnerungs- und Motivationsprozessen

herrühren, ist das Spektrum der zu beobachtenden Verhaltensmuster der Tiere umfangreicher. Daher besitzen diese Modelle ein höheres Maß an ethologischer Validität (Rodgers, 1997).

Das Open-field und der Elevated-plus-maze-Test sind zwei Tiermodelle die auf nicht-konditionierten Verhaltensweisen basieren. Mit diesen Modellen werden typischerweise spontane explorative Verhaltensmuster von Individuen verschiedener Tierarten untersucht, die einer fremden Umgebung ausgesetzt sind, wobei diese Umgebungen Bereiche relativer Sicherheit beinhalten. Der Hauptunterschied dieser beiden Modelle liegt darin, daß die Versuchstiere auf dem Elevated-plus-maze auf die zentrale Plattform (siehe Abb. 3-4) aufgesetzt werden, die von den Tieren die Entscheidung abverlangt, ob sie in einen der offenen Arme oder in einen der sicheren, geschlossenen Arme laufen.

2.1.4.1 Konflikt-Test (Open-field)

Der von Hall 1934 entwickelte Open-field-Test wurde seitdem wegen seines geringen Aufwandes oft verwendet. Beim Open-field handelt es sich um eine große, weite und von Wänden umgebene Fläche. Das Testprinzip basiert auf der Kombination der natürlichen Angst von Nagern vor offenen Flächen verbunden mit einer Neophobie (Crawley, 1981).

Es wurden verschiedene Vorschläge für die Hauptanzeichen gemacht, die als sichtbares und erfaßbares Verhalten die vom Tier erlebte Angst widerspiegeln sollen: Urinieren und/oder Defäkation kombiniert mit geringer lokomotorischer Aktivität (Hall, 1934; Broadhurst, 1960a; Denenberg, 1969; Royce, 1977; Gray, 1979). Viele Untersucher stehen jedoch der Lokomotion als Maß der Angst kritisch gegenüber, da sie nach ihrer Meinung nicht vom Erkundungsverhalten (Exploration) der Tiere zu trennen ist (Sheldon, 1968; Kumar et al., 1970; Robbins, 1977; File, 1985b). Ein gutes Maß scheinen die von Hall (1934) propagierte Annäherung zur Futteraufnahme bzw. die aufgenommene Futtermenge während des Versuchs (Britton und Britton, 1981) sowie die Aufenthaltsdauer in einem definierten Zentrumsbereich der offenen Fläche, entfernt von den schützenden Wänden (Crawley und Goodwin, 1980), zu sein. Beachtet werden muß jedoch, daß sich die Verhaltensweise der Tiere als Antwort auf eine Substanzapplikation qualitativ ändert, wenn sie schon einmal in der Versuchsanordnung getestet wurden (Christmas und Maxwell, 1970) und sobald sich die Größe der Testarena oder die Umgebungsbeleuchtung ändert (Walsh und Cummings, 1976).

Bei der Durchführung des Konflikt-Tests werden naive Tiere verwendet, die für einen gewissen, noch physiologischen Zeitraum vor dem Versuch gefastet haben. Diese werden in einen Randbereich des Open-field eingebracht, in dessen Zentrum Futter angeboten wird. Für die Tiere entsteht nun der Konflikt, die Angst vor offener Fläche zu erdulden, um ihr Hungergefühl zu

befriedigen. Der Konflikt-Test stellt eine effektive Kombination von verschiedenen Kriterien dar, die in Versuchen mit dem Open-field entwickelt wurden (Rex et al., 1993).

2.1.4.2 Elevated-plus-maze-Test

Montgomery (1955) beschrieb die Versuchsanordnung des Y-maze als eine über das Bodenniveau erhöhte (60 cm), ypsilonförmige horizontale Lauffläche. Dieses Y-maze vereint in sich die für Nagetiere typische Neophobie und ihre Höhenangst. Handley und Mithani (1984) modifizierten den Test und entwickelten daraus den Elevated-plus-maze-Test, der auf denselben Grundlagen beruht, jedoch eine kreuzförmige horizontale Lauffläche benutzt. Zusätzlich sind bei zwei Armen dieses Laufkreuzes Wände angebracht (geschlossene Arme), die den Tieren ein Gefühl der Sicherheit vermitteln sollen. Auf den offenen Armen ohne Wände kommt hingegen die Höhenangst der Tiere zur vollen Ausprägung. Seit der Validierung des Testes für Ratten (Pellow et al., 1985) und Mäuse (Lister, 1987a) ist es das am häufigsten verwendete Angstmodell bei Nagetieren. Das Hauptanzeichen für Angst in diesem Test ist das Meiden der offenen Arme der Testarena. Gemessen wird die Angst zum einen über die Länge der Aufenthaltsdauer auf den offenen Armen bezogen auf die Gesamtversuchsdauer, zum anderen anhand der Anzahl der Eintritte in die offenen Arme, angegeben als prozentualer Anteil der Gesamteintritte in offene und geschlossene Arme zusammen (Pellow et al., 1985; Pellow und File, 1986; Rodgers und Cole, 1994). Beide Parameter sind stark voneinander abhängig (Pellow et al., 1985; Lister, 1987a). Zur Zeit ist noch unklar, welches der dominierende Angstfaktor dieses Testes ist, die Angst von Nagetieren vor offenen Flächen oder ihre Angst vor der Höhe oder eine Kombination aus beiden. Mit dem Elevated-plus-maze-Test können sowohl anxiolytische (File und Pellow, 1985; Pellow et al., 1985) als auch anxiogene (Handley und Mithani, 1984; File und Pellow, 1985; Pellow et al., 1985) Wirkungen von Substanzen beurteilt werden. Bei allen Angstmodellen, denen spontane Verhaltensweisen zu Grunde liegen, werden anxiogene bzw. anxiolytische Wirkungen von Substanzen durch die numerische Auswertung von Verhaltensweisen beurteilt. Beim Elevated-plus-maze-Test erfolgt die Beurteilung der Substanzwirkung anhand der lokomotorischen Aktivität der Tiere, das bedeutet im Einzelnen die Anzahl der Wechsel der Tiere von einem der Kompartimente (offener Arm, geschlossener Arm und Zentralplattform) des Elevated-plus-maze in ein anderes (Gesamteintritte). Obwohl Studien zeigen (File, 1992; Cruz et al., 1994; Holmes und Rodgers, 1996), daß für Ratten und Mäuse die Anzahl der Eintritte in die geschlossenen Arme die lokomotorische Aktivität der Tiere genauer widerspiegelt als die Anzahl der Gesamteintritte in die offenen und geschlossenen Arme, wird die Gesamtlokomotion am häufigsten als Kontrollparameter erfaßt. Häufig werden allerdings überhaupt keine Angaben

über allgemeine lokomotorische Aktivitäten gemacht. Eine Weiterentwicklung des Elevated-plus-maze stellt das Elevated-zero-maze (O-maze) dar (Shepherd et al., 1994), das aus einer erhöhten, kreisförmigen Lauffläche besteht, die teilweise von schützenden Wänden flankiert wird.

Da festgestellt wurde wie stark der Einfluß von methodischen Variablen auf die Versuchsergebnisse ist (Christmas und Maxwell, 1970; Walsh und Cummings, 1976; Rex et al., 1993), wurden in den letzten Jahren mehrere Tests entwickelt, welche die gleichen methodischen Variablen wie der Elevated-plus-maze-Test verwenden, die Unentschlossenheit der Tiere und das Erkundungsverhalten. Dazu gehören der Treppentest (Thiebot et al., 1973; Simiand et al., 1984, Emmanouil und Quock, 1990) und der Marbel-Burying-Test (Njung`e und Handley, 1991). Bei diesen Tests steht eine ausführliche pharmakologische Validierung allerdings noch aus.

2.1.4.3 Übertragbarkeit von tierexperimentellen Ergebnissen auf den Menschen

Es wird immer wieder diskutiert, ob die in Tiermodellen gewonnenen Ergebnisse ohne weiteres auf den Menschen übertragen werden können (Stephens, 1997). Es kann nicht a priori davon ausgegangen werden, daß die im Tiermodell beobachtete Angstform exakt derjenigen beim Menschen entspricht (Lister, 1990). Rodgers (1997) unterscheidet bei der Interpretation von Ergebnissen aus Tiermodellen verschiedene Gültigkeiten, denen diese Modelle entsprechen sollten. Zum einen gibt es Tests, die als Labortests dienen und die sensitiv gegenüber etablierten Anxiolytika sind. Diese werden verwandt, um die Wirkung potentieller Medikamente zu testen und liefern eine pharmakologische oder Voraussagegültigkeit (predictive validity). Zum anderen gibt es Tests, die Elemente der Angst beinhalten. Diese Tests haben eine widerspiegelnde Gültigkeit (face validity), bei der die auftretenden Verhaltensantworten analog zu menschlichen Reaktionen unter vergleichbaren Umständen sind und möglicherweise auch eine Planungsgültigkeit (construct validity) besitzen, die es erlaubt, bestimmte beim Menschen auftretende Angstformen, im Tiermodell zu provozieren (Bergman und Paronis, 1997).

In der Art und Weise, wie Menschen auf angstinduzierende Situationen reagieren, scheinen sozio-kulturelle Faktoren eine Rolle zu spielen (Kanfer, 1985; Good and Kleinman, 1985; Tan, 1988). Kulturelle Faktoren könnten auch eine wichtige Rolle in den geschlechtsspezifischen Unterschieden im Hinblick auf das Auftreten von Angstzuständen spielen (z.B. Raguram and Bhide, 1985; Showalter, 1985). Bei Nagern sind Weibchen in einer Anzahl von Angsttests weniger ängstlich als Männchen (siehe Gray, 1979; Farabollini et al., 1987). Abgesehen von Einflüssen aus der Umwelt (exterozeptiv), die in das Antwortverhalten auf bestimmte angstinduzierende Situationen einfließen, wird vermutet, daß menschliche Angstzustände durch

eine Fehlfunktion des normalen Abwehrverhaltens hervorgerufen werden. Somit würden definierte Ausprägungen der Angst verschiedene Stufen im Ablauf des Abwehrverhaltens widerspiegeln (Deakin und Graeff, 1991; Marks und Nesse, 1994). Ein weiteres schwer zu erklärendes Problem ist die Frage, ob der Unterschied in den kognitiven Fähigkeiten zwischen Mensch und Tier zu qualitativen Unterschieden im angstassoziierten Verhalten führt (Overmier und Patterson, 1988). Immobilisation und Starre sind Verhaltensäußerungen, die bei Nagern und Affen als Antwort auf sozialen Streß oder Gefahr beobachtet wurden. Diese Verhaltensweisen werden als Äquivalent zur menschlichen Angst oder Panik angesehen (Bolles und Fanselow, 1980; Friedman et al., 1987).

Bis heute ist es schwer, eine konkrete Zuordnung von bei Tieren auftretenden verhaltensmäßigen Angstantworten in einem bestimmten Verhaltenstest zu einer definierten pathologischen Angstform beim Menschen zu treffen. Einige Vorschläge wurden gemacht. So sollen Risikoabschätzung, potenziertes Erschrecken und defensiver Bedrohungsangriff dem generalisierten Angstzustand beim Menschen entsprechen (American Psychiatric Association, 1994). Konstante Besorgnis, in Abwesenheit einer sichtbaren Bedrohung, soll gleichzusetzen sein mit einem erhöhten Muskeltonus respektive mit übertriebenem Erschrecken oder Irritiertsein. Panikattacken, die mit einem starken Fluchtangst einhergehen, sollen gut durch Fluchtantworten beim Tier charakterisiert werden (American Psychiatric Association, 1994).

Es bleibt allerdings zu klären, ob grundlegende neurobiologische Mechanismen, die dem Abwehrverhalten zu Grunde liegen, sich in pathologischen Angstzuständen äußern oder ob nur eine Fehlaktivierung dieser Abwehrverhaltensweisen in Patienten, die an pathologischen Angstzuständen leiden, stattfindet (Stephens, 1997).

Durch eine stärkere Bewertung von defensiven Verhaltensmustern im Tiermodell sollen eine verbesserte Testvalidierung erreicht und eine rationale Basis für eine Modellauswahl für die Arzneimittelentwicklung geschaffen werden (Rodgers, 1997).

2.1.5 Medikamentöse Angsttherapie

Nachdem Sigmund Freud 1884 seinen Artikel „Über Coca“ veröffentlichte, wurde Kokain weltweit als angst- und depressionslösendes Mittel eingesetzt. Am Ende des 19. Jahrhunderts wurde es so häufig verordnet wie derzeit Diazepam (Snyder, 1990). Zu Beginn dieses Jahrhunderts wurden Barbiturate verwendet, um psychische Übererregtheit zu dämpfen. Barbiturate lösen jedoch nicht die Angst selbst, sondern überdecken sie durch Schlaf, den sie hervorrufen. Wegen der Suchtgefahr, der geringen therapeutischen Breite und vor allem der fehlenden anxiolytischen Wirkung sind sie für die therapeutische Behandlung von

angstassoziierten Krankheiten nicht geeignet. Mit Entwicklung der Benzodiazepine (BDZ) Anfang der 60er Jahre gelang ein Durchbruch. Mit ihnen ließen sich Angstzustände erfolgreich und mit einer größeren therapeutischen Breite behandeln, ohne große sedierende Effekte hervorzurufen. Mit den BDZ konnte erstmals gezeigt werden, daß Anxiolyse unabhängig von Schlafinduktion möglich ist und daher die zerebralen Strukturen, die den Wachheitsgrad regulieren, verschieden von dem „Angstsystem“ des Gehirns sein müssen (Snyder, 1990). BDZ-Derivate wie Chlordiazepoxid und Diazepam sind seit über 30 Jahren Mittel der Wahl bei der klinischen Behandlung von pathologischen Angstzuständen. Dies gilt sowohl für die Behandlung von plötzlich auftretenden Panikattacken als auch für die Behandlung von chronischen pathologischen Angstzuständen (NIH, 1991).

BDZ sind nicht bei allen Patientengruppen effektiv (Nutt, 1990). Zudem muß mit dem Auftreten von Nebenwirkungen wie Sedation, Ataxie (v.a. Clonazepam), Myorelaxation, anterograder Amnesie (v.a. Midazolam) sowie Toleranz und Abhängigkeit gerechnet werden. Andererseits werden die in der Behandlung von Angstzuständen eingesetzten Verbindungen Oxazepam und Medazepam in derart niedrigen Dosen verabreicht, daß ihre hypnotischen, muskelrelaxierenden und antikonvulsiven Eigenschaften nicht in Erscheinung treten (Forth et al., 1987). So wird Medazepam als sogenannter Tagestranquillizer ohne große sedierende Effekte in der Therapie eingesetzt. Wegen der möglichen Nebenwirkungen wird nach neuen Therapieansätzen gesucht. Zunächst wurden Substanzen untersucht, die am Benzodiazepin-Rezeptorkomplex angreifen, aber eine selektive anxiolytische Wirkung haben. Von ihnen wurde angenommen, daß sie entweder an einem Benzodiazepin-Rezeptorsubtyp und/oder als partieller Agonist wirksam sind (Sanger et al., 1994; Stephens et al., 1992). Ein weiterer Ansatz ist die Beeinflussung des serotonergen Transmissionssystems. Studien zeigen, daß Substanzen mit einer agonistischen Wirkung am 5-HT_{1a}-Rezeptorsubtyp (z.B. Buspiron, Ipsapiron, Gepiron, Tandospiron) bei Tieren und Menschen anxiolytisch wirksam sind (Taylor und Moon, 1991). Weiterhin wurden Substanzen, die am 5-HT₂- (z.B. Ritanserin) und am 5-HT₃-Rezeptorsubtyp (Ondansetron, Granisetron, Tropisetron) wirksam sind, ein anxiolytisches Potential zugeschrieben (Barret und Vanover, 1993; Costall und Naylor, 1992; Handley, 1994).

Andere Ansätze für die Entwicklung von anxiolytisch wirksamen Substanzen bilden vorklinische Studien insbesondere mit exzitatorischen Aminosäuren (Kehne et al., 1991; Plaznik et al., 1994), an dem Cortikotropin Releasing Faktor (CRF) (Koob et al., 1993; Heinrichs et al., 1994; Stenzel-Poore et al., 1994), an dem Neuropeptid Y (Heilig et al., 1993; Wahlestedt et al., 1993) und

neuroaktiven Steroiden (George et al., 1994; Melchior und Ritzmann, 1994). (Übersicht bei Jordan et al., 1996).

Einen anderen Ansatz bei der Untersuchung der Mechanismen von Angstzuständen bilden die pharmakologischen Eigenschaften des Neuropeptids Cholecystokinin. Für Cholecystokinin-Antagonisten sind bisher keine Anzeichen für Toleranz oder Abhängigkeit nach chronischer Gabe beschrieben (Woodruff und Hughes, 1991). Auch sedierende Effekte wurden nicht beobachtet.

2.2 Cholecystokinin

2.2.1 Geschichtlicher Überblick

Nach der Entdeckung einer Substanz in der duodenalen Schleimhaut des Hundes, die bei der Nahrungsaufnahme freigesetzt wird und die Gallenblase zur Kontraktion bringt (Ivy und Oldberg, 1928), begann die Geschichte der Erforschung des Cholecystokinins (CCK). 1943 wurde von Harper und Raper eine Substanz beschrieben, die aus Duodenum gewonnen wurde und die Pankreasenzymsekretion stimuliert. Diese Substanz wurde Pankreozymin (PZ) benannt. Nach Reinisolierung und Sequenzierung gelang der Nachweis, daß CCK und PZ identisch sind (Jorpes und Mutt, 1966). Bis in die Mitte der 70er Jahre wurde CCK als ein aus 33 Aminosäuren (AS) bestehendes, gastrinähnliches Hormon angesehen (Jorpes und Mutt, 1966), das ausschließlich bei der Nahrungsaufnahme eine Rolle spielt (Jornvall et al., 1982). Diese Sichtweise änderte sich nach dem Nachweis von gastrinähnlichen Immunreaktionen im Gehirn von Ratten (Vanderhaeghen et al., 1975) und der Identifizierung des C-terminalen Oktapeptids des CCK (CCK-8) als dem verantwortlichen Liganden (Dockray, 1976). Dockray und Mitarbeitern gelang 1978 auch der endgültige Nachweis des Vorkommens von CCK im ZNS durch Isolierung von CCK-8 aus Schafgehirnen.

(Übersichten zu CCK bei Albus, 1988; Mutt, 1980; Walsh, 1987; Crawley und Corwin, 1994; Rodgers und Johnston, 1996)

2.2.2 Molekulare Formen und Vorkommen von CCK

Neben der gastrointestinalen Form des Peptids (CCK-33) existieren noch weitere biologisch aktive Formen. Nachgewiesen wurden CCK-33 und CCK-8 bei Schwein, Ratte, Huhn, Chinchilla, Hund und Mensch (Eysselein et al., 1984; Fan et al., 1987; Maton et al., 1982; Rehfeld, 1978). CCK-39 wurde bei Schwein (Mutt, 1980), Hund (Eysselein et al., 1984) und Meerschwein (Dockray et al., 1981), CCK-58 bei Katze, Hund und Mensch gefunden (Eberlein et al., 1988). Dazu kommen homologe Peptide unterschiedlicher Kettenlängen (4 bis

47 AS) in teils sulfatierter (s), teils unsulfatierter (us) Form bei verschiedenen Spezies (Ellinwood et al., 1983; Rehfeld, 1992; Deschens et al., 1984; Dockray, 1992; Maton et al., 1982). Dabei bilden die längeren Peptide die inaktiven Vorstufen (Propeptide) für die kürzeren, biologisch aktiven Formen (Beinfeld und Ciarleglio, 1985). Von Bedeutung sind CCK-8s, CCK-8 und CCK-4, die bei den längeren Peptiden die C-terminale Tetra- bzw. Oktapeptidsequenz bilden, welche für die biologische Aktivität entscheidend ist.

Fragment	Aminosäuresequenz
Cionin	H-Asn-[Tyr(SO ₃ H)] ₂ -Gly-Trp-Met-Asp-Phe-NH ₂
Caerulein	Pyr-Glu-Asp-Tyr(SO ₃ H)-Thr-Gly-Trp-Met-Asp-Phe-NH ₂
Gastrin-13	H-Leu-(Glu) ₅ -Ala-Tyr(SO ₃ H)-Gly-Trp-Met-Asp-Phe-NH ₂
CCK-33	Lys-Ala-Pro-Ser-Gly-Arg-Val-Ser-Met-Ile-Lys-Asn-Ley-Gln-Ser-Ley-Asp-Pro Ser-His-Arg-Ile-Ser-Asp-Arg-Asp-Tyr(SO ₃ H)-Met-Gly-Trp-Met-Asp-Phe-NH ₂
CCK-8s	Asp-Tyr(SO ₃ H)-Met-Gly-Trp-Met-Asp-Phe-NH ₂
CCK-4	Trp-Met-Asp-Phe-NH ₂
CCK-8us	Asp-Tyr-Met-Gly-Trp-Met-Asp-Phe-NH ₂

Tab. 2-1 Aminosäuresequenzen der wichtigsten CCK-Fragmente und einiger verwandter Peptide mit Markierung der homologen AS-Sequenz.

Das C-terminale Tetrapeptid ist die kürzeste Form mit biologischer Aktivität (Rehfeld, 1992). Die spezifische Funktion der N-terminalen Sequenzen ist noch ungeklärt (Eng et al., 1983). Sie könnten die Bindung der C-terminalen Enden an den Rezeptoren modulieren (Rehfeld et al., 1985) oder als Wegweiser für die biologisch aktiven Sequenzen in die intrazellulären Kompartimente dienen, welche dann in den sekretorischen Vesikeln gespeichert werden können (Beinfeld und Ciarleglio, 1985). Die Bedeutung der Stellung des sulfatierten Tyrosinrestes ist dagegen unumstritten. Dieser Tyrosinrest wird für die biologische Wirksamkeit der Peptide als essentiell angesehen (Nieber et al., 1987).

2.2.3 Anatomische Verteilung

CCK kommt sowohl im zentralen und peripheren Nervensystem als auch in peripheren Organen vor. Dockray und Mitarbeiter wiesen 1981 darauf hin, daß eine Passage von kurzkettigen CCK-Fragmenten durch die Blut-Hirn-Schranke (BHS), einer einschichtigen Lage bestehend aus Gehirndothel- und Ependymzellen (Banks und Kastin, 1996), nicht ausgeschlossen werden kann und daß CCK intraneuronal im Nervus vagus transportiert wird.

Peptide, die Verhaltensantworten hervorrufen, können mit der BHS interagieren. Melanokortine z.B. können sowohl die BHS passieren als auch die Permeabilität der BHS für andere Substanzen beeinflussen. Die BHS sollte nicht länger als statische Barriere, sondern mehr als regulatorisches Zwischenstück gesehen werden, das den Austausch von Informationsmolekülen zwischen Blut und ZNS kontrolliert (Banks und Kastin, 1996).

Grundsätzlich erfolgt die Passage durch die BHS über zwei Hauptmechanismen, zum einen über eine transmembranäre gesättigte Diffusion und zum anderen über einen selektiven gesättigten Transport (Banks und Kastin, 1996). Die Passage von Peptiden durch die BHS wurde bisher nur im Zusammenhang mit fütterungs- und alkoholassozierten Verhaltensweisen untersucht (Banks und Kastin, 1996).

Obwohl bisherige Ergebnisse vermuten lassen, daß eine Korrelation besteht zwischen Zerebrospinalflüssigkeit- (CSF) und Serum-CCK-Konzentrationen (Banks, 1980), scheint diese nicht auf einer direkten Passage von CCK zu beruhen (Passaro et al., 1982).

2.2.3.1 Periphere Organe

In peripheren Organen gelang der Nachweis hoher Konzentrationen CCKerger Immunoreaktivität im Duodenum und Jejunum von Menschen, Hunden und Ratten (Soll et al., 1985). Außerdem findet sich CCK in Zellen des übrigen Darms (Soll et al., 1985), in den endokrinen Parietalzellen des Magens (Polak et al., 1975; Walsh, 1987) und in den Magennerven (Schultzberg et al., 1980). Im männlichen Reproduktionssystem wurden hohe CCK-Konzentrationen in den Hoden, den peripheren Anteilen der Tubuli seminiferi und den akrosomalen Granulae von Affen Spermatisden und Spermatozoen, aber auch in ejakuliertem menschlichen Sperma gefunden (Pelto-Huikko et al., 1989; Persson et al., 1989; Schalling et al., 1990). Beim Menschen wurde es im Plasma nachgewiesen (Walsh et al., 1982).

2.2.3.2 Nervus vagus

Dockray und Mitarbeiter (1981) wiesen sowohl einen zentripetalen als auch zentrifugalen Transport von CCK im Nervus vagus mit einer Geschwindigkeit von ca. 10 mm pro Stunde nach. Außerdem konnten sie die Existenz von CCK_A- und CCK_B-Rezeptoren auf dem Nervus vagus zeigen. Diese Ergebnisse wurden 1992 von Lin und Miller bestätigt.

2.2.3.3 Zentrale Verteilung

Vor 20 Jahren wurde CCK erstmalig im zentralen Nervensystem von Säugern nachgewiesen (Vanderhaeghen, 1975). Heute wird es allgemein als das am weitesten verbreitete Peptid im zentralen Nervensystem angesehen (Rehfeld, 1992). Die Verteilung von CCK im Säugetiergehirn wurde hinsichtlich Neuroanatomie, Speziesunterschieden und Ontogenese ausführlich untersucht (Beinfeld et al., 1981,1982; Crawley, 1985; Emson et al., 1980; Hökfelt et al., 1988; Lostra und Vanderhaeghen, 1987; Schiffmann et al., 1989).

Obwohl alle kurzkettigen Formen von CCK im ZNS vorkommen, macht CCK-8s den Hauptteil des neuronal vorkommenden CCK aus (Rehfeld und Larsson, 1979; Sauter und Frick, 1983; Marley et al., 1984; Rehfeld et al., 1985). Sequenzspezifische Untersuchungen haben gezeigt, daß CCK im ZNS vor allem in der Form des Oktapeptids CCK-8 und des Tetrapeptids CCK-4 vorkommt (Dockray et al., 1984).

Gut untersucht ist die neuroanatomische Verteilung von CCK, speziell im ZNS der Ratte (Vanderhaeghen, 1975; Hökfelt et al., 1988; Marley et al., 1984; Vanderhaeghen et al., 1980,

1975; Beinfeld und Palkovits, 1981; Lorén et al., 1979; Fallon und Seroogy, 1985). Auch hier wurde CCK in multiplen Strukturen des ZNS gefunden (z.B. Hippokampus, Hirnanhangsdrüse, subkortikalen Vorderhirnbereichen, ventralem Mittelhirn, Kernen des Soltärbündels, ventralem verlängertem Mark u.a.) (Lindefors et al., 1993; Lostra und Vanderhaeghen, 1987; Savasta et al., 1990; Schiffmann et al., 1989). Die höchste Konzentration findet sich in der Großhirnrinde (Rehfeld, 1978).

Auch beim Menschen sind CCK-ähnliche Immunoreaktivität und CCK-mRNA in hohen Konzentrationen in verschiedenen Strukturen des ZNS nachweisbar (Großhirnrinde, Hippokampus, Mandelkernen, Gehirnscheidewand, Claustrum, Pallidum, Substantia nigra etc.) (Lindefors et al., 1993; Lotstra und Vanderhaeghen, 1987; Savasta et al., 1990; Schiffmann et al., 1989). Im menschlichen Thalamus, der Hirnanhangsdrüse, dem Kleinhirn oder dem verlängerten Mark konnte CCK-mRNA dagegen bis heute noch nicht nachgewiesen werden (Lindefors et al., 1993; Savasta et al., 1990).

2.2.4 Kolokalisation und Interaktion mit anderen Neurotransmittern und -peptiden

CCK ist mit anderen Neurotransmittern wie Dopamin in Neuronen der Mandelkerne (Hökfelt et al., 1980; Crawley, 1991), Substanz P im periaquäduktalen Grau (Skirboll et al., 1983,1982) und Spinalganglien (Dalsgaard et al., 1982), Enkephalin im periaquäduktalen Grau und thalamischen Kernen, im Geruchsnerven und in der Großhirnrinde der Ratten kolokalisiert (Gall et al., 1987). Weiterhin ist es zusammen mit γ -Aminobuttersäure (GABA) in Neuronen der Großhirnrinde, des Hippokampus und der Mandelkerne (Harro et al., 1993), mit Oxytocin im Hypothalamus (Vanderhaeghen et al., 1980) und dem Cortikotropin Releasing Faktor in vegetativen Bereichen des Zwischenhirns (Nucleus paraventricularis) zu finden (Mezey et al., 1985).

In der ventralen tegmentalen Area und der Substantia nigra der Ratte konnte in ein und demselben Nerven CCKerge Immunoreaktivität bzw. CCK-mRNA zusammen mit Tyrosin-Hydroxylase-Immunoreaktivität bzw. Tyrosin-Hydroxylase und Tyrosin-Hydroxylase-mRNA nachgewiesen werden (Savasta et al., 1989; Hökfelt et al., 1980b). Diese Neurone projizieren vor allem zum medialen Anteil des Nucleus accumbens (NAC) (Hökfelt et al., 1980b).

2.2.5 Physiologie von CCK

2.2.5.1 Synthese

Die verschiedenen molekularen Formen des Peptids CCK werden von einer 115 AS umfassenden Vorstufe, dem präpro-CCK, abgespalten. 1986 gelang Lund die Aufklärung der DNA-Sequenz des CCK-Precursors bei der Ratte. Posttranslatorische Prozesse, wie die Tyrosinsulfatierung (Beinfeld, 1994), die enzymatische Aufspaltung von Bindungsstellen (Ryder et al., 1980; Malesci, 1980), die Spaltung der C-terminalen Gly-Arg-Arg-Erweiterung, die Amidierung des C-terminalen Phenylalanins, die Abspaltung der N-terminalen Führungssequenz, die Spaltung der Carboxylseite von Arg-74 des pro-CCK (Blanke et al., 1993), die Spaltung zu CCK-58 und kleineren Sequenzen (Turkelson et al., 1990) münden in der Bildung von CCK-8s.

Zu den bei der posttranslatorischen Spaltung beteiligten Enzymen gehört eine Nontrypsin-Protease mit einem Mol.-Gew. von 34000, die CCK-33 zu CCK-12 spaltet (Turkelson et al., 1990).

2.2.5.2 Abbau

Die Spaltung von CCK-8s in inaktive Fragmente erfolgt durch eine membranständige Aminopeptidase, die CCK-8s, CCK-8 und CCK-4 spaltet (Deschodt-Lanckman, 1982). Eine Hauptspaltungsstelle ist die Bindung $\text{Trp}^4\text{-Met}^3$ und eine Nebenspaltungsstelle die Bindung $\text{Tyr}^7\text{-Met}^6$ (Deschodt-Lanckman et al., 1984). Ein weiteres Enzym ist die Enkephalinase, eine membrangebundene neutrale Metalloendopeptidase, die CCK-8 an der $\text{Gly}^5\text{-Trp}^4\text{-}$, $\text{Trp}^4\text{-Met}^3\text{-}$ und $\text{Asp}^2\text{-Phe}^1\text{-}$ Bindung spaltet (Najdovski et al., 1987; Zutzel et al., 1985; Turner et al., 1985; Steardo und Knight, 1985).

Weitere beteiligte Enzyme sind die Serin-Peptidase (Rose et al., 1989), die Aminopeptidase, die als 'ill-characterized acid' bezeichnet wird und die Thiol-Endopeptidase, die CCK-8s in kürzere Sequenzen wie zum Beispiel das CCK-4 aufspalten (Beinfeld et al., 1981; Rehfeld, 1978, Rehfeld et al., 1979).

Diese Prozesse wurden sowohl im ZNS bei Ratten (Frey, 1983) als auch beim Menschen (Rehfeld, 1978) nachgewiesen. Der Abbau der CCK-Fragmente resultiert in der Bildung eines biologisch inaktiven Tripeptids (Met-Asp-Phe), von dem die AS Methionin langsam abgespalten wird.

2.2.5.3 Speicherung

Die Speicherung der biologisch aktiven CCK-Fragmente erfolgt in synaptischen Vesikeln von Nervenendungen (Golterman et al., 1980; Pinget et al., 1979; Larsson und Rehfeld, 1979; Rehfeld et al., 1985).

2.2.5.4 Freisetzung und Verteilung

Verhage und Mitarbeitern gelang 1991 immunhistologisch der Nachweis der depolarisationsinduzierten und kalziumabhängigen Ausschüttung von CCK in vitro an kortikalem Rattenhirngewebe. Rose und Mitarbeitern gelang 1989 gleiches an Großhirnrinden- und Hypothalamusschnitten. Die kaliuminduzierte, kalziumabhängige Ausschüttung von CCK in verschiedenen Regionen des Gehirns der Ratte, wie u.a. in der präfrontalen Großhirnrinde, im Nucleus accumbens (NAC) oder im Septum, spiegelt höchstwahrscheinlich den Gehalt von CCK-8 wider (Takita et al., 1989; Maidment et al., 1991; Vallebuona et al., 1993). Im Vergleich zu klassischen Transmittern konnte bei CCK ein unterschiedlicher Zeitverlauf, d.h. ein späterer Beginn der Ausschüttung festgestellt werden (Verhage et al., 1991). Bartfai und Mitarbeiter (1988) vermuten die Ursache dafür in der unterschiedlichen Verteilung der peptidspeichernden Vesikel, die für eine Sekretion einer höherfrequenten Stimulation bedürfen.

2.2.6 Funktionelle Bedeutung

2.2.6.1 Gastrointestinales Hormon

CCK wird in den Intermediärzellen (I-Zellen) von Duodenum und Jejunum gebildet und auf einen Sekretionsstimulus hin, den die im Chymus enthaltenen Fettsäuren, Aminosäuren und Peptide ausüben, ausgeschüttet. CCK ist für die zur Entleerung führenden rhythmischen Kontraktionen der Gallenblase verantwortlich (Forth et al., 1987). Darüber hinaus bewirkt CCK die Ausschüttung von Sekretgranula durch die Azinuszellen. Enzymarmer Pankreassaft wird so zum enzymreichen Sekret, das auf den Verdauungsbrei einwirken kann.

Therapeutische Anwendung findet CCK derzeit in der Röntgendiagnostik zur Auslösung von Gallenblasenkontraktionen und im Pankreozymin-Sekretin-Test zur Überprüfung der Pankreasfunktion (Pschyrembel, 1982).

2.2.6.2 Neurotransmitter

CCK erfüllt alle Kriterien, die an einen Neurotransmitter gestellt werden (Vanderhaeghen und Crawley, 1985; Crawley und Corwin, 1994). So wird CCK in Nervenendigungen und Zellkörpern synthetisiert und gespeichert (Goltermann et al., 1980; Pinget et al., 1978; Larsson und Rehfeld, 1979) und durch Depolarisation ausgeschüttet (Dodd et al., 1980; Emson et al.,

1980; Pinget et al., 1979). CCK kann die neuronale Aktivität (Feuerungsrate) anderer ZNS-Neurone beeinflussen (Dodd und Kelly, 1981; Rogawski, 1982; Skirboll et al., 1981) und hat spezifische Bindungsstellen (Saito et al., 1980,1981; Hays et al., 1980; Innis et al., 1979). Desweiteren kann die durch CCK ausgelöste Signalweiterleitung durch Analoga beeinflusst werden (Martinez et al., 1988; Collins et al., 1983), bzw. können die durch CCK und CCK-Analoga ausgelösten Effekte durch spezifische Antagonisten gehemmt werden (Bradwejn et al., 1992).

2.2.6.3 CCK und Verhalten

Ergebnisse von Untersuchungen mit spezifischen CCK-Rezeptor-Antagonisten belegen, daß CCK an einer Reihe von physiologischen Prozessen und Verhaltensvorgängen beteiligt ist. Für Digestion, Respiration und Temperaturregulierung ist eine Beteiligung lange bekannt. Für das Freßverhalten ist bekannt, daß CCK-8s, als gemischter CCK-Rezeptor-Agonist, nach systemischer Applikation bei Ratten, denen für 24 Stunden das Futter entzogen wurde, die Futteraufnahme innerhalb der ersten zwei Stunden nach der Injektion reduziert und daß selektive CCK_A-Rezeptor-Agonisten (A71378) gleichermaßen wirken, der Effekt jedoch länger anhaltend ist (Voits et al., 1996). Für Sexual- und mütterliche Verhaltensweisen, Schlaf und Schmerzkontrolle (Nozizeption) ist die Rolle von CCK noch nicht eindeutig geklärt. Bei der Nozizeption wird CCK von verschiedenen Forschungsgruppen als physiologischer Modulator im endogenen opioiden System angesehen. Es konnte gezeigt werden, daß hohe Dosierungen Analgesie produzieren und noch höhere Dosen den Analgesieeffekt von Morphin und Beta-Endorphin blockieren (Morley, 1987). Die Ergebnisse neuerer Immunfluoreszenzstudien zeigen, daß schmerzmodulierende Nervenbahnen im Hirnstamm durch CCK und Enkephalin antagonistisch beeinflusst werden (Skinner et al., 1997).

Bei Lern- und Gedächtnisprozessen kann CCK-8 nach intrazerebraler und peripherer Applikation modulierend im Sinne einer gedächtnisverbessernden Wirkung wirken (Crawley und Corwin, 1994; Fekete et al., 1984; Deupree und Hsiao, 1987,1988; Itoh und Takashima, 1987; Kádár et al., 1981). So konnte gezeigt werden, daß CCK-8s im Nose-poke-habituation-Test einen gedächtnisverbessernden Effekt hat, wenn es sofort nach dem Versuch injiziert wird (Voits et al., 1995). Von der verwendeten Methode, mit welcher der Lerneffekt überprüft wird, hängt es in erster Linie ab, ob CCK-8s und CCK-4 einen unterstützenden Effekt im Hinblick auf ein verbessertes Lernen haben (Voits et al., 1995). Gerhardt und Mitarbeiter (1994) konnten die gedächtnisverbessernde Wirkung für CCK-8s und CCK-4 neben dem Nose-poke-habituation-Test auch für das Aufrichteverhalten der Tiere (rearing) im Open-field nachweisen.

2.2.6.4 CCK und Nervus vagus

Crawley fand 1985 heraus, daß die i.p.-Applikation von CCK Verhaltensweisen hervorruft, die denen gleichen, die nach der Aufnahme größerer Mahlzeiten auftreten. So werden die Nahrungsaufnahme gehemmt und die spontane Neugier reduziert (Sättigungsgefühl). Das Sättigungsgefühl entsteht durch Aktivierung von aufsteigenden Vagusfasern, die in Kernen des Solitärbündels enden. Dementsprechend führt eine totale abdominale und selektive gastrale Vagotomie zu einer Blockierung der Effekte von CCK auf die Nahrungsaufnahme (Crawley, 1985). Cox und Randlich (1997) zeigten mit ihren Versuchen, daß durch die Aktivierung von peripheren CCK_A-Rezeptoren mittels unsulfatiertem CCK-8 die Aktivität aufsteigender hepatischer Vagusfasern gesteigert wird. Dies unterstützt die These, daß das Sättigungssignal über die hepatischen Äste des N. vagus vermittelt wird. Die Rolle von afferenten Fasern des N. vagus in der Vermittlung angstinduzierter Verhaltensweisen ist bisher noch nicht geklärt.

2.2.7 Tierartige Unterschiede

CCK-8 wurde mit Hilfe unterschiedlicher immunhistochemischer Methoden im Gehirn von Ratten, Meerschweinchen, Katzen, Hasen (Straus et al., 1977), Schweinen (Muller et al., 1977), Schafen (Dockray et al., 1978), aber auch beim Menschen (Rehfeld, 1978) nachgewiesen.

Der Nachweis der C-terminalen Tetrapeptidsequenz von CCK bei dem Süßwasserpolypen (Hydra) (Grimmelikhuijzen et al., 1980) und von Cionin (siehe Tab. 2-1) aus der Neuraldrüse des Protochordaten *Ciona intestinalis* (Johnsen und Rehfeld, 1990) gelten als Hinweis auf ein frühes Auftreten des Peptids im Evolutionsgeschehen. Aber auch der Nachweis von CCKergen Peptiden bei primitiven Vertebraten wie dem Neunauge (Lamperta) (Holmquist et al., 1979), bei Reptilien, Vögeln aber auch Säugetieren (Larsson und Rehfeld, 1977) spricht für ein ubiquitäres Vorkommen des Peptids.

Sowohl in der AS-Sequenz als auch in der Verteilung der CCKergen Immunoreaktivität und in der Verteilung der Rezeptorsubtypen gibt es Speziesunterschiede (Dimaline et al., 1990). Diese Unterschiede in der AS-Sequenz finden sich in Form der Stellung des sulfatierten Tyrosinrestes, der für die biologische Wirksamkeit der Peptide als essentiell angesehen wird (Nieber et al., 1987).

2.2.8 CCK-Rezeptoren

1980 wurden spezifische CCK-Bindungsstellen im Rattenhirn und Pankreas nachgewiesen (Hays et al., 1981; Innis und Snyder, 1980; Jensen et al., 1980; Saito et al., 1980), die aufgrund ihrer unterschiedlichen Bindungsaffinitäten zu CCK-Fragmenten und Pentagastrin in den vor allem peripher vorkommenden CCK_A- (A für alimentary) und den hauptsächlich zentral

vorkommenden CCK_B- (B für brain) Rezeptor eingeteilt wurden (Hruby et al., 1990; Hommer et al., 1986; Moran et al., 1986; Dourish und Hill, 1987; Innis und Snyder, 1980).

Der CCK_A-Rezeptor wurde mit Hilfe autoradiographischer Studien in peripheren Geweben wie den exokrinen Azinuszellen des Pankreas, der Gallenblase, der Ileummuskulatur und dem Pylorus nachgewiesen (Jensen et al., 1980; Davison und Najafi-Farashah, 1981). Aber auch in verschiedenen Regionen des ZNS wurden CCK_A-Rezeptoren nachgewiesen. Bei der Ratte (Hill et al., 1990; Moran et al., 1986), beim Rind (Barrett et al., 1990), bei Affen (Hill et al., 1990) und beim Menschen (Mallieux und Vanderhaeghen, 1990; Goldmann et al., 1987; Jensen et al., 1980) fand man CCK_A-Rezeptoren mit größten Dichten in den schlechter durch die BHS abgeschirmten Bereichen (Area postrema, Kernen des Solitärbündels und der Hirnanhangsdrüse (Shlik et al., 1997).

Die Verteilung des CCK_B-Rezeptors überlappt mit dem Vorkommen von CCK und seiner mRNA in verschiedenen Hirngebieten, mit höchsten Dichten in der Großhirnrinde, den Basalganglien, dem Nucleus accumbens und limbischen Vorderhirnstrukturen. Im ZNS der Ratte wurden im einzelnen hohe Konzentration (Davison und Najafi-Farashah, 1981; Jensen et al., 1980), in der Großhirnrinde, dem Riechkolben, dem Nucleus accumbens, Nucleus caudatus, Hippokampus, Hypothalamus, in den Mandelkernen, der Substantia nigra, der ventralen tegmentalen Area, dem dorsalem Nucleus raphe, Kleinhirn, Claustrum, lateralem Septum, caudalem Putamen, Nucleus präopticus, Thalamus, Nucleus ruber, Rückenmark und Nervus vagus gefunden (Saito et al., 1980; Moran et al., 1986; Gaudreau et al., 1983; Corp et al., 1993; Goldmann et al., 1987; Innis und Snyder, 1980; Mercer und Lawrence, 1992; Niehoff, 1989; Pelaprat et al., 1987; Honda et al., 1993). Allerdings wurden CCK_B-Rezeptoren auch in peripheren Geweben nachgewiesen inklusive der Gallenblase, den Parietal- und Hauptzellen der Magenmukosa und der glatten intestinalen Muskulatur (Denyer, 1994). An diesen peripheren Stellen sind sie oft kolokalisiert mit CCK_A-Rezeptoren (Boden et al., 1995). (Übersicht der Rezeptor Verteilung bei Woodruff und Hughes, 1991, Boden et al., 1995).

Sowohl der CCK_A- als auch der CCK_B-Rezeptor sind auf dem Nervus vagus zu finden (Lin und Miller, 1992). Desweiteren wurde bei der Ratte sowohl ein zentripetaler, auf Kern des Solitärbündels gerichteter, als auch ein zentrifugaler, in die Peripherie gerichteter, Transport von CCK_A- und CCK_B-Rezeptoren nachgewiesen (Corp et al., 1993; Mercer und Lawrence, 1992; Schneider et al., 1986).

Alle CCK-Rezeptoren haben ihr Funktionsoptimum im sauren pH-Bereich der Umgebung (Williams et al., 1985). Beide CCK-Rezeptorsubtypen gehören strukturell zu der Gruppe der

Guanin-Nukleotid-Bindungsproteine (G-Protein) mit sieben transmembranären Domänen. Die Signalweiterleitung an CCK-Rezeptoren erfolgt durch eine G-proteinabhängige Aktivierung der Phospholipase C, 1,4,5-Inositoltriphosphat (IP-3) und 1,2-Diacylglycerol. Neuere Untersuchungen, in denen CCK_A- und CCK_B-Rezeptoren kloniert wurden, haben gezeigt, daß mRNA für beide Rezeptorsubtypen, abgesehen von einigen Ausnahmen, in denselben Geweben vorkommen. Das gemeinsame Vorkommen der beiden Rezeptortypen wurde anhand von Radioligandbindungs- und autoradiographischen Rezeptorstudien gezeigt (Shlik et al., 1997).

Für den CCK_A-Rezeptor wurde festgestellt, daß er die Gallenblasenkontraktion, die Pankreasamylasesekretion und die Magenentleerung vermittelt, die Futteraufnahme blockiert, dopaminassoziierte Verhaltensweisen potenziert und die Dopaminausschüttung im Nucleus accumbens hemmt (Brodie und Dunnwiddie, 1987; Freeman und Bunney, 1988; Hommer und Skirboll, 1983; Hommer et al., 1986). CCK vermittelt über den CCK_B-Rezeptor eine Erhöhung der neuronalen Impulsrate im Hippokampus (Bradwejn und DeMontigny, 1984; Dahl, 1987; Jaffe et al., 1987; Kelland et al., 1991), im Nucleus trigeminalis caudalis (Sankaran et al., 1980), der dorsalen Raphe (Boden et al., 1991) und im Rückenmark (Ipp et al., 1977; Jeftina et al., 1981; Jensen et al., 1980; Rogawski, 1982). Desweiteren spielt der CCK_B-Rezeptor bei der Nozizeption und im Angstgeschehen eine Rolle; außerdem vermittelt er die Hemmung dopaminassoziiertes Verhaltensweisen und die Dopaminausschüttung.

Forschungen auf zellulärer Ebene, die klären sollten wie an den beiden Rezeptorsubtypen die Signalweiterleitung erfolgt, wurden vor allem an Schnittpräparationen von Zellen des ventromedianen Hypothalamus durchgeführt. Für den CCK_B-Rezeptor wird vermutet, daß über das G-Protein mehrere Ionenkanäle gesteuert werden, während beim CCK_A-Rezeptor nichts dafür spricht, daß mehr als ein Ionenkanal kontrolliert wird (Für Einzelheiten siehe Boden et al., 1995).

Für beide Rezeptorsubtypen wurde gezeigt, daß sie in drei verschiedenen Affinitätsstadien gegenüber dem CCK-Agonisten CCK-8 vorkommen können. Diese verschiedenen Stadien wurden als hohe, geringe und sehr geringe Affinität klassifiziert. Die biochemische Grundlage dieser Effekte ist bislang nicht geklärt (Huang et al., 1994; Talkad et al., 1994).

Der Nachweis der Existenz verschiedener CCK-Rezeptorsubtypen beeinflusste die vorklinische Forschung und führte zu der Entwicklung verschiedener selektiver CCK_A- und CCK_B-Rezeptor-Antagonisten.

2.2.9 CCK-Rezeptor-Agonisten

An dem CCK_A-Rezeptor war CCK-8 die minimale Struktur für eine Rezeptorbindung mit hoher Affinität, während an dem CCK_B-Rezeptor CCK-4, Gastrin und unsulfatiertes CCK-8 (us) binden, obwohl sie eine etwas geringere Affinität, verglichen mit sulfatiertem CCK-8 (s), haben.

CCK-8s, das den größten Anteil an neuronalem CCK darstellt (Sauter und Frick, 1983), bindet sowohl am CCK_A-Rezeptor als auch am CCK_B-Rezeptor. Der CCK_B-Rezeptor reagiert im Gegensatz zum CCK_A-Rezeptor indifferent gegenüber sulfatierten und unsulfatierten Formen von CCK (Boden et al., 1995). CCK-4 und CCK-8us binden nur am CCK_B-Rezeptor (Moran et al., 1986; Dourish und Hill, 1987).

Die kürzeste aktive Sequenz, die am CCK_A-Rezeptor bindet, ist das, vom N-terminalen Ende gesehen, an Position 7 sulfatierte CCK-8. Für die Wirkung über den CCK_B-Rezeptor ist keine Sulfatierung nötig und das minimal aktive Segment ist CCK-4 (Woodruff und Hughes, 1991). CCK-8s ist daher ein nichtselektiver CCK-Rezeptor-Agonist.

	<i>CCK_A-Rezeptor</i>	<i>CCK_B-Rezeptor</i>
Bindungsaffinität	Caerulein > CCK-8s > Gastrin	Caerulein > CCK-8s ≥ Gastrin = CCK-4
Agonisten	Caerulein CCK-8s A71326 JMV-18C	Caerulein CCK-8s CCK-8us CCK-4 BC-264
Antagonisten	Devazepide (L364.718) Lorglumide SR27897	L365.260 L740.093 YM-022 LY-288513 CI988
Effektor	G-Protein	G-Protein
Vorkommen	Gallenblase, Pankreas, Magenpförtner, Darm, Rückenmark, Nervus vagus, Gehirnteilbereiche (Kernen des Solitärbündels, Area postrema, Nucleus interpedicularis, posteriomedianer Anteil des Nucleus accumbens).	Überall im Gehirn (mit höchster Konzentration in der Großhirnrinde, dem Schweifkern, dem anterolateralen Anteil des Nucleus accumbens), Magen (Parietal- und Hauptzellen der Magenschleimhaut) sowie in der glatten gastrointestinalen Muskulatur und dem Nervus vagus.
Funktion	Vermittlung der CCK-Wirkung auf die Gallenblasenkontraktion, Sekretion von Pankreas-enzymen, Magenentleerung, hemmt Futteraufnahme und Respiration, potenziert dopaminvermittelte Verhaltensweisen.	Vermittlung der CCK-Wirkung auf die neuronale Feuerungsrate, Nozizeption, Angst/Panik, Respiration, hemmt die Dopamin Freisetzung und dopaminvermittelte Verhaltensweisen.

Tab. 2-2 Eigenschaften der CCK-Rezeptorsubtypen. Nach Bourin und Mitarbeitern (1996).

Ein weiterer nichtselektiver Agonist, das Dekapeptid Caerulein, wird wegen seiner ähnlichen Effekte an CCK-Rezeptoren und seiner möglichen besseren Stabilität gegenüber der proteolytischen Spaltung in pharmakologischen Studien häufig gebraucht. Unsulfatiertes CCK-8, Pentagastrin, CCK-4, BC-264 und BC-197 haben als CCK_B-Rezeptor Agonisten gedient (Bourin et al., 1996).

2.2.10 CCK-Rezeptor-Antagonisten

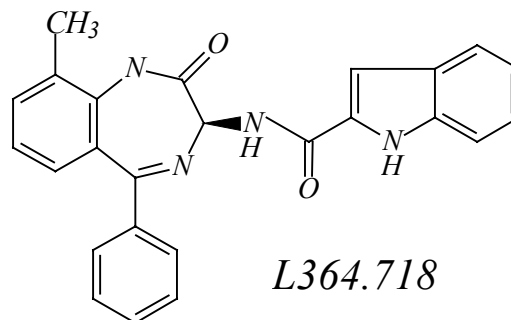
Die Existenz verschiedener CCK-Rezeptoren führte zu der Entwicklung zahlreicher selektiver CCK_A- und CCK_B-Rezeptor-Antagonisten (Übersichten bei Crawley und Corwin, 1994; Rodgers und Johnson, 1996; Hill et al., 1992; Freidinger, 1993; Woodruff und Hughes, 1991). Die Antagonisten sind Abkömmlinge verschiedener chemischen Gruppen wie Fermentationsprodukte von *Aspergillus alliaceus* (Chang et al., 1985) und Streptomycesarten, Benzodiazepinen (Chang und Lotti, 1986), Pyrazolidinen, Teilsequenzen des C-terminalen Endes der Heptapeptidsequenz von CCK, Glutaminsäure, Dibutylderivaten zyklischer Nukleotide u.a. (Übersicht Rodgers und Johnson, 1996). Dabei wurden sowohl die Selektivität für die Rezeptorsubtypen als auch die ZNS-Permeabilität immer mehr verbessert (Silverman et al., 1987; Freidinger, 1989; Woodruff und Hughes, 1991). Lorglumide war der erste Nichtpeptid-Antagonist, der eine hohe Permeabilität mit einer guten CCK_A-Rezeptoraffinität kombinierte (Makovec et al., 1986). Die gebräuchlichsten Mittel für die Hemmung des CCK_A-Rezeptors sind zur Zeit Lorglumide, Devazepide und Linitript (SR27897), während L365.260, CI-988, L740.093 und LY288.513 am häufigsten für die Hemmung des CCK_B-Rezeptors benutzt werden (Shlik et al., 1997).

Studien mit CCK-Antagonisten und -Agonisten am Tier und am Menschen lassen vermuten, daß CCK bei der Regulation von Angst und Panik eine Rolle spielt. Verschiedene Antagonisten sind in Tiermodellen der Angst bei Nagern, inklusive dem Elevated-plus-maze-Test, untersucht worden (Harro et al., 1990a,b; Harro und Vasar, 1991a; Rataud et al., 1991; Singh et al., 1991; Ravard und Dourish, 1990; Hughes et al., 1990). Durch CCK-Agonisten induzierte Angst konnte bei Nagern (Harro et al., 1990b; Harro und Vasar, 1991a; Rataud et al., 1991; Singh et al., 1991) und grünen Meerkatzen (Palmour et al., 1991) durch eine Behandlung mit CCK_B-Rezeptor-Antagonisten bemerkenswert reduziert werden. Entsprechend den Ergebnissen aus Versuchen mit chronischer Substanzapplikation konnte auch anhand von Versuchen, in denen die Substanzen einmalig appliziert wurden, gezeigt werden, daß die selektiven Antagonisten bei Nagern und Krallenaffen angstlösende Wirkungseigenschaften besitzen (Ravard und Dourish, 1990; Singh et al., 1991; Hughes et al., 1990).

Das Vermögen von CCK_B-Rezeptor-Agonisten, Angst hervorrufen zu können und die anxiolytischen Effekte von CCK_B-Rezeptor-Antagonisten, die in o.g. Studien gezeigt wurden, legen die Vermutung nahe, daß vornehmlich der CCK_B-Rezeptor in der Neurobiologie des Angstgeschehens eine Rolle spielt.

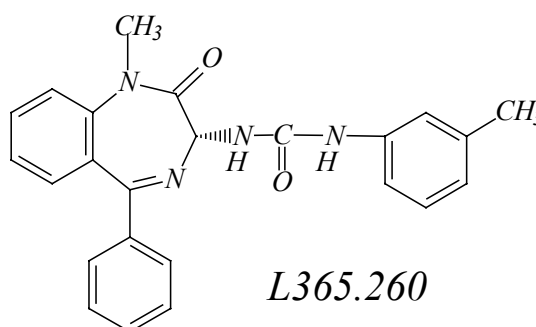
2.2.10.1 Devazepide (L364.718)

Devazepide ist ein Benzodiazepinderivat mit 2-3fach höherer Affinität zum A-Rezeptor als zum B-Rezeptor (Lotti et al., 1987; Rovati und Makovec, 1988). Es ist dem Asperlicin, einem 1,4-Benzodiazepin, strukturell sehr ähnlich. Es kombiniert dessen Voraussetzungen mit strukturellen Merkmalen anderer Vertreter dieser Klasse bei guter Wirkungspotenz (z.B. Diazepam) (Evans et al., 1988). Als Indol-Derivat, 3-Amino-5-Phenyl-1,4-Benzodiazepine-2-one, ist Devazepide ein optimaler CCK_A -Rezeptor-Antagonist. Er hat eine dem Cholecystokinin (CCK-33) vergleichbare Affinität zum CCK_A -Rezeptor (Lotti und Chang, 1989). Die Bindung am CCK_A -Rezeptor erfolgt stereospezifisch, wobei das biologisch aktivere S-Enantiomer stärker bindet als das R-Enantiomer (Chang et al., 1986). In Studien mit in Digitoxin gelösten CCK -Rezeptoren zeigte sich, daß rezeptorgebundenes Devazepide die Affinitäten anderer CCK -Agonisten, z.B. Lorglumide, 10-100fach abschwächt (Chang et al., 1987). Devazepide zeigt keine agonistische Aktivität und hemmt kompetitiv die Effekte von CCK in vivo in einer Reihe von Tiermodellen, wie z.B. die CCK-induzierte Magenentleerung bzw. die basale Histamin- oder Carbachol-stimulierte Säuresekretion (Chang et al., 1989; Freidinger, 1989; Lotti und Chang, 1989). Dabei besitzt es eine lange Wirkungsdauer von wenigstens 2 Stunden nach intravenöser Gabe (Lotti und Chang, 1987) kombiniert mit einer guten oralen Resorption ($ED_{50}=0,04$ mg/kg) bei schlechter Wasserlöslichkeit (Lotti und Chang, 1989).



2.2.10.2 L365.260

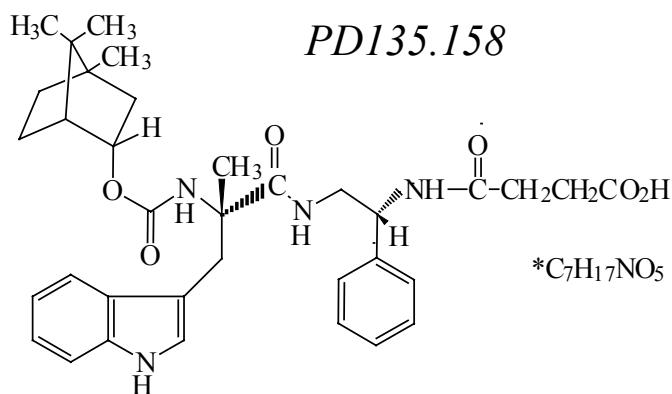
L365.260 ist als Analogon von Devazepide ein Benzodiazepinderivat (3-Arylurea-1,4-Benzodiazepin). Seine Affinität sowohl für Gastrin als auch für zentrale CCK_B -Rezeptoren ist 2 mal höher als seine Affinität zu peripheren Pankreas- CCK_A - oder verschiedenen anderen Rezeptoren. Es hat ein Mol.-Gew. von 398 und die Rezeptorbindung erfolgt stereospezifisch, wobei das R-Enantiomer 100 mal stärker wirksam ist als das S-Enantiomer (Lotti und Chang, 1989). Es ist in vitro und in vivo ein kompetitiver Antagonist, bei dem keine agonistische Wirkung beobachtet werden konnte. Es zeigt gegenüber zentralen CCK_B -Rezeptoren von Ratten, Mäusen und Menschen gleichermaßen hohe Bindungsaffinitäten. Die Substanz weist eine schlechte Wasserlöslichkeit



auf, und seine Bioverfügbarkeit ist stark vom Vehikel abhängig, in dem es gelöst wird (Jackson et al., 1994). Nach oraler Applikation hemmt L365.260 die Gastrin-stimulierte Säuresekretion bei Ratte ($ED_{50}=0,09$ mg/kg), Maus ($ED_{50}=0,03$ mg/kg) und Meerschwein ($ED_{50}=5,1$ mg/kg). Die nachgewiesenen Plasmaspiegel von L365.260 und L364.718 sind nach Gabe der gleichen Dosis vergleichbar, und die Wirkungsdauer ist nach oraler Applikation länger als 1,5 Stunden. Desweiteren zeigt L365.260 in vivo keine Effekte die der Vermittlung des CCK_A -Rezeptors zugeschrieben werden (Chang et al., 1989; Freidinger, 1989; Lotti und Chang, 1989). Der Übertritt durch die Blut-Hirn-Schranke (BHS) wurde nachgewiesen (Jackson et al., 1994; Dubroeuq et al., 1994). Die einmalige Gabe von L365.260 (2,5-100 mg) führte in klinischen Versuchen zu einem einen dosisabhängigen Anstieg der AUC-Werte (area under the curve) bei den Probanden. Bei wiederholter Applikation wurden innerhalb von drei Tagen steadystate Verhältnisse erreicht. Daher ist L365.260 eine geeignete Substanz zur Testung bei Patienten mit Angststörungen.

2.2.10.3 PD135.158

Das Dipeptoid PD135.158 ist ein selektiver CCK_B -Rezeptor-Antagonist mit einem, in Radioligandbindungsstudien festgestellten, IC_{50} -Wert von 3,5 nM und einem Mol.-Gew. Von 811,98 (Hughes et al., 1990). Der K_i -Wert bei der Hemmung von CCK -Antworten in Schnittpräparationen des lateralen Hypothalamus von Ratten liegt bei



12,9. PD135.158 ist ein wirksamer und hochselektiver CCK_B -Rezeptor-Antagonist mit einer gleichzeitig niedrigen Affinität zum CCK_A -Rezeptor und guter Wasserlöslichkeit. Die Hemmung der Bindung von ^{125}I - CCK zu Kortexdünnenschnitten der Maus (CCK_B) und zu Pankreaszellen der Ratte (CCK_B) liegen bei IC_{50} -Werten von 2,8 nM (CCK_B) bzw. bei 1233 nM (CCK_A). Es gibt weder Anzeichen für eine Toleranzentwicklung gegenüber der anxiolytischen Wirkung, noch gab es anxiogene Wirkungen nach abrupter Beendigung einer chronischen Applikation von PD135.158, zweimal täglich. Dies konnte auch bei Diazepam-toleranten Mäusen nicht festgestellt werden. Es hatte im sozialen Interaktionstest und im Elevated-plus-maze-Test bei Ratten eine ausgeprägte, mit Diazepam vergleichbare, anxiolytische Wirkung (Hughes et al., 1990; Costall et al., 1991).

2.2.11 Klinische Einsatzmöglichkeiten von CCK-Antagonisten

Bei Störungen der CCK-induzierten Magenentleerung beschleunigen CCK-Antagonisten die Passage der Ingesta (Evans et al., 1986). Bei chronischer Pankreatitis, die mit erhöhten Plasma-CCK-Spiegeln einhergeht, könnten Antagonisten zur Analgesie ebenso eingesetzt werden wie auch bei Karzinomen der Bauchspeicheldrüse. Auch bei Spasmen der Gallenblase sowie bei anorektischen Zuständen ist der Einsatz von CCK-Antagonisten denkbar. Ein weiteres Feld ist die Analgesie. So wurde gezeigt, daß der periphere CCK-Antagonist Proglumide die Wirkung der Morphinanalgesie verstärken und die Toleranzentwicklung senken kann, ohne selbst analgetisch wirksam zu sein (Watkins et al., 1984). Neben diesen Einsatzmöglichkeiten legen die anxiolytischen Eigenschaften von CCK-Antagonisten einen Einsatz bei psychischen Krankheiten und Angstzuständen nahe.

Pharmakologische Studien haben gezeigt, daß der CCK_B-Rezeptor Hauptvermittler bei der anxiogenen/panikogenen Wirkung von CCK-Agonisten ist. Für CCK_B-Rezeptor-Antagonisten konnte zwar anxiolytische Wirkung in diesen Modellen gezeigt werden; diese Ergebnisse konnten jedoch nicht bestätigt beziehungsweise reproduziert werden. Die Wirkung von CCK_B-Rezeptor-Agonisten haben sie effektiv gehemmt. Während die anxiogene/panikogene Aktivität von CCK_B-Rezeptor-Agonisten auch in Studien am Menschen immer stärker hervorgehoben wird, ist die Frage der Effektivität von CCK_B-Rezeptor-Antagonisten als Anxiolytika weiterhin ungeklärt. Durchgeführte klinische Studien haben bisher nicht schlüssige und zum Teil widersprüchliche Daten über das anxiolytische Potential von CCK_B-Rezeptor-Antagonisten geliefert, möglicherweise aufgrund limitierender pharmakokinetischer Faktoren, wie z.B. einer eingeschränkten Membranpermeabilität (Shlik et al., 1997). Während Bradwejn und Mitarbeiter (1992) mit L365.260 (50 µg) CCK-4 induzierte Panikattacken bei Patienten mit Panikzuständen hemmen konnten, kamen Cutler und Mitarbeiter (1994), die eine klinische Studie mit L365.260 (30 mg pro Tag über 6 Wochen) durchführten, zu dem Schluß, daß die Hemmung zentraler CCK-Rezeptoren möglicherweise keine vielversprechende Behandlungsmöglichkeit bei Panikzuständen sei. Auch Kramer und Mitarbeiter konnten in einer Doppel-Blind-Studie (3 mal 10 mg pro Tag) keine klinisch bedeutende anxiolytische/antipanische Wirkung für L365.260 nachweisen (siehe auch 2.3.1.).

2.2.12 Wirkung von CCK-Antagonisten in Tiermodellen der Angst

2.2.12.1 Konditionierende Modelle

Die Wirkungsweise von CCK-Antagonisten in Verhaltensmodellen, die auf Konditionierung beruhen, ist sehr kontrovers. So werden Devazepide (0,1-100 µg/kg) und L365.260 (1 ng/kg-

1 mg/kg) im CSD-Model (Conditioned Suppressed Drinking) anxiolytische Wirkungen zugeschrieben, die für eine Beteiligung des CCK_B-Rezeptors im Angstgeschehen sprechen (Dourish et al., 1990). Dawson (1994) dagegen konnte in dem gleichen Modell die anxiolytischen Wirkungen von L365.260 (0,00001-10 mg/kg) und zwei weiteren CCK_B-Rezeptor-Antagonisten (CI-988, früher als PD134.308 bezeichnet, und L740.093) nicht reproduzieren. Im CER-Model (Conditioned Emotional Response) wurde bei Ratten gezeigt, daß Devazepide, L365.260 und CI-988 unwirksam waren (Dawson et al., 1994; Dourish et al., 1994). Auch im Konfliktverhalten von Primaten sind die Ergebnisse sehr uneinheitlich. Während CI-988 in einem bestimmten Dosisbereich (0,03-3,0 mg/kg) wirksam war, konnte für L365.260 keinerlei Wirkung festgestellt werden (Dawson et al., 1994).

2.2.12.2 Nicht-konditionierende Modelle

PD135.158 (10 µg/kg-1 mg/kg) und L365.260 (0,3-10 mg/kg), nicht aber Devazepide (5-40 mg/kg), waren im sozialen Interaktionstest wirksam (Hughes et al., 1990; Singh et al., 1991). L365.260 blockierte neurochemische- und Verhaltenseffekte bei Ratten auf den Stimulus 'Katzengeruch' (Pavlasovic, 1993). PD135.158 (0,0001-30 mg/kg) und die Substanz CI-988 verlängerten die Aufenthaltsdauer im aversiven hellen Bereich der Hell-Dunkel-Box (Hughes et al., 1990). Im gleichen Modell waren L365.260 (1-10 mg/kg) und CI-988, nicht aber der CCK_A-Antagonist Devazepide, anxiolytisch wirksam (Singh et al., 1991). In neuen Studien dagegen wurde bei Mäusen eine anxiolytische Wirksamkeit von Devazepide (5 µg/kg) und dem CCK_A-Rezeptor-Antagonisten L365.031 (5 µg/kg) im Hell-Dunkel-Explorationstest (Hendrie et al., 1993), nicht aber für L365.260 (0,005-500 µg/kg), gezeigt. Chopin und Briley ermittelten 1993 bei Versuchen mit Ratten glockenförmig verlaufende Dosis-Wirkungskurven für Devazepide (effektive Dosen 1-300 µg/kg und Maximaldosis 3 mg/kg) und L365.260 (effektive Dosen 1-100 µg/kg und Maximaldosis 1-3 mg/kg) bezüglich der Aufenthaltsdauer im hellen Bereich der Hell-Dunkel-Box. Für PD135.158 wurde von Belzung und Lepape (1994) das anxiolytische Wirkungsprofil in der Hell-Dunkel-Box bestätigt, wobei die Autoren nachdrücklich die individuelle Unterschiedlichkeit der Ratten bezüglich der Charakter- und Stadiumsangst hervorheben.

Viele frühe Studien fanden Hinweise für eine anxiolytische Wirksamkeit von Devazepide (1 und 10 µg/kg), L365.260 (1 und 10 µg/kg) und CI-988 (0,01 und 1,0 mg/kg) bei Ratten in dem Elevated-plus-maze-Test, mit Dosis-Wirkungskurven in Form einer Glockenkurve und Wirkungsabnahmen bei Dosierungen größer als 10 µg/kg. Außerdem waren die anxiolytischen Effekte von L365.260 und Devazepide von einer allgemeinen Aktivitätssteigerung begleitet

(Hughes et al., 1990; Ravard et al., 1991). In nachfolgenden Studien wurde dann für PD135.158 (0,01-10 mg/kg) und CI-988 gezeigt, daß diese in Dosierungen, die nicht die allgemeine Aktivität beeinflussen, im Elevated-plus-maze-Test bei Ratten anxiolytisch wirken (Singh et al., 1991; Costal et al., 1991; Dauge et al., 1995). Studien von Chopin und Briley (1993) zeigten, daß L365.260 (0,01-3,0 mg/kg) und Devazepide (0,001-0,03 mg/kg) anxiolytisch wirksam waren, ohne die Anzahl der Gesamteintritte in die Arme des Elevated-plus-maze zu beeinflussen. Die anxiolytischen Wirkungen von L365.260 und Devazepide konnten durch den BDZ-Antagonisten Flumazenil blockiert werden, der allerdings auf die Effekte von CI-988 keinen Einfluß hatte (Singh et al., 1991).

Die neueren Studien stimmen darin überein, keine Wirkungen von CCK_A- und CCK_B-Rezeptor-Antagonisten im Elevated-plus-maze-Test mit Ratten und Mäusen zu finden. So berichten Harro und Mitarbeiter (1993) von negativen Ergebnissen mit Devazepide bei Mäusen (0,1-10 µg/kg), L365.260 (1,0-100 µg/kg) und Proglumide (0,1-10 µg/kg) im Elevated-plus-maze-Test. Auch bei der Testung von Ratten im Elevated-plus-maze-Test wurde gefunden, daß L365.260 (0,001-10 µg/kg), Devazepide (1-10 mg/kg), L740.093 (ein CCK_B-Rezeptor-Antagonist; 0,1-1 mg/kg), und CI-988 (1 µg/kg-10 mg/kg) durchweg unwirksam waren (Dawson et al., 1994; Dourish et al., 1994; Männistö et al., 1994; Derrien et al., 1994). Anhand von Mikrodialysestudien bei Meerschweinchen auf dem Elevated-plus-maze fanden Rex und Mitarbeiter (1997), daß eine Interaktion von Serotonin und CCK im Angstgeschehen zu beobachten ist. So bewirkt die Applikation von CCK-4 (10 µg/kg) anxiogene Verhaltensweisen und potenziert eine Serotoninfreisetzung im Kortex. Der anxiolytisch wirksame 5-HT_{1A}-Agonist 8-OH-DPAT (0,3 mg/kg) senkte sowohl die basalen 5-HT-Konzentrationen als auch die vermehrte Freisetzung bei Exposition der Tiere auf dem Elevated-plus-maze. Bei der simultanen Applikation hemmte 8-OH-DPAT die Wirkungseffekte von CCK-4. Diese Ergebnisse zeigen, daß im Angstgeschehen über den Einfluß auf die kortikale 5-HT-Freisetzung eine Interaktion zwischen CCKergem- und serotoninergem Transmissionsystem existiert.

2.3 CCK und Angst

2.3.1 Beim Menschen

Die ersten Untersuchungen über die pharmakologischen Wirkungen von CCK beim Menschen wurden in den späten 60er Jahren unternommen (Rehfeld, 1992). In diesen Untersuchungen wurde gezeigt, daß Gaben von 70 µg CCK-4 zu intensiven angstähnlichen Reaktionen der Probanden führten. Diese Beobachtungen wurden von Vanderhaeghen bekräftigt, dessen Untersuchungen zeigten, daß die i.v.-Applikation von CCK-4, nicht aber von CCK-8s,

schnellauftretende Angstreaktionen hervorriefen, die von Palpitation, Schwitzen und Ohnmachtsgefühl begleitet waren. Die Reaktionen waren 5 Minuten p.i. am ausgeprägtesten und nach 20 Minuten verschwunden (Vanderhaeghen und Crawley, 1985). Allerdings gab es auch widersprüchliche Ergebnisse. Basso und Mitarbeiter berichteten schon 1981, daß Caerulein, ein dem CCK analoges Peptid mit 10 AS (siehe Tab. 2-1), Angstgefühle bei menschlichen Probanden, die an psychisch bedingten Kopfschmerzen litten, vermindert. Als nachfolgende Arbeiten zeigten, daß eine zweiwöchige chronische Vorbehandlung mit Benzodiazepinen (Diazepam 5 mg/kg/d und Flurazepam 15 mg/kg/d) die exzitatorischen Effekte von mikroiontophoretisch in die CA₃- Region des Hippokampus von Ratten appliziertem CCK-8s deutlich reduziert, wurde die Vermutung ausgesprochen, daß das Neuropeptid CCK bei der Vermittlung von Angstzuständen beteiligt sein könnte und daß der Mandelkern und der Nucleus accumbens bei der Vermittlung der CCK-Wirkungen eine Rolle spielen (Bouthillier und DeMontigny, 1988).

Die erste detaillierte Beschreibung der Wirkungen einer i.v.-Applikation von CCK bei gesunden Freiwilligen wurde 1989 veröffentlicht (DeMontigny, 1989). Diese offene, unkontrollierte Studie zeigte, daß CCK-4 bei sieben von zehn Probanden panikähnliche Attacken ('intensive unerklärbare Angst') und bei den übrigen Probanden Gefühle von Angst und Nervosität hervorrief. Die Maximaldosis lag zwischen 20 und 100 µg, das Wirkungsmaximum innerhalb einer bis fünf Minuten p.i. und die Dauer der Reaktionen zwischen einer bis vier Minuten. Diese Reaktionen waren von epigastrischem Unwohlsein begleitet. CCK-8s rief keine Panik hervor, bewirkte allerdings stärkeres Unwohlsein. Diese frühen Befunde wurden 1990 durch die Ergebnisse eines Doppel-Blind-Versuchs an 11 Patienten mit Angstzuständen bestätigt, der an Hand einer Gruppe, die nur Placebos verabreicht bekamen, kontrolliert wurde. Dieser zeigte, daß alle Probanden innerhalb einer Minute nach CCK-4-Applikation (50 µg) eine Panikattacke erlitten, aber keiner nach einer Placeboinfusion. Abelson und Nesse (1990) vermuteten in demselben Jahr, daß Patienten mit Angststörungen möglicherweise stärker sensitiv gegenüber den anxiogenen Eigenschaften von CCK-Analoga sind als gesunde. Zu dem gleichen Ergebnis kam auch eine weitere Studie (Bradwejn et al., 1991). In einer anderen Untersuchung wurde CCK-4 über einen weiten Dosisbereich verabreicht und dabei dosisabhängig eine Provokation von Angst bei Personen mit Angststörungen hervorgerufen. Andere Studien zeigten die mögliche Beteiligung unterschiedlicher Grundantwortverhalten der Angst (z.B. bei Patienten und Gesunden) an dem Auftreten von CCK-4-provozierten Panikreaktionen (Koszycki et al., 1993; Van Megen et al., 1994; Abelson und Nesse, 1994; Abelson et al., 1994). Zwei neuere Studien haben gezeigt, daß CCK_B-Rezeptor-Antagonisten (L365.260) das Panik auslösende

Wirkungsvermögen von CCK-4 und Pentagastrin blockieren können (Lines et al., 1995; Bradwejn et al., 1994).

2.3.2 Beim Tier

Bei Schafen führte die i.c.v.-Applikation von Caerulein, einem CCK-Analogen, zu angsthlichem 'Fußstampfen und Lautäußerungen' (Dela-Fera und Baille, 1979). Bei Katzen senkte es die Schwelle von durch ZNS-Stimulation induzierter Scheinraserei (Maeda et al., 1988). Bei Ratten führte die systemische und intraamygdale Applikation von CCK-8s und unsulfatiertem CCK-8 zu einer Verstärkung von 'Angstmotivation' (Fekete et al., 1984) und 'defensivem Verkriechen' (Csonka et al., 1988). Bei der systemischen Applikation war die subkutane Applikation 3-10 mal effektiver als die intraperitoneale und bei der intrazerebroventrikulären Applikation waren 100-300fach niedrigere Dosierungen (Femto-Mol-Bereich) wirksam.

Einige der früheren Studien konnten allerdings eine anxiogene Wirksamkeit von CCK-Fragmenten nicht nachweisen. So war CCK-8s bei Ratten im Geller-Seifter-Konflikttest unwirksam (Cohen und Crouse, 1987), während CCK-4 das im Open-field als anxiolytische Reaktion definierte Explorationsverhalten bei Ratten erhöhte (Hsiao et al., 1984).

Bradwejn und Mitarbeiter zeigten dagegen, daß CCK-8s und CCK-4 an kortikalen und hippokampalen Neuronen von Ratten deutliche Exzitationen hervorriefen, die durch die Gabe von Benzodiazepinen blockiert werden konnten (Bradwejn und DeMontigny, 1984).

CCK-4 provoziert nur bei bestimmten Zuchtlinien von Ratten stabile und reproduzierbare anxiogene Verhaltensweisen. Desweiteren kann CCK-4 im sozialen Interaktionstest mit Ratten keine anxiogenen Verhaltensweisen hervorrufen, wie es in anderen Tests (Ultraschall-Vokalisations-Test, Hell-/Dunkel-Box, Elevated-plus-maze-Test) möglich ist (Fink et al., 1998). So beobachteten Rex und Mitarbeiter (1994) bei der Untersuchung von CCK-4 und CCK-8s mit Ratten in vier Tiermodellen der Angst (Ultraschall-Vokalisations-Test, Hell-Dunkel-Box, Elevated-plus-maze-Test, modifizierter Open-field-/Konflikt-Test) eindeutige anxiogene Wirkungen für CCK-4, während für CCK-8s eine solche Wirksamkeit nicht nachgewiesen werden konnte. Auch bei Meerschweinchen konnte im Elevated-plus-maze-Test neben einer Erhöhung extrazellulärer kortikaler 5-HT Konzentrationen die anxiogene Wirkung von CCK-4 (10 µg/kg) beobachtet werden.

Zieht man die Quintessenz aus den in der Literatur vorliegenden Daten, so stellt man fest, daß nach einer anfänglich überaus positiven Einschätzung des anxiolytischen Potentials von CCK_B-

Rezeptor-Antagonisten die nachfolgenden widersprüchlichen Studienergebnisse zu einer weit differenzierteren Beurteilung des klinischen Nutzens von CCK_B-Rezeptor-Antagonisten im Angst- bzw. Panikgeschehen führten.