

Aus dem Institut für Pharmakologie
der Medizinischen Fakultät Charité – Universitätsmedizin Berlin

DISSERTATION

Wirkung chronischer Behandlung mit Citalopram in einem
Schlaganfallmodell der Maus

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

vorgelegt der Medizinischen Fakultät
Charité – Universitätsmedizin Berlin

von

Björn Kampmann

aus Hamburg

Gutachter: 1. Prof. Dr. H. Hörtnagl

2. Prof. Dr. P. Gass

3. Prof. Dr. med. R. Hellweg

Datum der Promotion: 18.09.2009

Meinen lieben Eltern

Beate und Reinhard Kampmann

INHALTSVERZEICHNIS

ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS.....	6
1 EINLEITUNG.....	8
2 LITERATURÜBERSICHT	9
2.1 Angst.....	9
2.1.1 Generalisierte Angststörung (GAD).....	11
2.1.2 Prävalenz und Komorbidität der GAD.....	11
2.1.3 Angststörungen als neuropsychiatrische Folgen des Schlaganfalls.....	12
2.1.4 Therapie der Angsterkrankungen	13
2.2 Angst auf der Ebene des ZNS.....	14
2.2.1 Das limbische System	14
2.2.2 Die Basalganglien	15
2.3 Neurotransmittersysteme	16
2.3.1 Serotonin	16
2.3.2 Katecholamine.....	18
2.4 Antidepressiva	21
2.4.1 Die Monoaminmangel-Hypothese	21
2.4.2 Klassen von Antidepressiva	22
2.4.3 Citalopram.....	23
2.4.4 Wirkung der Antidepressiva	24
2.5 Untersuchung von Angst im Tiermodell.....	25
2.5.1 Tiermodelle der Angst.....	25
2.5.2 Das serotonerge System in Tiermodellen der Angst.....	28
2.5.3 Wirkung von SSRI bei GAD.....	30
3 FRAGESTELLUNG DIESER ARBEIT.....	31
4 MATERIAL UND METHODEN.....	33
4.1 Versuchsaufbau	33
4.2 High Pressure Liquid Chromatographie (HPLC)	34
4.3 Vorbereitung der Proben	37
4.4 Messung der Gehalte von 5-HT, 5-HIAA, DOPAC und HVA	37

4.5	Messung der Gehalte von DA und NA.....	37
4.5.1	Extraktionsverfahren.....	37
4.5.2	HPLC zur NA und DA Bestimmung.....	38
4.6	Statistische Auswertung:.....	38
5	ERGEBNISSE.....	39
5.1	Serotonerges System.....	39
5.1.1	5-HT Gehalte.....	39
5.1.2	5-HIAA Gehalte.....	41
5.1.3	5-HIAA / 5-HT Ratio.....	44
5.2	Noradrenerges System, NA Gehalte.....	46
5.3	Dopaminerges System.....	48
5.3.1	DA, DOPAC und HVA Gehalte.....	48
6	DISKUSSION.....	52
6.1	Serotonerges System.....	52
6.1.1	Regionale Unterschiede in der Wirkung von Citalopram auf die 5-HT und 5-HIAA Gehalte.....	52
6.1.2	Wirkung von Citalopram auf das serotonerge System nach IMCAo.....	54
6.2	Noradrenerges System.....	55
6.2.1	Wirkung von Citalopram auf das noradrenerge System bei sham operierten Tieren.....	55
6.2.2	Wirkung von Citalopram auf das noradrenerge System bei IMCAo Tieren.....	56
6.3	Dopaminerges System.....	56
6.3.1	Seitenunterschiede in der Wirkung von Citalopram.....	57
6.3.2	Erhöhung des DA Gehalts im linken Striatum durch Citalopram bei sham Tieren.....	58
6.3.3	Wirkung von Citalopram auf DA Gehalte bei den IMCAo Tieren.....	60
6.3.4	Mechanismen der Neuroprotektion durch Citalopram.....	61
7	ZUSAMMENFASSUNG.....	65
8	LITERATURVERZEICHNIS.....	67
	EIDESSTATTLICHE ERKLÄRUNG.....	74
	LEBENSLAUF.....	75
	DANKSAGUNG.....	75

ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

Bcl-2	B-cell lymphoma protein 2
BDNF	Brain derived neurotrophic factor
BG	Basalganglien
DA	Dopamin
DOPA	Dihydroxyphenylalanin
DOPAC	Dihydroxyphenylelessigsäure
DR	dorsale Raphekerne
DSM IV	Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders. 4th edition, APA 1994
GAD	Generalisierte Angststörung, generalized anxiety disorder
5-HIAA	5-Hydroxyindolessigsäure
HPLC	High Performance Liquid Chromatography
5-HT	5-Hydroxytryptamin, Serotonin
5-HTP	5-Hydroxytryptophan
HVA	Homovanillinsäure
ICD 10	International Statistical Classification of Diseases and Related Health, 10 th Revision, WHO 2005
IS	interner Standard
IMCAo	Schlaganfallmodell durch Verschluss der linken Arteria cerebri media
MAO	Monoaminoxidase
MR	mediane Raphekerne
NA	Noradrenalin
PSAD	Angststörung nach dem Schlaganfall, post-stroke anxiety disorder
PSD	Depression nach Schlaganfall, post-stroke depression

sham	Schein Operation
SEM	Standardfehler des Mittelwertes, standard error of the means
SSRI	selektive Serotonin Wiederaufnahmehemmer, Reuptake Inhibitor
TZA	trizyklisches Antidepressivum
ZNS	Zentralnervensystem

1 Einleitung

In dieser Dissertation wurde die Wirkung einer Langzeitbehandlung mit dem Antidepressivum Citalopram auf Neurotransmitterkonzentrationen in Teilen der Basalganglien und des limbischen Systems in einem Schlaganfallmodell der Maus untersucht.

Der Schlaganfall stellt die häufigste Ursache für eine bleibende Behinderung im Erwachsenenalter dar. Neben den häufig zu beobachtenden funktionellen Einschränkungen kann der Schlaganfall auch zu einer breiten Anzahl von neuropsychiatrischen Folgeerkrankungen führen. Hierzu zählen Depressionen, Angststörungen, Manie, bipolare Erkrankungen, Insomnie, Apathie und pathologisches Weinen (Bhogal et al. 2004; Burvill et al. 1995a; Chemerinski and Levine 2006; Leppavuori et al. 2003; Narushima et al. 2003; Robinson 1997). Depressionen und Angststörungen sind die häufigsten Folgeerkrankungen und haben einen entscheidenden Einfluss auf den Erfolg der anschließenden Rehabilitationsbehandlung (Chemerinski and Levine 2006; Robinson 1997).

Zur Erklärung der Pathogenese dieser Folgeerkrankungen bestehen im wesentlichen zwei Theorien. In der einen wird eine psychologische Reaktion auf das Ereignis und die Behinderung, in der anderen die Auswirkung spezifischer Hirnschädigungen mit nachfolgenden Veränderungen der Neurotransmission als Erklärung angenommen (Astrom 1996; Astrom et al. 1993; Castillo et al. 1993; Chemerinski and Levine 2006). Die letztere Theorie wird zusätzlich durch Verhaltensuntersuchungen bei Tieren gestützt. So konnte in einem Modell der transienten cerebralen Ischämie bei Mäusen ein angstähnliches Verhalten nachwiesen werden (Winter et al. 2005).

Citalopram gehört zur Gruppe der selektiven Serotonin Wiederaufnahmehemmer (SSRI). SSRI sind die Medikamente der ersten Wahl zur Behandlung von Angsterkrankungen (Nutt 2005). Die anxiolytische Wirkung der SSRI wurde ebenfalls im Tiermodell nachgewiesen (Miyata et al. 2007; Renard et al. 2001). Ihr anxiolytischer Wirkmechanismus ist im Detail jedoch noch nicht ausreichend geklärt (Nutt 2001).

In dieser Arbeit wird das gleiche Schlaganfallmodell wie bei Winter et al. (2005) verwendet: Die Untersuchung Neurotransmitterspiegel im Hirn der Mäuse nach Behandlung mit Citalopram soll zu einem besseren Verständnis der Ursache von Angsterkrankungen nach dem Schlaganfall und darüber hinaus zu neuen therapeutischen Möglichkeiten bei der Behandlung von Angsterkrankungen nach Schlaganfall beitragen.

2 Literaturübersicht

2.1 Angst

Grundsätzlich kann Angst als ein unangenehmes Gefühl der Bedrohung beschrieben werden. Die bei allen Menschen vorkommende Realangst ist aber an sich kein negatives Phänomen, sondern erfüllt beim Gesunden vielmehr eine Art Alarmfunktion mit dem Zweck, Aktivitäten zur Beseitigung der Gefahr auszulösen. Hierdurch unterscheidet sich die Realangst von der pathologischen Angst, bei der das Gefühl der Bedrohung scheinbar grundlos oder stark gesteigert auftritt.

Angst und Panikstörungen zeichnen sich im Allgemeinen durch massive Angstreaktionen bei gleichzeitigem Fehlen akuter, extremer Gefahren oder Bedrohungen aus (Möller et al. 2005).

Bei Patienten mit Angsterkrankungen steht das subjektive Erleben von Angst oft nicht im Vordergrund der Beschwerden. Vielmehr werden häufig körperliche Symptome wie zum Beispiel Tachykardie, abdominelle Beschwerden oder eine verminderte Belastbarkeit geschildert. Hinter solchen Beschwerden kann sich eine Angstsymptomatik verstecken. Angst, ob normal oder pathologisch im Sinne einer Angststörung, ist immer ein sowohl körperliches als auch seelisches Phänomen. Als wesentliche Formen pathologischer Angst werden die phobische Angst, die Panik und die frei flottierende Angst unterschieden (Möller et al. 2005).

In der Allgemeinbevölkerung gehören Angst und Panikstörungen zu den häufigsten psychischen Erkrankungen. Die Lebenszeitprävalenz beträgt ca. 15%, die Punktprävalenz ca. 7% (Möller 2005). Andere Autoren geben noch deutlich höhere Prävalenzzahlen an. Kessler et al. (2005a; 2005b) fanden eine Lebenszeitprävalenz von bis zu 28.8% und eine Inzidenz von 18.1 % vor.

Diagnosen von psychischen Erkrankungen werden anhand von zwei Klassifikationssystemen gestellt. Hierzu dienen das ICD 10 (International Statistical Classification of Diseases and Related Health, 10th Revision, WHO 2005), welches seit 1998 im ambulanten und stationären Bereich das offizielle Klassifikationssystem in Deutschland ist, und das vor allem im englischen Sprachraum Verwendung findende DSM IV (Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, 4th edition, APA 1994) der American Psychiatric Association.

Im ICD-10 werden phobische Störungen, zu denen die Agoraphobie, die soziale Phobien und spezifische oder isolierte Phobien gehören, von sonstigen Angststörungen unterschieden. Letztere umfassen u.a. die Panikstörung, die generalisierte Angststörung, die gemischte

Angst, die depressive Störung und andere gemischte Angststörungen sowie organisch bedingte Angststörungen.

Im DSM IV liegt eine ähnliche Einteilung vor, wobei grundsätzlich fünf Arten von Angst und Panikstörungen unterschieden werden. Diese sind die Agoraphobie, die soziale Phobie, die spezifische Phobie, die Panikstörung und die generalisierte Angststörung (general anxiety disorder, GAD), sowie Angststörungen aufgrund eines medizinischen Krankheitsfaktors. Im DSM-IV-TR wird die generalisierte Angststörung nach Schlaganfall als Angststörung aufgrund eines Schlaganfalls mit generalisierter Angst charakterisiert (Chemerinski and Levine 2006).

Die wesentlichen Symptome, mit deren Hilfe sich die primären Angststörungen unterscheiden lassen, sind in Tab. 1 aufgeführt (DSM IV; APA, 1994; (Nutt 2005).

Zwangsstörungen	Wiederkehrende und nicht gewollte Gedanken führen zu zwanghaften Handlungen mit dem Ziel Angst zu reduzieren.
Agoraphobie	Angst sich an Orten oder Institutionen zu befinden, in denen beim plötzlichen Auftreten von hilflosmachenden oder peinlichen Symptomen eine Flucht nur schwer oder unmöglich ist.
Soziale Phobie	Anhaltende Angst vor Situationen in denen die Person im Mittelpunkt der Aufmerksamkeit steht. Die Angst wird als übertrieben oder unnatürlich empfunden und führt in der Regel zu einem ausgeprägten Vermeidungsverhalten.
Panikstörungen	Ohne Auslöser entstehende ausgeprägte Angst, welche wiederkehrend, unerwartet und häufig einhergehend mit ausgeprägten körperlichen Symptomen auftritt. Dies führt zu Furcht vor einer erneuten Angstattacke (Erwartungsangst).
Generalisierte Angststörung	Angst ist nicht auf Situationen oder Objekte begrenzt, daher frei flottierend. Sie besteht über mindestens 6 Monate, als Symptome werden unkontrollierbare Sorgen oder unrealistische Befürchtungen, motorische Spannungen und vegetative Überregbarkeit gefunden.

Tab. 1: Übersicht der primären Angststörungen nach Nutt (2005).

Da die GAD als häufigste Form der Angststörung nach dem Schlaganfall auftritt (Chemerinski and Levine 2006), soll diese Unterform der Angsterkrankungen und ihre Behandlung genauer dargestellt werden.

2.1.1 Generalisierte Angststörung (GAD)

Eine GAD zeichnet sich durch eine frei flottierende Angst aus, die im Gegensatz zu den anderen Typen der Angsterkrankung nicht an bestimmte Objekte oder Situationen gebunden ist. Die Angst tritt über einen längeren Zeitraum auf und schwankt lediglich in ihrer Intensität. Wichtige klinische Symptome sind unrealistische Befürchtungen, motorische Spannungen und vegetative Überregbarkeit sowie Hypervigilanz und erhöhte Aufmerksamkeit (Möller et al. 2005).

Die im DSM IV identifizierten Symptome der GAD sind über sechs Monate anhaltende Angst bezüglich mehrerer Ereignisse (z.B. Arbeits- oder Schulleistungen), unkontrollierbare Sorgen und Zeichen somatischer Angst wie motorischer Spannung, Schlaflosigkeit und Hypervigilanz.

2.1.2 Prävalenz und Komorbidität der GAD

Die Lebenszeitprävalenz der GAD beträgt nach den Kriterien des DSM IV ca. 5 bis 6% (Wittchen et al. 2000). Die Angaben zur Prävalenz innerhalb von 12 Monaten unterscheiden sich entsprechend der jeweils angelegten diagnostischen Kriterien. Sie reicht von 3,1% unter Anwendung der DSM III R Kriterien (Wittchen et al. 1994) und sinkt auf 1,5%, wenn die strengeren DSM IV Kriterien herangezogen werden (Wittchen et al. 2000).

Ein Anteil von 66,3% der an einer GAD leidenden Patienten zeigt eine andere komorbide psychische Erkrankung wie zum Beispiel eine depressive Erkrankung und/oder andere Angststörungen wie die soziale und/oder die spezifische Phobie (Wittchen et al. 1994). Die Komorbidität von Angst und Depression ist sehr hoch. Stein et al. (1995) beziffern die Komorbidität bei gegenwärtig an einer Angststörung leidenden Patienten mit einer depressiven Erkrankung auf bis zu 19,1%. Judd et al. (1998) fanden bei 67% der Patienten mit GAD eine depressive Erkrankung.

Dass Angsterkrankungen und Depressionen auch ätiologisch miteinander verwandt sind, zeigt sich außerdem daran, dass Antidepressiva sowohl bei Angsterkrankungen als auch bei Depressionen klinisch wirksam sind.

2.1.3 Angststörungen als neuropsychiatrische Folgen des Schlaganfalls

Neben den häufig zu beobachtenden funktionellen Einschränkungen, wie z.B. Paresen, kann ein Schlaganfall auch zu einer Vielzahl von neuropsychiatrischen Folgeerkrankungen führen. Hierzu zählen Depression, Angststörungen, Manie, bipolare Erkrankungen, Insomnie, Apathie und pathologisches Weinen (Bhagal et al. 2004; Burvill et al. 1995a; Chemerinski and Levine 2006; Leppavuori et al. 2003; Narushima et al. 2003; Robinson 1997).

Depression („post-stroke depression“; PSD) wird bei 20 bis 50% der Patienten als häufigste neuropsychiatrische Folgeerkrankung des Schlaganfalls vorgefunden (Astrom et al. 1993; Burvill et al. 1995b; Chemerinski and Levine 2006; Eastwood et al. 1989; House et al. 1991). Eine PSAD (post-stroke anxiety disorder) als andere wichtige neuropsychiatrische Komplikation wird bei ca. 20 bis 27 % (Burvill et al. 1995a; Castillo et al. 1993; Leppavuori et al. 2003) der Patienten nach einem ischämischen Schlaganfall beobachtet. Beide Folgeerkrankungen behindern die physische und kognitive Rehabilitation der Betroffenen (Astrom 1996; Chemerinski and Levine 2006).

Die Komorbidität von GAD und Depression ist sehr hoch. Das Bestehen einer GAD kann nicht nur die Diagnose einer zusätzlich bestehenden Depression verschleiern, sondern sie wirkt sich auch auf den Verlauf einer depressiven Erkrankung aus. Eine GAD nach einem Schlaganfall kann die Prognose einer komorbiden „Major Depression“ verschlechtern (Astrom 1996). Während die Prävalenz einer GAD von verschiedenen Autoren in der akuten Zeit nach dem Schlaganfall mit 6 bis 13% angegeben wird, steigt sie auf bis zu 28%, wenn Fälle des Zusammentreffens von PSAD und PSD berücksichtigt werden (Astrom 1996; Castillo et al. 1993; Starkstein et al. 1990).

Zur Diagnose dieser Erkrankungen wurden in den genannten Quellen die klinisch diagnostischen Kriterien einer „Major Depression“ oder einer GAD gemäß dem DSM IV angelegt.

Das Auftreten einer neuropsychiatrischen Folgeerkrankung ist ferner abhängig von der durch den Schlaganfall geschädigten Hirnstruktur. So berichteten Castillo et al. (1993), dass Schlaganfälle in der linken Hemisphäre mit komorbiden Angststörungen sowie depressiven Erkrankungen, in der rechten Hemisphäre dagegen mit reinen Angststörungen assoziiert waren. Zu ähnlichen Ergebnissen kam auch Astrom (1996). In Übereinstimmung hiermit fanden andere Autoren, dass die GAD bei Schlaganfallpatienten häufig mit Läsionen des linken dorsolateralen Frontallappens assoziiert ist (Leppavuori et al. 2003; Robinson 1997;

Starkstein et al. 1990). Beblo et al. (1999) verweisen in diesem Zusammenhang bei der Entstehung der PSD auf die entscheidende Funktion der Basalganglien (BG).

2.1.4 Therapie der Angsterkrankungen

Antidepressiva vom Typ der SSRI (selektive Serotonin Wiederaufnahmehemmer, Reuptake Inhibitors) sind die am weitesten verbreiteten Medikamente zur Behandlung von Angststörungen. Sie sind Medikamente der ersten Wahl bei der GAD, der sozialen Phobie, bei Zwangserkrankungen und Panikstörungen (Nutt 2005). Ursprünglich sind die SSRI aufgrund der häufig komorbiden depressiven Erkrankungen verordnet worden (Nutt 2005; Uhlenhuth et al. 1999). Paroxetin ist der SSRI, dessen Wirksamkeit bei GAD am ausgiebigsten untersucht und belegt ist. (Nutt et al. 2002; Pollack et al. 2001). Ergebnisse weiterer klinischer Studien zeigen, dass auch Citalopram, der in dieser Studie verwendete SSRI, in der Behandlung praktisch aller Angsterkrankungen wirksam ist. So konnte die Wirksamkeit von Citalopram bei Panikstörungen (Lepola et al. 1998; Wade et al. 1997), sozialen Phobien (Bouwer and Stein 1998; Stein et al. 2001), Zwangsstörungen (Koponen et al. 1997; Stein et al. 2001) und auch bei GAD (Lenze et al. 2005; Varia and Rauscher 2002) nachgewiesen werden.

Die exakten neurobiologischen Mechanismen, die einer Angsterkrankung bzw. einer GAD zugrunde liegen, sind noch nicht verstanden (Nutt 2001). Vieles, was man über die neurobiologischen Grundlagen psychischer Erkrankungen weiß, leitet sich aus den Erkenntnissen über die Wirkungsweise bei dieser Erkrankung wirksamer Medikamente ab. Antidepressiva greifen in Neurotransmittersysteme des Zentralnervensystems (ZNS) ein. Deswegen werden zunächst die für ihre Wirkung wichtigen Teile des ZNS und der beteiligten Neurotransmittersysteme dargestellt, bevor näher auf die Antidepressiva eingegangen wird.

2.2 Angst auf der Ebene des ZNS

Angst ist ein den ganzen Körper betreffender Zustand, der praktisch alle wichtigen Systeme involviert. Dies gilt neben dem ZNS insbesondere für das motorische, das sensorische, das endokrine und das kardiovaskuläre System, aber auch für das Immunsystem (Millan 2003; Möller et al. 2005; Nutt 2001).

Für die Entstehung einer Emotion wie Angst im Zentralen Nervensystem (ZNS), ist nicht eine einzelne Hirnregion sondern vielmehr das Zusammenspiel verschiedener Hirnregionen in Form cerebraler Schaltkreise verantwortlich (Millan 2003). Eine vollständige Darstellung dieser Schaltkreise überstiege jedoch den Rahmen dieser Arbeit. Dem entsprechen die Befunde einer Studie von Wu et al. (1991), welche mit Hilfe der Positron Emissions Tomographie (PET) bei Patienten mit GAD im Vergleich zur gesunden Kontrollgruppe einen erhöhten Glucosemetabolismus in limbischen Hirnregionen (im Occipital-, Temporal- und Frontallappen) nachwies. Im Bereich der BG wurde bei GAD sowohl eine erhöhte als auch erniedrigte Aktivität gemessen (Buchsbaum et al. 1987; Wu et al. 1991).

In dieser Arbeit wurden Hippocampus, Hypothalamus, Striatum, sowie der Frontal- und Parietalcortex und der Piriformcortex / Amygdala untersucht. Diese Regionen gehören zum limbischen System bzw. zu den BG.

Nachfolgend werden das limbische System und die BG kurz vorgestellt, weil die Funktion dieser Hirnstrukturen entscheidend durch die in dieser Arbeit untersuchten Neurotransmittersysteme beeinflusst wird.

2.2.1 Das limbische System

Limbisch leitet sich von dem lateinischen Begriff *limbus* (=Grenze) ab. Diesen Begriff benutzte erstmals Willis 1664, um rein anatomisch ein Hirnareal, das zwischen Hirnstamm und Neocortex wie ein Saum um das Corpus callosum liegt, zu beschreiben.

Das limbische System setzt sich aus verschiedenen Kerngebieten sowie aus neocortikalen und phylogenetisch älteren Cortexarealen zusammen. Wichtige Bestandteile des limbischen Systems sind die Hippocampusformation, der Gyrus parahippocampalis mit der Area entorhinalis, der Gyrus dentatus, der Gyrus cinguli, das Corpus mamillare und das Corpus amygdaloideum. Diese Strukturen bilden einen Neuronenkreis, den sogenannten Papez Kreis, den Papez 1937 mit dem Ziel beschrieb, ein Modell der Emotionen darzustellen, das sich an

anatomischen Strukturen orientiert. Klüver und Bucy konnten 1939 durch ihre Untersuchungen die Papez Theorie stützen. Nach bitemporaler Lobektomie bei Rhesusaffen, also nach Entfernung von Teilen des limbischen Systems, insbesondere der Hippocampusformation, fanden sie bei den Versuchstieren einen Phänotyp vor, der jeglichen Anhalt für Emotionen wie Angst oder Aggression entbahr. Der Begriff des limbischen Systems wurde schließlich durch Mac Lean 1949 eingeführt.

Die im Papez Kreis beschriebenen Strukturen haben ausgedehnte Verbindungen zu anderen Hirnabschnitten wie Neocortex, Thalamus und Hirnstamm. Das limbische System ist also eine Art Schnittstelle im Erregungsaustausch zwischen mesenzephalen, dienzeptalen und neokortikalen Strukturen. Aus diesem Grunde wird das limbische System heutzutage weder anatomisch noch funktionell nicht mehr als geschlossenes System aufgefasst (Bähr et al. 2003).

2.2.2 Die Basalganglien

Die BG sind ein subkortikal gelegenes Kerngebiet. Nach der neueren Nomenklatur setzt es sich aus dem Corpus striatum, dem Globus pallidus, dem Nucleus subthalamicus und der Substantia nigra zusammen. Früher wurde auch die Amygdala, welche heute eher dem limbischen System zugerechnet wird, zu den BG gezählt (Bähr et al. 2003). Diese Kerngebiete sind anatomisch und funktionell miteinander verbunden und sind an der Steuerung von Verhaltensaspekten, wie Motivation, Emotion, Kognition und besonders auch der Motorik beteiligt (Graybiel 1997; Redgrave et al. 1999).

Morbus Parkinson ist ein Beispiel für eine neurodegenerative Erkrankung mit funktionaler Störung der BG. Diese Erkrankungen geht vorrangig mit Störungen der Motorik aber auch mit psychischen Veränderungen einher. So können Angsterkrankungen bzw. ihre Symptome auch bei vielen an Morbus Parkinson leidenden Patienten beobachtet werden (Marinus et al. 2002; Shiba et al. 2000).

Für diese Arbeit wichtig ist besonders das Corpus striatum. Es liegt seitlich des Thalamus und trägt seinen Namen wegen seines gestreiften Aussehens. Diese Streifung entsteht durch die Nervenfasern der Capsula interna, die das Striatum durchdringen. Es erhält Afferenzen aus dem gesamten Cortex, dem Thalamus, der Substantia nigra und dem Hirnstamm. Demgegenüber geht vom Striatum nur eine geringe Zahl von Efferenzen aus. Die

Hauptprojektionswege sind hierbei auf die BG selbst begrenzt, so dass das Corpus striatum eine Art Eingangstation für die BG bildet (Parent and Hazrati 1995a; b).

Grundsätzlich selektieren die BG aus den zahlreichen Afferenzen Informationen, die in der jeweiligen Situation von Bedeutung sind. Die aktuell notwendigen Hirnprozesse werden aktiviert und gleichzeitig werden irrelevante oder inkompatible Prozesse gehemmt. Die hierzu erforderliche Informationsverarbeitung erfolgt über zwei Hauptprojektionswege. Der direkte Weg erfolgt vom Corpus striatum zur Substantia nigra und dem Globus pallidus internus. Der indirekte Weg schließt außerdem den Globus pallidus externus und den Nucleus subthalamicus mit ein (Bähr 2001; Redgrave et al. 1999).

Die Funktion der BG in der Selektion von Informationen ist von entscheidender Bedeutung für das Überleben des Individuums und den Bestand der Art (Redgrave et al. 1999) und weist auch auf ihre Rolle bei der Entstehung von Angst als einer Art Alarmfunktion des Körpers hin.

Angst oder andere Emotionen werden also durch komplexe und im ZNS weit verschaltete neuronale Netzwerke vermittelt. Zur weiteren Komplexität der Entstehung der Emotion Angst tragen zahlreiche Neurotransmitter und ihre Rezeptoren bei, welche in dieses Netzwerk auf unterschiedliche Art eingreifen (Gorman et al. 2002; Millan 2003; Nutt 2001). Im nächsten Abschnitt sollen daher drei in dieser Arbeit untersuchte Neurotransmittersysteme vorgestellt werden.

2.3 Neurotransmittersysteme

2.3.1 Serotonin

Serotonin (5-Hydroxytryptamin, 5-HT) ist ein Indolamin, gehört somit zu den biogenen Aminen und erfüllt sowohl im ZNS als auch im übrigen Körper wichtige Funktionen. So ist es an der Funktion der Blutplättchen, Mastzellen und enterochromaffinen Zellen beteiligt. Außerdem kommt ihm auch eine wichtige Funktion bei der Kontrolle des Tonus der glatten Darmmuskulatur und der Blutgefäße zu.

Im ZNS hat 5-HT die Rolle eines wichtigen Neurotransmitters, der in zahlreichen physiologischen Funktionen involviert ist. Hierzu gehören zum einen die Kontrolle der Nahrungsaufnahme, des Brechreflexes, des Schlafwachrhythmus, der Körpertemperatur, des

Sexualverhaltens, und zum anderen die Regulation motorischer Funktionen und der Schmerzverarbeitung (Julien 1997).

Eine sehr wichtige Rolle spielt 5-HT in psychischen Vorgängen, denn es ist an höheren kognitiven Funktionen und der Modulation von Aggression, Motivation und der Kontrolle von Impulsivität beteiligt. Neuropsychiatrische Erkrankungen wie Angststörungen, Depression oder Schizophrenie gehen oft einher mit einem Ungleichgewicht im serotonergen System (Graeff et al. 1997; Julien 1997; Rang et al. 1999).

2.3.1.1 Synthese, Metabolismus und synaptische Übertragung von 5-HT

5-HT wird im Zytoplasma serotonerger Neurone aus der essentiellen Aminosäure L-Tryptophan gebildet. Die Blut-Hirn-Hirnschranke überwindet die Aminosäure teilweise durch einen carrier-vermittelten Transport und teilweise durch Diffusion.

Die Bildung von 5-HT erfolgt intrazellulär in zwei Schritten. Zuerst wird L-Tryptophan zu L-5-Hydroxytryptophan (5-HTP) durch die Tryptophanhydroxylase hydroxiliert. Anschließend wird 5-HTP durch die Dihydroxyphenylalanin-Decarboxylase zu 5-HT umgewandelt.

5-HT wird größtenteils in Vesikeln gespeichert. Nur ein geringer Teil verbleibt im Zytoplasma. Bei Eintreffen eines Aktionspotentials erfolgt die Ausschüttung des 5-HT in den synaptischen Spalt über einen Ca^{2+} -abhängigen Mechanismus.

Nach der Freisetzung wird 5-HT hauptsächlich durch aktive Wiederaufnahme mittels eines spezifischen 5-HT-Transporters wieder in die serotonergen Nervendigungen aufgenommen und aus dem synaptischen Spalt entfernt (Shaskan and Snyder 1970). Damit wird seine Wirkung an den Rezeptoren postsynaptisch beendet. Anschließend wird der Transmitter entweder bis zur Wiederverwendung wieder in Vesikeln gespeichert oder er unterliegt einer oxidativen Desaminierung durch die mitochondriale Monoaminoxidase A (MAO-A). Das entstehende Aldehyd wird überwiegend durch Aldehyddehydrogenase zur 5-Hydroxyindolessigsäure (5-HIAA) abgebaut (Graeff 1997; Julien 1997; Rang et al. 1999).

2.3.1.2 Serotonerge Projektionen im ZNS

Serotonerge Neuronengruppen kommen im ZNS in Pons und Medulla oblongata vor. Aufgrund ihrer Nähe zur Mittellinie (Raphe) werden sie in ihrer Gesamtheit als Raphe-Kerne bezeichnet. Beachtlich ist hierbei, dass eine kleine und genau lokalisierte Neuronengruppe Afferenzen in fast alle Gebiete des ZNS einschließlich des Rückenmarks hat. Neuere

Forschung zeigt dabei, dass das serotonerge System auf eine komplexe und sehr selektive Weise seine Projektionsgebiete innerviert (Graeff 1997; Julien 1997).

Die Raphe- Kerne werden in eine kaudale und in eine rostrale Zellgruppe unterteilt. Die kaudale Zellgruppe, bestehend aus Nucleus raphe pallidus, Nucleus raphe obscurus und Nucleus raphe magnus, liegt in der Medulla oblongata. Von ihr ausgehende Axone ziehen ins Kleinhirn, Hirnstamm und Rückenmark und nehmen Einfluss auf Motorik, Schmerzempfinden, Atmung und das Herz-Kreislaufsystem. Die rostrale Zellgruppe bestehend aus Nucleus raphe pontis, Nucleus raphe dorsalis, Nucleus raphe medianus, und Nucleus linearis pontis, befindet sich in Pons und Mesenzephalon und innervieren das Vorderhirn und modulieren kognitive, affektive und neuroendokrine Funktionen. Anatomisch und funktionell lassen sich im serotonergen System mindestens zwei Teile unterscheiden. Die Zellkerne des einen Systems liegen in den dorsalen Raphekernen (DR) und zeichnen sich anatomisch durch sehr feine Axone mit kleinen Varikositäten aus ($<1\mu\text{m}$). Die andere serotonerge Neuronengruppe sitzt in den medianen Raphekernen (MR) und zeichnet sich morphologisch durch perlenkettenartigen (beaded) Axone mit größeren Varikositäten aus ($>2\ \mu\text{m}$) (Mamounas et al. 1991). Auch pharmakologisch unterscheiden sich beide Teilsysteme hinsichtlich ihrer Beeinflussbarkeit durch Amphetamine (Mamounas et al. 1991) oder Antidepressiva (Graeff 1997; Hjorth et al. 2000).

Nach dem heutigen Forschungsstand gibt es mindestens sieben verschiedene 5-HT Rezeptor-Familien. Je nach Art und Lokalisation des Rezeptors führt dessen Aktivierung zu unterschiedlichen Wirkungen. Für die Familien 5-HT_{1A}, 5-HT_{2A}, 5-HT_{2C} und 5-HT₃ konnte unter anderem eine wichtige Rolle in der Entstehung von Angst nachgewiesen werden (Graeff 1997; Möller et al. 2005; Rang et al. 1999). Auf die Rolle des serotonergen Systems bei Angst soll ausführlich im letzten Abschnitt 2.5.2 eingegangen werden.

2.3.2 Katecholamine

Als Katecholamine werden die drei verwandten Neurotransmitter Dopamin (DA), Noradrenalin (NA) und Adrenalin bezeichnet. Adrenalin fungiert in der Peripherie vor allem als Hormon des Nebennierenmarks. Im ZNS kommt Adrenalin nur in geringen Konzentrationen vor. Die wichtigsten Katecholamin-Neurotransmitter im ZNS sind DA und NA (Julien 1997).

2.3.2.1 Synthese, Metabolismus und synaptische Übertragung von NA und DA

Die Aminosäure L- Tyrosin ist der Ausgangsstoff bei der Synthese von NA und DA. Sie wird durch einen energieabhängigen Mechanismus aus dem peripheren Blut über die Bluthirnschranke in das Neuron aufgenommen. Nach Aufnahme in ein dopaminerges Neuron wird L-Tyrosin in zwei Schritten zu DA umgebaut. In noradrenergen Neuronen kommt noch ein dritter Schritt zum Umbau von DA zu NA hinzu. Im ersten Schritt wandelt die Tyrosinhydroxylase, das geschwindigkeitsbestimmende Enzym der Synthese, L-Tyrosin in Dihydroxyphenylalanin (DOPA) um. Im zweiten Schritt katalysiert die DOPA-Decarboxylase den Schritt von DOPA zu DA. In noradrenergen Neuronen katalysiert die Dopamin- β -hydroxylase in einem dritten Schritt die Umwandlung von DA in NA.

Beide Transmitter werden in Vesikeln gespeichert und bei Eintreffen eines Aktionspotentials in den synaptischen Spalt über einen Ca^{2+} vermittelten Mechanismus ausgeschüttet.

Um ihre Wirkung an postsynaptischen Rezeptoren zu beenden, werden NA und DA aus dem synaptischen Spalt ähnlich wie 5-HT durch jeweils einen spezifischen Wiederaufnahme Mechanismus entfernt. Rückaufgenommenes NA oder DA wird entweder erneut in Vesikeln zu Wiederverwendung gespeichert oder enzymatisch umgebaut. Die wichtigsten Enzyme hierfür sind die Monoaminoxidasen (MAO), die Catechol-O-methyltransferase sowie die Aldehyddehydrogenase. In Abhängigkeit von der Reihenfolge des Abbaus der Neurotransmitter durch die beiden Enzyme entstehen unterschiedliche Metabolite.

In den Experimenten dieser Studie wurden die Konzentrationen der Metaboliten des DA, der Dihydroxyphenylethylsäure (DOPAC) sowie der Homovanillinsäure (HVA) bestimmt. DOPAC entsteht durch Umwandlung des DA durch MAO-B und Aldehyddehydrogenase. HVA wird in einem zweiten Schritt aus DOPAC durch die Catechol-O-methyltransferase katalysiert (Julien 1997; Rang et al. 1999).

2.3.2.2 Noradrenerge Projektionen im ZNS

Die Zellkörper noradrenerger Neurone bilden kleine Anhäufungen im Pons (Locus Coeruleus) und Medulla oblongata (Formatio reticularis). Vom Locus coeruleus und anderen vereinzelt noradrenergen Neuronen, die in dessen Nähe liegen, ziehen Axone aufwärts in die Großhirnrinde, ins limbische System, in den Hypothalamus und ins Kleinhirn. Nach kaudal ziehen Axone von der Formatio reticularis zu den Hinterhörnern des Rückenmarks und zum Tractus solitarius (Julien 1997; Rang et al. 1999).

NA spielt als Neurotransmitter eine wichtige Rolle im Alarmsystem des Körpers, mit Einfluss auf die Wachheit, die gerichtete Aufmerksamkeit und den Blutdruck. Auch im Belohnungssystem sowie der Kontrolle von Stimmung und Schmerzen ist es beteiligt (Julien 1997). Die Wirkung von NA wird durch postsynaptische α_1 - oder β_1 -Rezeptoren vermittelt. Zusätzlich wirken präsynaptische α_2 -Autorezeptoren inhibitorisch auf die NA-Ausschüttung. Für diese Autorezeptoren konnte eine wichtige Rolle in der Vermittlung von Angstreaktionen nachgewiesen werden. So führte eine Erhöhung der noradrenergen Transmission durch den α_2 -Rezeptorantagonisten Yohimbin zur einer Verstärkung von Angstsymptomen, während der α_2 -Agonist Clonidin diese Symptome reduzierte (Gorman et al. 2002). In Übereinstimmung hiermit konnte eine Erhöhung der NA Ausschüttung in limbischen Regionen wie dem frontalen Kortex, der Amygdala und dem Hippocampus als Reaktion auf Angst und oder andere Stressoren nachgewiesen werden (Millan 2003).

2.3.2.3 Dopaminerge Projektionen im ZNS

Dopaminerge Neurone bilden unterschiedliche Teilsysteme, deren Funktionen sich grob unterscheiden lassen.

Etwa 75% des DA kommt im nigrostriatalen System vor. Die Somata der Neurone liegen in der Substantia nigra pars lateralis und pars compacta sowie im Nucleus retrobulbaris. Ihre Axone projizieren in das dorsale Striatum und nehmen hier vorrangig Einfluss auf Bewegungsabläufe.

In das ventrale Striatum, welches sich aus dem Tuberculum olfactorium und dem Nucleus accumbens zusammensetzt, ziehen die Axone des mesolimbischen Systems. Die Zellkörper dieser Neurone liegen in der Area tegmentalis ventralis.

Die Zellkörper des mesocortikalen Systems liegen ebenfalls in der Area tegmentalis ventralis und in der medialen Substantia nigra. Ihre Axone projizieren in die Amygdala, das Septum und den präfrontalen und cingulären Cortex.

In Bezug auf Verhalten und Stimmung spielen das mesolimbische und das mesocortikale System eine wichtige Rolle. So konnte nachgewiesen werden, dass Angst und andere Stressoren zu einer Aktivierung dieser beiden Systeme führen (Millan 2003). Bei an Morbus Parkinson leidenden Patienten, einer Erkrankung, welche durch die Degeneration dopaminerger Neurone in der Substantia nigra bedingt ist, konnten Symptome einer Angsterkrankung beobachtet werden (Shiba et al. 2000).

Die Zellkörper der Neurone des tuberohypophysalen Systems liegen im Nucleus arcuatus im Hypothalamus und nehmen Einfluss auf die Sekretion der Hypophyse. So inhibiert DA die Sekretion von Prolaktin. Außerdem gibt es noch eine Anzahl dopaminerger Interneurone im olfactorischen Cortex sowie in der Medulla und in der Retina.

2.4 Antidepressiva

2.4.1 Die Monoaminmangel-Hypothese

Die antidepressive Wirkung der ersten Antidepressiva wurde zufällig entdeckt, als diese Medikamente Patienten aufgrund anderer Indikationen verabreicht wurden. Iproniazid, der erste MAO Hemmer, ist chemisch mit Isoniazid verwandt und wurde ursprünglich als Tuberkulostatikum eingesetzt. Bloch et al. (1954) beschrieben erstmals dessen stimmungsaufhellende und euphorisierende Effekte. 1957 wurde es als erster Vertreter seiner Gruppe bei der Behandlung der Depression eingesetzt (Loomer et al. 1957). 1956 entdeckte der Psychiater Roland Kuhn die antidepressive Wirkung des trizyklischen Antidepressivums (TZA) Imipramin (Kuhn 1958). Es ähnelt strukturell dem Chlorpromazin und war für den Einsatz als Antipsychotikum entwickelt worden (Rang et al. 1999).

In späteren Jahren wurde zum einen beobachtet, dass mehrere antidepressiv wirksame Substanzen die Konzentration von NA und 5-HT im synaptischen Spalt erhöhen. Zum anderen wurde der Nachweis erbracht, dass Reserpin, welches ursprünglich zur Behandlung des arteriellen Hypertonus eingesetzt wurde, bei den Patienten zu depressionsähnlichen Symptomen führte und den Gehalt der Monoamine reduzierte. Vor dem Hintergrund dieser Befunde entwickelte Schildkraut die Monoaminmangel-Hypothese. Depression führte er auf einen funktionellen Mangel an NA zurück (Schildkraut 1965). Coppen (1967) wies auf die Rolle des 5-HT für die Entwicklung einer Depression hin. In jüngerer Zeit wurden auch Nachweise für eine Rolle eines weiteren Monoamins, des DA, bei Depressionen gefunden. Weiter gibt es Hinweise darauf, dass DA eine wichtige Rolle in der Vermittlung der antidepressiven Wirkung der SSRI spielt (Renard et al. 2001).

Vor dem Hintergrund des Wirkmechanismus der ersten Antidepressiva besagt die Monoaminmangel-Hypothese, dass Depression aus einem funktionellen Defizit monoaminerger Neurotransmission (5-HT, NA und DA) im ZNS herrührt.

2.4.2 Klassen von Antidepressiva

Die heutzutage in der Klinik angewandten Antidepressiva entsprechen aufgrund ihrer pharmakologischen Wirkung der Monoaminmangel-Hypothese der Depression (Rang et al. 1999). Ihnen ist eine Erhöhung der Verfügbarkeit von Monoaminen im synaptischen Spalt gemeinsam.

Die Interaktion der Antidepressiva mit monoaminergen Systemen erfolgt über zwei verschiedene Mechanismen, diese sind

1. der enzymatischen Abbau des Neurotransmitters sowie
2. die aktive Rückaufnahme des Transmitters aus dem synaptischen Spalt in das präsynaptische Axon.

2.4.2.1 MAO-Hemmer

Die Aufgabe der MAO besteht im Abbau von Katecholaminen. Sie liegt in Form der beiden verschiedenen Isoenzyme MAO-A und MAO-B vor. Für den antidepressiven Effekt ist die Hemmung der MAO-A ausschlaggebend, die beim Menschen vorwiegend NA und 5-HT desaminiert (Riederer et al., 1993). DA wird durch MAO-B metabolisiert.

Da Iproniazid irreversibel beide Enzyme hemmt und dies zum Teil zu bedrohlichen Nebenwirkungen führt, wurde das Medikament anfänglich durch zwar noch irreversible aber immerhin selektive Hemmer der MAO-A, wie zum Beispiel Clorgylin ersetzt. Clorgylin wurde wiederum durch reversible MAO-A Hemmer, z.B. durch das Moclobemid, ersetzt (Vetulani and Nalepa 2000).

2.4.2.2 Trizyklische Antidepressiva

Die tri- und tetrazyklischen Antidepressiva (TZA) werden aufgrund ihrer ähnlichen chemischen Struktur als eine Gruppe zusammengefasst. Imipramin als erste Substanz der TZA greift genauso wie die beiden anderen wichtigen Vertreter dieser Gruppe, Desipramin und Amitriptylin, wenig selektiv in mehrere Neurotransmittersysteme ein. Sie inhibieren alle, wenn auch in unterschiedlichem Ausmaß, die Wiederaufnahme von 5-HT und NA und wirken zusätzlich als Antagonisten an verschiedenen Rezeptoren, was entscheidend zum Nebenwirkungsprofil beiträgt. So treten anticholinerge, antihistaminerge und antiadrenerge Nebenwirkungen bei den Patienten auf.

Nach klinischen Gesichtspunkten werden aufgrund ihres unterschiedlichen Wirkprofils drei Arten von der TZA unterschieden. Der Desipramin-Typ ist psychomotorisch aktivierend und

antriebssteigernd, der Imipramin-Typ ist psychomotorisch ausgeglichen und der Amitriptylin-Typ ist sedierend und anxiolytisch. Für die psychomotorisch aktivierende Wirkung wird die vorrangige Hemmung der NA-Wiederaufnahme und für die stimmungsaufhellende Wirkung vorrangig die Hemmung der Wiederaufnahme des 5-HT verantwortlich gemacht.

2.4.2.3 Selektive 5-HT Wiederaufnahme Hemmer

Zu einem gewissen Grade wurden die TZA durch Substanzen verdrängt, welche selektiv die Wiederaufnahme von 5-HT hemmen (SSRI) (Rang et al. 1999; Vetulani and Nalepa 2000). Diese Substanzen gleichen sich weniger strukturell als durch ihren gemeinsamen Wirkmechanismus. Obwohl sie immer noch mit mehreren Rezeptoren interagieren, zeigen sie ein besseres Nebenwirkungsprofil als die TZA und sind deswegen häufig Medikamente der ersten Wahl bei der Behandlung von Depression und auch Angsterkrankungen (Möller et al. 2005; Nutt 2005).

Das Citalopram, ein Medikament dieser Gruppe, wird nachfolgend genauer vorgestellt, da diese Substanz bei den Versuchen dieser Dissertation Verwendung fand.

2.4.2.4 Weitere antidepressiv wirksame Substanzen:

Es gibt noch eine Vielzahl anderer antidepressiv wirksamer Substanzen mit jeweils spezifischen Indikationen bei unterschiedlichen Subtypen der Depression oder anderen Indikationen, wie beispielsweise als Ko-Analgetika bei Schmerzen. Als Gruppen genannt seien noch die selektiven NA Wiederaufnahmehemmer, wie das Roboxetin, Medikamente mit dualem Wirkmechanismus (selektive NA- und 5-HT Wiederaufnahmehemmung), wie das Venlafaxin oder das Duloxetin, die atypischen Antidepressiva wie das Trazodon oder Mirtazepin und Phytopharmaka wie das Johanniskraut.

Trotz der damit großen Auswahl an Antidepressiva ist es in diesem Zusammenhang wichtig darauf hinzuweisen, dass bei 30 bis 40% der erkrankten Patienten eine pharmakologische Behandlung der Depression nicht wirksam ist (Möller et al. 2005; Wong and Licinio 2001).

2.4.3 Citalopram

Wie die anderen SSRI verursacht Citalopram primär eine Hemmung der neuronalen Wiederaufnahme des 5-HT, wodurch die serotonerge synaptische Übertragung verstärkt wird. Citalopram ist ein sehr potenter Hemmer der 5-HT-Wiederaufnahme. Demgegenüber beeinflusst Citalopram die Wiederaufnahme von NA und DA nicht bzw. nur in sehr geringem

Ausmaß (Keller 2000). Citalopram gilt daher von allen Antidepressiva als der selektivste SSRI in Hinblick auf die Wiederaufnahmehemmung von 5-HT (Bezchlibnyk-Butler et al. 2000; Keller 2000).

Im Gegensatz zu den bereits erwähnten TZA zeigt Citalopram keine oder nur eine sehr geringe Affinität zu einer Reihe von Rezeptoren wie 5-HT_{1A}- und 5-HT₂ Rezeptoren, D₁- und D₂ Rezeptoren, β ₁-, β ₂- und α Adrenorezeptoren, Histamin H₁-Rezeptoren sowie GABA- und Opioid-Rezeptoren. Durch die fehlende Wirkung auf diese Rezeptoren zeigt Citalopram in Hinblick auf sein Nebenwirkungsprofil Vorteile im Vergleich zu den TZA (Bezchlibnyk-Butler et al. 2000; Hyttel 1994; Richelson and Nelson 1984).

2.4.4 Wirkung der Antidepressiva

Langjährige Forschung nach Aufstellung der Monoaminmangel - Hypothese deckte auch ihre Mängel auf. Hierzu gehört die Entdeckung, dass Antidepressiva, die in das monoaminerge System eingreifen, innerhalb von Stunden zu einer Erhöhung der Neurotransmission führen, wohingegen ihre klinische antidepressive Wirkung erst nach Wochen einsetzt (Wong and Licinio 2001). Dies hat zur Suche nach pharmakologischen Effekten geführt, die verschiedene antidepressive Substanzen gemeinsam haben und in ihrem Zeitverlauf dem Wirkeintritt antidepressiver Substanzen ähneln (Vetulani and Nalepa 2000; Wong and Licinio 2001). Der genaue Wirkmechanismus ist aber trotz jahrzehntelanger Forschung noch unbekannt.

Im Laufe der Untersuchungen konnten Veränderungen sowohl auf extrazellulärer Ebene in Form einer erhöhten bzw. verminderten Rezeptorexpression als auch auf intrazellulärer Ebene in Form einer veränderten Genexpression nachgewiesen werden (Vetulani and Nalepa 2000; Wong and Licinio 2001).

Der verzögerte Wirkungseintritt wird darauf zurückgeführt, dass durch die Erhöhung der Neurotransmitter-Konzentration im synaptischen Spalt intrazellulär die Gentranskription beeinflusst wird (Licinio and Wong 2004). Extrazellulär hat dies einen direkten, jedoch nicht akuten Einfluss auf die Rezeptordichte und deren Sensitivität (Hjorth et al. 2000; Möller 2005).

Neben ihrer Wirkung auf extrazellulärer Ebene beeinflussen Antidepressiva auch intrazelluläre Informationssysteme (Gould and Manji 2002). Nach chronischer Gabe von Antidepressiva kommt es zu einer Veränderung der intrazellulären cAMP-Spiegel mit nachfolgendem Anstieg von cAMP-abhängigen Proteinkinasen (Popoli et al. 2000). Diese

bedingen ihrerseits einen Anstieg des cAMP response element-binding protein (CREB) (Gould and Manji 2002). Duman et al (2000) wiesen nach chronischer Gabe verschiedener Antidepressiva (TZA wie Desipramin und Imipramin; SSRI wie Fluoxetin und Sertralin) im Hippokampus von Ratten eine Hochregulierung der Expression von CREB-mRNA und eine Erhöhung der CREB-Proteinspiegel nach. Bei CREB handelt es sich um einen Transkriptionsfaktor, der Gene aktiviert, die neben anderen Neurotrophinen die Expression des neurotrophischen Proteins BDNF (brain derived neurotrophic factor) kontrollieren (Gould and Manji 2002). BDNF hat Einfluss auf die Differenzierung und das Überleben von Neuronen im adulten Hirn (D'Sa and Duman 2002; Gould and Manji 2002) und wird neben anderen Einflussfaktoren für neuronale Plastizität und eine neuroprotektive Wirkung verantwortlich gemacht (Itoh et al. 2004).

Die Beobachtung, dass Stress auf der einen und Antidepressiva auf der anderen Seite einen gegensätzlichen Einfluss auf die Neurogenese und Neuroplastizität insbesondere im Hippocampus nehmen, führte in den letzten Jahren zu intensiven Untersuchungen dieser Mechanismen (D'Sa and Duman 2002; Duman 2004; Duman et al. 2000; Fuchs et al. 2004).

2.5 Untersuchung von Angst im Tiermodell

2.5.1 Tiermodelle der Angst

In Tiermodellen wird Angst auf Ebene des Verhaltens definiert. Das Verhalten von Tieren in einer bedrohlichen, also potentiell angstauslösenden Situation ist durch Flucht, Abwehr oder Vermeidung gekennzeichnet.

Grundsätzlich müssen zwei Arten von Tiermodellen der Angst unterschieden werden. Zum einen gibt es Tiermodelle, in denen Tiere direkt in einen akuten Angstzustand (state anxiety) versetzt werden, indem sie mit einer angstauslösenden Situation konfrontiert werden. Zum anderen gibt es Tiermodelle, in denen Tiere mit einem gegenüber normalen Tieren gesteigertem angsthähnlichem Verhalten geschaffen werden, deren wesentliches Verhaltensmerkmal also ein gesteigertes angsthähnliches Verhalten ist (trait anxiety) (Belzung 2001; Birbaumer and Schmidt 2003; Rodgers et al. 1997).

Um das Verhalten der Tiere während einer angstauslösenden Situation zu untersuchen (state anxiety), bedient man sich grundsätzlich zweier Strategien. So werden zum einen konditionierte Reaktionen der Versuchstiere zu stressreichen und häufig schmerzhaften Ereignissen (z.B. Elektroschocks) und andererseits natürliche unkonditionierte Reaktionen

der Tiere (z.B. Flucht, Vermeidung oder *freezing* Verhalten) zu Stressoren untersucht (Belzung 2001; Birbaumer and Schmidt 2003; Pinheiro et al. 2007). Die auf diese Weise bei normalen Mäusen erfassten Verhaltensweisen entsprechen dem Angstverhalten gesunder Mäuse. Die mit gesunden Tieren gemessene Angst entspricht der natürlichen Angst, welche bei den Tieren induziert wird (Belzung 2001; Lister 1990). Pathologische Angst hingegen zeichnet sich durch eine gesteigerte bzw. grundlos auftretende Angst aus.

Der *elevated plus maze test* (Lister 1987) ist zu einem der am weitesten verbreiteten Verhaltenstests zur Untersuchung von Angst geworden (Belzung 2001). Dieser Test wurde auch in der Studie von Winter et al. (2005) verwendet. Für den Test werden die Tiere direkt aus ihrem Käfig herausgenommen und in das *elevated plus maze* gesetzt. Dies ist eine erhöht stehende kreuzförmige Testapparatur mit jeweils zwei offenen und zwei geschlossenen Armen. Ängstliche Tiere bevorzugen aufgrund ihrer natürlichen Angst vor Höhe letztere; die Zeit und Zahl der Eintritte in diese wird während des Tests registriert. Rodgers et al. (1997) wiesen daraufhin, dass der Grund für die Verbreitung und Popularität des Tests eher praktischer als theoretischer Natur ist, da dieser Test schnell und einfach durchführbar ist.

Trait anxiety ist analog zur pathologischen Angst ein beständig andauernde Merkmal einer individuellen Persönlichkeit. Im Gegensatz zur *state anxiety*, variiert *trait anxiety* nicht von Augenblick zu Augenblick (Belzung 2001; Lister 1990).

Tiermodelle mit *trait anxiety* bedienen sich zweier Strategien, um Tiere mit einem gesteigerten und damit als pathologisch betrachtetem Angstverhalten zu erzeugen. Zum einen gibt es sogenannte Rezeptor Knockout Strategien, bei denen durch die gezielte Deletion eines bestimmten Genes Tiere mit einem Genotyp erzeugt werden, die ein bestimmtes angsthähnliches Verhalten zeigen, zum anderen werden Versuchstiere bei der Zucht in Hinblick auf ihr angsthähnliches Verhalten selektiert.

In einem Review führt Belzung (2001) an, dass mit Hilfe der Knockout Strategie fast 30 Mäuselinien entstanden sind, die einen Phänotyp mit gesteigertem angsthähnlichem Verhalten zeigen. Während die Rolle vieler durch den Knockout betroffenen Gene in der Ausbildung von emotionalem Verhalten bisher unklar war (MAS Onkogen, Tumor Nekrose Faktor, TNF), spiegeln einige dieser Knockoutmodelle ihre vermutete Rolle in emotionalen Prozessen wieder. Hierzu gehört der 5-HT_{1A} Rezeptor (Gross et al. 2002; Heisler et al. 1998). Aufgrund der Vielzahl von Genen, deren Knock-out zu einem gesteigerten Angstverhalten in Verhaltenstests führte, muss die Bezeichnung der mit einem einzelnen Knockout erschaffenen Tiere als Modell einer echten pathologischen Angst oder auch der *trait anxiety* hinterfragt werden. Dennoch lassen sich mit Hilfe der Knockout Strategien die Rolle einzelner

Rezeptoren für die Entstehung von angstähnlichem Verhalten studieren. Auf die Rolle des serotonergen Systems und des 5-HT_{1A} Rezeptors soll im folgenden Abschnitt eingegangen werden.

Winter et al. (2005) fanden in einem Tiermodell der transienten cerebralen Ischämie bei Mäusen nach einem 30 min Verschluss der linken Arteria cerebri media (IMCAo) bei der Untersuchung im *elevated plus maze test* einen Verhaltensphänotyp mit auffällig gesteigertem angstähnlichem Verhalten vor. Neben der ischämischen Läsion des Striatums konnten die Autoren auch den Zelltod verschiedener Neurone in ipsi- und kontralateralen Regionen des limbischen Systems und der BG nachweisen. Die meisten dieser Regionen stehen in synaptischen Kontakt mit dem ischämischen Striatum, so dass die Schädigung dieser Strukturen durch retrograde und transsynaptische Prozesse bedingt sein könnte (Nakano et al. 1990; Winter et al. 2005). Neben der ischämischen Läsion des Striatums könnten also auch extrafokale Neuronendegenerationen die Neurotransmission und damit auch das Verhalten der Tiere beeinflussen.

IMCAo könnte also eine weitere Methode darstellen, um bei Mäusen ein gesteigertes angstähnliches Verhalten, *trait anxiety* zu erzeugen. Hierbei ist jedoch einschränkend zu sagen, dass weitere Verhaltensteste erforderlich sind, da der *elevated plus maze test* alleine nicht ausreicht, um einen ängstlichen Phänotyp nachzuweisen (Crabbe et al. 1999). Für die Untersuchungen in dieser Studie ist besonders wichtig, dass SSRI bei gesunden Mäusen keine klar anxiolytische Wirkung im *elevated plus maze test* zeigten (Pinheiro et al. 2007).

Wendet man Validitätskriterien nach Willner (1984) auf IMCAo als ein Tiermodell der Angst an, zeigt sich jedoch, dass die Validität dieses Modells hoch ist. Dies gilt sowohl in Hinsicht auf seine *face validity*, unter der Voraussetzung, dass man ein gesteigertes Rückzugsverhalten im *elevated plus maze test* als Zeichen gesteigerter Angst akzeptiert, als auch bzgl. seiner *construct validity*, wenn man eine 30 min IMCAo mit einer ausgeprägten transienten ischämischen Attacke (TIA) gleichsetzt. Das gesteigerte angstähnliche Verhalten der Mäuse im *elevated plus maze test* könnte also einer Angststörung bei Schlaganfallpatienten bzw. einer PSAD entsprechen. Auf seine prädiktive Validität, zum Beispiel durch klinisch wirksame Medikamente, ist dieses Modell bisher noch nicht untersucht worden. Diese Untersuchung auf neurochemischer Ebene ist Grundlage dieser Arbeit (vgl. Kap. 3).

2.5.2 Das serotonerge System in Tiermodellen der Angst

Untersuchungen in Tiermodellen weisen vorrangig darauf hin, dass eine verringerte 5-HT Ausschüttung generell eine Angst mildernde Wirkung zu haben scheint, während Stress und Angst zu einer gesteigerten Ausschüttung von 5-HT im Zentralnervensystem führen (Carvalho et al. 2005; Heisler et al. 1998; Kusserow et al. 2004; Olausson et al. 2001; Rex et al. 2003). Untersuchungen anderer Autoren hierzu erbrachten jedoch gegenteilige Ergebnisse. Ihnen zufolge führte eine Schädigung serotonerger Neurone mit folglichher Verminderung des 5-HT zu einem gesteigerten Angstverhalten (Gurtman et al. 2002; Harro et al. 2001).

Für die unterschiedlichen Ergebnisse in den Tierversuchen sind wahrscheinlich eine Vielzahl von Faktoren verantwortlich, wie die verwendete Spezies, die verabreichte Substanz und die Art des Tests. In Bezug auf die Frage wie die serotonerge Neurotransmission Angstverhalten moduliert, muss außerdem berücksichtigt werden, welche Hirnregion untersucht wird (File et al. 1996; Griebel 1995; Overstreet et al. 2006)

So scheinen verschiedene Teile des serotonergen Systems bei der Modulierung von Angst gegensätzliche Funktionen zu übernehmen. Beispielsweise hemmen serotonerge Projektionen aus dem MR und DR zum zentralen Höhlengrau unkonditionierte Angst, wohingegen serotonerge Projektionen zur Amygdala und zum Frontalcortex konditionierte Angst fördern (Graeff et al. 1997).

Neben der Amygdala und dem Frontalcortex spielen andere limbische Hirnregionen und Teile der BG eine wichtige Rolle. Hierbei sind Hippocampus, das Septum, der Hypothalamus, das zentrale Höhlengrau, weite Teile des Cortex und das Striatum zu nennen (Carvalho et al. 2005; File et al. 1996; Millan 2003; Otano et al. 1999). Um die Rolle von 5-HT bei der Modulierung von Angst besser zu verstehen, müssen also verschiedene Hirnregionen, in die serotonerge Projektionen reichen, berücksichtigt werden.

Zum anderen sind mehrere 5-HT Rezeptorsubtypen an Angstverhalten beteiligt, einige dieser Rezeptoren besitzen eine inverse Wirkung. Insbesondere werden die 5-HT_{1A}, 5-HT_{2A}, 5-HT_{2C}, 5-HT₃ Rezeptoren mit Angst in Verbindung gebracht (Graeff 1997; Julien 1997; Rang et al. 1999). Bei der Kontrolle der serotonergen Neurotransmission sind die 5-HT_{1A} Rezeptoren wesentlich involviert. Gerade in Bezug auf Angst gilt allerdings zu berücksichtigen, dass es zwei unterschiedliche Lokalisationen von 5-HT_{1A} Rezeptoren gibt. Sie existieren zum einen präsynaptisch als somatodendritische Autorezeptoren serotonerger Neurone und sind auf dem Zellkörper und auf den Dendriten der serotonerger Neurone

lokalisiert. 5-HT_{1A} Rezeptoren sind die vorrangigen Autorezeptoren serotonerger Neurone, ihre Aktivierung unterdrückt die serotonerge Neurotransmission im limbischen System (Graeff 1997; Sotelo et al. 1990; Sprouse and Aghajanian 1987).

Zum anderen gibt es postsynaptisch gelegene 5-HT_{1A} Rezeptoren in Gebieten, in die serotonerge Neurone projizieren. Hierzu zählen der cerebrale Cortex, septale Kerne, das Hippocampus und die Amygdala (Pompeiano et al. 1992). File et al. konnten zeigen, dass die Stimulation postsynaptischer 5-HT_{1A} Rezeptoren im dorsalen Hippocampus sowie in der Amygdala angstausslösend wirken können, während die Stimulation präsynaptischer 5-HT_{1A} Autorezeptoren im Bereich der dorsalen Raphe Kerne einen direkt anxiolytischen Effekt hatte (File et al. 1996).

Sowohl Agonisten als auch partielle Agonisten des 5-HT_{1A} Rezeptors bewirkten in Abhängigkeit von der Dosis anxiolytische Wirkungen in Nagetieren, die mit einer Inhibition der serotonergen Transmission und mit einer verminderten Erregung postsynaptischer 5-HT Rezeptoren korrelierte (De Vry 1995).

Heisler et al (1998) wiesen bei 5-HT_{1A} Rezeptor Knockout Mäusen Verhaltensänderungen nach, die auf ein gesteigertes Angstverhalten und gleichzeitig auf einen antidepressiven Effekt bei Wegfall des 5-HT_{1A} Rezeptoren schließen lassen. Umgekehrt konnte ein vermindertes angstähnliches Verhalten bei genetisch veränderten Mäusen mit überexprimiertem 5-HT_{1A} Rezeptor nachgewiesen werden (Kusserow et al. 2004).

Hierzu passend wiesen Winter et al. (Winter et al. 2005) darauf hin, dass die Zeit der IMCAo Mäuse in den offenen Armen des *elevated plus maze* negativ mit den 5-HIAA Konzentrationen in den untersuchten Hirnregionen korrelierte.

Miyata et al. (2007) konnten zeigen, dass 5-HT im angstähnlichen Verhalten von Mäusen im *elevated open platform test* involviert ist und die anxiolytische Wirkung des Citalopram wiederum über 5-HT_{1A} Rezeptoren vermittelt wird.

In Übereinstimmung mit diesen tierexperimentellen Befunden konnten bei Patienten mit GAD Veränderungen im serotonergen System nachgewiesen werden. So konnten bei an GAD erkrankten Patienten im Vergleich zu Gesunden verminderte 5-HT Spiegel im Liquor nachgewiesen werden (Nutt 2001) und bestimmte Polymorphismen des 5-HT_{1A} Rezeptors mit angst- und depressionsrelevanten Persönlichkeitszügen in Verbindung gebracht werden (Strobel et al. 2003).

2.5.3 Wirkung von SSRI bei GAD

Ähnlich wie die Rolle von 5-HT bei der Entstehung von Angst nicht vollständig geklärt ist, ist auch die anxiolytische Wirkung der SSRI nicht gänzlich verstanden. So gibt es zwei Theorien, welche die anxiolytische Wirkung der SSRI durch die Beeinflussung serotonerger Neurone bei GAD zu erklären versuchen (Nutt 2001). Die erste Theorie geht von einer gesteigerten 5-HT Ausschüttung oder supersensitiven postsynaptischen 5-HT Rezeptoren aus, so dass 5-HT anxiogen wirkt. Diese Theorie würde die anfängliche Verschlechterung der Symptome bei Therapiebeginn durch erhöhte Serotoninspiegel in der Synapse als Folge der Wiederaufnahmehemmung erklären (Nutt 2001). Diese Vorstellung steht auch im Einklang mit dem verstärkten angstähnlichen Verhalten bei 5-HT_{1A} Rezeptorknockout Mäusen, deren Verhalten durch eine gesteigerte 5-HT Ausschüttung (infolge einer fehlenden Inhibition durch die Autorezeptoren) erklärt wurde (Heisler et al. 1998). In der zweiten Theorie wird vermutet, dass 5-HT in bestimmten Hirnregionen einen anxiolytischen Effekt besitzt und dementsprechend ein 5-HT Mangel anxiogen wirkt. Die anfängliche Verschlechterung der Symptome erfolgt dieser Theorie zufolge durch die Inhibition der serotonergen Transmission aufgrund der 5-HT-Autorezeptorstimulation. Die Desensitivierung der 5-HT_{1A} Autorezeptoren nach langfristiger Behandlung führt zu einer gesteigerten 5-HT Freisetzung damit zur anxiolytischen Wirkung (Bezchlibnyk-Butler et al. 2000; Nutt 2001).

3 Fragestellung dieser Arbeit

Neuropsychiatrische Folgeerkrankungen werden bei Schlaganfallpatienten, insbesondere mit Läsionen in den BG, häufig beobachtet (Beblo et al. 1999). In klinischen Studien wird von einer hohen Prävalenz von 9-27% von Angststörungen unter Schlaganfallpatienten berichtet (Astrom 1996; Burvill et al. 1995a; Castillo et al. 1993; Leppavuori et al. 2003; Robinson 1997).

Winter et al. (Winter et al. 2005) beschrieben in einem Modell transienter fokaler Ischämie in der Maus (30 min IMCAo) mit nachfolgender Reperfusion (Endres et al. 1998) einen ängstlichen Phänotyp im *elevated plus maze test*.

Verschiedene Teile des serotonergen Systems übernehmen bei der Modulierung von Angst gegensätzliche Funktionen (Graeff et al. 1997). Aus diesem Grunde müssen verschiedene Hirnregionen, welche durch serotonerge Neurone innerviert werden und bei der Entstehung von Angst eine Rolle spielen, untersucht werden. Neben dem serotonergen System spielen auch das dopaminerge und das noradrenerge bei der Entstehung von Angst eine Rolle. Von Bedeutung ist auch die Interaktion von serotonergen, dopaminergen und noradrenergen Neuronen. Sie projizieren aus ihren Kerngebieten in limbische und zahlreiche andere Hirnregionen, welche mit der Entstehung der Emotion Angst in Verbindung gebracht werden (Alex and Pehek 2007; Gorman et al. 2002). Hierzu zählen Striatum, Hippocampus, Hypothalamus, Amygdala, Frontalcortex und Parietalcortex.

Citalopram ist das auf das serotonerge System am selektivsten wirkende SSRI (Hyttel 1994; Keller 2000). Außerdem ist klinisch seine Wirksamkeit bei praktisch allen Angsterkrankungen nachgewiesen (Bouwer and Stein 1998; Koponen et al. 1997; Lenze et al. 2005; Lepola et al. 1998; Stein et al. 2001; Varia and Rauscher 2002; Wade et al. 1997) und seine anxiolytische Wirksamkeit ist ebenfalls in Verhaltensexperimenten mit Mäusen nachweisbar (Miyata et al. 2007).

Es besteht die Hypothese, dass der ängstliche Phänotyp bei Mäusen nach IMCAo einer Angststörung nach dem Schlaganfall entspricht bzw. ein Tiermodell einer pathologischen Angst sein könnte und Citalopram als geeignetes Mittel zur Behandlung eingesetzt werden könnte. Ein wichtiger Schritt zur Klärung dieser Hypothese ist die Untersuchung der Wirkung von IMCAo auf die in der Angstentstehung involvierten Neurotransmittersysteme sowie des Einflusses von Citalopram auf die durch IMCAo verursachten Veränderungen. Um zu dieser Klärung beizutragen, wird in der vorliegenden Arbeit der Gehalt der Neurotransmitter 5-HT und des Metaboliten 5-HIAA in den genannten Regionen mittels High Performance Liquid

Chromatography (HPLC) bestimmt. Wegen ihrer engen Beziehung zum serotonergen System werden zudem die beiden anderen monoaminergen Neurotransmitter NA und DA, sowie die DA- Metabolite DOPAC und HVA gemessen. Ziel der Arbeit ist es, folgende Fragen zu beantworten:

1. Welchen Einfluss nimmt Citalopram auf die serotonergen, noradrenerge und dopaminerge Neurotransmission bei gesunden Tieren?
2. Unterscheidet sich die Wirkung von Citalopram auf monoaminerge Systeme bei gesunden Tieren von Tieren mit ängstlichem Phänotyp nach IMCAo?
3. Wie beeinflusst Citalopram die durch IMCAo ausgelösten Veränderungen der untersuchten Neurotransmitter?

4 Material und Methoden

4.1 Versuchsaufbau

Alle Tierexperimente wurden unter Einhaltung der gesetzlichen Tierschutzrichtlinien durchgeführt und sind im Tierversuchsvorhaben G0238/05 vom Berliner Landesamt für Gesundheit und Soziales (LAGeSo) genehmigt worden.

Vierzig 129/SV Wildtyp Mäuse (ca. 6 Wochen, 20-25g) wurden einer 30 minütigen IMCAo oder einer Schein Operation (*sham*) unterzogen wie bei Endres et al (Endres et al. 1998) beschrieben. Sieben Tage später wurden die beiden Gruppen in jeweils zwei weitere Gruppen unterteilt und mit Citalopram oder NaCl behandelt (tägliche intraperitoneale Injektion von Citalopram (13 mg/kg), gelöst in NaCl (10 ml/kg) oder als Kontrolle tägliche Injektion von 10ml/kg NaCl). Dementsprechend wurden vier Gruppen von Versuchstieren untersucht (Tab 2). Für die Operation und Behandlung der Tiere bedanke ich mich herzlich bei der Arbeitsgruppe Endres, insbesondere bei M. Balkaya.

	Medikament / Placebo	Operation	Anzahl der Tiere pro Gruppe
Gruppe 1	NaCl	<i>sham</i>	11
Gruppe 2	NaCl	IMCAo	10
Gruppe 3	Citalopram	<i>sham</i>	9
Gruppe 4	Citalopram	IMCAo	10

Tab. 2: Gruppeneinteilung der Versuchstiere. Die IMCAo oder sham operierten Tiere wurden nach 5 Tagen mit Citalopram oder zum Vergleich mit NaCl behandelt.

Diese Behandlung der Tiergruppen wurde 8 bis 10 Wochen durchgeführt. Danach wurden die Tiere enthauptet und die Gehirne direkt auf Trockeneis eingefroren. Die Präparation der untersuchten Hirnregionen (Striatum, Hippocampus, Hypothalamus, Amygdala / Piriformcortex, Frontalcortex und Parietalcortex) gemäß (Paxinos and Franklin 2001) wurde freundlicher Weise durch Frau Prof. Dr. Hörtnagl vorgenommen. Die Untersuchung erfolgte auf einer Kälteplatte (- 16°C). Die Regionen der linken und rechten Hemisphäre wurden jeweils getrennt präpariert.

4.2 High Pressure Liquid Chromatographie (HPLC)

Der Gehalt der Neurotransmitter 5-HT, NA, und DA in den untersuchten Hirnregionen wurde mit Hilfe der HPLC mit anschließender elektrochemischer Detektion durchgeführt. Um Hinweise auf die Aktivität serotonerger und dopaminerger Zellen zu erhalten, wurde außerdem der Gehalt des 5-HT- Metabolits 5-HIAA und der DA –Metaboliten DOPAC und HVA bestimmt.

Die HPLC-Analyse setzt sich aus zwei Schritten zusammen, der Chromatographie und der quantitativen Messung der Substanzen mittels elektrochemischer Detektion.

Beim ersten Schritt, der HPLC, handelt es sich um ein Trennverfahren, in dem die Probenflüssigkeit mittels einer flüssigen Phase (Eluent) unter hohem Druck über die stationäre Phase (Trennsäule) transportiert wird. Je nach Wechselwirkung zwischen stationärer und mobiler Phase unterscheidet man in der Flüssigkeitschromatographie folgende Trennmechanismen: Adsorptions-, Verteilungs-, Ionenaustausch-, Ausschluss- und Affinitätschromatographie. Hauptsächlich findet die Adsorptions-, und Verteilungschromatographie bei der HPLC Anwendung.

Die Verweildauer (Retentionszeit) der Moleküle in der stationären Phase ist aufgrund der unterschiedlich starken Wechselwirkung mit der Oberfläche der stationären Phase unterschiedlich lang. So werden in der Probe enthaltene Substanzen voneinander getrennt.

Mittels Standardlösungen (externer Standard), welche die zu bestimmenden Neurotransmitter enthielten, wurden die Retentionszeiten der in der Probe zu erwartenden Substanzen bestimmt, um sie auf diese Weise klar zuordnen zu können.

Im zweiten Schritt wurde die Konzentration der getrennten Substanzen mit Hilfe eines Detektors bestimmt. Der in dieser Arbeit benutzte elektrochemische Detektor erfasste die Änderung des über einer Durchflusszelle in Form einer Karbon-Glas Elektrode angelegten Stromflusses, welche durch Oxidation und Reduktion der zu messenden Substanzen verursacht wurde. Da die Änderung des Stromflusses zur Menge der oxidierten und reduzierten Substanzen proportional ist, kann die quantitative Bestimmung der Substanzen ebenfalls mit Hilfe von Standardlösungen erfolgen, die die zu bestimmenden Substanzen in genau definierter Menge beinhalten (Schwedt 1996).

Bei den Gehaltsbestimmungen der Katecholamine wurde den Proben zusätzlich ein interner Standard (IS) hinzugegeben. Der IS ist eine den Katecholaminen chemisch ähnliche Substanz, welche während der Vorbereitung der Proben die gleichen Schritte durchläuft wie die

Katecholamine. Um während der Probenvorbereitung der Katecholamine aufgetretene Verluste auszugleichen, wurde dann die Konzentration der Probenbestandteile in Relation zum IS gesetzt (Recovery).

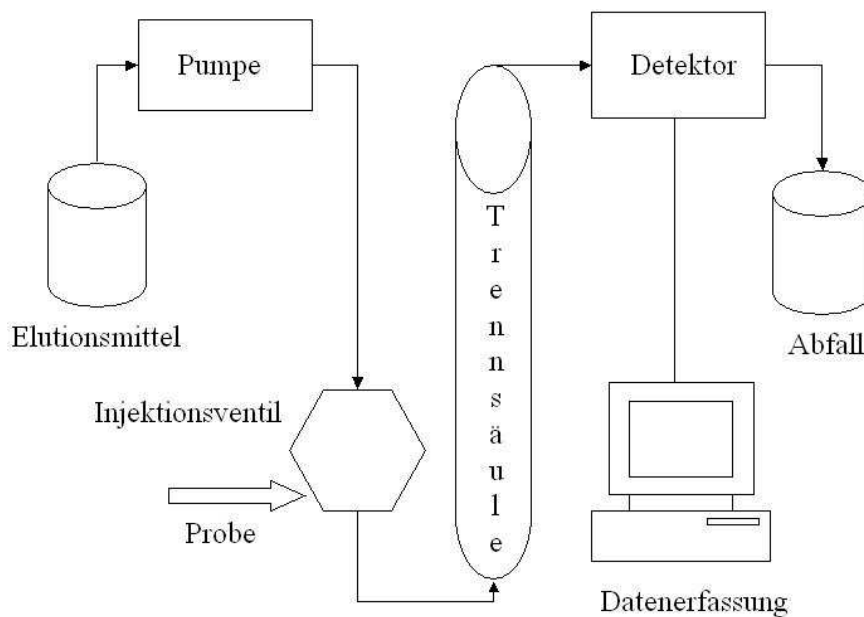


Abb.1 schematische Abbildung einer HPLC - Anlage

Die vier Hauptbestandteile des HPLC-Gerät sind die Pumpe, das Einspritzsystem, die Trennsäule und der Detektor mit Auswertesystem. Da die in der Trennsäule befindlichen Trennpartikel mit einer Größe von 3 bis 10 μm sehr klein sind, können hohe Trennstufen erreicht werden, die aber gleichzeitig die Überwindung eines hohen Gegendrucks bei der Beförderung der flüssigen Phase und der Probe durch die Trennsäule erfordern. Alle Teile der Anlage müssen deswegen möglichst ohne Totraumvolumen miteinander verbunden und druckstabil sein. Der Druck im System muss außerdem konstant sein, da sich sonst die Retentionszeiten der gemessenen Substanzen ändern.

Die Injektion der Probe in das System erfolgt mit einem Vier-Wege-Ventil. Die Probe kann so zunächst drucklos in eine Probenschleife eingegeben werden. Nach Umschalten des Ventils wird die flüssige Phase durch die Probenschleife gepumpt, so dass die Probe zur Trennsäule gelangt. Da auch die Temperatur die Durchflussgeschwindigkeit beeinflusst, wurde die Säule während der Messungen zusätzlich mit Hilfe eines Thermostats thermostabilisiert (Schwedt 1996).

Die Ergebnisse der einzelnen Messungen werden in Form eines Chromatogramms, einer Elutionskurve dargestellt. Sie stellt die Abhängigkeit der Konzentration der in der

Probenflüssigkeit enthaltenden Transmitter von der Zeit dar. Die Fläche unter den einzelnen Peaks entspricht der in der Probe enthaltenen Konzentration des entsprechenden Transmitters.

Abb. 2 A

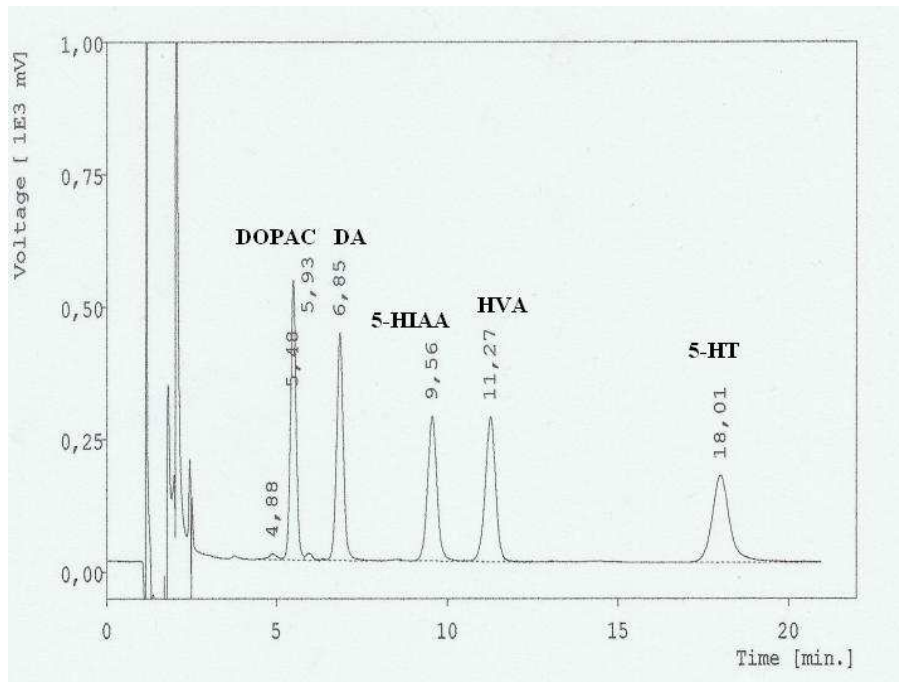


Abb. 2 B

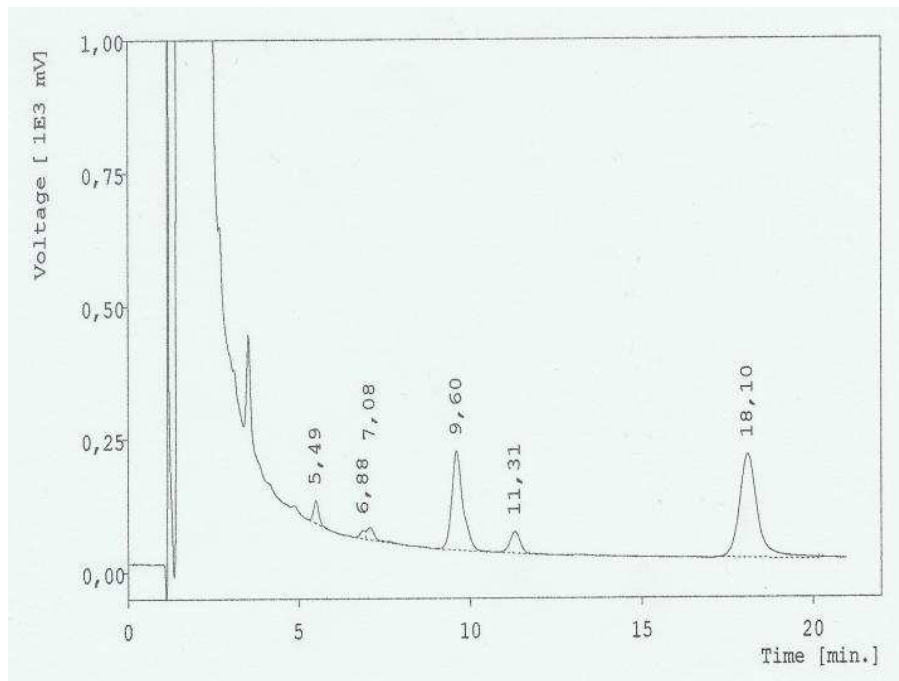


Abb.2 (A) Chromatogramm von 50µl 10⁻⁷ molarer Standardlösung, (B) Chromatogramm von 50µl Probenflüssigkeit aus dem linken Parietalcortex

Die Konzentration der Transmitter konnte durch die Relation der gemessenen Peakflächen der Proben mit den Peakflächen der Standards mit bekannter Transmitterkonzentration bestimmt

werden. Unter Berücksichtigung des Gewichts der Probe konnte anschließend der Gehalt eines Transmitters pro mg Feuchtgewicht der berechnet werden.

4.3 Vorbereitung der Proben

Zur notwendigen Vorbereitung der Proben für die HPLC Analyse wurde das Gewebe gewogen und in 300 µl destilliertem H₂O (4°C) mittels Ultraschall homogenisiert, um Zellmembranen aufzubrechen. Ein Aliquot (150µl) des Homogenats wurde mit 150µl von 0.2 molarer Perchlorsäure versetzt und 20 min lang bei 20.000 g und 4°C zentrifugiert, um die Reste der Zellmembranen und andere Eiweißbestandteile der Proben vom Überstand zu trennen. Dieser Überstand wird anschließend als Probenflüssigkeit in den HPLC-Apparat eingespritzt. 200µl des Überstandes wurden für die Bestimmung des NA und DA abgenommen, eingefroren und bis zur Bestimmung bei -80°C aufbewahrt. Der verbleibende Überstand wurde direkt für die Bestimmung von 5-HT, 5-HIAA, DOPAC und HVA eingesetzt.

4.4 Messung der Gehalte von 5-HT, 5-HIAA, DOPAC und HVA

Zur Bestimmung von 5-HT, des DOPAC, der 5-HIAA und HVA wurden 50µl des Überstandes per Hand in das Injektionsventil (RH 7725, Rheodyne, Cotati, USA) in ein HPLC System mit einer Säule (ProntoSil 120 C18 SH, 5µl, 150mm * 3mm, VDS Optilab, Germany) und einer Carbon-Glas-Elektrode als elektrochemischen Detektor eingespritzt. Die angelegte Spannung betrug 0.8V. Das Laufmittel bestand aus 100mM Natrium-dihydrogenphosphat, 0.8mM Ethylendiamintetraessigsäure (EDTA), 1.3 mM 1-Octansulfonsäure und Phosphorsäure, mit deren Hilfe der pH = 3.9 der mobilen Phase eingestellt wurde. Die Flussrate betrug 500µl/min. Die Chromatogramme wurden mit einem Datensystem (CSW 1.7, Data Apex Ltd., Tschechien) aufgezeichnet.

4.5 Messung der Gehalte von DA und NA

4.5.1 Extraktionsverfahren

Zur Bestimmung von NA und DA wurden 200µl des Überstandes mit 20µl einer 10⁻⁷ M 2.3-Dihydroxybenzylamin - Lösung in H₂O als IS versetzt. Anschließend wurde 1ml einer Aluminiumoxidsuspension (1% Aluminiumoxid in 1M Tris/HCl pH: 8.6) zugesetzt. Nach

dem Vortexen der Proben wurden diese für 10 min im Kühlschrank bei 4°C geschüttelt und anschließend für 1,30 min zentrifugiert. Der Überstand wurde anschließend abgesaugt und das Pellet mit 1ml Bidest gewaschen und anschließend direkt auf die gleiche Weise zentrifugiert. Der Überstand wurde wieder abgesaugt. Anschließend wurden die gewaschenen Pellets mit 200µl von 0.1 M Perchlorsäure versetzt, gevortext und anschließend wieder für 10 min bei 4°C geschüttelt. Zuletzt wurden die Proben ein drittes Mal auf gleiche Weise zentrifugiert und der Überstand als Probenflüssigkeit verwandt.

4.5.2 HPLC zur NA und DA Bestimmung

Zur Bestimmung von NA und DA wurden 50µl des Überstandes, der aus dem Extraktionsverfahren gewonnenen Probe in ein HPLC System gleichen Aufbaus wie unter 4.2 beschrieben eingespritzt. Das Laufmittel setzte sich zusammen aus 100mM Phosphorsäure, 0.1 mM EDTA, 0,5mM Octansulfonsäure sowie 5% Methanol. Mit NaOH wurde ein pH = 5 eingestellt. Die Flußrate betrug 800µl/ min und Spannung in der Meßzelle des Detektors 0,8V. Die Aufzeichnung der Chromatogramme erfolgt wie unter 4.4 beschrieben. Zur Berechnung der Gehalte musste aufgrund des Extraktionsverfahrens die Recovery des IS, welche im Durchschnitt ca. 80% betrug, berücksichtigt werden.

4.6 Statistische Auswertung:

Die Daten sind als Mittelwerte \pm SEM (standard error of the means, Standardfehler des Mittelwertes) angegeben. Vergleiche der Gruppen wurden durch two-way analysis of variance (ANOVA) und anschließendem Tukey-Test berechnet. Ein p Wert < 0.05 wurde als statistisch signifikant betrachtet.

5 Ergebnisse

Der Gehalt der Monoamine (5-HT, NA, und DA) und deren Metabolite (5-HIAA, DOPAC und HVA) wurde in den Regionen Striatum, Hippocampus, Hypothalamus, Frontalcortex, Parietalcortex und Piriformcortex /Amygdala jeweils in der rechten und linken Hemisphäre bestimmt. Im Nachfolgenden werden die Ergebnisse der Gehaltsbestimmungen für die einzelnen Transmittersysteme getrennt dargestellt. Die Wirkungen von IMCAo, Citalopram und von Citalopram nach IMCAo auf die Gehalte der Neurotransmitter werden im jeweiligen Abschnitt beschrieben.

5.1 Serotonerges System

5.1.1 5-HT Gehalte

Acht bis 10 Wochen nach IMCAo konnten bei den mit NaCl behandelten Tieren signifikante Änderungen der 5-HT Gehalte im Vergleich zu den *sham* operierten Tieren nachgewiesen werden. Im linken Striatum war der 5-HT Gehalt nach IMCAo signifikant erhöht ($p < 0,05$), wohingegen der 5-HT Gehalt im linken Parietalcortex erniedrigt war ($p < 0,05$; Abb. 3 und 4). In den übrigen Regionen beider Hemisphären mit Ausnahme des rechten Parietalcortex waren die 5-HT Gehalte nach IMCAo in der Tendenz erhöht, wenngleich die Werte für die einzelnen Regionen nicht signifikant waren (Abb. 3 und 4).

Die tägliche Behandlung über 8 bis 10 Wochen der *sham* operierten Tiere mit Citalopram führte in allen Hirnregionen mit Ausnahme des Parietalcortex zu tendenziell erhöhten 5-HT Gehalten gegenüber den NaCl / sham Tieren. Signifikant nachgewiesen werden konnte dies jedoch nur im linken und rechten Striatum (links und rechts $p < 0,05$) sowie im rechten Hippocampus ($p < 0,05$; Abb. 3). Im Parietalcortex war der 5-HT Gehalt nach Gabe von Citalopram hingegen vermindert, linksseitig signifikant ($p < 0,05$; Abb. 4).

Abb. 3a: 5-HT linke Hemisphäre

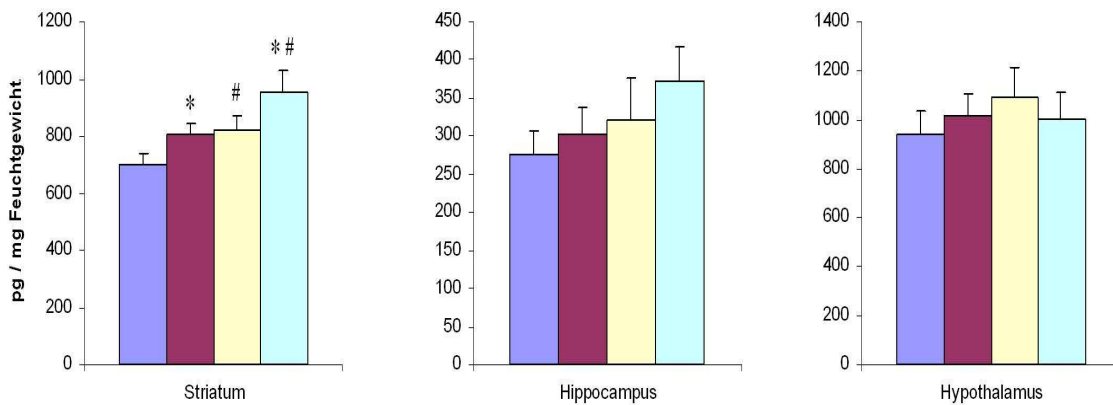


Abb. 3b: 5-HT rechte Hemisphäre

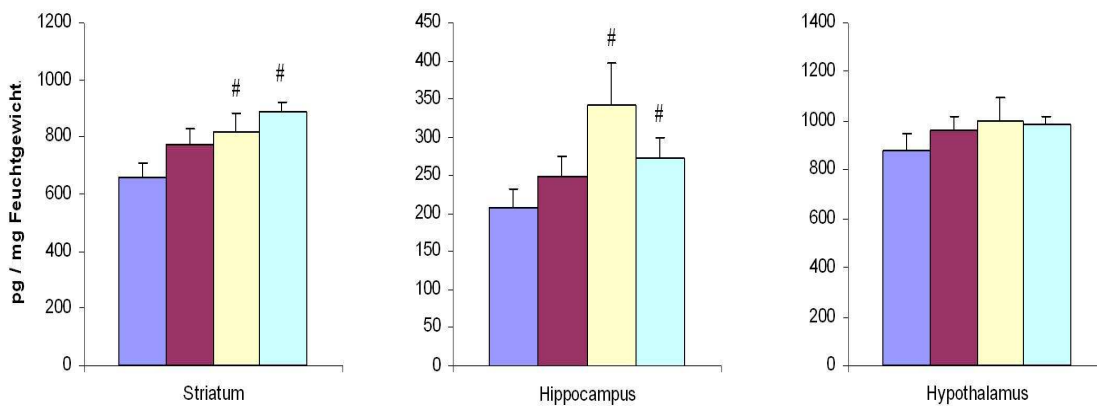


Abb. 3: Konzentrationen von 5-HT im Striatum, Hippocampus und Hypothalamus in der linken (Abb. 3a) und rechten (Abb. 3b) Hemisphäre 10 Wochen nach 30 min IMCAo und Reperfusion oder sham Operation und anschließender Behandlung mit Citalopram oder NaCl bei 129/SV Mäusen. Daten sind als Mittelwerte \pm SEM von 9 bis 11 Tieren / Gruppe angegeben. # : $p < 0,05$ Citalopram versus NaCl, *: $p < 0,05$ IMCAo versus sham. Vergleiche der Gruppen wurden durch two-way analysis of variance (ANOVA) und anschließendem Tukey- Test berechnet. ■ NaCl / sham, ■ NaCl / IMCAo, ■ Citalopram / sham, ■ Citalopram / IMCAo

Die Wirkung von Citalopram auf die 5-HT Gehalte bei den IMCAo Tieren unterschied sich nicht signifikant von der Wirkung bei sham operierten Tieren (Abb. 3 und 4). Wie bei den sham operierten bewirkte Citalopram auch bei den IMCAo Tieren in den subcorticalen Regionen eine Erhöhung des 5-HT Gehaltes beidseitig im Striatum ($p < 0,05$) und einseitig im rechten Hippocampus ($p < 0,05$) sowie eine einseitige Erniedrigung im linken Parietalcortex ($p < 0,05$; Abb. 3 und 4).

Abb. 4a: 5-HT linke Hemisphäre

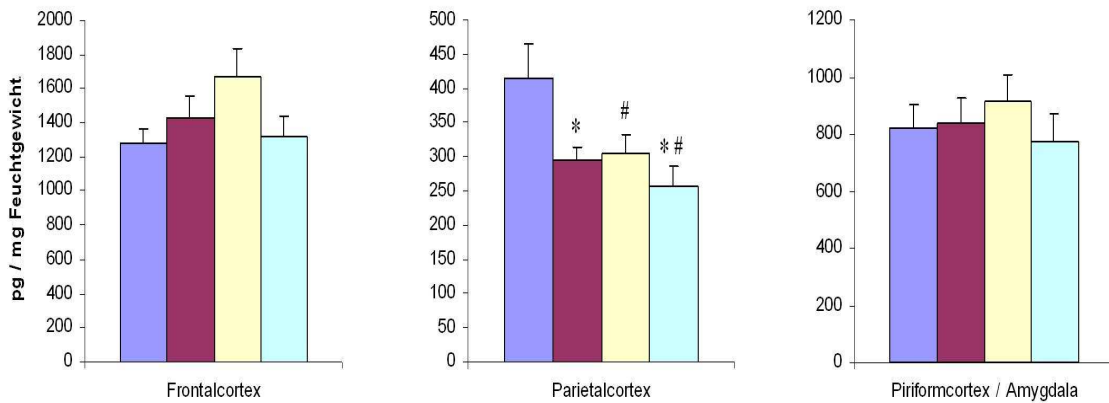


Abb. 4b: 5-HT rechte Hemisphäre

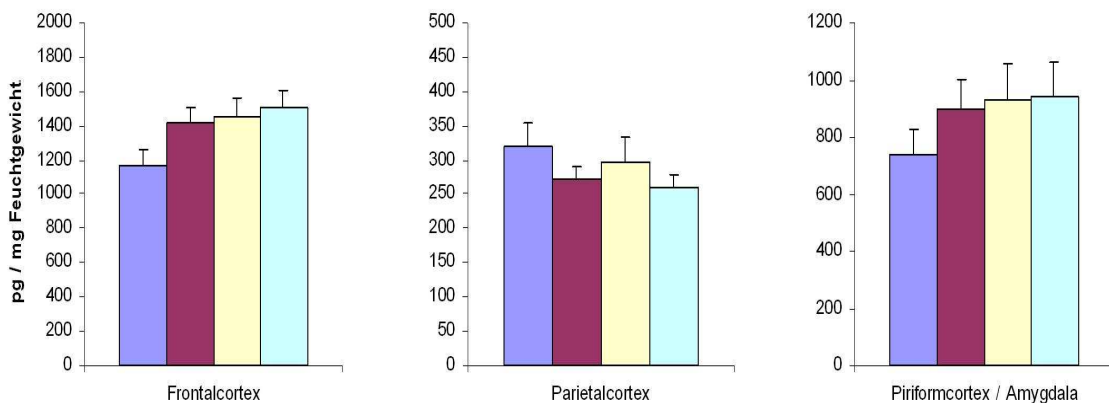


Abb. 4: Konzentrationen von 5-HT im Frontalcortex, Parietalcortex und Piriformcortex / Amygdala in der linken (Abb. 4a) und rechten (Abb. 4b) Hemisphäre 10 Wochen nach 30 min IMCAo und Reperfusion oder sham Operation und anschließender Behandlung mit Citalopram oder NaCl bei 129/SV Mäusen. Daten sind als Mittelwerte \pm SEM von 9 bis 11 Tieren / Gruppe angegeben. #: $p < 0,05$ Citalopram versus NaCl, *: $p < 0,05$ IMCAo versus sham. Vergleiche der Gruppen wurden durch two-way analysis of variance (ANOVA) und anschließendem Tukey- Test berechnet. ■ NaCl / sham, ■ NaCl / IMCAo, ■ Citalopram / sham, ■ Citalopram / IMCAo

5.1.2 5-HIAA Gehalte

Im Gegensatz zu den 5-HT Gehalten konnte durch den Vergleich von mit NaCl / sham und NaCl / IMCAo Mäusen in keiner der untersuchten Hirnregionen eine signifikante Wirkung von IMCAo auf den Gehalt des 5-HT Metaboliten 5-HIAA nachgewiesen werden (Abb. 5 und 6). Bei sham Mäusen hingegen bewirkte die chronische Behandlung mit Citalopram im Vergleich zu NaCl eine signifikante Reduktion der 5-HIAA Spiegel im Striatum (links und rechts $p < 0,001$), Hippocampus (links und rechts $p < 0,001$), Hypothalamus (links und rechts $p < 0,01$). Auch in den corticalen Regionen zeigte sich ein Trend zu verminderten der 5-HIAA

Abb. 5a: 5-HIAA linke Hemisphäre

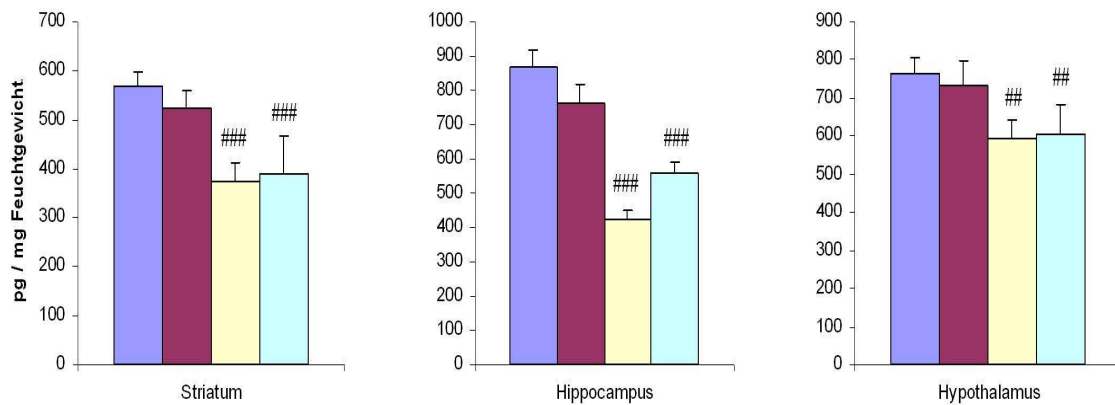


Abb. 5b: 5-HIAA rechte Hemisphäre

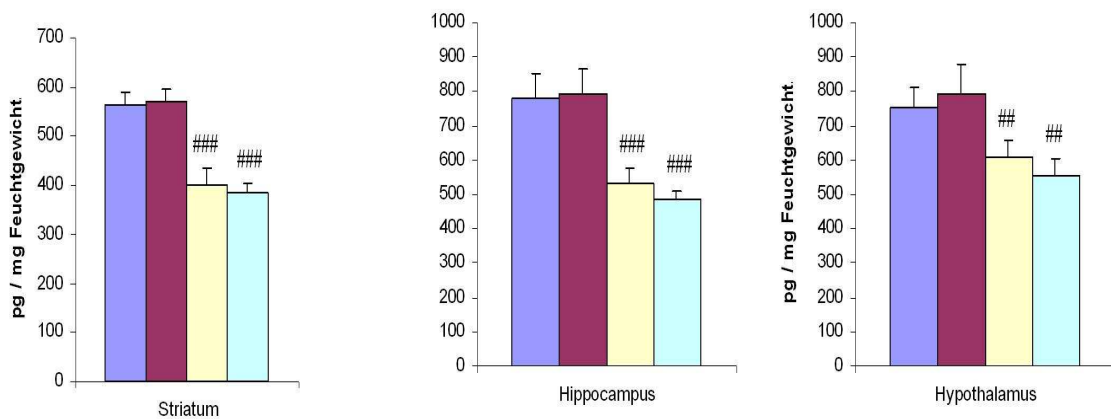


Abb. 5: Konzentrationen von 5-HIAA im Striatum, Hippocampus und Hypothalamus in der linken (Abb. 5a) und rechten (Abb. 5b) Hemisphäre 10 Wochen nach 30 min IMCAo und Reperfusion oder sham Operation und anschließender Behandlung mit Citalopram oder NaCl bei 129/SV Mäusen. Daten sind als Mittelwerte \pm SEM von 9 bis 11 Tieren / Gruppe angegeben. ##: $p < 0,01$; ###: $p < 0,001$ Citalopram versus NaCl, Vergleiche der Gruppen wurden durch two-way analysis of variance (ANOVA) und anschließendem Tukey- Test berechnet. ■ NaCl / sham, ■ NaCl / IMCAo, ■ Citalopram / sham, ■ Citalopram / IMCAo

Gehalten, aber lediglich im linken Frontalcortex ($p < 0,05$) war dies signifikant. Im Vergleich von mit NaCl und Citalopram behandelten IMCAo Tieren zeigten die Citalopram / IMCAo Tiere die gleichen Verminderungen der 5-HIAA Spiegel wie Citalopram / sham Tiere. Ob die Tiere vor der Behandlung mit Citalopram einer IMCAo oder einer sham Operation unterzogen wurden, wirkte sich dementsprechend nicht nachweisbar auf 5-HIAA Gehalte aus (Abb.5 und 6).

Abb. 6a: 5-HIAA linke Hemisphäre

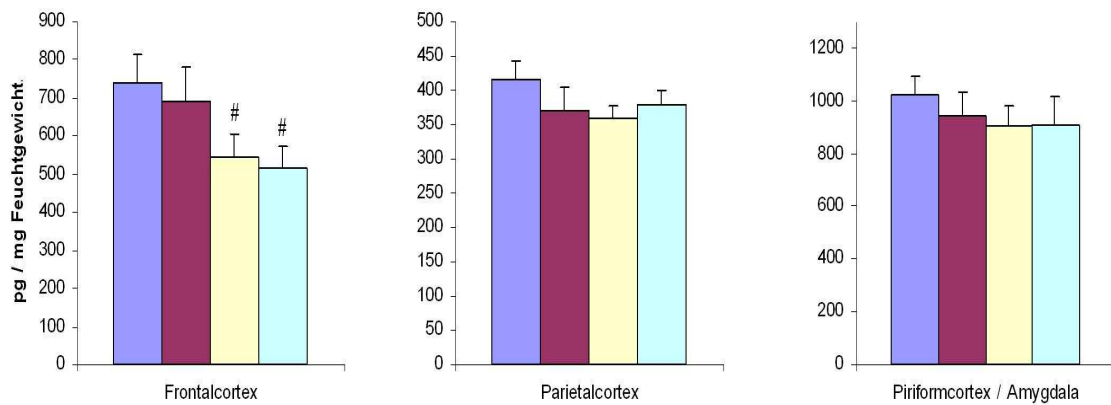


Abb. 6b: 5-HIAA rechte Hemisphäre

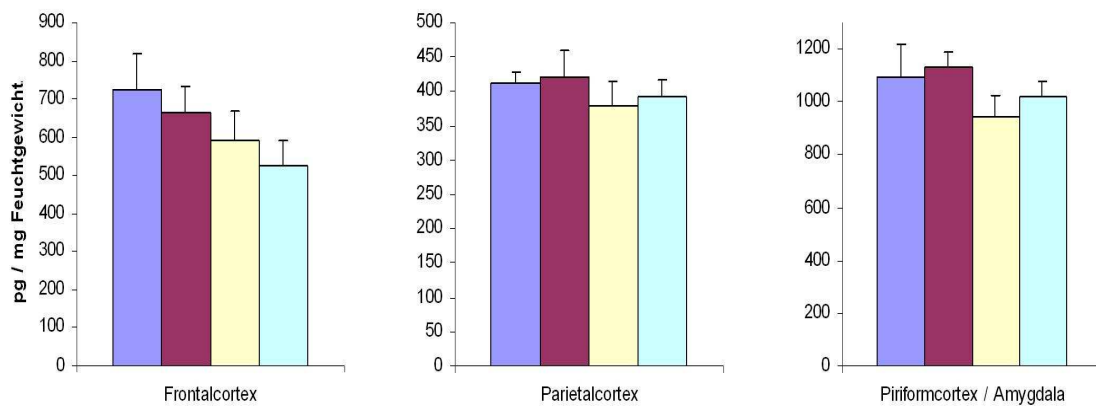


Abb. 6: Konzentrationen von 5-HIAA im Frontalcortex, Parietalcortex und Piriformcortex / Amygdala in der linken (Abb. 6a) und rechten (Abb. 6b) Hemisphäre 10 Wochen nach 30 min IMCAo und Reperfusion oder sham Operation und anschließender Behandlung mit Citalopram oder NaCl bei 129/SV Mäusen. Daten sind als Mittelwerte \pm SEM von 9 bis 11 Tieren / Gruppe angegeben. #: $p < 0,05$ Citalopram versus NaCl. Vergleiche der Gruppen wurden durch two-way analysis of variance (ANOVA) und anschließendem Tukey- Test berechnet.
■ NaCl / sham, ■ NaCl / IMCAo, ■ Citalopram / sham, ■ Citalopram / IMCAo

Abb. 7a: 5-HIAA / 5-HT linke Hemisphäre

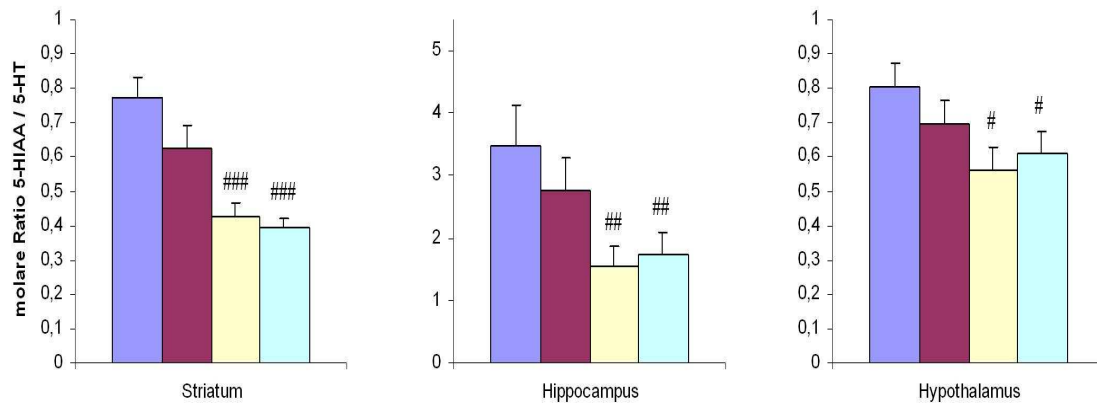


Abb. 7b: 5-HIAA / 5-HT rechte Hemisphäre

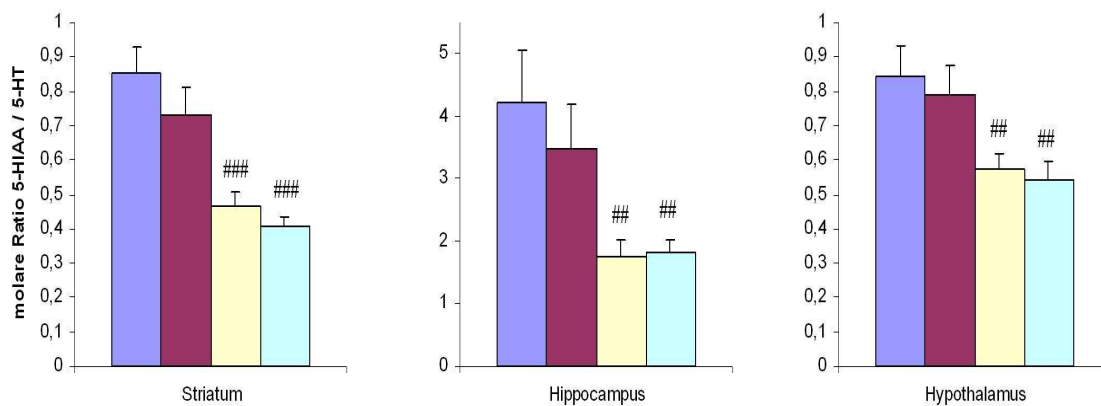


Abb. 7: Molare 5-HIAA / 5-HT Ratio im Striatum, Hippocampus und Hypothalamus in der linken (Abb. 7a) und rechten (Abb. 7b) Hemisphäre 10 Wochen nach 30 min IMCAo und Reperfusion oder sham Operation und anschließender Behandlung mit Citalopram oder NaCl bei 129/SV Mäusen. Daten sind als Mittelwerte \pm SEM von 9 bis 11 Tieren / Gruppe angegeben. #: $p < 0,05$; ##: $p < 0,01$; ###: $p < 0,001$ Citalopram versus NaCl, Vergleiche der Gruppen wurden durch two-way analysis of variance (ANOVA) und anschließendem Tukey- Test berechnet. ■ NaCl / sham, ■ NaCl / IMCAo, ■ Citalopram / sham, ■ Citalopram / IMCAo

5.1.3 5-HIAA / 5-HT Ratio

Die Berechnung des molaren Verhältnisses zwischen 5-HIAA und 5-HT aus den unter 5.1.1 und 5.1.2 beschriebenen Werten weist auf den Umfang der Metabolisierung von 5-HT hin (Abb. 7 und 8). Bei NaCl behandelten Tieren zeigte IMCAo gegenüber *sham* keine signifikant nachweisbare Wirkung auf die molare 5-HIAA / 5-HT Ratio.

Citalopram bewirkte sowohl bei den sham operierten Tieren als auch bei den IMCAo Tieren eine ausgeprägte Verminderung der molaren 5-HIAA / 5-HT Ratio in den subcorticalen Regionen der rechten und linken Hemisphäre, Striatum (links und rechts $p < 0,001$),

Abb. 8a: 5-HIAA / 5-HT linke Hemisphäre

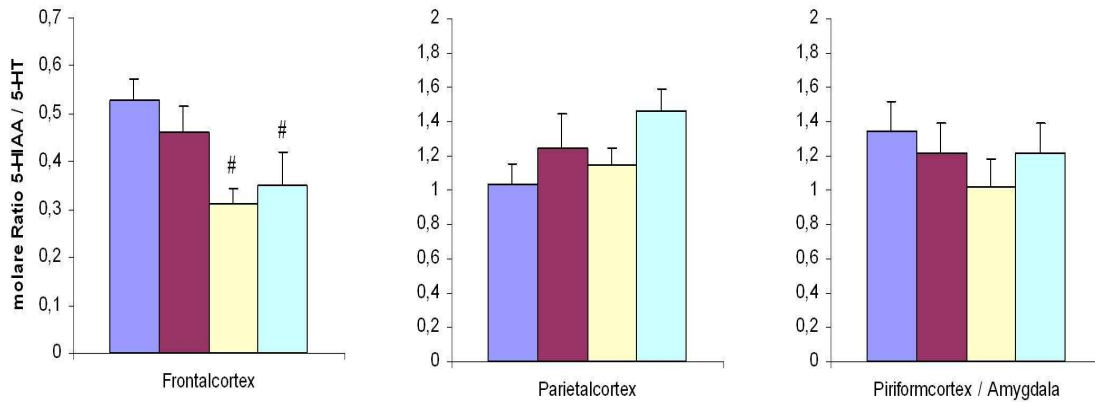


Abb. 8b: 5-HIAA / 5-HT rechte Hemisphäre

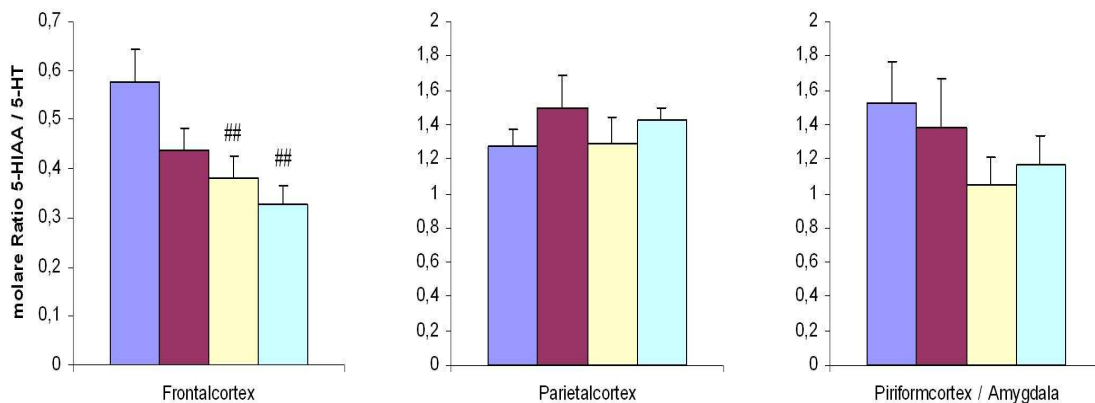


Abb.8 : Molare 5-HIAA / 5-HT Ratio im Frontalcortex, Parietalcortex und Piriformcortex / Amygdala n der linken (Abb. 6a) und rechten (Abb. 6b) Hemisphäre 10 Wochen nach 30 min IMCAo und Reperfusion oder sham Operation und anschließender Behandlung mit Citalopram oder NaCl bei 129/SV Mäusen. Daten sind als Mittelwerte \pm SEM von 9 bis 11 Tieren / Gruppe angegeben. #: $p < 0,05$; ##: $p < 0,01$ Citalopram versus NaCl, Vergleiche der Gruppen wurden durch two-way analysis of variance (ANOVA) und anschließendem Tukey- Test berechnet. ■ NaCl / sham, ■ NaCl / IMCAo, ■ Citalopram / sham, ■ Citalopram / IMCAo

Hippocampus (links und rechts $p < 0,01$) und Hypothalamus (links $p < 0,05$ und rechts $p < 0,01$). Im Frontalcortex konnte eine Verminderung durch Berechnung der Ratio beidseitig nachgewiesen werden (links $p < 0,05$ und rechts $p < 0,01$). Dagegen zeigte die Ratio im Parietalcortex und im Piriformcortex / Amygdala zu keine signifikanten Unterschiede. Zwischen den Citalopram / IMCAo und den Citalopram / sham Tieren konnten keine signifikanten Unterschiede der 5-HIAA / 5-HT Ratio nachgewiesen werden.

Insgesamt wurden demnach aufgrund der Gehaltsbestimmungen von 5-HT und 5-HIAA keine unterschiedlichen Wirkungen von Citalopram auf das serotonerge System bei IMCAo und sham Mäusen gefunden.

5.2 Noradrenerges System, NA Gehalte

Bei den mit NaCl behandelten Mäusen konnte nach IMCAo eine Erhöhung der NA Spiegel im linken Striatum ($p < 0.05$) und im rechten Frontalcortex ($p < 0.05$) gegenüber den *sham* operierten Tieren nachgewiesen werden. Die in den übrigen Regionen gemessene NA Gehalte bei den IMCAo Tieren unterschieden sich nicht signifikant von den *sham* operierten Tieren (Abb. 9 und 10).

Abb. 9a: NA linke Hemisphäre

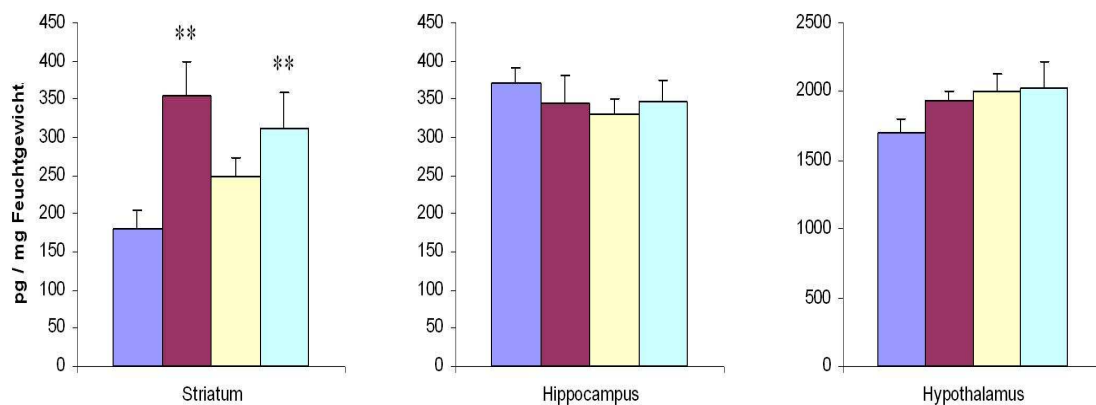


Abb. 9b: NA rechte Hemisphäre

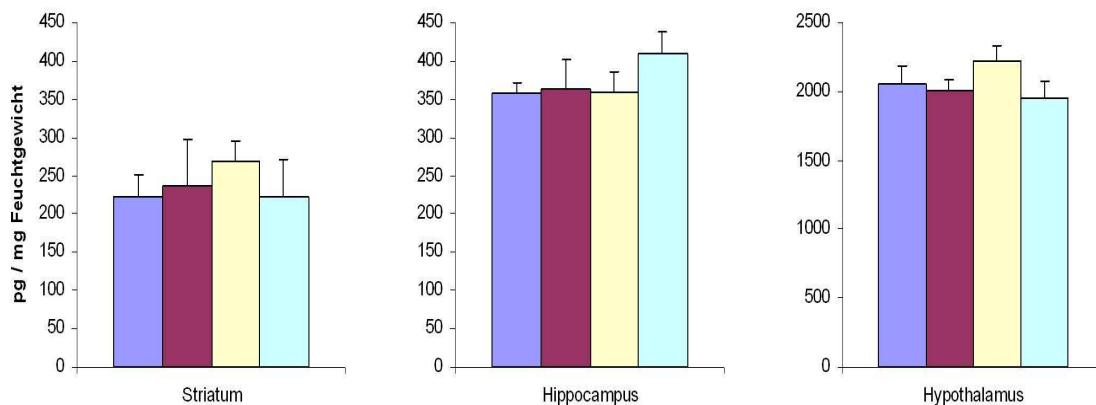


Abb. 9: Konzentrationen von NA im Striatum, Hippocampus und Hypothalamus in der linken (Abb. 9a) und rechten (Abb. 9b) Hemisphäre 10 Wochen nach 30 min IMCAo und Reperfusion oder sham Operation und anschließender Behandlung mit Citalopram oder NaCl bei 129/SV Mäusen. Daten sind als Mittelwerte \pm SEM von 9 bis 11 Tieren / Gruppe angegeben. ** $p < 0,01$ IMCAo versus sham Vergleiche der Gruppen wurden durch two-way analysis of variance (ANOVA) und anschließendem Tukey- Test berechnet. ■ NaCl / sham, ■ NaCl / IMCAo, ■ Citalopram / sham, ■ Citalopram / IMCAo

Die Behandlung der sham operierten Mäuse mit Citalopram führte zu keinen signifikanten Änderungen der NA Gehalte im Vergleich zu den sham / NaCl Tieren. Bei den IMCAo Mäusen hatte die Behandlung mit Citalopram ebenfalls keinen Einfluss auf die NA Gehalte. Dies gilt insbesondere für die unverändert erhöhten NA Gehalte im linken Striatum und rechtem Frontalcortex (Abb. 9 und 10).

Abb. 10a: NA linke Hemisphäre

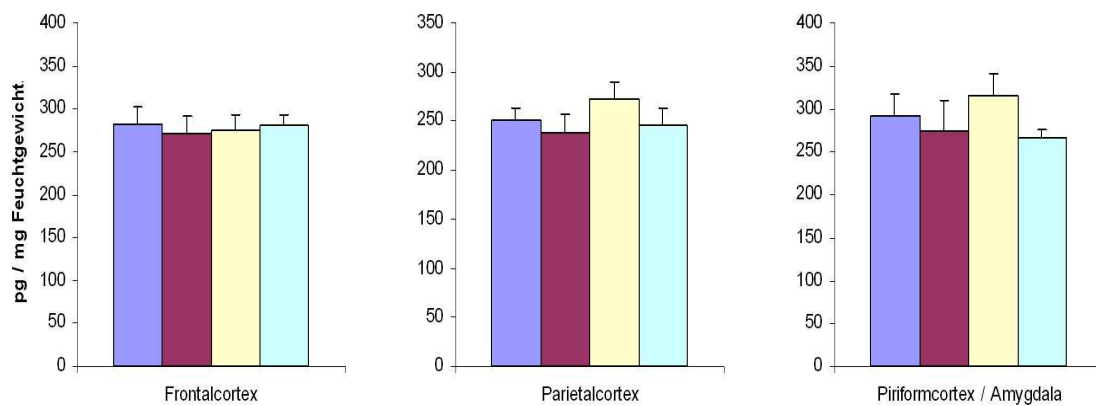


Abb. 10b: NA rechte Hemisphäre

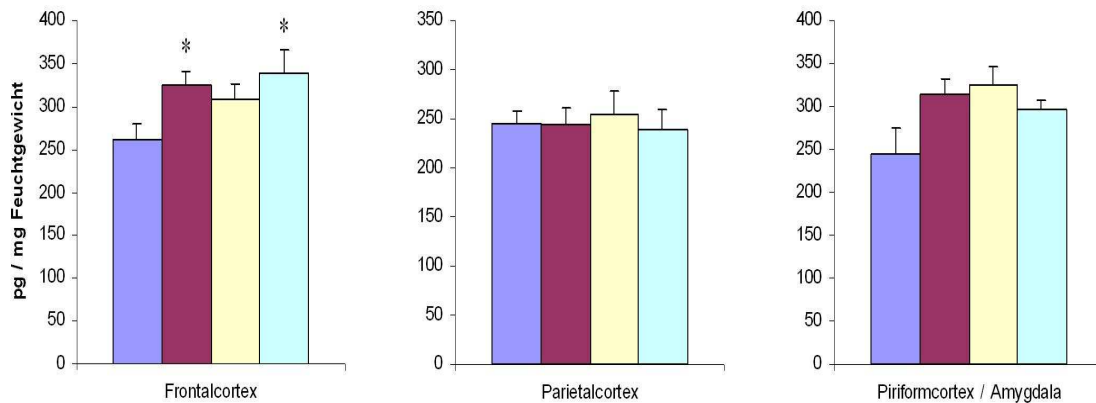


Abb. 10: Konzentrationen von NA im Striatum, Hippocampus und Hypothalamus in der linken (Abb. 10a) und rechten (Abb. 10b) Hemisphäre 10 Wochen nach 30 min IMCAo und Reperfusion oder sham Operation und anschließender Behandlung mit Citalopram oder NaCl bei 129/SV Mäusen. Daten sind als Mittelwerte \pm SEM von 9 bis 11 Tieren / Gruppe angegeben. * $p < 0,1$ IMCAo versus sham Vergleiche der Gruppen wurden durch two-way analysis of variance (ANOVA) und anschließendem Tukey- Test berechnet. ■ NaCl / sham, ■ NaCl / IMCAo, ■ Citalopram / sham, ■ Citalopram / IMCAo

5.3 Dopaminerges System

5.3.1 DA, DOPAC und HVA Gehalte

Bei mit NaCl behandelten Mäusen konnte 8 bis 10 Wochen nach IMCAo ein Abfall des DA-Spiegels auf $56,26\% \pm 4,88$ im Vergleich zu den *sham* Tieren im linken Striatum nachgewiesen werden ($p < 0,001$). Auch die Gehalte der Metabolite DOPAC ($p < 0,001$) und HVA ($p < 0,001$) waren im linken Striatum bei den NaCl / IMCAo Mäusen gegenüber den NaCl / sham Mäusen stark vermindert (Abb. 11a).

Abb. 11a: DA, DOPAC und HVA linkes Striatum

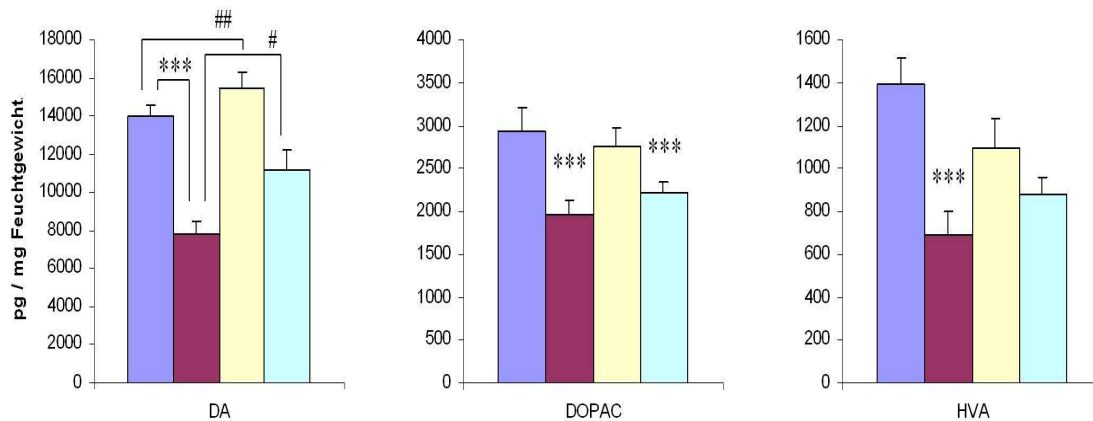


Abb. 11b: DA, DOPAC und HVA rechtes Striatum

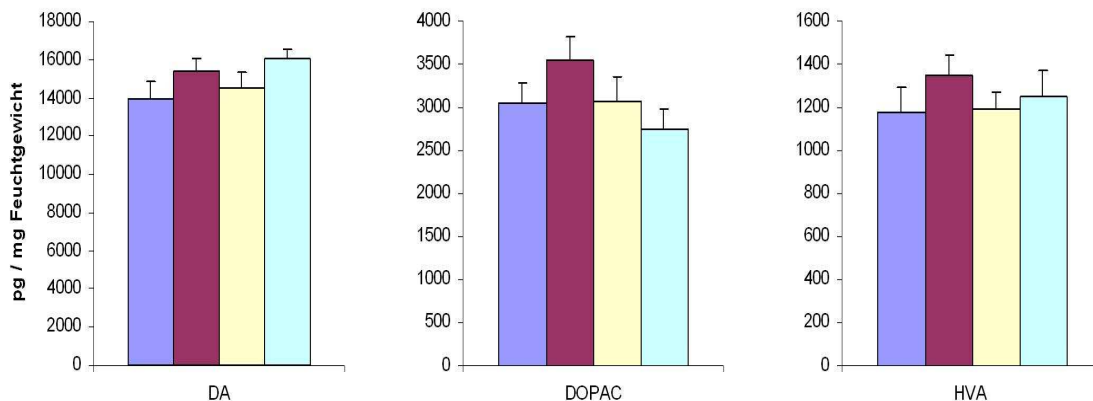


Abb 11: Konzentrationen von DA, DOPAC und HVA im linken (Abb. 11a) und rechten (Abb. 11b) Striatum 10 Wochen nach 30 min IMCAo und Reperfusion oder sham Operation und anschließender Behandlung mit Citalopram oder NaCl bei 129/SV Mäusen. Daten sind als Mittelwerte \pm SEM von 9 bis 11 Tieren / Gruppe angegeben. #: $p < 0,05$; ## $p < 0,01$ Citalopram versus NaCl, ***: $p < 0,001$ IMCAo versus sham. Vergleiche der Gruppen wurden durch two-way analysis of variance (ANOVA) und anschließendem Tukey- Test berechnet.
■ NaCl / sham, ■ NaCl / IMCAo, ■ Citalopram / sham, ■ Citalopram / IMCAo

In den anderen untersuchten Regionen führte IMCAo bei den mit NaCl behandelten Mäusen (rechtes Striatum (Abb.11b), Frontalcortex (Tab. 3), im Piriformcortex / Amygdala (Tab. 4) und Hypothalamus (Tab. 5)) zu keinen signifikanten Veränderungen der DA-, HVA- oder DOPAC Gehalte.

Bei den *sham* operierten Tieren war die Wirkung von Citalopram auf die DA Gehalte ebenfalls auf das linke Striatum begrenzt. Bei den sham Tieren bewirkte Citalopram in dieser Region eine Erhöhung des DA Gehalts auf $110,69 \pm 7,39$ % des bei den mit NaCl behandelten Tieren gemessenen Wertes ($p < 0,01$). Für die HVA und DOPAC Konzentrationen konnten bei den *sham* Tieren durch die Behandlung mit Citalopram jedoch keine signifikanten Veränderungen gemessen werden (Abb. 11a).

Frontalcortex		
Gruppe	Hemisphäre	DA (pg / mg Feuchtgewicht)
NaCl / Sham	links	$29,7 \pm 5,4$
	rechts	$27,9 \pm 4,9$
NaCl / IMCAo	links	$37,2 \pm 8,7$
	rechts	$49,6 \pm 7,5$
Citalopram / Sham	links	$37,0 \pm 13,7$
	rechts	$42,3 \pm 6,2$
Citalopram / IMCAo	links	$35,5 \pm 11,9$
	rechts	$31,0 \pm 3,8$

Tabelle 3: DA Gehalte im linken und rechten Frontalcortex. Daten sind als Mittelwerte \pm SEM von 9 bis 11 Tieren / Gruppe angegeben

Der als Folge der IMCAo aufgetretene Verlust an DA im linken Striatum konnte durch die Behandlung mit Citalopram signifikant reduziert werden ($p < 0,05$). Bei den mit Citalopram behandelten IMCAo Tieren war der DA-Spiegel lediglich $80,41 \pm 8,63\%$ reduziert, während bei den mit NaCl behandelten IMCAo Tieren der DA Spiegel auf $56,26 \pm 4,88\%$ des Kontrollwertes abfiel. Citalopram hatte keinen Einfluss auf die Verminderung des DA -

Metaboliten DOPAC im linken Striatum bei den IMCAo Tieren. Die Verringerung von HVA im linken Striatum war nach Behandlung mit Citalopram bei den IMCAo Tieren nicht mehr signifikant (Abb.11a).

Auf die DA-, HVA- und DOPAC Gehalte im rechten Striatum, im Frontalcortex (Tab. 3), im Piriformcortex / Amygdala (Tab. 4) und im Hypothalamus (Tab. 5) zeigte Citalopram auch bei den IMCAo Tieren keinen signifikanten Einfluss.

Piriformcortex / Amygdala			
Gruppe	Hemisphäre	DA (pg / mg Feuchtgewicht)	DOPAC (pg / mg Feuchtgewicht)
NaCl / Sham	links	184,3 ± 40,5	165,4 ± 31,5
	rechts	178,2 ± 29,4	188,5 ± 30,2
NaCl / IMCAo	links	171,6 ± 22,5	150,5 ± 14,2
	rechts	247,9 ± 38,4	227,9 ± 35,9
Citalopram / Sham	links	188,6 ± 18,6	176,0 ± 22,2
	rechts	201,9 ± 28,3	192,2 ± 29,6
Citalopram / IMCAo	links	190,3 ± 53,9	157,2 ± 18,2
	rechts	247,4 ± 52,5	270,8 ± 52,5

Tabelle 4: DA und DOPAC Gehalte im linken und rechten piriformen Cortex / Amygdala. Daten sind als Mittelwerte ± SEM von 9 bis 11 Tieren / Gruppe angegeben.

Hypothalamus			
Gruppe	Hemisphäre	DA (pg / mg Feuchtgewicht)	DOPAC (pg / mg Feuchtgewicht)
NaCl / Sham	links	254,9 ± 23,0	260,6 ± 26,8
	rechts	327,3 ± 35,7	246,4 ± 22,0
NaCl / IMCAo	links	349,8 ± 43,7	250,8 ± 20,2
	rechts	323,4 ± 43,9	285,3 ± 19,7
Citalo / Sham	links	350,2 ± 33,4	268,1 ± 26,1
	rechts	315,5 ± 21,9	330,1 ± 30,8
Citalo / IMCAo	links	423,1 ± 65,1	329,8 ± 38,8
	rechts	284,7 ± 24,5	290,4 ± 28,1

Tabelle 5: DA und DOPAC Gehalte im rechten und linken Hypothalamus. Daten sind als Mittelwerte ± SEM von 9 bis 11 Tieren / Gruppe angegeben.

6 Diskussion

In dieser Studie konnte gezeigt werden, dass die chronische systemische Gabe von Citalopram einen je nach untersuchter Hirnregion und Hemisphäre unterschiedlichen Einfluss auf die serotonerge, noradrenerge und dopaminerge Systeme ausübt. Im Folgenden soll die Wirkung von Citalopram auf diese drei Neurotransmittersysteme diskutiert werden.

6.1 Serotonerges System

6.1.1 Regionale Unterschiede in der Wirkung von Citalopram auf die 5-HT und 5-HIAA Gehalte

6.1.1.1 5-HT Gehalte

Die durch die chronische Gabe von Citalopram bewirkten Veränderungen der 5-HT Gewebe – Konzentration waren regional sehr unterschiedlich. Eine Erhöhung des 5-HT-Spiegels trat nur im linken und rechten Striatum sowie im rechten Hippocampus auf (Abb. 3) Dieser Anstieg von 5-HT kann durch zwei unterschiedliche Mechanismen bedingt sein:

(1) Durch die verminderte Rückresorption ist der präsynaptische Abbau von 5-HT durch die MAO gestört und der extrazelluläre Anteil von 5-HT erhöht. Eine durch akute, systemische Gabe von SSRI bewirkte Erhöhung des extrazellulären 5-HT wurde im Hippocampus, im Hypothalamus, in den Raphekernen und im Frontalcortex der Ratte mittels Mikrodialyse nachgewiesen (Fuller 1994). Der Umfang dieser 5-HT Erhöhung unterschied sich jedoch stark je nach untersuchter Hirnregion. So konnte nach SSRI Gabe eine drei bis fünffache Erhöhung von extrazellulärem 5-HT im Striatum (Perry and Fuller 1992) und Hippocampus (Sabol et al. 1992) nachgewiesen werden, während die Steigerung des extrazellulären 5-HT im Frontalcortex (Bel and Artigas 1992; Invernizzi et al. 1992) nur etwa das Zwei- bis Dreifache betrug. Der genaue Grund für diese Differenzen ist jedoch nicht klar. Zahlreiche Studien weisen darauf hin, dass sowohl die unterschiedliche serotonerge Innervation aus den MR und DR als auch die 5-HT_{1A}-Autorezeptoren für die regionalen Differenzen mitverantwortlich sind (Hjorth et al. 2000).

Der indirekte Agonismus an den 5-HT_{1A} Autorezeptoren durch Citalopram führte demnach dazu, dass eine geringere Steigerung der extrazellulären 5-HT Konzentration im DR innervierten Frontalcortex als im MR innervierten dorsalen Hippocampus gefunden wurde. Letzteres wurde darauf zurückgeführt, dass die Aktivität der DR stärker als die Aktivität der MR gehemmt wurde (Invernizzi et al. 1992; 1997). In Übereinstimmung hiermit konnte auch

für die 5-HT_{1A} Rezeptorantagonisten Ipsaspiron (Casanovas and Artigas 1996) und Alnespiron (Casanovas et al. 1997) eine stärkere Unterdrückung der 5-HT- Ausschüttung im Frontalcortex als im Hippocampus nachgewiesen werden.

Die in dieser Studie durchgeführte Messung von 5-HT im Gesamtgewebe erlaubt keine Differenzierung zwischen intra- und extrazellulärem 5-HT. Die nur in der Tendenz vorhandene Erhöhung der 5-HT Konzentration im Frontalkortex (Abb. 4) nach chronischer Citaloprambehandlung könnte in Zusammenhang mit der unterschiedlichen serotonergen Innervierung und in Übereinstimmung mit dem Akuteffekt von Citalopram (Fuller 1994) durch eine geringere Steigerung von extrazellulärem 5-HT im Vergleich zu Hippocampus und Striatum bedingt sein. Außerdem muss berücksichtigt werden, dass durch die chronische Verabreichung von Citalopram adaptive Vorgänge in der serotonergen Neurotransmission, beispielsweise eine Desensitivierung oder Downregulation von 5-HT_{1A} Rezeptoren, ausgelöst werden, und diese adaptiven Veränderungen in den einzelnen Hirnregionen unterschiedlich sein könnten.

(2) Die Erhöhung der 5-HT Gehalte kann aber auch auf eine von Citalopram induzierte verstärkte Synthese und Speicherung von 5-HT in diesen Regionen hindeuten. Dies könnte als Folge der durch Citalopram verstärkten serotonergen Neurotransmission (Bezchlibnyk-Butler et al. 2000) auftreten. In diesem Zusammenhang ist von besonderem Interesse, dass 4 und 8 Wochen nach chronischer Behandlung mit dem SSRI Fluoxetin eine Hinaufregulation der Tryptophanhydroxylase 2 mRNA im Mittelhirn nachgewiesen wurde (Shishkina et al. 2007). Eine Erhöhung der 5-HT Synthese ist auch für die antidepressive Wirkung von Citalopram bei Mäusen mitentscheidend (Cervo et al. 2005).

Der im linken Parietalcortex beobachtete Abfall des 5-HT-Spiegels (Abb. 4) weist auf unterschiedliche adaptive Vorgänge in dieser Region unter der chronischen Behandlung mit Citalopram hin.

6.1.1.2 5-HIAA Konzentrationen

5-HIAA entsteht hauptsächlich aus dem 5-HT, welches nach Ausschüttung in den synaptischen Spalt wieder in die Zelle aufgenommen und intrazellulär metabolisiert wird (Commissiong 1985). Eine Hemmung der 5-HT Wiederaufnahme durch Citalopram führt dementsprechend zu einer Verringerung der Metabolisierung von 5-HT und damit zu einem geringeren Abbau. Citalopram führte im Striatum, Hippocampus, Frontalcortex und Hypothalamus, nicht aber in Piriformcortex / Amygdala und Parietalcortex zu einer Verringerung der 5-HIAA Gehalte. Diese regional unterschiedliche Beeinflussung des 5-HT

Turnovers zeigt, dass neben der unterschiedlichen serotonergen Innervation der Regionen noch weitere Faktoren für die regional unterschiedlichen Wirkungen von Citalopram eine Rolle spielen müssen. Die regionalen Unterschiede können nicht allein auf die unterschiedliche Innervierung von verschiedenen Raphe-Kernen zurückgeführt werden, da z.B. Parietalcortex, Striatum und Frontalcortex vorwiegend durch die DR innerviert werden. (Graeff 1997). Bei den im Piriformcortex / Amygdala und den Hippocampus gemessenen 5-HT und 5-HIAA Konzentrationen muss zusätzlich berücksichtigt werden, dass diese Regionen sowohl durch MR als auch durch DR innerviert werden (Graeff 1997).

Die regionalen Unterschiede können auch mit unterschiedlicher Expression von 5-HT Rezeptor-Subtypen in Zusammenhang stehen. Im Detail lässt sich der unterschiedliche Einfluss von Citalopram auf die serotonerge Transmission nicht erklären. Die auf den serotonergen Nervenendigungen liegenden 5-HT_{1B} Autorezeptoren und postsynaptische 5-HT_{1A} Rezeptoren (Bosker et al. 1997; Hajos et al. 1999) kontrollieren ebenfalls die Aktivität serotonerger Neurone (Hjorth et al. 2000; Roberts et al. 1998). Eine Steigerung von 5-HT in der Synapse durch die Wiederaufnahmehemmung durch Citalopram würde folglich zu einer Stimulation dieser Rezeptoren führen. Ein über diese weiteren Rezeptoren vermitteltes Feedback könnte zusammen mit weiteren, bisher unbekanntem Faktoren zu den regional unterschiedlichen Wirkungen von Citalopram beigetragen haben. In ihrer Summe könnten sie auch dazu geführt haben, dass im Piriformcortex / Amygdala und im Parietalcortex im Gegensatz zu den anderen Regionen kein Einfluss von Citalopram auf die 5-HIAA Gehalte und die molare 5-HIAA / 5-HT Ratio nachweisbar war.

6.1.2 Wirkung von Citalopram auf das serotonerge System nach IMCAo

In dieser Studie konnte durch die 5-HT und 5-HIAA Gehaltsbestimmungen kein Nachweis für eine spezifische Wirkung des Medikamentes auf das serotonerge System bei den IMCAo Tieren erbracht werden. Interessant ist, dass weder Citalopram noch IMCAo zu nachweisbaren Veränderungen im Piriformcortex / Amygdala führten, trotz der nachweislich wichtigen Rolle dieser Region in der Entstehung von Angst (Garakani et al. 2006; Millan 2003).

Das Fehlen einer spezifischen Wirkung von Citalopram auf das serotonerge System ist vor dem Hintergrund der vor der HPLC Analyse durchgeführten Verhaltensuntersuchungen und

des nachgewiesenen Einflusses von 5-HT auf angstähnliches Verhalten (siehe Literaturübersicht 2.5.1.1) ein unerwartetes Ergebnis. Die in dieser Studie untersuchten Mäuse wurden in verschiedenen Verhaltenstests auf angstähnliches (*elevated plus maze test*, *Dark light box* und *Novelty induced feeding suppression*) und depressives (*Porsolt swim test*, *Sucrose consumption test*) Verhalten untersucht. In diesen Tests zeigten die NaCl / IMCAo Mäuse sowohl gesteigertes angstähnliches als auch depressives Verhalten. Durch die Behandlung mit Citalopram glich sich jedoch das Verhalten der IMCAo Tiere den *sham* operierten Tieren an. Bei den *sham* operierten Tieren hingegen zeigte die Behandlung mit Citalopram im Vergleich zu NaCl keinen signifikanten Einfluss auf die untersuchten Verhaltenweisen (unveröffentlichte Daten, M. Balkaya).

Dennoch kann eine über das serotonerge System vermittelte anxiolytische Wirkung von Citalopram durch Beeinflussung des serotonergen Systems durch diese Gehaltsbestimmungen nicht ausgeschlossen werden. Denn zum einen können durch die Bestimmung im Gesamtgewebe keine Unterschiede zwischen extrazellulären und intrazellulären 5-HT Mengen erfasst werden. Zum anderen wäre es denkbar, dass die Konsequenz der Wirkung von Citalopram auf die serotonergen Neurone im geschädigten Hirn der IMCAo Maus eine andere ist als bei den *sham* operierten Tieren. Diese Argumentation wird sowohl durch die anxiolytische Wirkung von Citalopram bei den IMCAo Mäusen (unveröffentlichte Daten, M. Balkaya et al.) als auch durch die Veränderungen im dopaminergen System unterstützt (vgl. 6.3.3).

6.2 Noradrenerges System

6.2.1 Wirkung von Citalopram auf das noradrenerge System bei sham operierten Tieren

Citalopram zeigte keinen Einfluss auf NA Gehalte bei sham operierten Tieren (Abb. 9 und 10). Dieser Befund stimmt mit der sehr selektiven Wirkung des Medikamentes auf die 5-HT Wiederaufnahme gegenüber der NA Wiederaufnahme überein (Bezchlibnyk-Butler et al. 2000). Andererseits schließen die Messungen eine durch Gehaltsbestimmungen nicht zu beobachtende Interaktion zwischen dem serotonergen und dem noradrenergen System nicht aus, da möglicher Weise geringe Veränderungen der NA Ausschüttung nicht erfasst werden.

6.2.2 Wirkung von Citalopram auf das noradrenerge System bei IMCAo Tieren

Die im Vergleich zu sham Tieren erhöhten NA Gehalte nach 30 min. IMCAo im linken Striatum und im rechten Frontalcortex wurden bereits von Winter et al. (2005) beschrieben und auch diskutiert. Die NA Zunahme resultiert demnach möglicherweise durch Einwachsen sympathischer noradrenerger Fasern des oberen Grenzstrangganglions. Eine Reihe von Studien zu Hirnläsionen zeigten diesen Effekt (Crutcher 1987; Jackisch et al. 1995). Die anatomische Nähe zum Frontalcortex könnte einen dortigen Anstieg der NA Konzentration durch einsprossende noradrenerge Fasern erklären.

Die nach Gabe von Citalopram unverändert erhöhten NA Gehalte bei den Citalopram / IMCAo Tieren weisen auf einen fehlenden Einfluss des Medikamentes auf diese Vorgänge hin. Da die Gabe von Citalopram aber einen anxiolytischen Effekt bei den IMCAo Tieren hatte, ist eine Beeinflussung dieser Vorgänge offenbar nicht für die anxiolytische Wirkung des Medikamentes erforderlich. Umgekehrt könnte dies bedeuten, dass die Steigerung der NA Gehalte auch nicht im Zusammenhang mit dem gesteigerten angstähnlichen Verhalten der Tiere nach IMCAo steht.

Diese Überlegung ermöglicht eine interessante Abgrenzung des durch IMCAo induzierten Angstverhaltens gegenüber Studien, die eine erhöhte Aktivität noradrenerger Neurone mit Angsterkrankungen in Verbindung bringen (Gorman et al. 2002).

6.3 Dopaminerges System

Citalopram bewirkte im linken Striatum eine signifikante Erhöhung des DA Gehalts bei den sham Tieren. Bei den IMCAo Tieren verminderte Citalopram in der gleichen Region den in Folge der Ischämie aufgetretenen Verlust an DA. Außerhalb des linken Striatums konnte in keiner der untersuchten Regionen eine Wirkung von Citalopram auf die DA Gehalte nachgewiesen werden. Da sich die Wirkung von Citalopram auf das serotonerge und das noradrenerge System bei sham und IMCAo Tieren nicht unterschied, sind die beobachteten Veränderungen der DA Gehalte im linken Striatum von besonderem Interesse. Hierfür spricht auch, dass eine Korrelation zwischen der anxiolytischen Wirkung des Citalopram und der Reduzierung des DA Verlustes im linken Striatum gefunden werden konnte (unveröffentlichte Daten M. Balkaya et al.). Die Mechanismen, über die Citalopram den DA Gehalt bei den *sham* Tieren (s. 6.3.2) und bei den IMCAo Tieren (s. 6.3.3) erhöhte, unterscheiden sich wahrscheinlich und sollen daher im Nachfolgenden getrennt diskutiert werden.

6.3.1 Seitenunterschiede in der Wirkung von Citalopram

Die alleinige Erhöhung des DA Spiegels im linken Striatum spricht dafür, dass Citalopram auf dopaminerge Neurone, welche das linke Striatum innervieren, einen anderen Einfluss ausübt als auf die entsprechenden Neurone der rechten Hemisphäre (Abb. 11). Auch im serotonergen System konnte eine unterschiedliche Beeinflussung in der rechten und linken Hemisphäre im Hippocampus, Parietalcortex und Frontalcortex durch chronische Gabe von Citalopram nachgewiesen werden (Abb. 3 und Abb. 4). Seitenunterschiede in der Wirkung des Antidepressivums Clomipramin auf die serotonergen und dopaminergen Systeme in der rechten und linken Hemisphäre konnten auch in adulten Ratten, die kurz nach ihrer Geburt mit dem Medikament behandelt worden waren, durch Bestimmung der 5-HT- und DA Gewebekonzentrationen gezeigt werden (Andersen et al. 2002). Die unterschiedliche Wirkung von Citalopram auf die rechte und linke Hemisphäre könnte ähnlich wie bei regionalen Unterschieden durch unterschiedliche Rezeptorverteilungen oder Adaptionsmechanismen bedingt sein. Dies deutet auf eine unterschiedliche Funktion beider Hemisphären hin.

Hinweise in Bezug auf die unterschiedliche Funktion der nigrostriatalen Systeme der linken und rechten Hemisphäre sind bereits in früheren Studien gefunden worden. So gelang es in der Ratte im linken Striatum 23 % mehr D₂ Rezeptoren als im rechten Striatum nachzuweisen (Schneider et al. 1982). Die unterschiedliche pharmakologische Beeinflussbarkeit beider nigrostriataler Systeme in Ratten konnte darüber hinaus nach Behandlung mit Amphetamin (Robinson et al. 1980) oder Scopolamin (Thiel and Schwarting 2001) beobachtet werden.

Die einseitige Erhöhung der DA-Konzentration im linken Striatum bei den *sham* Tieren durch die chronische Behandlung mit Citalopram ist damit einer weiterer Hinweis auf die Unterschiede zwischen dem rechten und linken nigrostriatalen System.

Der Befund, dass das anxiolytisch wirkende Citalopram selektiv auf das linke nigrostriatale System der Mäuse wirkt, ist deswegen von hohem Interesse, weil man vermutet, dass die anxiogene Wirkung von Amphetamin, zumindest teilweise auch aus der unterschiedlichen Beeinflussung der dopaminergen Systeme, welche den linken und rechten Frontalkortex innervieren, resultiert (Thiel and Schwarting 2001). Höhere DA-Spiegel im rechten Frontalkortex bei Ratten korrelierten mit einem gesteigerten Angstverhalten im *elevated plus maze* (Schwarting et al. 1998).

Auf die unterschiedliche Funktion beider Hemisphären und damit auch der dazugehörigen Neurotransmittersysteme bei der Entstehung von Angst deuten auch die Untersuchungen bei

Schlaganfallpatienten hin. Die GAD ist bei Schlaganfallpatienten häufig mit Läsionen des linken dorsolateralen Frontallappens assoziiert (Leppavuori et al. 2003; Robinson 1997; Starkstein et al. 1990). Als mögliche Ursache für die häufig gemeinsam mit der GAD auftretende PSD wurde eine Läsion der linken striatofrontalen Regelkreise vermutet (Narushima et al. 2003). Analog zu diesen Befunden beim Menschen konnte auch bei Mäusen nach Ischämie der linken nicht aber der rechten Hemisphäre durch 30 min. MCAo ein Phänotyp mit gesteigertem angstähnlichem Verhalten nachgewiesen werden, welcher mit einem durch die Ischämie induzierten Untergang dopaminergener Neurone in der linken Substantia nigra einherging (Winter et al. 2005). Der Untergang dopaminergener Neurone in der Substantia nigra könnte auch striatofrontale Regelkreise beeinträchtigen. Einen weiteren Hinweis darauf, dass der Untergang dopaminergener Neurone in der Substantia nigra, mit der Entstehung von Angst in Verbindung stehen, geben klinische Untersuchungen, die eine erhöhte Inzidenz von Angsterkrankungen bei Parkinsonpatienten beschrieben (Marinus et al. 2002; Shiba et al. 2000).

6.3.2 Erhöhung des DA Gehalts im linken Striatum durch Citalopram bei *sham* Tieren

Aufgrund der pharmakologischen Eigenschaften des Citalopram muss davon ausgegangen werden, dass es sich bei der Erhöhung des DA Spiegels im linken Striatum (Abb. 11a) um eine indirekte Wirkung handelt, die über den Einfluss von Citalopram auf das serotonerge System vermittelt wird. Denn Citalopram besitzt keine Affinität zu DA - Rezeptoren und DA Wiederaufnahmetransportern (Bezchlibnyk-Butler et al. 2000).

Studien zeigen, dass 5-HT über verschiedene 5-HT Rezeptoren Einfluss auf dopaminerge Neurone nimmt (Alex and Pehek 2007). Mehrere 5-HT Rezeptor Subtypen, wie die 5-HT_{1A}, 5-HT_{1B}, 5-HT_{2A}, 5-HT₃ und 5-HT₄ Rezeptoren, fördern die Freisetzung von DA. Dagegen vermittelt 5-HT über 5-HT_{2C} Rezeptoren einen inhibitorischen Effekt auf die DA Freisetzung (Alex and Pehek 2007). SSRI wiederum führen zu einer Erhöhung der extrazellulären Konzentrationen von 5-HT im Gehirn (Fuller 1994) und auf diese Art und Weise zu einer Stimulation wahrscheinlich aller 5-HT Rezeptorsubtypen. Auch zahlreiche *in vivo* Microdialyse Studien haben gezeigt, dass serotonerge Liganden die DA Ausschüttung verändern (Bowers et al. 2000; Galloway et al. 1993; Pehek 1996). Veränderungen der gemessenen DA Gehalte lassen sich also auf Veränderungen der Aktivität serotonerger Neurone zurückführen. Ob die Erhöhung der DA Gehalte auch einer vermehrten DA

Ausschüttung entsprechen, ist aufgrund der Methode nicht belegbar. Dagegen sprechen allerdings die trotz des erhöhten DA Spiegels unveränderten HVA und DOPAC Spiegel im linken Striatum der Citalopram /sham Mäusen (Abb. 11a).

Zu der beobachteten Erhöhung des DA-Gehalts im Striatum durch Citalopram passen außerdem die Ergebnisse einer Reihe von Studien, die darauf hinweisen, dass SSRI zumindest teilweise ihre Wirkung durch Modulation des dopaminergen Systems ausüben. So konnte die Bedeutung der Verfügbarkeit von verschiedenen DA - Rezeptoren für die Vermittlung der antidepressiven Wirkung der SSRI (auch von Citalopram) im *mouse forced swimming test* nachgewiesen werden (Renard et al. 2001). Eine gesteigerte Expression von D₂ Rezeptoren im Nucleus accumbens konnte bei Ratten nach Gabe von Fluoxetin nachgewiesen werden (Ainsworth et al. 1998). In dieser Region konnte ebenfalls bei Ratten der nach chronischem Stress zunächst verminderte extrazelluläre DA-Spiegel durch die Behandlung mit Imipramin wieder erhöht werden. Dieser Effekt ging wiederum mit einer antidepressiven Wirkung bei den Tieren einher (Gambarana et al. 1999).

Die Erhöhung des DA Gehalts im linken Striatum könnte über 5-HT_{2C} Rezeptoren erfolgt sein. Hierfür spricht zunächst, dass 5-HT_{2C} Rezeptoren sowohl im Striatum als auch in der Substantia nigra (Abramowski et al. 1995; Eberle-Wang et al. 1997; Pompeiano et al. 1994) nachgewiesen wurden. Dementsprechend nehmen 5-HT_{2C} Rezeptoren sowohl auf der Ebene der Zellkörper als auch auf der Ebene der terminalen Axone Einfluss auf die dopaminergen Neurone. Anatomisch ließ sich jedoch nachweisen, dass es sich hierbei um einen indirekten Einfluss handelt, da 5-HT_{2C} Rezeptoren auf GABAergen, nicht aber direkt auf dopaminergen Neuronen in der Substantia nigra pars compacta lokalisiert sind (Eberle-Wang et al. 1997).

Auf einen Zusammenhang zwischen chronischer Behandlung mit Citalopram und 5-HT_{2C} Rezeptoren deuten Studien hin, die eine Verminderung verschiedener durch den 5-HT_{2C} Rezeptoragonisten induzierten Verhaltensänderungen nach SSRI Behandlung zeigten (Kennett et al. 1994; Maj et al. 1996). Eine Desensitivierung der 5-HT_{2C} Rezeptoren wurde in diesem Zusammenhang mit der anxiolytischen Wirkung der SSRI in Verbindung gebracht (Quested et al. 1997). Eine Desensitivierung dieser Rezeptoren würde dopaminerge Neurone enthemmen und könnte damit den nach Behandlung mit Citalopram erhöhten DA Gehalt im linken Striatum bei den *sham* Mäusen erklären, wenngleich keine Veränderungen der Gehalte der DA Metabolite nachweisbar waren. Allerdings führte die Behandlung mit Citalopram bei den *sham* Tieren zu keinen Verhaltensänderungen (unveröffentlichte Daten, M. Balkaya). Dies

deckt sich jedoch mit der Beobachtung, dass SSRI auch beim Gesunden keine klinische Wirkung zeigen.

Hinweise auf eine unterschiedliche Dichte von 5-HT_{2C} Rezeptoren in der linken und rechten Hemisphäre wurden allerdings weder für das Striatum noch für die Substantia nigra in der Ratte oder Maus beschrieben (Abramowski et al. 1995; Eberle-Wang et al. 1997). Für die einseitige Erhöhung der DA Konzentration im linken Striatum nach chronischer Citaloprambehandlung müssen daher weitere Faktoren, wie z.B. die unterschiedliche Dichte von präsynaptischen D₂ Autorezeptoren, als Ursache angenommen werden. Eine unterschiedliche Beeinflussbarkeit von serotonergen Neuronen, welche das rechte und linke Striatum innervieren, konnte in dieser Studie durch die striatalen 5-HT und 5-HIAA Konzentrationen nicht nachgewiesen werden.

6.3.3 Wirkung von Citalopram auf DA Gehalte bei den IMCAo Tieren

Hauptbefund der Untersuchungen war, dass Citalopram die durch die Ischämie ausgelöste Verminderung des DA Gehalts im linken Striatum im Vergleich zu den mit NaCl behandelten IMCAo Tieren signifikant reduzierte (Abb. 11a). Der Verlust an DA im linken Striatum nach IMCAo weist auf eine in Folge der Ischämie auftretende Schädigung von dopaminergen Projektionen aus der Substantia nigra hin. Winter et al. (2005) konnten nach 30 min IMCAo neben der relativ klar auf das Striatum begrenzten Läsion auch einen diffusen neuronalen Schaden extrafokal in ipsi- und kontra-lateralen Regionen finden. Im Mittelhirn konnte ipsi-lateral eine verminderte Neuronenzahl in der Substantia nigra pars compacta nachgewiesen werden. Das Absterben dieser Neurone ist auf transsynaptische, retrograde Prozesse nach Läsion des Innervationsgebietes zurückzuführen. Dieser Mechanismus ist für verschiedene Arten von Hirnläsionen nachgewiesen worden (Zhao et al. 2002). Der postischämische extrafokale neuronale Zelltod ist auch in der Substantia nigra nach IMCAo in der Ratte beschrieben worden und scheint sowohl durch apoptotischen wie auch nekrotischen Zelltod gekennzeichnet zu sein (Tamura et al. 1990; Zhao et al. 2002).

Zur Erklärung des Hauptbefundes bestehen grundsätzlich zwei Möglichkeiten, wobei die eine die andere nicht ausschließt. Einerseits könnte Citalopram, analog zu den im Abschnitt 6.3.2 beschriebenen Mechanismen, eine Erhöhung der Ausschüttung, Speicherung oder Synthese von DA in den nach IMCAo verbliebenen dopaminergen Neuronen bewirkt haben. Andererseits ist es möglich, dass Citalopram die dopaminergen Neurone vor den Folgen der Ischämie schützt. Hierfür spricht, dass nach der Behandlung mit Citalopram bei den IMCAo

Mäusen ein geringerer Verlust von Neuronen in der Substantia nigra und darüber hinaus eine deutliche Reduktion der Größe der nach IMCAo entstandenen cerebralen Läsion nachgewiesen werden konnte (unveröffentlichte Daten, M. Balkaya). Die Minderung des Verlustes an DA bei den IMCAo Tieren nach Behandlung mit Citalopram stellt demnach ein biochemisches Korrelat dieser morphologischen Untersuchungen dar.

Das zentrale und überraschende Ergebnis dieser Arbeit ist, dass der nach IMCAo aufgetretene Verlust von dopaminergen Neuronen in der Substantia nigra durch die Gabe von Citalopram vermindert werden konnte, obwohl die Behandlung mit Citalopram erst 7 Tage nach 30 min. IMCAo begonnen wurde. Aus diesem Befund kann abgeleitet werden, dass die retrograde Degeneration der dopaminergen Neurone in Reaktion auf die Ischämie ein sehr langsam fortschreitender Prozess ist.

6.3.4 Mechanismen der Neuroprotektion durch Citalopram

Nakano et al. (1990) beschrieben als Folge von neuronaler Ischämie eine extrem langsam über Wochen und Monate fortschreitende Form des neuronalen Zelltodes. Darüber hinaus wurde gezeigt, dass 30 min. Ischämie durch IMCAo bei 129/SV Mäusen zu einem verzögerten neuronalen Zelltod führt (Endres et al. 1998; Katchanov et al. 2001). Da in der hier vorliegenden Studie Citalopram den Mäusen erst 7 Tage nach IMCAo verabreicht wurde, ist wegen dieses großen Zeitfensters für die neuroprotektive Wirkung eine Verhinderung eines apoptotischen Zelltodes wahrscheinlicher als die eines nekrotischen Zelltodes.

Apoptose ist grundsätzlich ein normaler physiologischer Prozess in der Entwicklung, bei dem überschüssige Zellen aus dem Gehirn entfernt werden (Yuan und Yankner 2000). Im Hirn des Erwachsenen spielt dieser Prozess eine wichtige Rolle in akuten und chronischen neurodegenerativen Erkrankungen, wie auch dem ischämischen Schlaganfall (Yuan und Yankner 2000). Im Gegensatz zur Nekrose als Folge eines für die Zelle katastrophalen Ereignisses nach extremem physischen oder toxischen Stress ist die Apoptose eine Form des programmierten Zelltodes, welcher durch die Spiegel von pro- (BAX/ BAD) und anti-apoptotischen Proteinen (Bcl-2, B-cell lymphoma protein 2) kontrolliert wird. Diese Proteine regulieren die Freisetzung von Cytochrome C der Mitochondrien in das Zytoplasma. Dieser Prozess wiederum aktiviert die Cystein Proteasen, welche als Caspasen bezeichnet werden. Diese (insbesondere die Caspase 3 und 9) sind die wichtigsten Enzyme für die Durchführung der Apoptose und verantwortlich für die damit verbundenen morphologischen und biochemischen Veränderungen (z.B: DNS Fragmentation und Bläschenbildung (blebbing) an den Zellmembranen) (Yuan and Yankner 2000).

Der genaue Mechanismus, wie Citalopram die dopaminergen Zellen vor dem durch die Ischämie induzierte Apoptose oder Nekrose schützen könnte, ist unbekannt. Hinweise auf mögliche Mechanismen, über die Citalopram in die Apoptosewege der dopaminergen Zellen in der Substantia nigra eingegriffen haben könnte, geben Studien, die (1) die Wirkung von Antidepressiva und Stress auf neuronale Plastizität in Zusammenhang mit depressiven Erkrankungen und (2) neuroprotektive Eigenschaften von 5-HT_{1A}- Agonisten untersuchen.

(1) In Bezug auf die Pathogenese der Depression wurde in den letzten Jahren im wesentlichen argumentiert, dass chronischer Stress zur Aktivierung einer Kaskade von neurochemischen und / oder inflammatorischen Faktoren in den Neuronen führt, welche die Funktion und auch das Überleben der Neurone beeinflussen und damit das klinische Krankheitsbild bedingen. Durch die Behandlung mit Antidepressiva können diese Prozesse wiederum beeinflusst werden (D'Sa und Duman 2002; Duman 2004; Duman et al. 2000; Fuchs et al. 2004; Hayley et al. 2005).

Diese Zusammenhänge konnten Wang et al. (2008) bei Ratten nachweisen, welche nach MCAo chronisch mildem Stress ausgesetzt wurden. Diese bildeten einen depressiven Phänotyp aus und zeigten eine reduzierte Proliferation sowie ein vermindertes Überleben von Neuronen im Hippocampus. Sowohl auf Ebene des Verhaltens als auch im Hippocampus konnten diese Stresswirkungen durch die Gabe von Citalopram aufgehoben werden. Da dieser Effekt auf die Neurogenese nicht bei mit Fluoxetin behandelten 5-HT_{1A} Rezeptor Knockout Mäusen beobachtet werden konnte, scheint die Stimulation dieses Rezeptors für die Beeinflussung der Neurogenese im Hippocampus wesentlich zu sein (Santarelli et al. 2003).

Obwohl die exakten Mechanismen, über die Stress auf der einen und Antidepressiva auf der anderen Seite Einfluss auf die Neurogenese und das Überleben der Neurone nehmen, noch unbekannt sind, zeigen Studien, dass eine veränderte Expression von Bcl-2 und BDNF wichtige Teilschritte des zugrunde liegenden Prozesses sind (Hayley et al. 2005; Murray und Hutson 2007). Von Bcl-2 wurde interessanter Weise berichtet, dass es die Apoptose von neugeborenen Neuronen nach MCAo in der Ratte unterdrückt (Zhang et al. 2006). Murray und Hutson (2007) konnten erstmals nach chronischer, nicht aber nach akuter Behandlung mit Citalopram eine erhöhte Expression von Bcl-2 im Hippocampus von Mäusen nachweisen, welche wahrscheinlich über den 5-HT_{1A} Rezeptor vermittelt wurde.

Veränderungen im Gehirn in Verbindung mit Depression sind im Hippocampus, Amygdala , Nucleus caudatus, Putamen und Frontalkortex beobachtet worden. Als limbisch-striatal-pallidal-thalamischer Trakt sind diese Strukturen miteinander verbunden (Fuchs et al. 2004).

Angesichts dieser Verbindungen müssen die für den Hippocampus beschriebenen Vorgänge in einem breiteren Zusammenhang gesehen werden (D'Sa und Duman 2002; Manji et al. 2001), da es unwahrscheinlich ist, dass eine gestörte Neurogenese und strukturelle Veränderungen allein im Hippocampus zu einer so komplexen Erkrankung wie der Depression führen (Duman 2004; Fuchs et al. 2004). Dementsprechend könnten die für den Hippocampus beschriebenen Veränderungen durch Stress und Antidepressiva zu einem gewissen Grade auch für andere Hirnregionen gelten. Ob hierzu auch eine erhöhte Expression von BDNF und Bcl-2 in den dopaminergen Neuronen der Substantia nigra gehört, ist jedoch unklar. Murray und Hutson (2007) konnten die erhöhte Expression von Bcl-2 im Hippocampus, nicht aber im Cortex und Hypothalamus nachweisen. Die Substantia nigra wurde in dieser Studie nicht untersucht.

(2) Einen weiteren Ansatz zur Erklärung einer neuroprotektiven Wirkung von Citalopram bieten Studien mit 5-HT_{1A} Rezeptoragonisten, deren protektive Wirkung gegenüber cerebraler Ischämie nachgewiesen werden konnte, wobei der genaue Mechanismus noch unbekannt ist (Berends et al. 2005; Schaper et al. 2000; Semkova et al. 1998; Torup et al. 2000). Auch für Citalopram wurde aufgrund seines indirekten Agonismus am 5-HT_{1A} Rezeptor eine solche protektive Wirkung bereits angenommen (Murray und Hutson 2007; Nagao et al. 1995). Zu den möglichen Mechanismen, über welche die Stimulation von 5-HT_{1A} Rezeptoren neuroprotektiv wirkt, wurden verschiedene Hypothesen aufgestellt [Übersicht für den 5-HT_{1A} Agonisten BAY X 3702 (Berends et al. 2005)]. Hierzu gehören die Hyperpolarisation der Zellmembran, welche ihre Erregbarkeit einschränkt (Kruger et al. 1999), verminderte Freisetzung von Glutamat (Mauler et al. 2001) und die Blockade von spannungsabhängigen Na⁺-Kanälen (Melena et al. 2000). Darüber hinaus konnte nach Gabe eines 5-HT_{1A} Agonisten eine vermehrte Expression des anti-apoptotisch wirkenden Bcl-2 im Cortex in einem Schlaganfallmodell bei Ratten (Kukley et al. 2001), sowie eine vermehrte Expression von Bcl-2 und die Unterdrückung der pro-apoptotischen Caspase-3 in hippocampalen Zellkulturen nachgewiesen werden (Adayev et al. 2003).

Bezüglich Striatum und Substantia nigra ist allerdings zu beachten, dass unter physiologischen Bedingungen in diesen Regionen sowohl bei Ratten als auch bei Menschen nur eine geringe Dichte von 5-HT_{1A} Rezeptoren nachweisbar ist (Kung et al. 1994; Palacios et al. 1990). Schaper et al. (2000) konnten jedoch nach cerebraler Ischämie eine Reduktion des apoptotischen Zelltodes im Striatum von Ratten durch Verabreichung des 5-HT_{1A} Agonisten Bay X 3702 eine Reduktion des apoptotischen Zelltodes beobachten. Diese Neuroprotektion wurde durch die Gabe eines 5-HT_{1A} Antagonisten (WAY 100635) aufgehoben. Als mögliche

Erklärung ihrer Ergebnisse verwiesen die Autoren auf eine Studie mit neuronalen Zellkulturen (Singh et al. 1996), in der eine um das fünf- bis fünfzehnfach erhöhte Expression von 5-HT_{1A} Rezeptoren während Stress und Degeneration nachgewiesen werden konnte. Es ist vorstellbar, dass diese *in vitro* Beobachtungen auch auf pathologische *in vivo* Bedingungen, wie z.B. auf die durch Ischämie bedingte Schädigung dopaminergischer Neurone übertragen werden können.

7 Zusammenfassung

Der ischämische Schlaganfall kann zu einer Reihe neuropsychiatrischer Folgeerkrankungen führen. Als mögliches Korrelat hierfür konnte in einer vorausgegangenen Studie bei 129/SV Wildtyp Mäusen nach 30. min Okklusion der linken Arterie cerebri media ein gesteigertes angstähnliches Verhalten nachgewiesen werden (Winter et al. 2005). Antidepressiva vom Typ der SSRI gelten als Medikamente der ersten Wahl zur Behandlung von Angsterkrankungen. Ihre anxiolytische Wirkung ist aber bisher im Detail nicht ganz verstanden.

In der vorliegenden Arbeit wurde die Wirkung einer chronischen Behandlung mit dem SSRI Citalopram 7 Tage nach der cerebralen Ischämie auf die Neurotransmitterkonzentrationen in einem Teil der Basalganglien und Teilen des limbischen Systems unter Verwendung des gleichen Schlaganfallmodells wie bei Winter et al. (2005) untersucht. Ziel dieser Studie war es, einerseits Informationen über den Effekt einer chronischen Behandlung mit Citalopram in der untersuchten Hirnregionen und andererseits weitere Hinweise in Hinblick auf die anxiolytischen Wirkweise des Medikamentes zu gewinnen.

Zu diesem Zweck wurden vierzig Mäuse einer 30 min IMCAo oder einer Schein Operation (*sham*) unterzogen. Sieben Tage später wurden die beiden Gruppen in jeweils zwei weitere Gruppen unterteilt und mit Citalopram oder NaCl über 12 Wochen behandelt. Die Gewebekonzentrationen von 5-HT, 5-HIAA, NA, DA, DOPAC und HVA wurden mittels HPLC in Striatum, Hippocampus, Hypothalamus, Amygdala / Piriformcortex, Frontalcortex und Parietalcortex der rechten und linken Hemisphäre bestimmt.

Durch die Messung der Neurotransmitter - Konzentrationen in dieser Studie konnten im wesentlichen vier wichtige Ergebnisse erhoben werden:

1. Als Folge der Ischämie konnte bei den IMCAo Tieren im Vergleich zu den *sham* operierten Tieren ausgeprägte Veränderungen der Neurotransmitterkonzentrationen nachgewiesen werden. Im linken Striatum zeigte sich eine Steigerung der 5-HT- sowie ein Abfall der DA Konzentration. Außerhalb des linken Striatums konnte ein Abfall der 5-HT Konzentrationen im linken Parietalcortex sowie Steigerung der NA Konzentration im rechten Frontalcortex gemessen werden. Diese Veränderungen der Neurotransmitterkonzentrationen stimmen mit den Ergebnissen von Winter et al. (2005) überein und zeigen, dass durch die Ischämie neben dem Striatum auch extrafokal weitere Hirnregionen und die sie innervierenden Neurotransmittersysteme beeinflusst werden.

2. Die chronische systemische Behandlung mit Citalopram zeigte einen regional stark unterschiedlichen Einfluss auf das serotonerge System in den untersuchten Hirnregionen. Ausgeprägte Veränderungen der 5-HT und insbesondere der 5-HIAA Konzentrationen finden im Striatum, Hippocampus und Hypothalamus und im Frontalcortex statt. Im linken Parietalcortex und Piriformcortex / Amygdala konnte demgegenüber wenig oder kein Einfluss von Citalopram auf die Neurotransmitterkonzentrationen nachgewiesen werden. Dieser Befund ist interessant, da gerade die Amygdala in der Literatur häufig mit der Entstehung von Angst in Verbindung gebracht wird.
3. Die chronische Behandlung mit Citalopram führt zu einer Erhöhung des DA Gehalts ausschließlich im linken Striatum. Dies ist ein weiterer Hinweis für eine Beteiligung des dopaminergen Systems in der Wirkung der SSRI. Die Beschränkung der Wirkung auf das linke Striatum deutet auf eine unterschiedliche Funktion beider Hemisphären bzw. des linken und rechten nigrostriatalen Systems hin. Die funktionellen Unterschiede des rechten und linken Striatums im Zusammenhang mit der Entstehung von Angst konnten auch im Tiermodell nachgewiesen werden (Winter et al. 2005). In Übereinstimmung hiermit konnte auch bei Schlaganfallpatienten ein verstärktes auftreten von Depression und Angsterkrankungen mit Läsionen der linken vorderen Hemisphäre nachgewiesen werden (Leppavuori et al. 2003; Robinson 1997). Als Ursache hierfür wurde eine Läsion des linken striatofrontalen Regelkreises vermutet (Narushima et al. 2003), auf den auch die dopaminergen Neurone der Substantia nigra Einfluss nehmen könnten.
4. Citalopram vermittelte eine neuroprotektive Wirkung auf die dopaminergen Neurone in der Substantia nigra, selbst wenn die chronische Behandlung erst 7 Tage nach IMCAo begonnen wurde. Wichtige Teilschritte der zugrunde liegenden Mechanismen könnten aus 5-HT_{1A} Stimulation, einer veränderten Expression neurotrophischer Faktoren wie BDNF und einer erhöhte Expression von Bcl-2 bestehen.

Aufgrund der möglicher Weise hohen klinischen Relevanz dieses Ergebnisses für die Behandlung von Schlaganfallpatienten, sollte eine weitere Erforschung dieser Mechanismen angestrebt werden.

8 Literaturverzeichnis

- Abramowski D, Rigo M, Duc D, Hoyer D, Staufenbiel M (1995) Localization of the 5-hydroxytryptamine_{2C} receptor protein in human and rat brain using specific antisera. *Neuropharmacology* 34: 1635-45
- Adayev T, Ray I, Sondhi R, Sobocki T, Banerjee P (2003) The G protein-coupled 5-HT_{1A} receptor causes suppression of caspase-3 through MAPK and protein kinase Calpha. *Biochim Biophys Acta* 1640: 85-96
- Ainsworth K, Smith SE, Zetterstrom TS, Pei Q, Franklin M, Sharp T (1998) Effect of antidepressant drugs on dopamine D1 and D2 receptor expression and dopamine release in the nucleus accumbens of the rat. *Psychopharmacology (Berl)* 140: 470-7
- Alex KD, Pehek EA (2007) Pharmacologic mechanisms of serotonergic regulation of dopamine neurotransmission. *Pharmacol Ther* 113: 296-320
- Andersen SL, Dumont NL, Teicher MH (2002) Differences in behavior and monoamine laterality following neonatal clomipramine treatment. *Dev Psychobiol* 41: 50-7
- Astrom M (1996) Generalized anxiety disorder in stroke patients. A 3-year longitudinal study. *Stroke* 27: 270-5
- Astrom M, Adolfsson R, Asplund K (1993) Major depression in stroke patients. A 3-year longitudinal study. *Stroke* 24: 976-82
- Bähr M, Frotscher M, Duus P (2003) Duus' Neurologisch-topische Diagnostik Anatomie - Funktion - Klinik, 8., komplett überarb. Aufl edn. Thieme, Thieme
- Bähr MF (2001) Duus' Neurologisch-topische Diagnostik. Thieme Verlag, Thieme Verlag
- Beblo T, Wallesch CW, Herrmann M (1999) The crucial role of frontostriatal circuits for depressive disorders in the postacute stage after stroke. *Neuropsychiatry Neuropsychol Behav Neurol* 12: 236-46
- Bel N, Artigas F (1992) Fluvoxamine preferentially increases extracellular 5-hydroxytryptamine in the raphe nuclei: an in vivo microdialysis study. *Eur J Pharmacol* 229: 101-3
- Belzung C (2001) Rodent models of anxiety-like behaviors: are they predictive for compounds acting via non-benzodiazepine mechanisms? *Curr Opin Investig Drugs* 2: 1108-11
- Berends AC, Luiten PG, Nyakas C (2005) A review of the neuroprotective properties of the 5-HT_{1A} receptor agonist repinotan HCl (BAYx3702) in ischemic stroke. *CNS Drug Rev* 11: 379-402
- Bezchlibnyk-Butler K, Aleksic I, Kennedy SH (2000) Citalopram--a review of pharmacological and clinical effects. *J Psychiatry Neurosci* 25: 241-54
- Bhogal SK, Teasell R, Foley N, Speechley M (2004) Lesion location and poststroke depression: systematic review of the methodological limitations in the literature. *Stroke* 35: 794-802
- Birbaumer N, Schmidt RF (2003) *Biologische Psychologie*, 5., vollständig überarb. und erg. Aufl. edn. Springer, Springer
- Bloch RG, Dooneief AS, Buchberg AS, Spellman S (1954) The clinical effect of isoniazid and iproniazid in the treatment of pulmonary tuberculosis. *Ann Intern Med* 40: 881-900
- Bosker FJ, Klomp makers A, Westenberg HG (1997) Postsynaptic 5-HT_{1A} receptors mediate 5-hydroxytryptamine release in the amygdala through a feedback to the caudal linear raphe. *Eur J Pharmacol* 333: 147-57
- Bouwer C, Stein DJ (1998) Use of the selective serotonin reuptake inhibitor citalopram in the treatment of generalized social phobia. *J Affect Disord* 49: 79-82
- Bowers BJ, Henry MB, Thielen RJ, McBride WJ (2000) Serotonin 5-HT₂ receptor stimulation of dopamine release in the posterior but not anterior nucleus accumbens of the rat. *J Neurochem* 75: 1625-33
- Buchsbaum MS, Wu J, Haier R, Hazlett E, Ball R, Katz M, Sokolski K, Lagunas-Solar M, Langer D (1987) Positron emission tomography assessment of effects of benzodiazepines on regional glucose metabolic rate in patients with anxiety disorder. *Life Sci* 40: 2393-400
- Burvill PW, Johnson GA, Jamrozik KD, Anderson CS, Stewart-Wynne EG, Chakera TM (1995a) Anxiety disorders after stroke: results from the Perth Community Stroke Study. *Br J Psychiatry* 166: 328-32
- Burvill PW, Johnson GA, Jamrozik KD, Anderson CS, Stewart-Wynne EG, Chakera TM (1995b) Prevalence of depression after stroke: the Perth Community Stroke Study. *Br J Psychiatry* 166: 320-7
- Carvalho MC, Albrechet-Souza L, Masson S, Brandao ML (2005) Changes in the biogenic amine content of the prefrontal cortex, amygdala, dorsal hippocampus, and nucleus accumbens of rats submitted to single and repeated sessions of the elevated plus-maze test. *Braz J Med Biol Res* 38: 1857-66
- Casanovas JM, Artigas F (1996) Differential effects of ipsapirone on 5-hydroxytryptamine release in the dorsal and median raphe neuronal pathways. *J Neurochem* 67: 1945-52

- Casanovas M, Florido F, Saenz de San Pedro B, Gonzalez P, Martinez-Alzamora F, Maranon F, Fernandez-Caldas E (1997) Sensitization to *Olea europaea*: geographical differences and discrepancies. *Allergol Immunopathol (Madr)* 25: 159-66
- Castillo CS, Starkstein SE, Fedoroff JP, Price TR, Robinson RG (1993) Generalized anxiety disorder after stroke. *J Nerv Ment Dis* 181: 100-6
- Cervo L, Canetta A, Calcagno E, Burbassi S, Sacchetti G, Caccia S, Fracasso C, Albani D, Forloni G, Invernizzi RW (2005) Genotype-dependent activity of tryptophan hydroxylase-2 determines the response to citalopram in a mouse model of depression. *J Neurosci* 25: 8165-72
- Chemerinski E, Levine SR (2006) Neuropsychiatric disorders following vascular brain injury. *Mt Sinai J Med* 73: 1006-14
- Commissiing JW (1985) Monoamine metabolites: their relationship and lack of relationship to monoaminergic neuronal activity. *Biochem Pharmacol* 34: 1127-31
- Coppen A (1967) The biochemistry of affective disorders. *Br J Psychiatry* 113: 1237-64
- Crabbe JC, Wahlsten D, Dudek BC (1999) Genetics of mouse behavior: interactions with laboratory environment. *Science* 284: 1670-2
- Crutcher KA (1987) Sympathetic sprouting in the central nervous system: a model for studies of axonal growth in the mature mammalian brain. *Brain Res* 434: 203-33
- De Vry J (1995) 5-HT_{1A} receptor agonists: recent developments and controversial issues. *Psychopharmacology (Berl)* 121: 1-26
- D'Sa C, Duman RS (2002) Antidepressants and neuroplasticity. *Bipolar Disord* 4: 183-94
- Duman RS (2004) Depression: a case of neuronal life and death? *Biol Psychiatry* 56: 140-5
- Duman RS, Malberg J, Nakagawa S, D'Sa C (2000) Neuronal plasticity and survival in mood disorders. *Biol Psychiatry* 48: 732-9
- Eastwood MR, Rifat SL, Nobbs H, Ruderman J (1989) Mood disorder following cerebrovascular accident. *Br J Psychiatry* 154: 195-200
- Eberle-Wang K, Mikeladze Z, Uryu K, Chesselet MF (1997) Pattern of expression of the serotonin_{2C} receptor messenger RNA in the basal ganglia of adult rats. *J Comp Neurol* 384: 233-47
- Endres M, Namura S, Shimizu-Sasamata M, Waeber C, Zhang L, Gomez-Isla T, Hyman BT, Moskowitz MA (1998) Attenuation of delayed neuronal death after mild focal ischemia in mice by inhibition of the caspase family. *J Cereb Blood Flow Metab* 18: 238-47
- File SE, Gonzalez LE, Andrews N (1996) Comparative study of pre- and postsynaptic 5-HT_{1A} receptor modulation of anxiety in two ethological animal tests. *J Neurosci* 16: 4810-5
- Fuchs E, Czeh B, Kole MH, Michaelis T, Lucassen PJ (2004) Alterations of neuroplasticity in depression: the hippocampus and beyond. *Eur Neuropsychopharmacol* 14 Suppl 5: S481-90
- Fuller RW (1994) Uptake inhibitors increase extracellular serotonin concentration measured by brain microdialysis. *Life Sci* 55: 163-7
- Galloway MP, Suchowski CS, Keegan MJ, Hjorth S (1993) Local infusion of the selective 5HT-1b agonist CP-93,129 facilitates striatal dopamine release in vivo. *Synapse* 15: 90-2
- Gambarana C, Masi F, Tagliamonte A, Scheggi S, Ghiglieri O, De Montis MG (1999) A chronic stress that impairs reactivity in rats also decreases dopaminergic transmission in the nucleus accumbens: a microdialysis study. *J Neurochem* 72: 2039-46
- Garakani A, Mathew SJ, Charney DS (2006) Neurobiology of anxiety disorders and implications for treatment. *Mt Sinai J Med* 73: 941-9
- Gorman JM, Hirschfeld RM, Ninan PT (2002) New developments in the neurobiological basis of anxiety disorders. *Psychopharmacol Bull* 36 Suppl 2: 49-67
- Gould TD, Manji HK (2002) Signaling networks in the pathophysiology and treatment of mood disorders. *J Psychosom Res* 53: 687-97
- Graeff FG (1997) Serotonergic systems. *Psychiatr Clin North Am* 20: 723-39
- Graeff FG, Viana MB, Mora PO (1997) Dual role of 5-HT in defense and anxiety. *Neurosci Biobehav Rev* 21: 791-9
- Graybiel AM (1997) The basal ganglia and cognitive pattern generators. *Schizophr Bull* 23: 459-69
- Griebel G (1995) 5-Hydroxytryptamine-interacting drugs in animal models of anxiety disorders: more than 30 years of research. *Pharmacol Ther* 65: 319-95

- Gross C, Zhuang X, Stark K, Ramboz S, Oosting R, Kirby L, Santarelli L, Beck S, Hen R (2002) Serotonin1A receptor acts during development to establish normal anxiety-like behaviour in the adult. *Nature* 416: 396-400
- Gurtman CG, Morley KC, Li KM, Hunt GE, McGregor IS (2002) Increased anxiety in rats after 3,4-methylenedioxymethamphetamine: association with serotonin depletion. *Eur J Pharmacol* 446: 89-96
- Hajos M, Hajos-Korcok E, Sharp T (1999) Role of the medial prefrontal cortex in 5-HT_{1A} receptor-induced inhibition of 5-HT neuronal activity in the rat. *Br J Pharmacol* 126: 1741-50
- Harro J, Tonissaar M, Eller M, Kask A, Oreland L (2001) Chronic variable stress and partial 5-HT denervation by parachloroamphetamine treatment in the rat: effects on behavior and monoamine neurochemistry. *Brain Res* 899: 227-39
- Hayley S, Poulter MO, Merali Z, Anisman H (2005) The pathogenesis of clinical depression: stressor- and cytokine-induced alterations of neuroplasticity. *Neuroscience* 135: 659-78
- Heisler LK, Chu HM, Brennan TJ, Danao JA, Bajwa P, Parsons LH, Tecott LH (1998) Elevated anxiety and antidepressant-like responses in serotonin 5-HT_{1A} receptor mutant mice. *Proc Natl Acad Sci U S A* 95: 15049-54
- Hjorth S, Bengtsson HJ, Kullberg A, Carlzon D, Peilot H, Auerbach SB (2000) Serotonin autoreceptor function and antidepressant drug action. *J Psychopharmacol* 14: 177-85
- House A, Dennis M, Mogridge L, Warlow C, Hawton K, Jones L (1991) Mood disorders in the year after first stroke. *Br J Psychiatry* 158: 83-92
- Hyttel J (1994) Pharmacological characterization of selective serotonin reuptake inhibitors (SSRIs). *Int Clin Psychopharmacol* 9 Suppl 1: 19-26
- Invernizzi R, Belli S, Samanin R (1992) Citalopram's ability to increase the extracellular concentrations of serotonin in the dorsal raphe prevents the drug's effect in the frontal cortex. *Brain Res* 584: 322-4
- Invernizzi R, Velasco C, Bramante M, Longo A, Samanin R (1997) Effect of 5-HT_{1A} receptor antagonists on citalopram-induced increase in extracellular serotonin in the frontal cortex, striatum and dorsal hippocampus. *Neuropharmacology* 36: 467-73
- Itoh T, Tokumura M, Abe K (2004) Effects of rolipram, a phosphodiesterase 4 inhibitor, in combination with imipramine on depressive behavior, CRE-binding activity and BDNF level in learned helplessness rats. *Eur J Pharmacol* 498: 135-42
- Jackisch R, Neufang B, Hertting G, Jeltsch H, Kelche C, Will B, Cassel JC (1995) Sympathetic sprouting: time course of changes of noradrenergic, cholinergic, and serotonergic markers in the denervated rat hippocampus. *J Neurochem* 65: 329-37
- Judd LL, Kessler RC, Paulus MP, Zeller PV, Wittchen HU, Kunovac JL (1998) Comorbidity as a fundamental feature of generalized anxiety disorders: results from the National Comorbidity Study (NCS). *Acta Psychiatr Scand Suppl* 393: 6-11
- Julien RM (1997) *Drogen und Psychopharmaka*. Spektrum Akademischer Verlag, Spektrum Akademischer Verlag
- Katchanov J, Harms C, Gertz K, Hauck L, Waeber C, Hirt L, Priller J, von Harsdorf R, Bruck W, Hortnagl H, Dirnagl U, Bhide PG, Endres M (2001) Mild cerebral ischemia induces loss of cyclin-dependent kinase inhibitors and activation of cell cycle machinery before delayed neuronal cell death. *J Neurosci* 21: 5045-53
- Keller MB (2000) Citalopram therapy for depression: a review of 10 years of European experience and data from U.S. clinical trials. *J Clin Psychiatry* 61: 896-908
- Kennett GA, Lightowler S, de Biasi V, Stevens NC, Wood MD, Tulloch IF, Blackburn TP (1994) Effect of chronic administration of selective 5-hydroxytryptamine and noradrenaline uptake inhibitors on a putative index of 5-HT_{2C/2B} receptor function. *Neuropharmacology* 33: 1581-8
- Kessler RC, Berglund P, Demler O, Jin R, Merikangas KR, Walters EE (2005a) Lifetime prevalence and age-of-onset distributions of DSM-IV disorders in the National Comorbidity Survey Replication. *Arch Gen Psychiatry* 62: 593-602
- Kessler RC, Chiu WT, Demler O, Merikangas KR, Walters EE (2005b) Prevalence, severity, and comorbidity of 12-month DSM-IV disorders in the National Comorbidity Survey Replication. *Arch Gen Psychiatry* 62: 617-27
- Koponen H, Lepola U, Leinonen E, Jokinen R, Penttinen J, Turtonen J (1997) Citalopram in the treatment of obsessive-compulsive disorder: an open pilot study. *Acta Psychiatr Scand* 96: 343-6
- Kruger H, Heinemann U, Luhmann HJ (1999) Effects of ionotropic glutamate receptor blockade and 5-HT_{1A} receptor activation on spreading depression in rat neocortical slices. *Neuroreport* 10: 2651-6

- Kuhn R (1958) The treatment of depressive states with G 22355 (imipramine hydrochloride). *Am J Psychiatry* 115: 459-64
- Kukley M, Schaper C, Becker A, Rose K, Krieglstein J (2001) Effect of 5-hydroxytryptamine 1A receptor agonist BAY X 3702 on BCL-2 and BAX proteins level in the ipsilateral cerebral cortex of rats after transient focal ischaemia. *Neuroscience* 107: 405-13
- Kung MP, Zhuang ZP, Frederick D, Kung HF (1994) In vivo binding of [123I]4-(2'-methoxyphenyl)-1-[2'-(N-2"-pyridinyl)-p-iodobenzamido]-ethyl-piperazine, p-MPPI, to 5-HT1A receptors in rat brain. *Synapse* 18: 359-66
- Kusserow H, Davies B, Hortnagl H, Voigt I, Stroh T, Bert B, Deng DR, Fink H, Veh RW, Theuring F (2004) Reduced anxiety-related behaviour in transgenic mice overexpressing serotonin 1A receptors. *Brain Res Mol Brain Res* 129: 104-16
- Lenze EJ, Mulsant BH, Shear MK, Dew MA, Miller MD, Pollock BG, Houck P, Tracey B, Reynolds CF, 3rd (2005) Efficacy and tolerability of citalopram in the treatment of late-life anxiety disorders: results from an 8-week randomized, placebo-controlled trial. *Am J Psychiatry* 162: 146-50
- Lepola UM, Wade AG, Leinonen EV, Koponen HJ, Frazer J, Sjodin I, Penttinen JT, Pedersen T, Lehto HJ (1998) A controlled, prospective, 1-year trial of citalopram in the treatment of panic disorder. *J Clin Psychiatry* 59: 528-34
- Leppavuori A, Pohjasvaara T, Vataja R, Kaste M, Erkinjuntti T (2003) Generalized anxiety disorders three to four months after ischemic stroke. *Cerebrovasc Dis* 16: 257-64
- Licinio J, Wong ML (2004) Back to where it all started: monoamines and behavior--from drug responses to genes. *Mol Psychiatry* 9: 427
- Lister RG (1987) The use of a plus-maze to measure anxiety in the mouse. *Psychopharmacology (Berl)* 92: 180-5
- Lister RG (1990) Ethologically-based animal models of anxiety disorders. *Pharmacol Ther* 46: 321-40
- Loomer HP, Saunders JC, Kline NS (1957) A clinical and pharmacodynamic evaluation of iproniazid as a psychotropic energizer. *Psychiatr Res Rep Am Psychiatr Assoc* 135: 129-41
- Maj J, Bijak M, Dziedzicka-Wasylewska M, Rogoz R, Rogoz Z, Skuza G, Tokarski T (1996) The effects of paroxetine given repeatedly on the 5-HT receptor subpopulations in the rat brain. *Psychopharmacology (Berl)* 127: 73-82
- Mamounas LA, Mullen CA, O'Hearn E, Molliver ME (1991) Dual serotonergic projections to forebrain in the rat: morphologically distinct 5-HT axon terminals exhibit differential vulnerability to neurotoxic amphetamine derivatives. *J Comp Neurol* 314: 558-86
- Manji HK, Drevets WC, Charney DS (2001) The cellular neurobiology of depression. *Nat Med* 7: 541-7
- Marinus J, Leentjens AF, Visser M, Stiggelbout AM, van Hilten JJ (2002) Evaluation of the hospital anxiety and depression scale in patients with Parkinson's disease. *Clin Neuropharmacol* 25: 318-24
- Mauler F, Fahrig T, Horvath E, Jork R (2001) Inhibition of evoked glutamate release by the neuroprotective 5-HT(1A) receptor agonist BAY x 3702 in vitro and in vivo. *Brain Res* 888: 150-157
- Melena J, Chidlow G, Osborne NN (2000) Blockade of voltage-sensitive Na(+) channels by the 5-HT(1A) receptor agonist 8-OH-DPAT: possible significance for neuroprotection. *Eur J Pharmacol* 406: 319-24
- Millan MJ (2003) The neurobiology and control of anxious states. *Prog Neurobiol* 70: 83-244
- Miyata S, Shimoi T, Hirano S, Yamada N, Hata Y, Yoshikawa N, Ohsawa M, Kamei J (2007) Effects of serotonergic anxiolytics on the freezing behavior in the elevated open-platform test in mice. *J Pharmacol Sci* 105: 272-8
- Möller (2005) *Psychiatrie und Psychotherapie*
- Möller H-J, Laux G, Deister A, Braun-Scharm H (2005) *Psychiatrie und Psychotherapie, 3., überarb. Aufl. edn.* Thieme, Thieme
- Murray F, Hutson PH (2007) Hippocampal Bcl-2 expression is selectively increased following chronic but not acute treatment with antidepressants, 5-HT(1A) or 5-HT(2C/2B) receptor antagonists. *Eur J Pharmacol* 569: 41-7
- Nagao T, Ibayashi S, Sadoshima S, Izumi J, Fujishima M (1995) Citalopram, a serotonin reuptake inhibitor, and brain ischemia in SHR. *Brain Res Bull* 38: 49-52
- Nakano S, Kogure K, Fujikura H (1990) Ischemia-induced slowly progressive neuronal damage in the rat brain. *Neuroscience* 38: 115-24
- Narushima K, Kosier JT, Robinson RG (2003) A reappraisal of poststroke depression, intra- and inter-hemispheric lesion location using meta-analysis. *J Neuropsychiatry Clin Neurosci* 15: 422-30

- Nutt DJ (2001) Neurobiological mechanisms in generalized anxiety disorder. *J Clin Psychiatry* 62 Suppl 11: 22-7; discussion 28
- Nutt DJ (2005) Overview of diagnosis and drug treatments of anxiety disorders. *CNS Spectr* 10: 49-56
- Nutt DJ, Ballenger JC, Sheehan D, Wittchen HU (2002) Generalized anxiety disorder: comorbidity, comparative biology and treatment. *Int J Neuropsychopharmacol* 5: 315-25
- Olausson P, Akesson P, Petersson A, Engel JA, Soderpalm B (2001) Behavioral and neurochemical consequences of repeated nicotine treatment in the serotonin-depleted rat. *Psychopharmacology (Berl)* 155: 348-61
- Otano A, Frechilla D, Cobreros A, Cruz-Orive LM, Insausti A, Insausti R, Hamon M, Del Rio J (1999) Anxiogenic-like effects and reduced stereological counting of immunolabelled 5-hydroxytryptamine₆ receptors in rat nucleus accumbens by antisense oligonucleotides. *Neuroscience* 92: 1001-9
- Overstreet DH, Knapp DJ, Angel RA, Navarro M, Breese GR (2006) Reduction in repeated ethanol-withdrawal-induced anxiety-like behavior by site-selective injections of 5-HT(1A) and 5-HT(2C) ligands. *Psychopharmacology (Berl)*
- Palacios JM, Waeber C, Hoyer D, Mengod G (1990) Distribution of serotonin receptors. *Ann N Y Acad Sci* 600: 36-52
- Parent A, Hazrati LN (1995a) Functional anatomy of the basal ganglia. I. The cortico-basal ganglia-thalamo-cortical loop. *Brain Res Brain Res Rev* 20: 91-127
- Parent A, Hazrati LN (1995b) Functional anatomy of the basal ganglia. II. The place of subthalamic nucleus and external pallidum in basal ganglia circuitry. *Brain Res Brain Res Rev* 20: 128-54
- Paxinos G, Franklin KBJ (2001) The mouse brain in stereotaxic coordinates, 2nd edn. Academic Press, Academic Press
- Pehek EA (1996) Local infusion of the serotonin antagonists ritanserin or ICS 205,930 increases in vivo dopamine release in the rat medial prefrontal cortex. *Synapse* 24: 12-8
- Perry KW, Fuller RW (1992) Effect of fluoxetine on serotonin and dopamine concentration in microdialysis fluid from rat striatum. *Life Sci* 50: 1683-90
- Pinheiro SH, Zangrossi H, Jr., Del-Ben CM, Graeff FG (2007) Elevated mazes as animal models of anxiety: effects of serotonergic agents. *An Acad Bras Cienc* 79: 71-85
- Pollack MH, Zaninelli R, Goddard A, McCafferty JP, Bellew KM, Burnham DB, Iyengar MK (2001) Paroxetine in the treatment of generalized anxiety disorder: results of a placebo-controlled, flexible-dosage trial. *J Clin Psychiatry* 62: 350-7
- Pompeiano M, Palacios JM, Mengod G (1992) Distribution and cellular localization of mRNA coding for 5-HT_{1A} receptor in the rat brain: correlation with receptor binding. *J Neurosci* 12: 440-53
- Pompeiano M, Palacios JM, Mengod G (1994) Distribution of the serotonin 5-HT₂ receptor family mRNAs: comparison between 5-HT_{2A} and 5-HT_{2C} receptors. *Brain Res Mol Brain Res* 23: 163-78
- Popoli M, Brunello N, Perez J, Racagni G (2000) Second messenger-regulated protein kinases in the brain: their functional role and the action of antidepressant drugs. *J Neurochem* 74: 21-33
- Quasted DJ, Sargent PA, Cowen PJ (1997) SSRI treatment decreases prolactin and hyperthermic responses to mCPP. *Psychopharmacology (Berl)* 133: 305-8
- Rang HP, Dale MM, Ritter JM (1999) Pharmacology, 4th edn. Churchill Livingstone, Churchill Livingstone
- Redgrave P, Prescott TJ, Gurney K (1999) The basal ganglia: a vertebrate solution to the selection problem? *Neuroscience* 89: 1009-23
- Renard CE, Fiocco AJ, Clenet F, Hascoet M, Bourin M (2001) Is dopamine implicated in the antidepressant-like effects of selective serotonin reuptake inhibitors in the mouse forced swimming test? *Psychopharmacology (Berl)* 159: 42-50
- Rex A, Thomas H, Hortnagl H, Voits M, Fink H (2003) Behavioural and microdialysis study after neurotoxic lesion of the dorsal raphe nucleus in rats. *Pharmacol Biochem Behav* 74: 587-93
- Richelson E, Nelson A (1984) Antagonism by neuroleptics of neurotransmitter receptors of normal human brain in vitro. *Eur J Pharmacol* 103: 197-204
- Roberts C, Belenguer A, Middlemiss DN, Routledge C (1998) Differential effects of 5-HT_{1B/1D} receptor antagonists in dorsal and median raphe innervated brain regions. *Eur J Pharmacol* 346: 175-80
- Robinson RG (1997) Neuropsychiatric consequences of stroke. *Annu Rev Med* 48: 217-29
- Robinson TE, Becker JB, Ramirez VD (1980) Sex differences in amphetamine-elicited rotational behavior and the lateralization of striatal dopamine in rats. *Brain Res Bull* 5: 539-45
- Rodgers RJ, Cao BJ, Dalvi A, Holmes A (1997) Animal models of anxiety: an ethological perspective. *Braz J Med Biol Res* 30: 289-304

- Sabol KE, Richards JB, Seiden LS (1992) Fenfluramine-induced increases in extracellular hippocampal serotonin are progressively attenuated in vivo during a four-day fenfluramine regimen in rats. *Brain Res* 571: 64-72
- Santarelli L, Saxe M, Gross C, Surget A, Battaglia F, Dulawa S, Weisstaub N, Lee J, Duman R, Arancio O, Belzung C, Hen R (2003) Requirement of hippocampal neurogenesis for the behavioral effects of antidepressants. *Science* 301: 805-9
- Schaper C, Zhu Y, Kouklei M, Culmsee C, Kriegstein J (2000) Stimulation of 5-HT(1A) receptors reduces apoptosis after transient forebrain ischemia in the rat. *Brain Res* 883: 41-50
- Schildkraut JJ (1965) The catecholamine hypothesis of affective disorders: a review of supporting evidence. *Am J Psychiatry* 122: 509-22
- Schneider LH, Murphy RB, Coons EE (1982) Lateralization of striatal dopamine (D2) receptors in normal rats. *Neurosci Lett* 33: 281-4
- Schwartz RK, Thiel CM, Muller CP, Huston JP (1998) Relationship between anxiety and serotonin in the ventral striatum. *Neuroreport* 9: 1025-9
- Schwedt G (1996) *Taschenatlas der Analytik, 2., überarb. und erw. Aufl. edn.* Georg Thieme Verl., Georg Thieme Verl.
- Semkova I, Wolz P, Kriegstein J (1998) Neuroprotective effect of 5-HT1A receptor agonist, Bay X 3702, demonstrated in vitro and in vivo. *Eur J Pharmacol* 359: 251-60
- Shaskan EG, Snyder SH (1970) Kinetics of serotonin accumulation into slices from rat brain: relationship to catecholamine uptake. *J Pharmacol Exp Ther* 175: 404-18
- Shiba M, Bower JH, Maraganore DM, McDonnell SK, Peterson BJ, Ahlskog JE, Schaid DJ, Rocca WA (2000) Anxiety disorders and depressive disorders preceding Parkinson's disease: a case-control study. *Mov Disord* 15: 669-77
- Shishkina GT, Kalinina TS, Dygalo NN (2007) Up-regulation of tryptophan hydroxylase-2 mRNA in the rat brain by chronic fluoxetine treatment correlates with its antidepressant effect. *Neuroscience* 150: 404-12
- Singh JK, Chromy BA, Boyers MJ, Dawson G, Banerjee P (1996) Induction of the serotonin1A receptor in neuronal cells during prolonged stress and degeneration. *J Neurochem* 66: 2361-72
- Sotelo C, Cholley B, El Mestikawy S, Gozlan H, Hamon M (1990) Direct Immunohistochemical Evidence of the Existence of 5-HT1A Autoreceptors on Serotonergic Neurons in the Midbrain Raphe Nuclei. *Eur J Neurosci* 2: 1144-1154
- Sprouse JS, Aghajanian GK (1987) Electrophysiological responses of serotonergic dorsal raphe neurons to 5-HT1A and 5-HT1B agonists. *Synapse* 1: 3-9
- Starkstein SE, Cohen BS, Fedoroff P, Parikh RM, Price TR, Robinson RG (1990) Relationship between anxiety disorders and depressive disorders in patients with cerebrovascular injury. *Arch Gen Psychiatry* 47: 246-51
- Stein DJ, Montgomery SA, Kasper S, Tanghøj P (2001) Predictors of response to pharmacotherapy with citalopram in obsessive-compulsive disorder. *Int Clin Psychopharmacol* 16: 357-61
- Stein MB, Kirk P, Prabhu V, Grott M, Terepa M (1995) Mixed anxiety-depression in a primary-care clinic. *J Affect Disord* 34: 79-84
- Strobel A, Gutknecht L, Rothe C, Reif A, Mossner R, Zeng Y, Brocke B, Lesch KP (2003) Allelic variation in 5-HT1A receptor expression is associated with anxiety- and depression-related personality traits. *J Neural Transm* 110: 1445-53
- Tamura A, Kirino T, Sano K, Takagi K, Oka H (1990) Atrophy of the ipsilateral substantia nigra following middle cerebral artery occlusion in the rat. *Brain Res* 510: 154-7
- Thiel CM, Schwartz RK (2001) Dopaminergic lateralisation in the forebrain: relations to behavioural asymmetries and anxiety in male Wistar rats. *Neuropsychobiology* 43: 192-9
- Torup L, Møller A, Sager TN, Diemer NH (2000) Neuroprotective effect of 8-OH-DPAT in global cerebral ischemia assessed by stereological cell counting. *Eur J Pharmacol* 395: 137-41
- Uhlenhuth EH, Balter MB, Ban TA, Yang K (1999) Trends in recommendations for the pharmacotherapy of anxiety disorders by an international expert panel, 1992-1997. *Eur Neuropsychopharmacol* 9 Suppl 6: S393-8
- Varia I, Rauscher F (2002) Treatment of generalized anxiety disorder with citalopram. *Int Clin Psychopharmacol* 17: 103-7
- Vetulani J, Nalepa I (2000) Antidepressants: past, present and future. *Eur J Pharmacol* 405: 351-63

- Wade AG, Lepola U, Koponen HJ, Pedersen V, Pedersen T (1997) The effect of citalopram in panic disorder. *Br J Psychiatry* 170: 549-53
- Wang SH, Zhang ZJ, Guo YJ, Teng GJ, Chen BA (2008) Hippocampal neurogenesis and behavioural studies on adult ischemic rat response to chronic mild stress. *Behav Brain Res* 189: 9-16
- Willner P (1984) The validity of animal models of depression. *Psychopharmacology (Berl)* 83: 1-16
- Winter B, Juckel G, Viktorov I, Katchanov J, Gietz A, Sohr R, Balkaya M, Hortnagl H, Endres M (2005) Anxious and hyperactive phenotype following brief ischemic episodes in mice. *Biol Psychiatry* 57: 1166-75
- Wittchen HU, Carter RM, Pfister H, Montgomery SA, Kessler RC (2000) Disabilities and quality of life in pure and comorbid generalized anxiety disorder and major depression in a national survey. *Int Clin Psychopharmacol* 15: 319-28
- Wittchen HU, Zhao S, Kessler RC, Eaton WW (1994) DSM-III-R generalized anxiety disorder in the National Comorbidity Survey. *Arch Gen Psychiatry* 51: 355-64
- Wong ML, Licinio J (2001) Research and treatment approaches to depression. *Nat Rev Neurosci* 2: 343-51
- Wu JC, Buchsbaum MS, Hershey TG, Hazlett E, Sicotte N, Johnson JC (1991) PET in generalized anxiety disorder. *Biol Psychiatry* 29: 1181-99
- Yuan J, Yankner BA (2000) Apoptosis in the nervous system. *Nature* 407: 802-9
- Zhang R, Xue YY, Lu SD, Wang Y, Zhang LM, Huang YL, Signore AP, Chen J, Sun FY (2006) Bcl-2 enhances neurogenesis and inhibits apoptosis of newborn neurons in adult rat brain following a transient middle cerebral artery occlusion. *Neurobiol Dis* 24: 345-56
- Zhao F, Kuroiwa T, Miyasaka N, Nagaoka T, Nakane M, Tamura A, Mizusawa H (2002) Ultrastructural and MRI study of the substantia nigra evolving exofocal post-ischemic neuronal death in the rat. *Neuropathology* 22: 91-105

Eidesstattliche Erklärung

„Ich, Björn Kampmann, geboren am 27. 11. 1979 in Hamburg erkläre, dass ich die vorgelegte Dissertationsschrift mit dem Thema: „Wirkung chronischer Behandlung mit Citalopram in einem Schlaganfallmodell der Maus“ selbst verfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel benutzt, ohne die (unzulässige) Hilfe Dritter verfasst und auch in Teilen keine Kopien anderer Arbeiten dargestellt habe.“

Björn Kampmann

Berlin, den 26.November 2008

Lebenslauf

Mein Lebenslauf wird aus Datenschutzgründen in der elektronischen Version meiner Arbeit nicht mit veröffentlicht.

Danksagung

Ich bedanke mich herzlich bei Frau Prof. Dr. Heide Hörtnagl für die Möglichkeit zur Durchführung der Promotionsarbeit im Institut für Pharmakologie und für die Präparation der Hirnregionen. Insbesondere danke ich jedoch für ihre Geduld, ihr reges Interesse und die stetige Unterstützung, welche unersetzlich für den Fortschritt der Arbeit waren.

Herrn Dr. Reinhard Soor danke ich für die ausgezeichnete technische und moralische Unterstützung bei der HPLC-Analyse.

Frau Astrid Arnswald möchte ich für die gute Einführung in die Laborarbeit danken.

Bei Herrn Prof. Dr. Matthias Endres und der Arbeitsgruppe Endres möchte ich mich für die Möglichkeit bedanken, mich in die Forschung zur Poststroke Depression einbringen zu dürfen. Hierbei gilt mein besonderer Dank Herrn Mustafa Balkaya für die Durchführung der Verhaltensexperimente, die Behandlung der Tiere, sowie den Austausch der Ergebnisse.

Besonders möchte ich mich bei meinen Eltern für die Unterstützung und den ständigen Zuspruch während des Schreibens der Dissertation bedanken.