

## 5 Diskussion

Benzodiazepinderivate sind über 30 Jahre die Mittel der Wahl bei der klinischen Behandlung von pathologischen Angstzuständen gewesen (Holm, 1988; Rodgers und Johnson, 1996). Neben dieser Substanzgruppe ist der partielle 5-HT<sub>1A</sub>-Agonist Buspiron (BuSpar<sup>®</sup>) (Dompert et al., 1985; Glaser und Traber, 1985) ein weiteres zugelassenes Medikament in Amerika und Europa zur Behandlung von pathologischen Angstzuständen. Überhaupt wurden mit den Benzodiazepinen, den Propanediolcarbamaten und den Barbituraten in erster Linie Substanzen in der Therapie von Angstzuständen angewendet, welche das GABAerge Transmittersystem beeinflussen (Taylor und Moon, 1991). Noch vor 15 Jahren war die klinische Situation einfach: Angst und Depression waren zwei eigenständige Krankheitsbilder, und jedes wurde mit seinen eigenen Medikamentengruppen behandelt. Die Abgrenzung war so klar, daß die beiden Gruppen als Anxiolytika und Antidepressiva bezeichnet wurden. Heute ist die Abgrenzung nicht mehr so eindeutig, so werden z.B. Antidepressiva in der klinischen Behandlung von Erwartungsangst eingesetzt. Die Behandlung von pathologischen Angstzuständen ist noch immer ein aktives Feld der Forschung. So wurden in den 60er Jahren entwickelte Verhaltenstests um spezifische Rezeptorbindungsverfahren erweitert. Obwohl bei der Entwicklung der meisten anxiolytisch wirksamen Substanzen weiterhin die Neurotransmitter GABA und 5-HT im Mittelpunkt stehen, hat die Erforschung von anderen Transmittern wie CCK, CRF und dem Neuropeptid Y eine vielversprechende Zukunft. Ein Weg auf der Suche nach neuen und sicheren anxiolytisch wirksamen Stoffen war die Entwicklung von Substanzen, die als partielle Agonisten über einen oder mehrere BDZ-Rezeptorsubtypen wirken (z.B. Abecarnil, Alpidem, Bretazenil) (Sanger et al., 1994; Stephens et al., 1992).

In der vorklinischen Forschung sind derzeit etwa 30 Tiermodelle der Angst gebräuchlich (Griebel, 1995). Der augenfälligste Unterschied der Modelle besteht in der Differenzierung in konditionierte (traditionelle) und nicht konditionierte Modelle. Im Allgemeinen kann man die beiden Gruppen folgendermaßen charakterisieren: bei konditionierten Modellen hat der Untersuchende weitestgehend die Kontrolle über die Verhaltensgrundmuster der Tiere. Allerdings setzt jede Versuchsreihe ein intensives Training der Tiere und notwendige Kontrollen für nicht-spezifische Behandlungseffekte auf Lernen, Gedächtnis, Appetit und Wahrnehmungsfunktionen voraus. Im Gegensatz dazu haben Modelle, die auf nicht-konditionierten Verhaltensweisen beruhen, ein höheres Maß an ethologischer Validität, benötigen kein Training der zu testenden Tiere und sind weniger empfänglich für Einflüsse, die aus dem Konflikt von Erinnerungs- und Motivationsprozessen entstehen, obwohl diese von

variablen Verhaltensgrundmustern und Behandlungseffekten auf das allgemeine Aktivitätsniveau abhängig sind (Rodgers, 1997). Weitere Unterscheidungskriterien sind die verschiedenen Grundlagen dieser Modelle; beruhen sie auf einmalige Verhaltensantworten oder Verhaltensmuster, vorbereiteten oder spontanen Gedankenverbindungen, sozialem oder nicht-sozialem Verhalten oder sind es Tests, die Verhaltensantworten hervorrufen oder unterdrücken. Komplizierend in diesem Zusammenhang ist auch die Tatsache, daß von ein und demselben Modell viele verschiedene Versionen existieren, die sich aufgrund der verwendeten Testparameter maßgeblich unterscheiden. Idealerweise sollte ein Modell, welches in vorklinischen Studien eingesetzt wird, drei Aussagegültigkeiten besitzen: Übertragungsgültigkeit (face validity), was bedeutet, daß die im Modell beobachteten Verhaltensantworten analog den menschlichen Reaktionen unter vergleichbaren Umständen sind, Planungsgültigkeit (construct validity), welche sich auf die Homologie zwischen dem Modell und der nachzustellenden Situation bezieht, und die Vorraussagegültigkeit (predictive validity), die sich in erster Linie auf die Sensitivität der Modelle gegenüber bekannten Anxiolytika bezieht.

Die Gemeinsamkeit, die alle Angstmodelle besitzen, ist zum einen ihr angemessenes Maß an Übertragungsgültigkeit und zum anderen ihre Sensitivität gegenüber etablierten Anxiolytika, speziell gegenüber der Substanzgruppe der Benzodiazepine. Die Vorraussagegültigkeit der Modelle als klassischer definierender Faktor der Tiermodelle der Angst führte zu einer Begriffsverwirrung über den Terminus „Angstmodell“, so daß Green und Hodges (1991) vorschlugen, daß eine Validierung gegen den BDZ-Gold-Standard nicht Tiermodelle der Angst, sondern Modelle der BDZ-Psychopharmakologie hervorbringt. Die derzeit verfügbaren Testmodelle sollten daher mehr als vorhersagende Modelle der anxiolytischen Aktivität einer bestimmten Arzneimittelgruppe betrachtet werden.

Lister (1990) bemerkte treffend, daß eine pharmakologische Validierung eines Modells dieses nicht gleich zu einem Modell der Angst erhebt. Kein einziges Tiermodell selektiert anxiolytisch wirksame Substanzen ohne einige falsch positive oder falsch negative Resultate, weil das Bemühen, die Planungsgültigkeit zu erhöhen, durch das unzureichende Verstehen der menschlichen Angstprozesse eingeschränkt wird (Lister, 1990; Treit, 1985).

Es scheint daher nicht verwunderlich, daß die Modelle, die gegen den BDZ-Gold-Standard validiert wurden, bei der Identifizierung von BDZ-ähnlichen Substanzen, welche den GABA<sub>A</sub>-Rezeptor-vermittelten Chloridionen-Einstrom erleichtern (z.B. Barbiturate, Ethanol, Neurosteroiden), verlässliche Ergebnisse liefern. Nicht so eindeutig sind jedoch die mit diesen Modellen gewonnenen Ergebnisse bei der Erkennung von Substanzen, die ihre anxiolytische

Wirkung über andere neurobiologische Mechanismen entfalten. Ein gutes Beispiel ist Buspiron, das in der Klinik sein anxiolytisches Potential bewies, bei der Testung im Tierversuch jedoch sowohl anxiolytische als auch anxiogene Effekte zeigte. Für die unbeständigen Ergebnisse von systemisch appliziertem Buspiron im Tiermodell wurden verschiedene Vorschläge für die Ursache gemacht: Dosisabhängige Effekte von Buspiron mit anxiolytischer Wirkung in niedrigen und anxiogener Wirkung in hohen Dosen (Söderpalm et al., 1989) oder akute und chronische Behandlung (Cole und Rodgers, 1994; Moser, 1989). Doch selbst Studien mit dem gleichen Versuchsprotokoll kamen zu gegensätzlichen Ergebnissen. Von größerer Bedeutung scheint die Arbeit von Andrews und File (1993) zu sein, die fanden, daß Buspiron anxiogene Effekte nur bei Ratten hervorruft, welche an die Handhabung (Handling) habituiert wurden.

Seit Ende der 60iger Jahre wird aufgrund der Ergebnisse aus klassischen (konditionierten) Tiermodellen vermutet, daß das zentrale serotonerge Transmissionsystem an der Modulation von Angst beteiligt ist (Robichaud und Sledge, 1969; Graeff und Schoenfeld, 1970; Stein et al., 1973). Eine eindeutige Formulierung zu der Funktion des serotonergen Systems im Zusammenhang mit Angst, die sogenannte klassische Hypothese, stammt von Iversen (1984). Sie formuliert, daß eine Aktivierung von serotonergen Neuronen Angst fördert, während die Hemmung dieses Systems diese verhindert. Gray (1982) verfeinerte dieses Konzept und formulierte das "Verhaltens-Hemmungs-System", das besagt, daß eine erwartete Verhaltensweise durch die Androhung einer Bestrafung gehemmt wird. Aber es gab auch Anzeichen, daß die klassische Hypothese nicht so ohne weiteres gültig war. Klinisch waren 5-HT-Antagonisten und ähnlich wirkende Substanzen nicht anxiolytisch wirksam (Engelmann et al., 1967), und von Methysergid, einem 5-HT-Antagonisten mit hoher Affinität zu 5-HT<sub>2</sub>-Rezeptoren (Chopin und Briley, 1987), wurde berichtet, daß es bei gesunden Menschen Angst erzeugt (Graeff et al., 1990). Zusätzlich war die 5-HT-Vorstufe Tryptophan nicht anxiogen wirksam (Charney et al., 1987). Die Probleme wurden gesehen; aber nach der Entdeckung verschiedener 5-HT-Rezeptor-Subtypen (Bradley et al., 1986) hoffte man, daß sich diese Effekte durch die Vermittlung über verschiedene Rezeptorsubtypen erklären lassen. Azaperone (z.B. Buspiron, Ipsapiron, Gepiron, Tanspiron) als partielle Agonisten des 5-HT<sub>1A</sub>-Rezeptors zeigen anxiolyseähnliche Effekte bei Tieren und wirken anxiolytisch bei Patienten. Es wird vermutet, daß die serotonergen Wirkungen der Azaperone für ihre anxiolytische Wirksamkeit verantwortlich sind (Taylor und Moon, 1991).

Durch die Entwicklung selektiver 5-HT-Agonisten und -Antagonisten erwartete man die Gewinnung von klinisch aktiven Substanzen. Die Entdeckung, daß das neue Nicht-BDZ-Anxiolytikum Buspiron hoch selektiv am 5-HT<sub>1A</sub>-Rezeptor bindet, gab der Erforschung des

serotonergen Systems neuen Antrieb. Die Studien über die Effekte von 5-HT-Substanzen liefern beeindruckende Ergebnisse, welche die klassische Hypothese unterstützen. So bewirkte die i.p.-Applikation selektiver 5-HT<sub>2</sub>- (z.B. Ritanserin) oder 5-HT<sub>1A</sub>-Agonisten anxiogene Effekte, während 5-HT<sub>3</sub>-Rezeptor-Antagonisten (z.B. Ondansetron, Granisetron, Tropisetron) anxiolytische Effekte produzierten (Übersicht bei Chopin und Briley, 1987; Lister, 1990; Handley, 1991).

Daten aus Tierversuchen lassen zudem auf eine funktionelle Beziehung zwischen dem CCKergen und dem serotonergen System schließen. So konnten Rex und Mitarbeiter (1997) in Mikrodialysestudien an Meerschweinchen auf dem Elevated-plus-maze eine Wechselwirkung von CCKergen und serotonergen Mechanismen über den Einfluß auf kortikale 5-HT-Freisetzungen nachweisen. Es häufen sich die Beweise, daß der CCK-4-Herausforderungstest ein gültiges experimentelles Modell für Panikattacken beim Menschen ist. In einem achtwöchigen Doppelblind-Versuch wurden Patienten mit pathologischen Panikzuständen mit dem selektiven 5-HT-Wiederaufnahmehemmer Fluvoxamine bzw. Plazebo behandelt und den Probanden anschließend ein CCK-4 Bolus (50 µg) verabreicht. Die Fluvoxamine-Behandlung senkte signifikant die Sensitivität der Patienten mit Panikzuständen gegenüber CCK-4, während die Plazebogabe ohne Effekt war (Van Megen et al., 1997). Diese Studie spricht dafür, daß die Anwendung von CCK-4 menschliche Panik modelliert und erhärtet die Hypothese, daß sowohl CCK als auch 5-HT an der Regulation von Angst beteiligt sind. Der Widerspruch, daß sowohl Agonisten als auch Antagonisten des 5-HT<sub>1A</sub>-Rezeptors anxiolytisch wirksam sind, wird immer noch diskutiert (Briley und Fillion, 1998). Auch 5-HT<sub>2C</sub>-Rezeptor-Agonisten und -Antagonisten sind im Tiermodell wirksam, wobei Agonisten mehr bei pathologischen Angstzuständen und zwanghaften Störungen und Antagonisten mehr bei generalisierter Angst wirksam sind.

CCK vermittelt über den CCK<sub>B</sub>-Rezeptor Panikattacken, aber es ist noch nicht durch klinische Studien belegt, daß Antagonisten am B-Rezeptor potentielle Antipaniksubstanzen sein können (Van Megen et al., 1997). Der selektive Serotonin-Wiederaufnahmehemmer (SSRI) Citalopram (5 und 10 mg/kg) senkte bei Ratten im Elevated-plus-maze-Test die Eintritte in die offenen Arme und die Gesamtaufenthaltsdauer auf den offenen Armen. Die Gabe von 15 mg/kg war ohne Effekt. Devazepide (0,01 und 1,0 mg/kg) vermochte keine Änderung der Citalopram-Wirkung herbeizuführen. L365.260 hemmte die meisten Citaloprameffekte, war aber in einer Dosierung von 0,01 mg/kg nicht wirksam (Matto et al., 1996). Diese Studie belegt die Rolle des CCK<sub>B</sub>-Rezeptors bei SSRI-induzierten anxiogenen Effekten bei Nagern. Aus diesen Studien wird ersichtlich, daß es sich bei Angst um ein facettenreiches Krankheitsbild handelt an dem sowohl

das serotonerge als auch das CCKerge Transmittersystem beteiligt sind, die eng miteinander agieren. Van Megen und Mitarbeiter (1997) vermuten, daß Effekte von CCK im Angstgeschehen durch die Interaktion mit dem serotonergen System vermittelt wird, wie es durch die Untersuchungen von Rex und Mitarbeitern (1997) zur Klärung der neurobiologischen Vorgänge im Angstgeschehen an Meerschweinchen im Elevated-plus-maze-Test auch bestätigt wird.

Fekete und Mitarbeiter (1984) haben als erste anxiogene Wirkungen von neuronalem CCK in Tierexperimenten nachgewiesen. Auch andere Autoren haben anxiogenähnliche Effekte von applizierten CCK-Peptiden beschrieben (Della-Ferra und Baile, 1979; Ishibashi et al., 1979). Studien mit CCK-Agonisten und -Antagonisten am Tier und am Menschen lassen vermuten, daß CCK bei der Regulation von Angst und Panik eine Rolle spielt. So zeigten Untersuchungen, daß systemisch oder intracerebral appliziertes CCK angstähnliche Effekte in verschiedenen Tierspezies, inklusive Mäuse, Ratten, Meerschweinen, Katzen und Affen, erzeugt (Fekete et al., 1984; Csonka et al., 1988; Harro et al., 1990a; Harro und Vasar, 1991a; Singh et al., 1991; Palmour et al., 1992, Rex et al., 1994, 1995). In verschiedenen Tiermodellen der Angst konnte gezeigt werden, daß Substanzen, die am CCK<sub>B</sub>-Rezeptor binden, in der Lage sind, angst- oder anxiolyse-ähnliche Effekte bei Nagern hervorzurufen (Rex et al., 1994; Rodgers und Johnson, 1994).

Bei Patienten mit Angstzuständen und gesunden Freiwilligen bewirkt die Applikation des CCK<sub>B</sub>-Rezeptor-Agonisten CCK-4 panikähnliche Attacken (Bradwejn et al., 1991; DeMontigny, 1989). In einer anderen Studie konnte gezeigt werden, daß der zentral wirksame, selektive CCK<sub>B</sub>-Rezeptor-Antagonist L365.260 den panikogenen Effekt von CCK-4 beim Menschen abschwächen konnte (Bradwejn et al., 1994). Diese Effekte sprechen für eine Beteiligung des CCK<sub>B</sub>-Rezeptors. Zusätzlich reduzieren klinisch wirksame paniklösende Substanzen die Sensitivität von Patienten mit Panikzuständen gegenüber CCK-4 (Van Megen et al., 1997).

Nicht nur die Tatsache, daß ausschließlich Antipanic-Medikamente die Effekte von CCK-4 blockieren (Bradwejn, 1995) favorisierte die These, daß Störungen im CCK-System bei besonderen Formen der Angst (Panikzuständen) existieren; auch biochemische Ergebnisse sprechen dafür. Lydiard und Mitarbeiter (1992) beobachteten, daß Patienten mit Panikzuständen weniger CCK-8s in der Zerebrospinalflüssigkeit als Kontroll-Probanden haben. Auch die Konzentration von CCK-8s in Lymphozyten war bei diesen Patienten gegenüber gesunden Kontrollpersonen signifikant herabgesetzt (Brambilla et al., 1993). Daß der CCK<sub>B</sub>-Rezeptor bei der Vermittlung der panikogenen Wirkungen von CCK-4 ein herausragende Rolle spielt, belegt

die o.g. Untersuchung von Bradwejn und Mitarbeitern (1994). Aber auch nach CI-988-Gabe kam es zu einer signifikanten Abnahme der Schwere (PGI-Skala) und der Häufigkeit von Panikattacken. Trotzdem führte eine plazebokontrollierte Studie mit L365.260 zu keiner signifikanten klinischen Verbesserung bei Patienten mit Panikzuständen. Die möglichen Ursachen für die ausbleibende Wirkung sind nicht klar, aber die schlechten pharmakokinetischen Eigenschaften von L365.250, die u.a. für die Löslichkeit und den Übertritt durch die BHS verantwortlich sind, scheinen eine Erklärung zu bieten (Bourin, 1996).

Bei der Auswertung der Wirkungen von CCK-Rezeptor-Antagonisten am Tier, die in routinemäßig genutzten Angsttests gemessen werden, ist Vorsicht angebracht. Anxiogene Wirkungen von CCK-Agonisten wurden vor allem in nicht-konditionierten, klassischen Angstmodellen nachgewiesen (Rodgers, 1997). Die potentesten anxiolytischen Wirkungen von CCK<sub>B</sub>-Rezeptor-Antagonisten wurden in einigen Modellen gezeigt, die auf explorativen Verhaltensweisen beruhen (Hughes et al., 1990; Powell und Barrett, 1991) und oft genutzt werden, um Angst bei Nagern zu messen. Wie schon erwähnt konnten manche Untersucher keine Wirkung von CCK-Rezeptor-Antagonisten auf das explorative Verhalten feststellen. Fast wirkungslos waren CCK<sub>B</sub>-Rezeptor-Antagonisten in klassischen Angsttests, in denen der Konflikt durch direkte Bestrafungsprozeduren wie z.B. Elektroschocks erzeugt wird (Dooley und Klamt, 1993). Oftmals wird aber nicht bedacht, daß exploratives Verhalten vom Wechselspiel von Neophobie und explorativem Drang abhängt, wobei beide Parameter von vielen Tierstammunterschieden (organismische Variablen) und methodischen Einflüssen (methodische Variablen) abhängig sind (Harro und Vasar, 1991; Vasar et al., 1993; Rex et al., 1995,1996; Fink et al., 1997).

Zu den wichtigsten organismischen Variablen gehören die Tierspezies, die Zuchtlinie, das Alter, und das Geschlecht; zu den wichtigsten methodischen Variablen die Vorversuchshandhabung (Handling), die vorherige Testung im Lochbrett-Test, vorheriger Streß, die Beleuchtungsintensität während des Testes, die Versuchszeit am Versuchstag und eine vorherige Testung im dem Elevated-plus-maze-Test. Der Einfluß von organismischen und methodischen Variablen wurde in vielen Angsttests beobachtet. So stellten Walsh und Cummings (1987) bei Versuchen mit dem Open-field fest, daß sich das Verhalten der Tiere als Antwort auf eine Substanzgabe drastisch mit der Änderung der Beleuchtungsintensität oder der Größe der Testarena verändern kann. Auch Rex und Mitarbeiter (1996) zeigten an männlichen Ratten in vier verschiedenen Angsttests (Konflikt-Test im Open-field, sozialer Interaktionstest, Lochbrett-

Test, freier Explorationstest) den Einfluß genetischer Faktoren und Zuchtbedingungen auf angstmotivierte Verhaltensweisen.

Am besten untersucht sind die Einflüsse dieser Variablen für den Elevated-plus-maze-Test. Dabei sind Tierart, Zuchtlinie, Alter und Geschlecht die am häufigsten untersuchten organismischen Variablen. Während Speziesunterschiede vermutlich keinen Einfluß auf die unbeständigen und teils widersprüchlichen Ergebnisse pharmakologischer Studien haben, scheinen Unterschiede der Hauptzuchtlinien einen großen Einfluß auf das Grundantwortverhalten der Angst im Elevated-plus-maze-Test zu haben. Solche Unterschiede wurden sowohl für Ratten (Rex et al., 1995; Costall et al., 1989a; Mangiafico et al., 1989; Pare, 1992; Pellow et al., 1985; Söderpalm, 1989) als auch für Mäuse (Alder und Morinan, 1992; Miyamoto et al., 1992; Rodgers und Cole, 1993b) beschrieben. Eine Studie von Trullas und Skolnick (1993) mit 16 Inzucht-Mäusestämmen hat bestätigt, daß Hauptunterschiede im Angstantwortverhalten zu 70 Prozent auf genetische Faktoren zurückzuführen sind; der Einfluß genetischer Faktoren wurde auch durch eine Studie unserer Arbeitsgruppe bestätigt (Rex und Fink, 1997).

Das Alter der Tiere zur Zeit des Versuches scheint ebenso ein wichtiger Faktor zu sein. So scheint das Grundantwortverhalten der Tiere im Hinblick auf ihre Ängstlichkeit mit zunehmendem Alter anzusteigen (File, 1990b; Frussa-Filho et al., 1992; Lamberty und Gower, 1990). Daß Alterungsprozesse der Tiere einen Einfluß auf biochemische Prozesse von CCK haben müssen, zeigten auch die Untersuchungen von Voigt und Mitarbeitern (1996). In diesen Versuchen zur Futteraufnahme unter verschiedenen Versuchsbedingungen konnten sie an Ratten nachweisen, daß neben methodischen Parametern auch das Alter für die hypophage Wirkung von exogen appliziertem CCK-8 verantwortlich ist.

Demgegenüber scheint der Einfluß des Geschlechtes der Tiere, die bei Versuchen mit dem Elevated-plus-maze-Test verwendet werden, ausgeglichen zu sein. Einige Studien zeigen keinen Effekt (Alder und Morinan, 1992; Steenbergen et al., 1990), andere Studien deuten daraufhin, daß weibliche Tiere weniger ängstlich als männliche sind (Johnston und File, 1991; Rodgers und Cole, 1993b), und andere, daß männliche weniger ängstlich sind als weibliche (Kellogg et al., 1991). Ebenso gibt es eine Studie, die sich mit Unterschieden innerhalb eines Geschlechtes befaßt. Sie zeigt, daß weibliche Tiere, die sich in der Laktationsphase befinden, weniger ängstlich sind als nicht laktierende Ratten (Bitran et al., 1991b), ein Ergebnis, das gut zu den Studien über die Anxiolyse-ähnlichen Effekte von Progesteron-verwandten Steroiden paßt.

Daraus folgt, daß die Auswahl von Zuchtlinie, Alter der Tiere und Geschlecht bestimmende Faktoren des Grundantwortverhaltens der Angst auf dem Elevated-plus-maze und damit der Substanzantwort sind. Niedrige Werte im Grundantwortverhalten senken die Möglichkeiten, anxiolytisch wirksame Substanzen zu finden, während hohe Werte des Grundantwortverhaltens es schwierig machen, Substanzen mit anxiogener Wirkungspotenz zu identifizieren.

Bei den methodischen Variablen wurden für die Parameter Tierhaltung, Vorversuchshandhabung, vorheriges Testen, Vorversuchsstreß, Beleuchtungsintensitäten und vorheriges Testen auf dem Elevated-plus-maze gezeigt, daß sie alle einen signifikanten Einfluß auf das Grundverhalten der Angst haben. Für Ratten wurde gezeigt, daß eine Einzeltierhaltung entweder keinen Effekt hat (Frussa-Filho et al., 1991) oder die Angst zu steigern vermag (Janowska et al., 1991). Im Gegensatz dazu führt bei Mäusen eine Einzeltierhaltung für mehr als eine Woche dazu, daß die Angst der Tiere auf dem Elevated-plus-maze sinkt (Hilakivi et al., 1989a; Rodgers und Cole, 1993b). Obwohl diese Speziesunterschiede eventuell auf die unterschiedliche soziale Organisation dieser beiden Tierarten zurückzuführen sind (koloniale gegenüber territorialer), wurden keine offensichtlichen Unterschiede zwischen sozial dominanten und sozial untergeordneten männlichen Mäusen gefunden (Hilakivi et al., 1989b). Außerdem erlauben die im Elevated-plus-maze gewonnenen Ergebnisse keine Aussage über den zukünftigen dominanten oder untergeordneten sozialen Status von männlichen Mäusen und Ratten (Hilakivi-Clarke und Lister, 1992).

Da die Effekte der Vorversuchshandhabung nicht intensiv untersucht wurden, gibt es sowohl Ergebnisse, in denen das Grundantwortverhalten der Angst erhöht wird (Andrews und File, 1993) bzw. keine Effekte auf das explorative Verhalten auf den offenen Armen gefunden wurden (Brett und Pratt, 1990).

Verschiedene Untersucher exponieren ihre Tiere vor dem eigentlichen Versuch gegenüber einer ungewohnten Umgebung (z.B. Lochbrett-Test); dies geschieht in der Regel, um zusätzliche Informationen über Substanzeffekte auf die lokomotorische Aktivität und das Explorationsverhalten zu erhalten. Es stellte sich heraus, daß eine Vorversuchs-Untersuchung dieser Art die Baseline sowohl bei Ratten (Pellow et al., 1985, Söderpalm et al., 1989) als auch bei Mäusen (Lister, 1987; Rodgers und Cole, 1993b) senkt. Hilakivi-Clarke und Mitarbeiter (1991) konnten bei männlichen Wistar-Ratten zeigen, daß frühes postnatales Handling und kurzfristige Isolation von der Mutter dazu führt, daß diese Tiere besser mit Streß umgehen können. In diesem Zusammenhang ist von Bedeutung, daß eine Exposition gegenüber einer fremden Umgebung vor dem eigentlichen Versuch mit den genetischen Determinanten der



Zuchtlinie in Wechselwirkung treten können. Dadurch können bei verschiedenen Zuchtlinien unter gleichen Versuchsbedingungen in demselben Modell entgegengesetzte verhaltensmäßige Erscheinungen erzeugt werden. So zeigen T<sub>1</sub>-Mäuse weniger Angst als Antwort auf eine ungewohnte Umgebung und DAB/2-Mäuse eine gesteigerte Angst (Rodgers und Cole, 1993b). Diese Ergebnisse belegen, daß unter bestimmten Umständen eine Exposition gegenüber einer ungewohnten Umgebung zu angst-ähnlichen Effekten auf das Verhalten im Elevated-plus-maze-Test führen kann. Von ähnlichen Effekten wurde auch bei Ratten berichtet (DaCunha et al., 1992).

Zusätzlich wurde eine große Anzahl weiterer methodischen Stressoren gefunden, welche die Angst bei Ratten und Mäusen auf dem Elevated-plus-maze steigert, inklusive Immobilisation (Albonetti und Farabollini, 1992; Handley und McBlane, 1993; Falter et al., 1992), forciertem Schwimmen (Britton et al., 1991), elektrischem Schock (Steenbergen et al., 1990; Falter et al., 1992), operativem Streß (Adamec et al., 1991), Injektion mit isotoner Kochsalzlösung (Adamec et al., 1991), sozialer Niederlage (Heinrichs et al., 1992; Rodgers und Cole 1993a), Witterung eines Artgenossen (Rodgers und Cole 1993a), Katzengeruch (Zangrossi und File, 1992a,b) und Exposition gegenüber einer Katze (Adamec und Schallow, 1993).

Bei dem Einfluß der Beleuchtungsintensität auf dem Elevated-plus-maze ist die Meinung geteilt. Einige Arbeitsgruppen berichten von keinerlei Effekten (Falter et al., 1992; Handley und McBlane, 1993; Pellow et al., 1985), andere sehen signifikante Abnahmen der Exploration auf den offenen Armen (Benjamin et al., 1990; Lee und Rodgers, 1990; Morato und Castrechini, 1989). Auch sollte nicht unerwähnt bleiben, daß selbst bei fehlendem Einfluß auf das Angstverhalten auf dem Elevated-plus-maze die Beleuchtungsintensität exakt gegensätzliche Verhaltensprofile für bestimmte Substanzen wie z.B. 8-OH-DPAT erzeugen kann (Handley und McBlane, 1993).

Griebel und Mitarbeiter (1993) fanden, daß Ratten, die unter normalem Lichtzyklus gehalten wurden, bei einer Testung in der Zeit von 8:00 bis 12:00 Uhr morgens weniger ängstlich waren, als jene, die in der Zeit von 14:00 bis 17:00 Uhr getestet wurden. Hierbei müssen natürlich circadiane Faktoren und die Beleuchtungsintensität während des Versuchs als wichtige methodologische Faktoren berücksichtigt werden.

Obwohl einige Arbeitsgruppen stabile Verhaltensprofile auf dem Elevated-plus-maze für Bedingungen, in denen Tiere getestet und nach kurzer Zeit erneut getestet wurden, gezeigt haben (File, 1990a; Lister, 1987a; Pellow et al., 1985; Taukulis et al., 1992), hat die Mehrzahl der Studien eine Senkung der Exploration auf den offenen Armen gefunden (Griebel et al., 1993; Lee

und Rodgers, 1990; Rodgers et al., 1992b; Rodgers und Shepherd, 1993; Treit et al.; 1993a). Dieses Phänomen der Senkung der Exploration auf den offenen Armen, die sogenannte „Ein-Versuchs-Toleranz“, wird nicht bei Ratten gesehen, die vor dem Versuch ein Handling erfahren (File et al., 1992). Daher sollten immer naive Tiere benutzt werden.

Der nichtselektive CCK-Rezeptor-Antagonist Proglumide und die CCK<sub>B</sub>-Rezeptor-Antagonisten L365.260, CI-988 und LY-262.691 zeigen in verschiedenen Tiermodellen der Angst anxiolytische Effekte. Selbst die selektiven CCK<sub>A</sub>-Antagonisten Lorglumide und Devazepide zeigen ähnliche Eigenschaften, jedoch in Dosierungen, mit denen möglicherweise auch der CCK<sub>B</sub>-Rezeptor aktiviert wurde (Woodruff und Hughes, 1991; Harro und Vasar 1991a). Andere Autoren konnten den anxiolytischen Effekt von CCK<sub>B</sub>-Rezeptor-Antagonisten nicht reproduzieren (Harro und Vasar, 1991a; Harro et al., 1992; Crawley, 1992; Vasar et al., 1994).

Zusammenfassend lassen die derzeitigen Ergebnisse vermuten, daß CCK eine Rolle in der Neurobiologie von Panikzuständen spielt. Außerdem gibt es hinreichende Beweise für die Beteiligung anderer neuronaler Systeme, wie dem 5-HT, dem noradrenergen und dem GABAergen System bei der Regulation von Angst. Interessanterweise wurde festgestellt, daß eine Interaktion zwischen CCK und 5-HT besteht, und daß diese Interaktion eine Rolle bei der Vermittlung von Angst spielt.

Untersuchungen unserer Arbeitsgruppe mit CCK-Agonisten und -Antagonisten lieferten Hinweise dafür, daß es lohnend sei, systematische Untersuchungen durchzuführen, um deren Wirksamkeit nachzuweisen. So reduzierte systemisch appliziertes BOC-CCK-4 bei Ratten den prozentualen Anteil der Eintritte auf die offenen Arme sowie die Aufenthaltsdauer auf diesen. Diese Effekte konnten durch eine zusätzliche Gabe von 100 µg/kg L365.260 gehemmt werden (Rex et al., 1994). Außerdem erhöhte BOC-CCK-4 (10 µg/kg) bei Meerschweinchen die Angstantworten bei einer Testung auf dem Elevated-plus-maze über 20 Minuten, indem es den prozentualen Anteil der Eintritte auf die offenen Arme und die Aufenthaltsdauer auf diesen reduzierte. Aber auch die alleinige Gabe des CCK-Antagonisten L365.260 (100 µg/kg) hat einen anxiolytischen Effekt ausgelöst und erhöhte den prozentualen Anteil der Eintritte in die offenen Arme und die Aufenthaltsdauer auf diesen, ohne die lokomotorische Aktivität zu verändern (Rex et al., 1994).

Wir untersuchten daher genauer die anxiolytische Wirksamkeit von L365.260 bei Ratten nach peripherer und zentraler Applikation in einem modifizierten Konflikt-Test und auf dem Elevated-plus-maze mit unterschiedlichen methodischen Parametern (Licht, Geräusche). Zusätzlich wurde die Wirkung von L365.260 bei vagotomierten und scheinvagotomierten Ratten untersucht, um

eine Aussage über eine periphere oder zentrale Vermittlung CCK<sub>B</sub>-Rezeptor-vermittelter Effekte treffen zu können. Auffällig zu Beginn der Versuche war die Feststellung, daß die Ergebnisse früherer Untersuchungen, die mit Wistar-Ratten der Zuchtlinie Meichsner durchgeführt worden waren, nur teilweise reproduziert werden konnten. Da es Hinweise gibt, daß Stammesunterschiede für die untersuchte Tierart hinsichtlich eines überprüften Merkmals oder Verhaltens bestehen können (Rex et al., 1995; Costall et al., 1989a; Mangiafico et al., 1989; Pare, 1992; Pellow et al., 1985; Söderpalm, 1989), verglichen wir zwei Zuchtlinien eines Rattenstammes (Wistar) auf Unterschiede im Grundantwortverhalten der Angst. Die Ergebnisse der Versuche zeigten, daß bei Tieren eines Stammes aus unterschiedlichen Zuchtlinien (BgVV und Winkelmann) grundlegende Unterschiede in der Reaktion auf die jeweilige Versuchsanordnung zu beobachten waren. Diese spiegeln sich in dem unterschiedlichen Grundverhalten der Angst der Kontrollgruppen (Baseline) sowohl im Konflikt-Test als auch im Elevated-plus-maze wider: BgVV-Wistar-Ratten zeigen in beiden Testmodellen deutlich ängstlicheres Verhalten als Winkelmann-Wistar-Ratten. Diese zuchtlinienspezifischen Verhaltensmuster in den durchgeführten Angstversuchen können in unterschiedlichen methodischen Variablen aber auch im genetischen Potential der Zuchtlinie begründet sein. Neuere reproduzierbare Ergebnisse von Verhaltensstudien und neurochemischen Untersuchungen unserer Arbeitsgruppe unter verschiedenen Bedingungen zeigen, daß die Zuchtlinien-Unterschiede sehr groß sind (Rex et al., 1996; Fink et al. 1998). Bei einem Vergleich von sechs Rattenstämmen verschiedener Züchter in einem Angstmodell zeigten diese unterschiedliche Verhaltensgrundmuster (Rex et al., 1996). In einer Folgestudie mit Tieren derselben Stämme, die jedoch im eigenen Tierstall geboren und aufgezogen wurden, zeigten die Tiere ähnliche Verhaltensunterschiede. Desweiteren zeigte sich in einer separaten Mikrodialysestudie, daß bei ängstlicheren Tieren die 5-HT-Ausschüttung während der Exposition im Elevated-plus-maze-Test höher ist als bei weniger ängstlichen Tieren (Rex et al., 1997). Somit liegt die Vermutung nahe, daß diese Zuchtlinien auch genetisch verschieden sind, wie dies auch schon von Trullas und Skolnick (1993) für Mäuse beschrieben wurde und daß diese Unterschiede eine neurobiologische Grundlage besitzen.

Auch die Gabe von Standardanxiolytika im modifizierten Open-field lieferte abweichende Ergebnisse. Bei Untersuchungen mit den ängstlicheren Meichsner-Ratten führte die Applikation von Diazepam zu einer dosisabhängigen Erhöhung des Anteils der Tiere, die Futter aufnahmen, mit einem Maximum bei einer Dosis von 2,5 mg/kg, gefolgt von einer Abnahme. Bei der lokomotorischen Aktivität der Tiere konnte eine leichte Hyperaktivität nur bei einer Dosis von 10 mg/kg festgestellt werden (Rex et al., 1996). Die Ergebnisse dieser älteren Studien bestätigten

die Ergebnisse der Literatur zum damaligen Zeitpunkt (Balfour et al. 1986; Guimares et al., 1990; Jones und Cole, 1994; Moser, 1989; Pellow et al., 1985; Taukulis und Goggin, 1990; Vogel et al., 1971; Wright et al., 1992). Bei unseren Untersuchungen mit BgVV- und Winkelmann-Wistar-Ratten war Diazepam im Konflikt-Test nicht anxiolytisch wirksam. Eine Sedation der Tiere konnte aber durch die zur Kontrolle miterfaßte lokomotorische Aktivität ausgeschlossen werden.

Eine anxiolytische Wirkung des Diazepam wurde zum damaligen Zeitpunkt vorbehaltlos und in stiller Übereinkunft häufig als Standard im Vergleich zu anderen potentiell anxiolytisch wirksamen Substanzen verwendet (Taukulis und Goggin, 1990; Guimaraes et al., 1990; Wright et al., 1991,1992). Diazepam ist in einer Vielzahl von Angsttests über einen weiten Dosisbereich (0,5-5 mg/kg) wirksam, wie der Hell-Dunkel-Box (Merlo-Pich und Samanin, 1989), dem sozialen Interaktionstest (Costall et al., 1988) und dem defensiven Verkriechen-Versuch (Rohmer et al., 1990). Handley und Mithany (1984) konnten für Diazepam anxiolytische Wirkungen zeigen, welche von vielen Autoren, auch nach Applikation in zentrale Strukturen (Green und Vale, 1992; Russo et al.; 1993), reproduziert werden konnten (Übersicht bei Rodgers und Cole, 1994). Bekannt ist, daß Diazepam bei Ratten eine Hyperphagie induziert (Poschel, 1971; Johnson, 1978; Cooper, 1980). Eine Beeinflussung der Meßgröße der anxiolytischen Aktivität „Futteraufnahme“ unseres Konflikt-Tests durch die Hyperphagie-induzierende Wirkung des Diazepams kann aber ausgeschlossen werden. Britton und Britton (1981) wiesen in ihren Versuchen nach, daß eine Futterdeprivation über einen Zeitraum wie er in unserem Konflikt-Test gewählt wurde, schon bei unbehandelten Tieren eine Hyperphagie auslöst, die durch Diazepam nicht weiter gesteigert werden kann. Bodnoff und Mitarbeiter (1989) zeigten, daß eine akute Behandlung mit Diazepam die Latenzzeit bis zum Beginn der Futteraufnahme in einer neuen Umgebung senkte. In unseren Versuchen mit dem Konflikt-Test war ein Hyperphagie induzierender Effekt nicht feststellbar: die Kontrolltiere nahmen trotz vorheriger Futterdeprivation und Futterangebot kaum Nahrung auf (Rex et al., 1996). Britton und Britton (1981) fanden, daß Diazepam, Chlordiazepoxid, Pentobarbital und Ethanol die Futteraufnahme der Tiere während des Versuchs in Dosierungen erhöhte, die andere Verhaltensweisen (rearing oder grooming) unbeeinflusst ließen. Da die Futteraufnahme im Heimatkäfig unbeeinflusst blieb, wurde der Effekt nicht auf die appetitbeeinflussende sondern Anxiolyse-auslösende Wirkung der BDZ zurückgeführt. Dagegen berichteten Boisser und Mitarbeiter (1976) auch von erhöhter Futteraufnahme bei Tieren, die an das Open-field habituiert waren und somit nicht mehr dem Einfluß von Angst unterlagen. Wir verwendeten naive Tiere und konnten dies in unseren Versuchen nicht beobachten. Eine Beeinflussung der Ergebnisse des

Konflikt-Tests durch die Wirkung von Diazepam auf das Nahrungsaufnahmeverhalten und auf Motivationsprozesse kann somit ausgeschlossen werden.

In beiden von uns gebrauchten Modellen war die Lokomotion der Tiere kaum beeinflusst, obwohl aus der Literatur bekannt ist, daß BDZ in niedrigen Dosierungen die lokomotorische Aktivität von Tieren in einer ungewohnten Umgebung (Testarena) steigern (Christmas und Maxwell, 1970). Auch dies spricht dafür, daß in unseren Versuchen eine Beeinflussung der natürlichen Verhaltensweise der Tiere durch BDZ ausgeschlossen werden kann.

Eine Möglichkeit für die fehlende anxiolytische Wirkung des Diazepam (0,5-2,5 mg/kg) im Konflikt-Test kann in der Angstform gesucht werden, die dieser Angsttest modelliert. In der Klinik wird Diazepam zur Behandlung generalisierter Angstzustände verwendet (Griebel, 1997). Wenn dieses Modell der Angst unter den verwendeten Versuchsbedingungen nicht sensitiv gegenüber BDZ ist, so wäre zu klären, welche Form der Angst des Menschen mit diesem Modell (Übertragungsgültigkeit) nachempfunden wird und ob diese eine mögliche Ursache der ausbleibenden Wirkung ist. Methodische Einflüsse können aufgrund derselben Versuchsbedingungen, wie sie bei den Versuchen mit Meichsner-Ratten gewählt wurden, ausgeschlossen werden; organismische Einflüsse (Zuchtlinien-Unterschiede) ebenso, da sowohl Tiere mit hohem als auch mit niedrigem inneren Angststatus getestet wurden.

Auch der 5-HT<sub>1A</sub>-Agonist 8-OH-DPAT führte im Konflikt-Test nur in einer Dosierung von 0,1 mg/kg zu einer tendenziellen Erhöhung des Anteils der Futteraufnehmenden Tiere, bei unbeeinflusster lokomotorischer Aktivität. Obwohl bekannt ist, daß Agonisten am 5-HT<sub>1A</sub>-Rezeptor bei nicht hungrigen Tieren erst nach Applikation der zehnfach höheren als der anxiolytischen Dosierung eine Hyperphagie auslösen (Hutson et al., 1989), wurde den Tieren vor dem Versuch das Futter entzogen, damit eine Beeinflussung des Freßverhaltens und somit des Versuchsergebnisses im Konflikt-Test ausgeschlossen werden kann.

Der CCK<sub>B</sub>-Rezeptor Antagonist L365.260 wurde im Konflikt-Test in den Dosierungen von 1 und 10 µg/kg nach i.p.-Applikation getestet und zeigte eine sehr gute anxiolytische Wirkungspotenz, die in der Dosierung von 1 µg/kg deutlich, in der von 10 µg/kg signifikant und kaum steigerungsfähig war (Abb. 4-5). Daher wurde von einer weiteren Dosiserhöhung abgesehen. Die Aktivierung des 5-HT<sub>1A</sub>-Rezeptors mittels 8-OH-DPAT führte zu keiner Veränderung im Verhalten der Tiere. Bei früheren Untersuchungen konnte für Meichsner-Ratten eine Dosis-Wirkungsbeziehung mit glockenförmigem Verlauf und einem Wirkungsmaximum bei einer Dosis von 0,03 mg/kg nachgewiesen werden (Rex et al., 1993). Es bleibt zu klären,

inwieweit genetisch determinierte Unterschiede der Zuchtlinien in neurobiologischen Mechanismen der Transmissionsysteme ihren Niederschlag finden.

Zur Überprüfung des Angstmodells wurden CCK-Agonisten verwendet. Systemisch appliziertes CCK-8s (2,5 und 12,5 µg/kg), das als gemischter CCK-Agonist auch eine CCK<sub>B</sub>-Rezeptor-Spezifität aufweist, zeigte im Konflikt-Test ein anxiogenes Wirkungsprofil. Die lokomotorische Aktivität war in diesen Untersuchungen nur leicht beeinflusst und erreichte nur in der Dosierung von 2,5 µg/kg Signifikanzniveau. Singh und Mitarbeiter (1991) dagegen konnten in einem traditionellen Open-field-Test über einen weiten Dosisbereich (0,2-25,0 µg/kg) keine anxiogenen Effekte beobachten. Die Literatur für CCK-8 ist sehr widersprüchlich. So wird für CCK-8s (1,0-25,0 µg/kg) für die Hell-Dunkel-Box zum einen ein anxiolyseähnliches Wirkungsprofil beschrieben, das mit einer verlängerten Aufenthaltsdauer im hellen Kompartiment einhergeht (Rex et al., 1994). Hendrie und Neill (1992) dagegen sahen im gleichen Test keine Wirksamkeit bei CCK-8s, aber anxiolyseähnliche Effekte für das überwiegend CCK<sub>B</sub>-Rezeptor-spezifische CCK-8us mit verlängerten Aufenthaltsdauern und erhöhter Wechselfrequenz zwischen den einzelnen Kompartimenten. Die in unseren Untersuchungen beobachtete leichte Beeinflussung der lokomotorischen Aktivität spricht in diesem Fall aber nicht für eine Sedation der Tiere oder eine andere Nebenwirkung des CCK-8s, da aus der Literatur bekannt ist, daß CCK-8s erst in hohen Dosierungen von 25-200 µg/kg die Lokomotion beeinflusst (Moroji und Hagino, 1986). Eine mögliche Ursache könnte in den verwendeten Umgebungsparametern begründet sein, aber auch in methodischen Variablen und Tierstammunterschieden wie Zuchtlinie, Haltung der Tiere etc..

Auch die systemische Gabe des vor allem am CCK<sub>B</sub>-Rezeptor wirkenden Agonisten BOC-CCK-4 führte im Konflikt-Test sowohl bei Tieren mit niedrigem (Winkelmann) als auch bei Tieren mit hohem inneren Angststatus (BgVV) nur zu tendenziellen Effekten. Während es bei Tieren mit niedriger trait-anxiety zu einer tendenziellen Verstärkung der Angst mit signifikanter Erhöhung der lokomotorischen Aktivität kommt, kann man bei hoher trait-anxiety zwar ebenso eine Verstärkung der Angst, bei allerdings gleichzeitiger signifikanter Erniedrigung der lokomotorischen Aktivität beobachten.

Um Ergebnisse mit einer eindeutigeren Aussage über die Wirksamkeit von CCK-Agonisten und –Antagonisten zu erhalten, wurden zentrale Applikationen vorgenommen. Grundlage waren die Versuche von Whitton und Curzon (1990). Da jedoch bis zum jetzigen Zeitpunkt keine Literaturergebnisse über die zentrale Applikation von CCK-Agonisten und –Antagonisten vorliegen und andererseits eine enge Wechselwirkung zwischen dem serotonergen- und dem

CCKergen Transmissionssystem im Bezug auf Angst existiert, haben wir uns an den Ergebnissen aus ähnlichen Versuchen mit dem serotonergen Transmissionssystem orientiert. Es ist bekannt, daß eine systemische Applikation von m-CPP (1-(3-Trifluoromethyl)-Phenylpiperazin)) 5-HT<sub>2C</sub>-Rezeptoren aktiviert und Hypolokomotion (Kennett und Curzon, 1988a), Hypophagie (Kennett und Curzon, 1988b) und Angstverhalten im sozialen Interaktionstest bewirkt (Curzon und Kennett, 1990). Eine chronische Behandlung mit Chlordiazepoxid hemmt das angstähnliche Verhalten (Kennett et al., 1989). Auch für die 5-HT-Antagonisten Methysergid und Cinnaserin, mit hoher Affinität zu 5-HT<sub>2</sub>- und 5-HT<sub>1C</sub>-Rezeptoren sind anxiolytische Effekte beschrieben worden (Chopin und Briley, 1987). Desweiteren wirkt m-CPP anxiogen beim Menschen (Mueller et al., 1985; Charney et al., 1987). Whitton und Curzon (1990) fanden, daß die soziale Interaktion von Ratten im sozialen Interaktionstest dosisabhängig vermindert war, wenn m-CPP (2 und 4 µg) in den 3. Ventrikel injiziert wurde.

Amygdala und Hippokampus sind zwei Gehirnregionen, die im Angstgeschehen eine bedeutende Rolle spielen (Gray, 1982; Lader 1983). Whitton und Curzon (1990) beschrieben für m-CPP nach intrahippokampaler Applikation (0,25, 0,5 und 1,0 µg) eine stärkere anxiogene Wirksamkeit als nach der Injektion in den 3. Ventrikel. Auch Buspiron zeigte nach intrahippokampaler Applikation Anxiolyse-ähnliche Effekte (Kostowski et al., 1989). Die Hippokampusregion entsprach der von Nishikawa und Scatton beschriebenen (1986). Obwohl m-CPP-behandelte Tiere weniger aktiv waren als Kontrolltiere, sprechen die Ergebnisse für eine Hauptrolle des Hippokampus im Angstgeschehen.

Auf Grundlage dieser Ergebnisse untersuchten wir daher die Wirkungen von L365.260 im Konflikt-Test auch nach i.c.v.- und nach i.h.-Applikation. Eine zentrale Applikation von CCK-Antagonisten und deren Testung im Zusammenhang mit Angst ist bis heute noch nicht beschrieben.

Da in unseren Versuchen nach systemischer Applikation keine Wirkung von 8-OH-DPAT und Diazepam gezeigt werden konnte, zentrale Wirkungen, insbesondere für den Hippokampus, für diese Substanzen jedoch beschrieben sind, wurde auf die zentrale Applikation der Substanzen verzichtet. Andrews und Mitarbeiter (1997) konnten in Untersuchungen an Ratten nachweisen, daß die zentrale Applikation (medianer Nucleus raphe) von 8-OH-DPAT (50-200 ng) den anxiogenen Effekt nach Diazepamentzug dosisabhängig hemmen kann. In einem klassischen Verhaltenstest (Wasseraufnahme-Konflikt-Test) und EEG-Untersuchungen an Ratten und Kanninchen konnten Akai und Mitarbeiter (1997) nachweisen, daß 8-OH-DPAT und Diazepam dosisabhängig serotonerge Verhaltenseffekte hervorrufen, ohne die lokomotorische Aktivität der

Tiere zu beeinflussen. Obendrein hemmten 8-OH-DPAT und Diazepam die langsamen rhythmischen Nervenimpulse im EEG von Ratten und Kaninchen, was als Indikator für eine hippokampal vermittelte anxiolytische Wirkung angesehen wird.

Die i.c.v.-Applikation von L365.260 und anschließende Untersuchung der Tiere im Konflikt-Test konnte die peripher nachgewiesene eindeutige anxiolytische Wirkung des CCK<sub>B</sub>-Rezeptor-Antagonisten nicht produzieren. Wenn man von der Vorstellung ausgeht, daß die anxiolytische Wirkung von systemisch appliziertem L365.260 nach Übertritt durch die Blut-Hirn-Schranke über zentrale Rezeptoren vermittelt wird, hätte die Applikation des Antagonisten in das alle zentrale Strukturen versorgende Ventrikelsystem eigentlich mit einer anxiolytischen Wirkung beantwortet werden müssen. Dieser Effekt wäre insbesondere zu erwarten, weil mit den zentral applizierten Dosen eine weitestgehende Rezeptorsättigung zu erwarten ist.

Auch die Applikation des Agonisten BOC-CCK-4 in das Ventrikelsystem, dessen angstinduzierende/panikogene Wirkung gesichert ist, konnte bei nicht-ängstlichen Winkelmann-Wistar-Ratten keine eindeutige angstinduzierende Wirkung hervorrufen. Auffällig war jedoch, daß der innere Angststatus der Winkelmanniere durch die Injektion von Vehikel beeinflußt wurde: die Tiere wurden ängstlicher, wobei die lokomotorische Aktivität unbeeinflußt blieb.

Interessanterweise führt nicht der Einstich der Injektionskanüle, sondern erst die zentrale Applikation von Flüssigkeit zu einer Veränderung des Verhaltensgrundmusters. Nimmt man die Theorie der „spreading depression“ (Bures et al., 1983) als Grundlage, so wäre eine verminderte Verhaltensantwort schon nach Einführen des Injektors und Schädigung der ersten Neurone zu erwarten gewesen. Diese Theorie besagt, daß eine exogen stimulierte Hemisphäre von einer sich langsam ausbreitenden Welle (2-3 mm pro Minute) neuronaler Depolarisation und Depression der EEG-Aktivität für 2-3 Minuten Dauer durchlaufen wird. Die entladenen Neurone sind danach kurzzeitig für eine weitere Stimulation refraktär. Verhaltensversuche mit intracerebraler Substanzapplikation wären demnach nicht aussagefähig. Da nach dem Einführen der Kanüle jedoch keine Veränderung im Verhaltensmuster der Tiere sichtbar war, kann für die von uns durchgeführten Versuche mit zentraler Applikation eine Beeinflussung der Ergebnisse durch eine "spreading depression" ausgeschlossen werden.

In der Literatur wird über Verhaltensänderungen von Tieren nach zentraler Applikation von definierten Flüssigkeitsvolumina berichtet (Huston und Holzhäuer, 1988). Unter anderem wurde pathologisches Reaktionsverhalten beobachtet. Als schädigendes Agens wird ein lokal erhöhter intracerebraler Druck durch die Applikation von Flüssigkeitsdepots bzw. die Traumatisierung von Neuronen durch die Injektionskanülen diskutiert.



In unseren Versuchen schien die bilaterale intracerebrale Applikation die Tiere nur geringfügig zu beeinflussen. Die von uns verwendeten Tiere verhielten sich nach Injektion 'normal' (Abb. 4-1). Das Volumen von 0,5 µl/Hemisphäre kann somit nicht als Faktor angesehen werden, der Neurone so stark schädigt, daß das Verhalten der Tiere beeinflusst wird. Auch der operative Eingriff der Tiere einen Tag (i.c.v.) bzw. zwei Tage (i.h.) vor den Verhaltenstests hat keinen Einfluß auf die Baseline der Tiere. Das Zeitintervall von 2 Tagen bis zu den Versuchen mit i.h.-Applikation, für die postoperative Erholung nach Aufschrauben der Schablone (Abb. 3-1) ist somit ausreichend, um einen methodischen Operationsstreß bei den Tieren auszuschließen. Wie allerdings der erhöhte intracerebrale Druck durch die Applikation von Flüssigkeitsvolumina auf die Interaktion des Angst modulierenden CCKergen Systems mit dem serotonergen Transmittersystem wirkt, bleibt weiterhin zu klären. Daß eine Interaktion zwischen diesen beiden Transmittersystemen über einen Einfluß auf die kortikale 5-HT-Freisetzung existiert, ist nachgewiesen (Rex et al., 1997). Bei unseren Versuchen stellten wir eine Absenkung der Baseline der Tiere nach Applikation von Flüssigkeitsvolumen sowohl nach i.c.v.- als auch nach i.h.-Applikation fest. Es wäre zu diskutieren, inwieweit die Applikation als state-anxiety ähnlicher Faktor zu werten ist, der wie die äußeren Versuchsbedingungen die Baseline unterdrückt, und welchen Einfluß die Erhöhung des intracerebralen Druckes auf die serotonergen Freisetzungsmechanismen hat.

Für die i.h.-Applikation des CCK<sub>B</sub>-Rezeptor-Antagonisten L365.260 existieren in der Literatur keine vergleichbaren Ergebnisse. Doch trotz der durch die zentrale Applikation von Flüssigkeitsvolumen abgesenkten Baseline konnte nach der i.h.-Applikation von L365.260 eine tendenzielle anxiolytische Wirkung, bei unbeeinflusster lokomotorischer Aktivität der Tiere, festgestellt werden. Diese anxiolytische Wirkung konnte bei dem zweiten applizierten CCK<sub>B</sub>-Rezeptor-Antagonisten PD135.158 nur in der Dosierung von 1 µg/Hemisphäre gezeigt werden. Vergleicht man diese Ergebnisse mit denen von Whitton und Curzon (1990), die nach i.h.-Applikation auch eine verstärkte Wirkung des 5-HT-Agonisten m-CPP fanden, wird sowohl die bedeutende Rolle des Hippokampus im Angstgeschehen gestützt als auch die Annahme, daß beide Transmittersysteme am Angstgeschehen beteiligt sind.

Bei i.h.-Applikation des CCK<sub>B</sub>-Rezeptor-Agonisten BOC-CCK-4 konnte im Konflikt-Test wegen der niedrigen Baseline der Kontrolltiere keine Angst-induzierende Wirkung festgestellt werden. Aber es bliebe zu prüfen, ob neurobiologischen Veränderungen im serotonergen Transmittersystem unter diesen Versuchsbedingungen zu beobachten sind. Eine anxiolytische Wirkung der Substanz kann jedoch ausgeschlossen werden; dies deckt sich auch mit den

Befunden aus systemischen Applikationen. Interessanterweise führte die i.h.-Applikation des Agonisten CCK-8s zu anxiolyseähnlichen Effekten bei unbeeinflusster Motilität, die auch schon von Singh und Mitarbeitern (1991) nach systemischer Applikation der Substanz beschrieben wurden. Da die sulfatierte Form des CCK-8 ein Agonist mit teilweiser CCK<sub>B</sub>-Rezeptor-Aktivität ist, können diese Effekte aufgrund der Konzentration der Aktivierung des CCK<sub>B</sub>-Rezeptors zugeschrieben werden. Nicht auszuschließen ist aber auch, daß die Flüssigkeitsapplikation einen so starken Einfluß auf das nur modulierend wirkende CCKerge System bzw. auf die Interaktion von CCKergem- und serotonergem Transmittersystem hat, so daß der zu erwartende anxiogene Effekt maskiert wird.

Die mit einer bilateralen i.h.-Applikation von Vehikel kombinierte systemische Gabe der CCK<sub>B</sub>-Rezeptor-Antagonisten legt die Vermutung nahe, daß die Wirkung von L365.260 stark von äußeren Faktoren abhängig ist. Während die Wirkung von PD135.158 stabile anxiolytische Effekte zeigt, ist die Wirkung von L365.260 nicht stabil. Eine anxiolytische Tendenz ist feststellbar, aber erst bei einer Dosiserhöhung auf 100 µg/kg. Die bei alleiniger Applikation von L365.260 eindeutig wirksame Dosis von 10 µg/kg ist in Kombination mit einer zentralen Injektion nicht anxiolytisch wirksam, und die substanzinduzierten Effekte liegen im Bereich der Kontrollen.

Der Einfluß der zentralen Injektion auf die Wirkung von L365.260 wird auch in dem Vergleich von denjenigen Tieren deutlich, die für die zentrale Applikation vorbereitet wurden und während des Versuches nur 100 µg/kg der Substanz systemisch verabreicht bekamen, und den Tieren, die zusätzlich zentral Vehikel appliziert bekamen. Die Vehikelapplikation bedingt eine Depression der Baseline und die Wirkung des CCK<sub>B</sub>-Rezeptor-Antagonisten wird eindeutiger. Dieser Versuch zeigt, daß die zentrale Manipulation nicht nur das spontane Verhalten der Tiere beeinflusst, sondern auch in der Lage ist, Effekte der Substanzgabe auszulöschen. Dies legt die Vermutung nahe, daß die modulierende Wirkung des CCKergen Systems durch methodische Variablen (versuchsvorbereitende Maßnahmen, Manipulationen vor dem Versuch) derart beeinflusst wurde, daß durch eine zentrale Applikation eines Flüssigkeitsvolumens das CCKerge System aus dem Gleichgewicht gerät. Allerdings ist auch eine über periphere CCK<sub>B</sub>-Rezeptoren ausgelöste und über den N. vagus vermittelte Wirkung CCKerger Substanzen ohne die Beteiligung zentraler Rezeptoren denkbar.

Die Ergebnisse der Versuche mit m-CPP im Open-field zeigen, daß das Modell des Konflikt-Tests für Substanzen, die ihre Wirkung über andere als das CCKerge Transmittersystem entfalten, beständige Ergebnisse liefert. Daß der modifizierte Konflikt-Test sowohl anxiolytische

als auch anxiogene Wirkungseigenschaften verschiedener Substanzklassen nachweisen kann, wurde von Rex und Mitarbeitern (1998) gezeigt. Nicht geeignet scheint er für den Nachweis der Wirkungen von CCK-Agonisten und -Antagonisten zu sein. Dafür sprechen die ausbleibenden Effekte von CCK-4, dessen anxiogene/panikogene Wirkung sowohl im Tiermodell als auch beim Menschen gesichert ist. Besonders bei Testung von Tieren mit niedriger trait-anxiety sind die Ergebnisse des Modells mit Bedacht zu prüfen.

Die Hinweise, daß Tierstammunterschiede und methodische Variablen einen derart bedeutenden Einfluß auf die Versuchsergebnisse haben, ließen uns systematische Untersuchungen mit dem Elevated-plus-maze-Test durchführen. Dessen Vorteil gegenüber dem Konflikt-Test ist neben der Allgemeingültigkeit durch die Vielfalt der Tierarten, für die es validiert wurde, die Tatsache, daß bei der pharmakologischen Validierung des Modells für Ratten gegen den BDZ-Gold-Standard fast dieselben organismischen (z.B. Sprague-Dawley-Ratten) und methodischen (Modellgröße, Beleuchtungsintensität) Parameter verwendet wurden (Rodgers und Dalvi, 1997).

Im Gegensatz zum Konflikt-Test zeigte Diazepam im Elevated-plus-maze die in der Literatur vielfach beschriebene und von uns erwartete anxiolytische Wirkungspotenz, ebenfalls ohne Beeinflussung der lokomotorischen Aktivität. Diese Ergebnisse decken sich auch mit früheren Untersuchungen unserer Arbeitsgruppe mit Meichsner-Ratten auf dem Elevated-plus-maze. Bei diesen kam es nach Diazepam-Gabe sowohl zu einer dosisabhängigen Erhöhung der Anzahl der Eintritte auf die offenen Arme als auch zu einer Verlängerung der Aufenthaltsdauer auf den offenen Armen. Die lokomotorische Aktivität der Tiere war nicht verändert (Rex et al., 1996). Im Elevated-plus-maze führte die Applikation des 5-HT<sub>1A</sub>-Agonisten von 8-OH-DPAT zu einer in allen Dosierungen signifikanten Verlängerung der Aufenthaltsdauer der Tiere auf den offenen Armen bei kaum beeinflusster lokomotorischer Aktivität.

In anderen Verhaltenstests, die zur Untersuchung von Angst-assoziierten Verhaltensweisen benutzt werden, wie dem sozialen Interaktionstest und auch auf dem Elevated-plus-maze, wirkt 8-OH-DPAT in Dosierungen, wie wir sie bei den Versuchen verwendet haben, ebenfalls anxiolytisch (Dunn et al., 1989). In anderen Versuchen auf dem Elevated-plus-maze wurden für diesen typischen 5-HT<sub>1A</sub>-Agonisten anxiogene, anxiolytische oder auch keine Effekte beschrieben. Möglicherweise stehen diese widersprüchlichen Ergebnisse mit Versuchsergebnissen in Zusammenhang, die zeigen, daß dieselbe Dosis 8-OH-DPAT, abhängig von der Beleuchtungsintensität, bei starker Beleuchtung der Testarena anxiolytisch und bei schwacher Beleuchtung anxiogen wirken kann (Handley und McBlane, 1993). Bei unserer Untersuchung verwendeten wir eine Beleuchtungsintensität von 500 Watt, diese entsprach in

etwa der von Handley und McBlane (1993) verwendeten, und zusätzlich eine Geräuschkulisse. Es ist jedoch wichtig zu erwähnen, daß in der Literatur nur selten konkrete Angaben zum Parameter Lichtintensität (Watt bzw. Lux) auf Höhe der Laufebene der Tiere zu finden sind. Wir haben, um den Einfluß dieses methodischen Parameters beurteilen zu können, zwei verschiedene Lichtintensitäten (500 und 750 Watt) untersucht.

Der 5-HT<sub>2C/1B</sub>-Rezeptor-Agonist m-CPP war die einzige Substanz, die im Elevated-plus-maze eine eindeutige dosisabhängige anxiogene Wirkung bei den weniger ängstlichen Winkelmann-Wistar-Ratten hervorrief. Diese drückte sich in einer verkürzten Aufenthaltszeit auf den offenen Armen aus und war in allen Dosierungen (0,3; 0,6 und 3,0 µg/kg) signifikant ( $p < 0,01$ ).

In der Literatur sind diese Wirkungen ebenfalls beschrieben. So zeigte m-CPP bei Ratten im sozialen Interaktionstest sowohl nach i.p.- als auch nach zentraler Applikation eine anxiogene Wirkung (Whitton und Curzon, 1990). Bei Patienten mit bestehenden latenten Panikattacken löste m-CPP einen akuten Panikanfall aus (Charney et al., 1987). Diese anxiogenen Effekte von m-CPP werden sehr konstant in der Literatur beschrieben, so daß diese Substanz von anderen Autoren als 'anxiogene Standardsubstanz' für den Vergleich mit anderen Substanzen verwendet wurde (Rodgers et al., 1992).

Die Wirkung des CCK<sub>B</sub>-Rezeptor-Antagonisten L365.260 auf dem Elevated-plus-maze war hingegen stark von methodischen Einflüssen abhängig. So war L365.260 in der Dosierung, die im Konflikt-Test zu einer signifikanten anxiolytischen Wirkung führte, auf dem Elevated-plus-maze unter den Versuchsbedingungen Va 1 (500 Watt Beleuchtungsintensität, keine Geräuschkulisse) nicht anxiolytisch wirksam. Änderte man die Umgebungsparameter in der Weise, daß man eine Geräuschkulisse hinzufügte, so veränderte sich die Baseline der Kontrolltiere, und die Wirkung des CCK<sub>B</sub>-Rezeptor-Antagonisten wurde nun deutlich erkennbar. Signifikant wurde die Wirkung allerdings erst, wenn zusätzlich zu einer veränderten Geräuschkulisse die Beleuchtungsintensität auf 750 Watt (Va 3) erhöht und somit eine stark aversive Umgebung geschaffen wurde. Während in der Dosierung von 10 µg/kg kaum eine Verlängerung der Aufenthaltsdauer auf den offenen Armen festgestellt werden konnte, so war diese in der Dosierung von 30 µg/kg mit zunehmender Umgebungsaversivität signifikant ( $p < 0,01$ ). Auch die Daten für die Verkürzung der Aufenthaltsdauer in der Dosierung von 100 µg/kg deuten darauf hin, daß die Wirkung des CCK<sub>B</sub>-Rezeptor-Antagonisten um so eindeutiger wird, je stärker aversiv die Umgebungsparameter gewählt werden und somit die state-anxiety erhöhen. Dieses Ergebnis spricht dafür, daß es sich bei dem CCKergen Transmissionssystem um ein modulierendes System handelt. So könnte eine genetisch

determinierte emotionale Ausgangslage (Sollwert), die ihr neurobiologisches Äquivalent in einer bestimmten extrazellulären Neurotransmitterkonzentration hat, durch CCK in der Hinsicht reguliert werden, daß bei einer Konzentrationsänderung des Neurotransmitters durch extero- oder enteroceptive Stimuli der Sollwert wieder eingestellt wird.

Während die Aufenthaltsdauer auf den offenen Armen nach der Applikation von 30 µg/kg deutlich signifikant verlängert ist, ist die lokomotorische Aktivität ebenso deutlich signifikant erniedrigt, wobei sedative Nebeneffekte durch die Kontrollprozeduren des Versuchsdesigns ausgeschlossen werden können. Eine Sedierung der Tiere kann aber durch andere berechnete Größen, wie den prozentualen Anteil der Eintritte und die Gesamteintritte in alle Kompartimente des Elevated-plus-maze ausgeschlossen werden (siehe Anhang D).

Der unter den Versuchsbedingungen Va 3 getestete CCK<sub>B</sub>-Rezeptor-Antagonist PD135.158 zeigte in den Dosierungen von 10 und 100 µg/kg anxiolytische Effekte, die Signifikanzniveau erreichten und nur in der Dosierung von 10 µg/kg von einer signifikanten Absenkung der lokomotorischen Aktivität begleitet war. Der unter denselben Versuchsbedingungen getestete CCK<sub>A</sub>-Rezeptor-Antagonist L364.718 zeigte nach Applikation von 10 und 100 µg/kg keinerlei anxiolytische Effekte im Elevated-plus-maze-Test bei unbeeinflusster Lokomotion der Tiere.

Die anxiolytische Wirksamkeit der CCK<sub>B</sub>-Rezeptor-Antagonisten und die fehlende Wirksamkeit des CCK<sub>A</sub>-Rezeptor Antagonisten bestätigen die Brauchbarkeit des Elevated-plus-maze als Test zur Erfassung CCKerger Substanzen. Allerdings ist diese Sensitivität stark abhängig von methodischen Variablen wie der Lichtintensität und Geräuschkulisse, aber auch Einflüssen, die in der verwendeten Zuchtlinie begründet sind. In diesem Zusammenhang müssen auch die paradoxen Effekte des Rezeptor-Agonisten CCK-4 gesehen werden, der unter den Versuchsbedingungen Va 2 (500 Watt Beleuchtungsintensität und Geräuschkulisse) in allen getesteten Dosierungen signifikante anxiolyseähnliche Effekte ( $p < 0,01$ ) bei den ängstlichen BgVV-Wistar-Ratten zeigte, während die Applikation von CCK-4 unter denselben Versuchsbedingungen bei den weniger ängstlichen Winkelmann-Wistar-Ratten überhaupt keine Effekte zeigte.

Auf dem Elevated-plus-maze sind die lokomotorischen Aktivitäten sowohl bei BgVV-Wistar-Ratten (hohe trait-anxiety) als auch bei Winkelmann-Wistar-Ratten (niedrige trait-anxiety) unbeeinflusst. Allerdings muß hier eingeräumt werden, daß der Grad der state-anxiety durch die unterschiedlichen Versuchsansätze unterschiedlich war. Trotzdem fällt auf, daß bei ängstlichen Tieren unter moderaten aversiven Bedingungen ein anxiolytisches Wirkungsprofil auf dem Elevated-plus-maze erzeugt werden kann, während bei nicht ängstlichen Tieren im gleichen

Dosierungsbereich unter stärker aversiven äußeren Bedingungen kein Unterschied zu den Kontrolltieren festgestellt werden kann. Dies zeigt ganz deutlich die Problematik, die in Tiermodelle der Angst einfließt. Für Winkelmann-Tiere wurden im Elevated-plus-maze-Test signifikante anxiogene Effekte in der Dosierung von 10 µg/kg nachgewiesen, und im Konflikt-Test (bei 1500 Lux Beleuchtungsintensität) waren 10 und 100 µg/kg Dosis abhängig anxiogen wirksam (Rex et al., 1994). Im sozialen Interaktionstest konnten keine angstähnlichen Effekte beobachtet werden (Fink et al., 1994). In der Hell-Dunkel-Box bewirkte CCK-4 angstähnliche Effekte, gemessen als verkürzte Aufenthaltsdauer im hellen Kompartiment und erhöhte Latenzzeit vor dem Wechsel in das dunkle Kompartiment, in Dosierungen von 2,0-50 µg/kg aus. Auch in diesem Test war die Gesamtlokomotion der Tiere unbeeinflusst (Rex et al., 1994).

Da die zentrale Applikation der Prüfsubstanzen durch die überdeckenden Wirkungen der zentralen Injektionen keine eindeutige Aussage darüber erlaubt, inwieweit die Wirkung der CCK<sub>B</sub>-Rezeptor-Antagonisten auf angstassoziierte Verhaltensweisen wirken, wurden Versuche mit vagotomierten Tieren durchgeführt. Da aus der Literatur bekannt ist, daß beide Rezeptorsubtypen auf dem Nervus vagus vorhanden sind, wäre es denkbar, daß systemisch applizierte CCK-Agonisten (z.B. CCK-4) und -Antagonisten (z.B. L365.260) ihre anxiogenen bzw. anxiolytischen Effekte über den Nervus vagus zu zentralen Strukturen vermitteln und auf diese Weise ihre Wirkung entfalten. Bei der Überprüfung der Substanzwirkungen von CCK-Agonisten (CCK-4) und -Antagonisten (L365.260) an vagotomierten und scheinvagotomierten BgVV-Wistar-Ratten im Konflikt- und im Elevated-plus-maze-Test, entsprachen die Ergebnisse denen der Kontrolltiere. Eine Aussage über die Beteiligung des Nervus vagus an zentral vermittelten Effekten durch peripher applizierte Substanzen kann nicht getroffen werden. Das Ausbleiben einer eindeutigen Wirkung sowohl des Agonisten als auch des Antagonisten könnte durch die operativen Maßnahmen maskiert werden, obwohl die Baseline der scheinvagotomierten und der im Konflikt-Test getesteten Tiere im Bereich jener Tiere liegt, die in demselben Test nur mit Vehikel behandelt wurden.

Die Bedeutung der auf dem Nervus vagus lokalisierten CCK-Rezeptoren ist vor allem für das Nahrungsaufnahmeverhalten untersucht. So wurde gezeigt, daß abdominale Vagotomie die sättigende Wirkung von CCK-8 blockiert (Joyner et al., 1993), wobei vor allem die Vagusafferenzen bedeutsam sind (Crawley und Corwin, 1994; Smith et al., 1985). Die Rolle der afferenten Fasern des Nervus vagus, der zentralen Wirkorte und Mechanismen, die die über den Nervus vagus übertragene Information verarbeiten, ist noch nicht hinreichend geklärt.

Bei der Vorbereitung zu den Untersuchungen mit vagotomierten und scheinvagotomierten Tieren fiel uns auf, daß in der Literatur wenig über die Kontrolle des Operationserfolges mitgeteilt wird. Diese Untersucher setzen somit bei allen vorbereiteten Tieren den Operationserfolg voraus. Um die Ergebnisse unserer Versuche zu kontrollieren, haben wir nach vergleichenden Versuchen die Methode der in vivo-Beurteilung von vagotomierten Tieren für die Erfolgskontrolle der Vagotomie als die Aussagekräftigste ausgewählt. Die von uns beschriebene Methode ist einfach und mit geringem Personalaufwand durchzuführen. Sie kann zu einer Verbesserung der Aussagekraft von Versuchsergebnissen aus Versuchen mit vagotomierten Tieren beitragen.

## 5.1 Schlußbetrachtung

Die vorliegenden Ergebnisse bestätigen die in der Literatur vorherrschende Einsicht, daß der CCK<sub>B</sub>-Rezeptor an den neurobiologischen Vorgängen des Angstgeschehens beteiligt ist.

Das CCKerge System scheint jedoch kein dominierendes, sondern lediglich ein modulierendes System zu sein. L365.260 wirkt in bestimmten Testsituationen - bei systemischer und zentraler Applikation - Rezeptor-vermittelt, dosisabhängig und antagonistisch anxiolytisch. Bei zentraler Applikation sind nur geringe anxiolytische Wirkungen nachweisbar. Dies beruht möglicherweise darauf, daß durch die zentrale Applikation der innere Angststatus der Tiere verändert wird. Bei den Resultaten nach Vagotomie muß unterstellt werden, daß das Operationstrauma einen nicht zu kalkulierenden Einfluß auf den Funktionszustand des Transmittersystems ausübt. Eine eindeutige Unterscheidung zwischen zentraler Rezeptor-vermittelter und peripherer Rezeptor- bzw. N.vagus-vermittelter Wirkung ist aufgrund der ermittelten Daten nicht möglich.

Das CCKerge System ist leicht beeinflussbar. Seine Regulationsmechanismen können sowohl von methodischen Variablen, wie optischen und akustischen Reizen, als auch von organismischen, wie durch die Wahl des Stammes und der Zuchtlinie der Versuchstiere, leicht gestört werden. Somit können Grundantwortverhalten und die Verhaltensantworten auf Substanzapplikationen in Tiermodellen der Angst stark variieren. Selbst solche Parameter, welche das Grundantwortverhalten nicht immer beeinflussen (z.B. Handhabung, vorherige Erfahrung auf dem Elevated-plus-maze), können die Verhaltensantwort auf eine Substanzapplikation drastisch beeinflussen. Daher sind die unbeständigen und teils widersprüchlichen Ergebnisse verhaltenspharmakologischer Versuche in Tiermodellen der Angst besser erklärbar. Für jedes Modell ist eine schlüssige Analyse der Verhaltenspharmakologie unter standardisierten Bedingungen notwendig.

Die Eignung verschiedener Angstmodelle beim Tier zur Erforschung der menschlichen Furcht, Angst und Panikattacken ist nicht vollständig gesichert und bedarf weiterer Klärung. Angststörungen beim Menschen mit Krankheitswert werden damit nicht moduliert, können aber als unangemessene Aktivierungen oder Übertreibungen von normalen adaptiven Abwehrantworten gesehen werden (Rodgers, 1997). Eine stärkere Einbeziehung ethologischer Aspekte von Abwehrverhaltensweisen wie freezing, Immobilisation und Defäkation (Pellow et al., 1985), aber auch anderer Verhaltensweisen, wie im Elevated-plus-maze das Aufrichten und die Verweildauer auf der zentralen Plattform (Lee und Rodgers, 1990), das Umkehren in die geschlossenen Arme, die gestreckte Aufmerksamkeitshaltung (Moser, 1989), könnten in Zukunft die Einschätzung der Substanzwirkungen verbessern.



Aus der Sicht der Planungs- und Übertragungs-Gültigkeit haben diese ethologisch validierten Tests, mit Einschränkungen, Analoga im menschlichen verhaltensmäßigen Phänomenkomplex der Angst. So entsprechen Risikoabschätzung, potenziertes Erschrecken und defensives Erschrecken/Attackieren gut den Verhaltensäußerungen bei generalisierter Angst (American Psychiatric Organisation, 1994). Ständige furchtsame Erwartung in Abwesenheit einer offensichtlichen Bedrohung korreliert gut mit erhöhtem Muskeltonus bzw. übermäßigem Erschrecken oder Irritiertsein. Gleichermaßen entsprechen abrupte Fluchtantworten bei Tieren gut dem plötzlichen und starken Drang zu entfliehen, welcher Panikattacken charakterisiert (American Psychiatric Organisation, 1994).

Zusammenfassend kann gesagt werden, daß die Nutzung von ethologisch abgeleiteten Verhaltensparametern (Ethogramme siehe Rodgers et al., 1992) zusammen mit traditionellen räumlich-zeitlichen Indizes die Nützlichkeit und Sensitivität verschiedener Tiermodelle der Angst verbessert und beim Screening potentieller Anxiolytika/Anti-Panik-Substanzen Verwendung finden sollte.