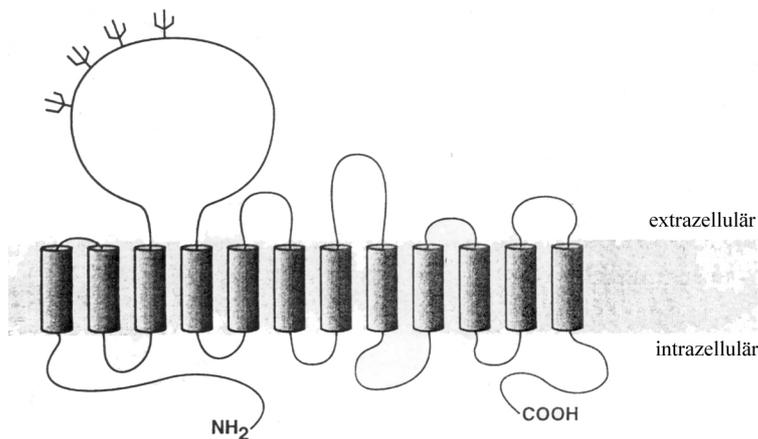


Abbildung 6

Die Struktur des DAT



Der DAT ist ein Protein mit 12 transmembranen Segmenten sowie fünf intra- und sechs extrazellulären Domänen. Carboxyl- und Aminoende liegen im Zytosol, die zweite extrazelluläre Schleife enthält vier Stellen für eine N-Glycosylierung.

Abbildung nach POVLOC u. AMARA (1997)

2.1.3.8.3. Transportfunktion und elektrophysiologische Eigenschaften des DAT

Der DAT gehört zu der Familie der Na^+ - und Cl^- -abhängigen Membrantransporter, d.h. der Uptake-Prozess wird durch die Translokation von einem DA-Molekül, zwei Na^+ - und einem Cl^- -Ion durch die Membran bestimmt. Die Bindung von Na^+ , Cl^- und DA an den DAT erfolgt dabei genau in dieser Reihenfolge, wobei sich nach Na^+ -Bindung die DA-Affinität des DAT erhöht (aktivierter Zustand). Der Substrattransport ist energetisch an den transmembranen Na^+ -Konzentrationsgradienten gebunden. Da dieser unter physiologischen Bedingungen einwärts gerichtet ist (intrazellulär geringere Na^+ -Konzentration als extrazellulär), dominiert dementsprechend die DA-Aufnahme-Funktion des DAT. (McELVAIN u. SCHENK, 1992; EDVARDBSEN u. DAHL, 1994). Den Cl^- -Ionen wird nach HITRI et al. (1994) eine den Uptake-Prozess erleichternde Funktion zugesprochen. Durch die Membran transportierte Ionen und Substrat werden intrazellulär freigesetzt, K^+ an den DAT gebunden und aus der Zelle geschleust, womit ein deaktivierter DAT-Zustand erreicht wird. Die folgende Aktivität der Na^+/K^+ -ATP-ase führt zur Wiederherstellung des Ionengradienten und damit zu einer DAT-Regeneration.

Bestimmungen der Umsetzungsrate von humanen DAT am *in vitro* Oozyten-Modell ergaben, dass der DAT mit 0,47 DA-Molekülen/ sec relativ langsam arbeitet und demzufolge in Terminalregionen in ausreichend hoher Dichte vorkommen muss, um die extrazelluläre DA-Konzentration effektiv beeinflussen zu können (SONDERS et al., 1997). Die Dichte der striatalen DAT wird in der Literatur mit sehr unterschiedlichen Werten angegeben (0,4 bis 16,5 pmol/ mg Protein). Ausgehend von durchschnittlich 5,9 pmol/ mg

Protein errechneten GARRIS et al. (1994) die Anzahl der DAT pro dopaminergem Synapse im Nacc mit 1750.

Unter bestimmten Bedingungen kann der DAT auch Release-Funktion übernehmen. Dazu gehört ein umgekehrter Ionengradient mit z.B. erniedrigten extrazellulären Na^+ - und/ oder Cl^- -Konzentrationen (HURD u. UNGERSTEDT, 1989; SITGES et al., 1994). Weiterhin ist frei im Zytoplasma verfügbares DA notwendig. Ursachen dafür sind eine erhöhte DA-Synthese, verringerter DA-Metabolismus oder Freisetzung von DA aus den synaptischen Vesikeln. Ein vesikuläres „Auslaufen“ ist z.B. nach Wirkung schwacher Basen wie Amphetamin zu verzeichnen, indem es zur Erniedrigung des Vesikelmembran-Protonengradienten kommt (SULZER et al., 1993). SONDERS et al. (1997) vermuten zusätzlich einen Austauschmechanismus, der neben den intrazellulären Wirkungen den DAT direkt mit einschließt. Die physiologische Bedeutung der transporter-vermittelten Transmitterfreisetzung ist noch weitgehend ungeklärt. Einige Pharmaka jedoch entwickeln ihre Wirkung über diesen Mechanismus. Dazu gehören z.B. Amphetamin und „Ecstasy“ sowie das Anoretikum Fenfluramin. Ischämie ist ebenso ein pathologischer Zustand, der Carrier-vermittelten Release verändern kann. Es ist nicht auszuschließen, dass diese Form des Transmitter-Releases einen wichtigen kompensatorischen Mechanismus darstellt (LEVI u. RAITERI, 1993).

Elektrophysiologische Untersuchungen von Transporterproteinen konnten zeigen, dass die mit dem Na^+ -gekoppelten Substrattransport auftretenden Ströme nicht der Nettoladung von Ion und Substrat entsprechen (POVLOCK u. AMARA, 1997). Diese Ergebnisse unterstützen ein Konzept, nach dem Transporter bekannte Eigenschaften mit Ionenkanälen teilen (DE FELICE u. BLAKELY, 1996). Unter Voltage-Clamp-Konditionen an DAT-exprimierenden *Xenopus* Oozyten wurden von SONDERS et al. (1997) die elektrogenen Eigenschaften des DAT genauer charakterisiert. Neben dem mit der Substratbewegung vermittelten Ionenfluss sind zwei weitere DAT-gebundene Ströme messbar. Zum einen ein transportassoziiertes Ionenstrom und zum anderen ein tonischer Leckstrom. Die Tatsache, dass sowohl DA als auch Kokain und andere DAT-Substrate eine Leitfähigkeitsveränderung infolge Unterbindung dieses Leckstromes bewirken, ist unter Na^+ -abhängigen Kotransportern ein seltenes Phänomen. Es ist somit anzunehmen, dass Substanzen mit Angriffsort DAT, wie auch Kokain, die Neurone neben der Regulation des extrazellulären DA auch direkt durch Veränderung der elektrischen Eigenschaften

beeinflussen (SONDERS et al., 1997; 1996; POVLOCK u. AMARA, 1997). Diese Leckstromblockade könnte Psychostimulanzien weiterhin einer direkten Einflussnahme auf die intrazelluläre pH-Homöostase befähigen (SONDERS et al., 1997). Konsequenz dieser Eigenschaften wäre auch, dass durch transportervermittelte Veränderungen des Membranpotentials, ähnlich Autorezeptoren, direkt intrazelluläre Signalkaskaden aktiviert werden (POVLOCK u. AMARA, 1997). Für den Glutamattransport wurde z.B. durch VILLALOBOS u. GARCIA-SANCHO (1995) eine Abhängigkeit von Depolarisation der Zelle und Aktivierung von Kalziumkanälen gezeigt. POVLOCK u. AMARA (1997) sehen diese Studien als Unterstützung für die Hypothese, dass transportervermittelte Ströme das Membranpotential verändern können und ihnen somit wahrscheinlich eine umfangreichere Funktion für die Regulation der Transmitteraktion im ZNS zugesprochen werden muss.

SONDERS et al. (1997) und ZAHNISER et al. (1998) konnten *in vitro* an Oozyten bzw. SNc-Schnitten eine Spannungsabhängigkeit der DAT-Aktivität nachweisen. Demnach führt eine Hyperpolarisation der Membran zu einer Steigerung, Depolarisation zu einer Verringerung der Transportgeschwindigkeit. Eine Depolarisation von 30 mV führte zu einer 25 %-igen Verringerung der DA-Clearance (SONDERS et al., 1997). Die DAT-Spannungsabhängigkeit wird von mehreren Autoren in Zusammenhang eines D₂-Rezeptor-vermittelten Mechanismus diskutiert (DICKINSON et al., 1999; SONDERS et al., 1997; ZHU et al., 1997).

2.1.3.8.4. Substrate und Inhibitoren des DAT

Außer DA zählt man solche Stoffe zu Substraten des DAT, die strukturelle DA-Ähnlichkeit besitzen und infolgedessen wie dieses transportiert werden. Sie hemmen somit kompetitiv die Bindung von DA. Zu dieser Gruppe gehören z.B. die Amin-Inhibitoren: Amphetamin, Tyramin und Octopamin (HITRI, et al., 1994). Das Neurotoxin 1-methyl-4-phenylpyridinium (MPP⁺) wird ebenfalls vom DAT als Substrat gebunden und transportiert. Es führt zur irreversiblen Degeneration der Zelle und findet als MPTP-Modell des MP experimentelle Anwendung (SNYDER u. D'AMATO, 1986). Während z.B. der Noradrenalintransporter neben Noradrenalin auch DA transportiert, besitzt der DAT höhere Substratspezifität und ist kein effizienter Carrier anderer biogener Amine (GIROS et al., 1992).

DAT-Inhibitoren ohne DA-ähnliche Struktur werden an den DAT gebunden, aber nicht transportiert. Sie blockieren den DA-Transport durch Inhibition a) der DA-Bindung sowie b) der DAT-Translokation durch die Membran. Zu dieser Gruppe zählen z.B. Kokain und seine Analoga (WIN 35,428; WIN 35,065; RTI-55; RTI-121), die Piperazinderivate (GBR 12909; GBR 12935; LR 1111) sowie Nomifensin und Mazindol (HITRI, et al., 1994).

Neben der Unterscheidung nach Strukturähnlichkeit definieren BOJA et al. (1995) die Liganden zum einen nach hoch- und niederaffin bindend und zum anderen ausschließlich hochaffin bindenden Substanzen. Zur letzteren Gruppe gehören Mazindol, Nomifensin, Methylphenidat, die Piperazinderivate GBR 12909 und GBR 12935. Hoch- und niederaffinen Bindungscharakter zeigen z.B. Kokain sowie die Kokainanaloga WIN 35,428 und RTI-55.

ROTHMAN (1990) nimmt eine weitere Untergliederung vor in 1) Euphorie und Abhängigkeit hervorrufende Inhibitoren, wie Kokain und 2) Inhibitoren ohne Euphoriewirkung und geringem Abhängigkeitspotential (z.B. Mazindol, Bupropion, Methylphenidat).

Untersuchungen zu Bindungsmechanismen des DAT und Anzahl der Bindungsstellen sind besonders in den letzten Jahren in den Mittelpunkt des Interesses gerückt. Hinweise auf verschiedene Domänen für die Kokain- und DA-Bindung bzw. DA-Transport unterstützen eine zukünftig mögliche Therapie der Kokainabhängigkeit durch kompetitive Kokain-Inhibitoren (Kokain-Antagonisten), ohne gleichzeitige Inhibition des DA-Uptakes (HITRI et al., 1994; CAROLL et al., 1997). Eine Aufklärung der Ligand-Protein-Interaktionen und damit der DAT-Funktion ist demnach von essentiell klinischer Bedeutung. Die zu Grunde liegenden molekularen Mechanismen von Bindung, Blockade, Transport sowie Anzahl der Bindungsstellen sind noch weitgehend unklar.

Entsprechend der Liganden werden eine einzelne, mehrere oder sich überlappende Bindungsstellen diskutiert und für einen Liganden zum Teil hoch- und niederaffine Bindungseigenschaften angenommen. So beschreiben z.B. REITH u. SELMECI (1992) eine einzelne hochaffine Bindungsstelle für Kokain, Mazindol und GBR-12935. BOJA et al. (1995) z.B. formuliert die mögliche Existenz untereinander wechselnder Affinitätszustände, im Gegensatz zu verschiedenen Bindungsstellen.

2.1.3.8.5. Regulation und Beeinträchtigung der DAT-Funktion

In den vergangenen Jahren wurden verschiedene Mechanismen erkannt, die die DAT-Aktivität und- Expression regulieren bzw. beeinflussen können. Auf Grund der zentralen Bedeutung des DAT für die dopaminerge Transmission beschreibt dessen Regulation ein weiteres Beispiel von Neuroplastizität, die zu einer schnellen Veränderung der synaptischen Transmission und zu Langzeitveränderungen nach z.B. chronischer Medikation beitragen könnte (DICKINSON et al., 1999).

a) Rolle des D₂- Rezeptors

Die Release-inhibierende Funktion der an dopaminergen Terminalen lokalisierten Autorezeptoren ist bekannt. Neueren Studien zufolge scheint der D₂-Rezeptor mit Beeinflussung der DAT-Funktion auf einer weiteren effektiven Ebene die dopaminerge Transmission direkt zu modulieren. MEIERGERD und Koautoren (1993) fanden in ihren *in vitro* und *in vivo* Untersuchungen eine erhöhte Transportgeschwindigkeit der DAT nach D₂-Stimulation durch einen Agonisten bzw. einen gegenteiligen Effekt nach Anwendung eines Antagonisten. Die Ergebnisse von DICKINSON et al. (1999) unterstützen eine besondere Rolle der D₂-Rezeptoren in Bezug auf die DAT-Funktion. An genetisch veränderten Mäusen mit a) einem Mangel an D₂ (D₂^{+/-}) und b) totalem Verlust an D₂ (D₂^{-/-}) konnten sie nachweisen, dass bei unverändertem DA-Release und gleichbleibender DAT-Dichte im Vergleich zu Kontrolltieren (D₂^{+/+}) die striatale DAT-Aktivität verändert ist. Demnach zeigen D₂^{-/-}-Tiere eine um 50 % verringerte DA-Clearancerate als Kontrollen. Da auch bei D₂^{+/-}-Mäusen die DA-Wiederaufnahme verlangsamt ist, gehen die Autoren davon aus, dass ein D₂-Verlust von 50 % die DAT-Funktion maßgeblich beeinflusst.

Ein möglicher Mechanismus dieser Modulation könnte der Spannungsabhängigkeit der DAT zu Grunde liegen. Die Stimulation von D₂- Rezeptoren führt zu einer Öffnung von K⁺-Kanälen mit einwärtsgerichtetem K⁺-Strom und resultierender Membranhyperpolarisation. Diese könnte rückwirkend auf den DAT dessen Geschwindigkeit und damit den DA-Uptake erhöhen (SONDERS et al., 1997; DICKINSON et al., 1999; ZAHNISER et al., 1998).

Weiterhin führen DICKINSON et al. (1999) die Möglichkeit einer D₂-vermittelten DAT-Aktivitätsänderung über Signaltransduktionskaskaden und Veränderung der DAT-Phosphorylierung an. Einen Hinweis dafür erbringt die Studie von MAYFIELD u.

ZAHNISER (2001). Die D₂-vermittelte Hochregulation der DAT-Aktivität zeigte Abhängigkeit von einer G-Protein-Aktivierung und schnellen Erhöhung der DAT-Expression an der Zelloberfläche. Eine Spannungsabhängigkeit des DAT konnte in dieser Studie nicht bestätigt werden.

b) Bedeutung von Proteinkinasen, NO und O₂-Radikalen

Die Phosphorylierung des DAT wird als bedeutender Mechanismus für dessen Aktivitätsregulation diskutiert (ZAHNISER, 1997). Der humane DAT besitzt zwei Phosphorylierungsstellen durch Proteinkinase C. ZHU et al. (1997) konnten nachweisen, dass eine Aktivierung von Proteinkinase C die DAT-assoziierten Ströme hemmt und den DA-Uptake merklich verringert. Ein Uptake-inhibierender Einfluss durch O₂-Radikale (FLECKENSTEIN et al., 1997) ist ebenfalls gezeigt worden. Anhand striataler Synaptosomenpräparationen charakterisierten POGUN et al. (1994) NO als DA-Uptake-Hemmer. Da die NO-Synthese unter anderem von einer Glutamat-Rezeptor-Stimulation abhängt und die Glutamat-, und DA-Transmission im STR in besonderer funktioneller Beziehung stehen, diskutieren die Autoren die NO-vermittelte DA-Uptake-Blockade als einen möglicherweise bedeutsamen physiologischen Mechanismus.

c) Krankheitsbedingte Veränderungen des DAT

1. Morbus Parkinson (MP)

Der MP ist durch die Degeneration dopaminerger Neurone vorrangig in der SNc und daraus resultierend durch einen DA-Mangel im STR (ca. 80 % bei Auftreten der Symptomatik) gekennzeichnet. Die Ätiologie der Erkrankung ist bis heute unbekannt. Es bestehen Hinweise, nach denen genetische Dispositionen sowie Umwelteinflüsse eine besondere Rolle spielen (LE COUTEUR et al., 1997).

Die Frage nach Bedeutung der DAT in der MP-Ätiologie begann mit der Etablierung des MPTP-Modells zur Simulation des MP interessant zu werden (ZIGMOND u. STRICKER, 1989). Der Metabolit MPP⁺ gelangt über den DAT in die Zelle und führt durch Hemmung der Atmungskette (SINGER u. RAMSEY, 1990) und Bildung freier Radikale zu Zell-Degenerationen (CLEETER et al., 1992; TIPTON u. SINGER, 1993). Der DAT und das DAT-Gen sind daher naheliegende ätiologische Komponenten für den MP, da sie das Potential besitzen, die Empfindlichkeit der Zelle für Neurotoxine zu verändern (LE COUTEUR et al., 1997).

Das DAT-Gen besitzt eine variable Anzahl von Tandemwiederholungen (variable number tandem repeat, VNTR) in der 3. nichttranslatierten Region (VANDENBERG et al., 1992). LE COUTEUR et al. (1997) schlussfolgern aus ihren Untersuchungen des VNTR, dass das Auftreten des 11-copy-Allel des DAT-Gens bei Personen das Risiko für eine Erkrankung an MP substantiell erhöht. Diskutierte Mechanismen der Autoren sind a) eine genetische Verbindung des 11-copy-Polymorphismus zu anderen Mutationen, b) eine direkte Beeinflussung der Genexpression (Erhöhte Expression des DAT mit resultierendem erhöhtem Nettotransport von MPP⁺-ähnlichen Substanzen in die Terminalen) und c) eine verlangsamte Aktivität der DAT mit folgender extrazellulärer DA-Anreicherung und resultierender oxydativer Schädigung der Zellen.

BEZARD et al. (1999) unterstreichen eine entscheidende Rolle der DAT in der Ätiologie des MP mit der Erkenntnis, dass der Grad des dopaminergen Zellverlustes in der SNc nach MPTP-Behandlung von der DAT-Anzahl abhängig ist. Während bei homozygoten Mäusen mit genetischem Verlust des DAT keine Zelldegeneration nach MPTP-Behandlung in der SNc feststellbar war, zeigte sich bei heterozygoten Tieren bzw. beim Wildtyp ein Zellverlust von 22,5 % bzw. 34,4 %. Die Autoren vermuten daher eine mögliche Beziehung zwischen individuell unterschiedlicher Entwicklung des MP bei Patienten und Unterschieden in der Toxinaufnahme durch die DAT.

Weiterhin konnten Veränderungen des DA-Uptakes nach dopaminergem Neurotransplantation als Therapiestrategie festgestellt werden. *In vivo* (REUM et al., 1995) als auch *in vitro* Untersuchungen (SCHÄFER et al., 1995a) zeigten bei unilateral lädierten (6-Hydroxydopamine, 6-OHDA) und transplantierten Tieren eine verringerte hochaffine DA-Uptakrate im kontralateralen, nichtlädierten STR sowie eine reduzierte Anzahl von DAT (SCHÄFER et al., 1995b). MARBURGER (1996) charakterisierte im Ergebnis ihrer Untersuchungen den verringerten DA-Uptake als läsionsunabhängigen Transplantateffekt, der sowohl im kontralateralen, als auch im transplantierten STR nachzuweisen ist. Eine Hochregulation des hochaffinen DA-Uptakes ist von CASS et al. (1995) nach unilateraler MPTP-Läsion bei Affen im kontralateralen STR gezeigt worden. Die Autoren spekulieren über einen möglichen kompensatorischen Effekt zur Aufrechterhaltung der Homöostase zwischen beiden Hirnhälften.

2. Gilles de la Tourette-Syndrom

Das Gilles de la Tourette-Syndrom ist eine neuropsychiatrische Erkrankung, die durch Zwangsbewegungen und Zwangsvokalisation gekennzeichnet ist. Pathophysiologisch wird unter anderem eine Dysfunktion der dopaminergen Transmission angenommen, da Pharmaka, die die DA-Synthese bzw. DA-Akkumulation hemmen, therapeutisch wirksam sind (SHAPIRO et al., 1989; SINGER et al., 1986). Weiterhin ist der Gehalt von DA-Metaboliten in der Zerebrospinalflüssigkeit erniedrigt (BUTLER et al., 1979). In einer Studie an Zwillingen konnte festgestellt werden, dass die Schwere der Symptomatik mit unterschiedlicher D₂-Rezeptor-Verfügbarkeit im Caudatum korreliert und eine Hypersensitivität von DA-Rezeptoren bedeutsam sein könnte (WOLF et al., 1996).

Eine Beeinträchtigung des DAT bzw. eine Involvierung des DAT-Gens könnte ebenfalls von ätiologischer Bedeutung sein (GIROS u. CARON, 1993). Ergebnisse hinsichtlich DAT-Veränderungen beim Tourette-Syndrom sind allerdings widersprüchlich. So wurde bei Postmortem- sowie SPECT-Studien eine erhöhte Anzahl der DAT im STR festgestellt (SINGER et al., 1991; MALISON et al., 1995). Dagegen konnten HEINZ et al. (1998) ebenfalls unter Anwendung des SPECT-Verfahrens an Tourette-Patienten eine Veränderung der DAT-Bindung im STR nicht bestätigen.

3. Drogenmissbrauch/ Abhängigkeit

Das Potential des Missbrauchs vieler Rausch- bzw. Arzneimittel liegt in ihrer stimulierenden, euphorisierenden oder sedativen Wirkung und damit der zweifelhaften Möglichkeit, Stress jeglicher Form zu begegnen. Neurochemisch liegt diesen Wirkungen eine Stimulierung des zentralen Belohnungssystems zu Grunde, bei welchem das mesolimbische DA-System eine herausragende Rolle spielt. Andauernder Drogenkonsum resultiert in adaptiven/ kompensatorischen Veränderungen innerhalb des DA- aber auch anderer Transmittersysteme, die für die abhängigkeitstypischen Verhaltensmuster verantwortlich gemacht werden. Die zentrale Bedeutung des DA-Systems für das Phänomen der Drogenabhängigkeit resultiert aus der Tatsache, dass sämtliche Drogen nach chronischer Einnahme zu funktionellen Veränderungen des DA-Systems führen (NESTLER, 1996). Im Folgenden wird am Beispiel der Alkohol- und Kokainabhängigkeit ein kurzer Abriss über die Rolle von DA bzw. des DAT innerhalb des Abhängigkeitsgeschehens gegeben.

a) Alkoholismus

Im Gegensatz zur früheren Auffassung, nach der Ethanol seine Wirkung unspezifisch auf Membranlipide entfaltet, geht man heute von einer selektiven Beeinflussung von Transmissionsprozessen aus (TABAKOFF u. HOFFMANN, 1996). Neben der GABA-, Glutamat-, Opioid-, Cortikotropin-Releasing-Faktor-, (CRF) und 5-HT-Transmission scheint das DA-System eine besondere Rolle für die Pathogenese der Alkoholabhängigkeit zu spielen (KOOB, 1994).

Hinsichtlich der Alkoholpräferenz zeigen sich individuelle Unterschiede sowohl bei Versuchstieren als auch beim Menschen. McBRIDGE et al. (1990) fanden im Gehirn eines alkoholpräferierenden Rattenstammes im Gegensatz zu nichtpräferierenden Kontrollen erniedrigte DA- und 5-HT-Gehalte. Es ist bekannt, dass Ethanol den DA-Release im STR stimuliert (IMPERATO u. DI CHIARA, 1986) und chronische Alkoholexposition zu einer Abnahme der D₁-Rezeptordichte (GILI-MARTIN et al., 1997) sowie D₂-Rezeptordichte und -affinität im STR führt (HIETALA et al., 1994). Mit Beginn des Entzuges findet sich somit eine Ineffektivität der DA-Transmission (HEINZ et al., 1994): a) Verringerung der Feuerungsrate mesolimbischer Neurone sowie der extrazellulären DA-Konzentration im STR infolge fehlender Stimulation durch Ethanol (DIANA et al., 1993; WEISS et al., 1996) und b) mangelnde Rezeptorstimulation durch eine verzögerte Hochregulation der D₂-Rezeptordichte (ROMMELSPACHER, 1992). Diese Transmissionsstörung könnte die Entzugssymptomatik, wie die starke Sehnsucht nach Alkohol und die dysphorische Gemütsverfassung, mitbewirken (DIANA et al., 1992). Die Existenz eines Zusammenhangs zwischen Behandlungserfolg von Alkoholabhängigen und Dauer der Normalisierung der DA-Transmission nach Entgiftung konnten HEINZ et al. (1995) nachweisen. Bei Respondern zeigten sich bereits innerhalb von 24 Stunden nach Entzug Veränderungen in der DA-Transmission, während sich bei Nichtrespondern diese Effekte erst mit dem achten Entzugstag einstellten, was als neurochemische Basis das erhöhte Rückfallrisiko dieser Patientengruppe erklären könnte (HEINZ et al., 1995).

Die Bedeutung des DAT als möglichen Marker für eine individuelle Neigung zu Alkoholmissbrauch diskutieren MASH et al. (1995) als Ergebnis ihrer Studie, nach der bei abstinenten alkoholpräferierenden Vervet-Affen die DAT-Dichte im STR stark erhöht ist, im Vergleich zur Alkohol-nichtpräferierenden Tieren. Chronische Alkoholexposition verringerte die DAT-Dichte auf Kontrollwerte, mit folgendem Alkoholentzug nahm die

Dichte erneut zu. Eine Studie unter Anwendung des SPECT-Imagingverfahrens bei Alkoholikern zeigte eine Korrelation von DAT-Dichte und Disposition zu Alkoholmissbrauch bzw. Rückfallneigung (TIHONEN et al., 1995). ROTHBLAT et al. (2001) fanden bei Untersuchungen an Ratten eine um 60 % erhöhte DAT-Zahl nach chronischer Alkoholexposition. Einen Hinweis für genetische Faktoren verbunden mit dem DAT fanden MURAMATSU u. HIGUCHI (1995). So war bei Alkoholikern mit inaktiver Aldehyd-Dehydrogenase-2 (ALDH2), als Risikofaktor für Alkoholismus, ein häufigeres Auftreten des 7-Repeat-Allels des DAT1-VNTR im Vergleich zu Patienten mit nichtmutiertem ALDH2-Allel zu verzeichnen.

b) Kokainabhängigkeit

Kokain ist ein Inhibitor des DAT und somit der synaptosomalen Wiederaufnahme von DA. Die DAT-Hemmung führt so zur Transmitterakkumulation in der Synapse. Die intravenöse Applikation von Kokain ist mit einer DA-Anreicherung in Regionen wie STR und Nacc verbunden (MADRAS, 1997). Die motorische Aktivierung sowie positive Verstärkung, hervorgerufen durch Kokaineinnahme wurden hauptsächlich mit einer Aktion am DA-System erklärt (LETCHWORTH et al., 1999).

Postmortem-Studien an Opfern infolge Kokainüberdosierung zeigten eine erhöhte Dichte von DAT in STR und Nacc (STALEY et al., 1994). *In vivo* Imaging bei Kokainabhängigen mittels SPECT bestätigte diese Befunde (MALISON, 1995). Die erhöhte DAT-Dichte wird als kompensatorische Reaktion auf den Kokain-vermittelten erhöhten synaptischen DA-Gehalt diskutiert, mit Folge eines effizienteren DA-Uptakes und Notwendigkeit einer erhöhten Drogeneinnahme zur Auslösung des euphorisierenden Effektes. Das sich demzufolge mit fehlender Kokainzufuhr einstellende DA-Defizit könnte neurochemisch die Anhedonie Abhängiger im Entzug erklären. Im Hinblick auf das Entzugsphänomen verdeutlichen mehrere Studien einen Zusammenhang zwischen Transporterdichte und Zeitpunkt der letzten Kokaineinnahme. Mit längeren Perioden der Abstinenz zeigt sich eine Normalisierung bzw. Abnahme der DAT-Dichte (MASH u. STALEY, 1997). Andere Studien zeigen jedoch widersprüchliche Ergebnisse bei chronischer Kokainexposition, mit erniedrigter (HURD u. HERKENHAM, 1993) und unveränderter DAT-Dichte im STR (LETCHWORTH et al., 1999). VOLKOW et al. (1996) zeigten eine Korrelation zwischen Höhe der Kokain-vermittelten DAT-Blockade und dem „High-Empfinden“ bei Kokainabhängigen. In einer weiteren Studie mit Methylphenidat, einem DA-Uptake-

Blocker zur Behandlung der Hyperaktivität bei Kindern, konnte dieser Effekt nicht eindeutig bestätigt werden. Die Autoren vermuten daher als Ursache neben der langsameren Kinetik von Methylphenidat eine Involvierung anderer Neurotransmitter in der Vermittlung des „High“ (VOLKOW et al., 1999).

Die Bedeutung anderer Faktoren als die DAT-Blockade für die verstärkenden Effekte von Kokain verdeutlicht eine weitere Studie, in der DAT-Knockout-Mäuse ebenfalls eine Kokain-Selbstadministration entwickeln (ROCHA et al., 1998). Mit Kokaineinnahme sind auch die DA-Synthese (BAUMANN et al., 1993) sowie D₂-Rezeptoren beeinträchtigt. VOLKOW (1997) beschreibt anhand von PET-Studien eine langanhaltende Erniedrigung der D₂-Rezeptorzahl in BG von über 4 Monaten nach Kokaindetoxifikation. GRAYBIEL (1997) zeigte anhand von Bestimmungen der „immediate early genes“, als Marker für neuronale Aktivität, Unterschiede in Bezug auf akute und chronische Drogeneinnahme. Während nach akuter Gabe das Matrix-Kompartiment des STR aktiviert wird verschiebt sich mit chronischer Gabe die Aktivierung in Richtung striosomales System, was dafür spricht, dass sich mit mehrmaliger Drogenexposition striatale Regelkreise in ihrer Ansprechbarkeit ändern.

4. Schizophrenie

Die „DA-Hyperaktivitäts-Hypothese“ der Schizophrenie basiert auf den Erkenntnissen, dass 1. Neuroleptika DA-Rezeptoren blockieren, 2. Neuroleptika Parkinsonsymptome induzieren und 3., dass Pharmaka, die DA-Gehalte erhöhen oder DA-Rezeptoren stimulieren, psychotische Symptome hervorrufen können (JOYCE, 1993). Die in mehreren Studien gezeigte Erhöhung der D₂-Rezeptorzahl in STR und Nacc bei Schizophrenen könnte mit der Positivsymptomatik der Erkrankung in Zusammenhang stehen (JOYCE, 1993) und scheint nicht allein von der Neuroleptikamedikation abhängig zu sein (SEEMAN et al., 1987). Angaben zum DAT in dieser Hinsicht sind widersprüchlich. Es wird von erhöhtem DA-Uptake (HABERLAND u. HETHEY, 1987), von unveränderter Dichte und Affinität (SEEMAN u. NIZNIK, 1990) bzw. von einer Reduktion der DAT-Dichte (JOYCE, 1993) berichtet.

Pathophysiologisch wird weiterhin eine verminderte Aktivität des medialen präfrontalen Kortex (mPFC), verbunden mit einem Defizit der striatalen glutamatergen Transmission (KELLAND u. CHIODO, 1996) sowie eine striatale Interaktionsebene glutamaterger und

dopaminergem Mechanismen innerhalb des Schizophreniegeschehens (CARLSON u. CARLSON, 1990) diskutiert. So könnte zum einen die Hyperaktivität der DA-Transmission im STR eine verminderte Aktivität der kortikostriatalen Transmission zur Folge haben (CARLSON u. CARLSON, 1990), wobei D₂-Rezeptoren lokalisiert an kortikostriatalen Terminalen bedeutsam wären (CALABRESI et al., 1997). Zum anderen steht umgekehrt die DA-Transmission im STR unter kortikaler glutamaterger Kontrolle (WHEELER et al., 1995) und scheint die mPFC-Aktivität für die Existenz eines bestimmten Feuermusters dopaminergem Neurone relevant zu sein (SVENSSON u. TUNG, 1989). Die „DA-Hypothese“ der Schizophrenie erfährt somit durch die „Glutamat-Hypothese“ eine Modifikation (KELLAND u. CHIODO, 1996). Als Folge einer präfrontalen Funktionsstörung ist im STR eine stressinduzierte phasisch enthemmte DA-Freisetzung zu verzeichnen, was möglicherweise bei schizophrenen Patienten eine Rolle spielen könnte (HEINZ, et al., 1999a; HEINZ; 1999b).

5. Altersbedingte Veränderungen des DAT

Die mit dem Alter auftretenden Störungen der Bewegungskoordination und -ausführung sowie kognitiver Funktionen sind eng mit der altersbedingten verminderten DA-Transmission innerhalb der Basalganglien verbunden (LOHR u. BRACHA, 1988). Die Kenntnis normaler Alterungsprozesse des DA-Systems ist Voraussetzung für das Verständnis altersbezogener Krankheiten, wie den MP sowie die Abgrenzung physiologischer Zustände von pathologischen Prozessen.

Es sind prä- und postsynaptische Veränderungen des DA-Systems beschrieben worden, wie z.B. verringerte striatale DA-Gehalte, eine verminderte Anzahl von DA-Rezeptoren (DE KEYSER et al., 1990; GIARDINO, 1996), ein verminderter DA-Release (GORDON et al., 1995) sowie eine Abnahme der DAT-Dichte (ZELNIK et al., 1986). *In vivo* Imaging-Studien demonstrieren eine fortschreitende Abnahme der DAT-Zahl von ungefähr 10 % innerhalb von 10 Jahren (MASH u. STALEY, 1997). So fanden z.B. VAN DYCK et al. (1995) unter Anwendung von [¹²³I]β-CIT in einer Altersspanne von 18 bis 83 Jahren eine um 51 % verringerte DAT-Dichte. Eine drastische Reduzierung der DAT-mRNA-Expression sowohl bei Ratten als auch beim Menschen wurde von BANNON u. WHITTY (1997) beschrieben. Untersuchungen zu funktionellen Altersveränderungen des DAT zeigten, dass die Bindungsaffinität von Liganden des DAT mit zunehmendem Alter sinkt (VOLKOW et al., 1994). Weiterhin zeigten HEBERT u. GERHARD (1999) eine

verminderte DA-Aufnahme-Kapazität (exogenes DA) der DAT, eine verminderte DA-Aufnahmegeschwindigkeit sowie einen Effektivitätsverlust des DA-Uptake-Inhibitors Nomifensin. Die Autoren diskutieren eine Reduktion der DAT-Dichte, welche nach Erkenntnissen von HEBERT u. GERHARD (1998) nicht auf einen Verlust dopaminerger Neurone zurückzuführen ist, sowie Änderungen der pharmakologischen Eigenschaften des DAT. Die Autoren nehmen an, dass die DAT-Veränderungen einen kompensatorischen Effekt repräsentieren könnten, mit dem Ziel, die DA-Neurotransmission im Alter aufrecht zu erhalten. Als mögliche kompensatorische Regulation beschreiben auch GORDON et al. (1995) den Effekt eines erhöhten DAT-vermittelten DA-Releases mit zunehmendem Alter.

2.2. Das Serotonerge Transmissionssystem

Die folgende Darstellung des serotonergen Transmissionssystems gibt einen allgemeinen Überblick über die funktionelle Bedeutung sowie die anatomischen und physiologischen Verhältnisse. Schwerpunkt wird auf die Beschreibung der rostralen Ursprungskerne des Serotoninsystems gelegt, deren BG- bzw. striatale Projektion sowie auf die Erläuterung der serotonergen Läsion durch 5,7-DHT.

2.2.1. Serotonin - ein klassischer Neurotransmitter: Geschichtlicher Abriss/ physiologische Funktion

Der Terminus „Serotonin“ wurde von Irving Page für einen vasokonstriktorischen Faktor eingeführt, nachdem er diesen als 5-Hydroxytryptamin identifizierte (RAPPORT, 1948). 1952 erkannte man, dass das vor dem 5-HT entdeckte und als Intestinum-stimulierender Faktor bezeichnete „Enteramin“ mit 5-HT identisch ist (ERPSAMER, 1954). Im Jahre 1953 wurde 5-HT im ZNS nachgewiesen (TWAROG u. PAGE, 1953) und 1957 von BRODY u. SHORE die Möglichkeit einer Neurotransmitterfunktion diskutiert. Erste Hinweise für eine Beteiligung von 5-HT an psychiatrischen Erkrankungen ergaben sich aus der Tatsache, dass strukturelle Ähnlichkeiten sowie eine antagonistische Wirkung zwischen dem Halluzinogen LSD und 5-HT existieren (WOOLEY, 1962). In den folgenden Jahrzehnten intensivierte sich die Erforschung des 5-HT-Systems mit der Erkenntnis, dass antidepressiv wirksame Substanzen die 5-HT-Transmission beeinflussen. PICHOT (1991) beschreibt diese Phase als einen „Kampf um eine 5-HT-Theorie der Depression“. Es begann weiterhin eine zunehmende Diskussion psychiatrischer Störungen

wie Angst, Zwangshandlungen und Aggressivität (KAHN et al., 1988; MONTGOMERY, 1990; COCCARO, 1989) sowie Dysfunktionen des Sexual- und Essverhaltens (HEALY, 1993; WALSH, 1991) in Zusammenhang mit dem 5-HT-System.

Die grundlegende Rolle von 5-HT als trophischer Faktor sowohl für das sich entwickelnde, als auch für das adulte Gehirn, wird von AZMITIA u. WHITAKER-AZMITIA, 1997) ausführlich diskutiert. Pränatale Läsionsstudien lassen vermuten, dass 5-HT für Reifung und Proliferation von Zielregionen sowie für Synaptogenese und Zelldifferenzierung grundlegende Bedeutung besitzt. Weiterhin scheint 5-HT für die Aufrechterhaltung des Proliferationsstatus des adulten Gehirns bedeutsam zu sein. 5-HT beeinflusst möglicherweise durch die Stabilisierung des Zytoskeletts der Zellen aktiv den gereiften neuronalen Phänotyp.

Das zentrale serotonerge System ist des Weiteren involviert in die Regulation von Schlaf und motorischer Funktion. 5-HT-Neurone zeigen ein sich veränderndes Aktivitätsmuster abhängig vom Schlaf-Wach-Zyklus. Das Muster reicht von einer langsamen, regulären und stetigen Entladung im ruhigen Wachstatus, es wird unregelmäßig und verlangsamt sich im „Slow wave“-Schlaf und fällt in absolute Aktivitätsstille während des REM-Schlafes (Traumphase). Da der REM-Schlaf durch Inhibition von Motoneuronen von einer Paralyse begleitet ist, wurde ein Zusammenhang zwischen serotonerger Aktivität und Aufrechterhaltung des Muskeltonus vermutet und nachgewiesen (JACOBS, 1994; JACOBS u. FORNAL, 1993; 1997).

Dem zentralen 5-HT-System wird allgemein in angstauslösenden, gefährdenden Situationen eine Verhaltenshemmung mit protektiver Funktion zugesprochen. Es spielt daher für Frustrationstoleranz, Impuls- und Verhaltenskontrolle in Konfliktsituationen eine bedeutsame Rolle (BAUMGARTEN, 1991). Das zentrale 5-HT-System ist außerdem für physiologische Prozesse wie Thermoregulation, Blut-Glukose-Konzentrationssteuerung, kardiovaskuläre und neuroendokrine Funktion, Nahrungsaufnahme- und Sexualverhalten sowie Schmerzverarbeitung und Entwicklung von Gedächtnisleistungen bedeutsam (WILKINSON u. DOURISH, 1991; KENNET et al., 1987; FERNANDEZ-GUASTI et al., 1992; HEALY, 1993; VAN DE KAR, 1997; SAWYNOK, 1997; KEANE u. SOUBRIE, 1997; KIA et al., 1996).

2.2.2. Serotonerge Projektionen im ZNS

Das 5-HT-System, als ein phylogenetisch altes Transmissionssystem, stellt sowohl bei primitiven als auch bei hoch komplexen Wirbeltierformen einen integralen Bestandteil des zentralen bzw. peripheren Nervensystems dar. Es existiert bei allen Wirbeltierklassen eine ähnliche topographische Lokalisation der 5-HT-Zellen sowie ein relativ konstantes weitverbreitetes Projektionsmuster im Gehirn. Der ebenfalls phylogenetisch früh auftretende hohe Grad an Kollateralisation befähigt somit eine relativ limitierte Neuronenzahl der koordinierten Einflussnahme auf verschiedene Zielgebiete. Die phylogenetisch konservative sowie die anatomische Organisation widerspiegeln die besondere Rolle des 5-HT-Systems für die Steuerung fundamentaler Gehirnfunktionen (PARENT, 1981; JACOBS u. AZMITIA, 1992; BAUMGARTEN u. GROZDANOVIC, 1997).

2.2.2.1. Die Raphekerne - Ursprungsgebiet des serotonergen Systems

Die ungepaarten, zentral im Hirnstamm gelegenen Raphekerne enthalten die Hauptzahl serotonerger Neurone. Sie sind die Quelle der serotonergen Bahnen des gesamten ZNS. Ungefähr 20 % der 5-HT-Neurone zählen nicht zum Raphekomplex, sie sind in der angrenzenden *Formatio reticularis* lokalisiert (STEINBUSCH, 1981). Eine vermehrte Lateralisation der Neurone, wie sie bei Katzen, Affen und beim Menschen zu finden ist, scheint mit einer komplexeren ZNS-Organisation verbunden zu sein. Weiterhin wird eine Beziehung gesehen zwischen dem Expansionsgrad von Neokortex, STR und Thalamus bei Primaten und Menschen sowie der Entwicklung des kranialen Raphekomplexes und lateraler 5-HT-Komponenten, basierend auf erhöhten 5-HT-Zellzahlen und dem Grad der Raphekerndifferenzierung (BAUMGARTEN u. GROZDANOVIC, 1997).

2.2.2.1.1. Klassifikation und Topographie

Es werden zwei Raphezentren unterschieden: a) eine kraniale Zellgruppe, gelegen in Pons und Mesenzephalon und b) eine kaudale Zellgruppe, gelegen in der *Medulla oblongata* (JACOBS u. AZMITIA, 1992; BAUMGARTEN, 1991).

Tabelle 3 zeigt im Überblick die Klassifikation, Differenzierung sowie die Lage der Raphekerne.

Tabelle 3 Klassifikation und Lage der Raphekerne bei Säugetieren

Raphekerne	Lokalisation
Kraniale Zellgruppe	
<ul style="list-style-type: none"> ➤ Ncl. raphes dorsalis (B 6/ 7) <ul style="list-style-type: none"> -Hauptkern (B 7) <ul style="list-style-type: none"> Medialer Anteil: - mediodorsal/ - medioventral Lateraler Anteil (flügelartig) - Kaudale Portion (B 6) 	<p>Mesenzephalon, Pons</p> <p>Mesenzephalon</p> <ul style="list-style-type: none"> - dorsomedial des MLF, ventral des Aquedukts - interfaszikular (zwischen MLF) - supratrochlear (dorsal des Nucl. Trochlearis) <p>Pons, dorsal des MLF (kaudale Ausdehnung von B 7)</p>
<ul style="list-style-type: none"> ➤ Ncl. linearis caudalis (B 8) 	Mesenzephalon
<ul style="list-style-type: none"> ➤ Ncl. raphes medianus (B 5/ 8) <ul style="list-style-type: none"> - Hauptkern (B 8) - Kaudale portion (B 5) 	<p>Mesenzephalon, Pons</p> <p>Pons (rostral)</p> <p>Pons (kaudale Ausdehnung von B 8)</p>
Kaudale Zellgruppe	
<ul style="list-style-type: none"> ➤ Ncl. raphes magnus (B 3) 	Pons (kaudal), Medulla oblongata (rostral)
<ul style="list-style-type: none"> ➤ Ncl. raphes obscurus (B 2/ B 4) 	Medulla oblongata
<ul style="list-style-type: none"> ➤ Ncl. raphes pallidus (B 1 /B 4) 	Medulla oblongata

Tabelle 3 zeigt die Klassifikation und Lage der Raphekerne bei Säugetieren, modifiziert nach BAUMGARTEN u. GROZDANOVIC (1997) sowie HALLIDAY et al. (1995). Die Angabe (B) kennzeichnet die Nomenklatur für das Rattenhirn nach DAHLSTRÖM u. FUXE (1964)
MLF: medial longitudinal fasciculus

2.2.2.1.2. Zytoarchitektur

Die Neuronenpopulation der Raphekerne zeigt eine morphologische Heterogenität. HÖLZEL u. PFISTER (1981) charakterisierten für den kranialen und kaudalen Raphekomplex drei Neuronentypen: a) groß/ polygonal, 2. mittelgroß/ fusiform und 3. klein/ pyriform, mit einem Größenverhältnis von 4,5 : 2,5 : 1. Die Relation der Häufigkeit der einzelnen Neuronentypen folgt gleicher Reihenfolge. Die polygonalen Zellen wurden als die efferenten 5-HT-Produzenten, der fusiforme Neuronentyp als GABA-erg dargestellt und die nicht chemisch spezifizierten pyriformen Neurone als IN diskutiert (DANNER u. PFISTER, 1980; PFISTER, 1981; HÖLZEL u. PFISTER, 1981). Den Autoren fällt eine allgemeine morphologische Gleichartigkeit des DRN und MRN auf, mit dem Unterschied einer erhöhten Dichte der pyriformen Neurone im MRN.

Mit Hilfe immunhistochemischer Färbungen konnten innerhalb der 5-HT-Neuronenpopulation selbst, entsprechend der einzelnen Subnuklei, Abweichungen in Form, Größe und dendritischer Architektur festgestellt werden, was auf unterschiedliche Projektionsmuster und Kollateralisationsgrad schließen lässt. Im DRN wurden Zellgrößen von 20 bis 26 μm , im MRN eine Größenvariation von 25 bis 34 μm gezeigt (BAKER et al., 1991a, b). Der DRN enthält 40 bis 50 % aller serotonergen Neurone des Hirnstammes (BAUMGARTEN u. GROZDANOVIC, 1997). Die Gesamtzahl im DRN wurde für den Menschen mit 165 000 und für Katzen mit 24 000 angegeben; die Zellzahlen des MRN stehen in einem Verhältnis von 64 305 zu 7 400 (BAKER et al., 1991b; WIKLUND et al., 1981).

Serotonerge Zellen zeigen inhomogenen Charakter in Bezug auf kolokalisierte Peptide. In kaudalen Raphekernen sind Neurokinin A, Enkephalin, Dynorphin und Cholezystokinin nachgewiesen worden. Substanz P und Galanin kommen in beiden Raphekomplexen vor. Es zeigt sich weiterhin eine Kolokalisation mit anderen klassischen Neurotransmittern wie GABA und exzitatorischen Aminosäuren.

Der DRN enthält außerdem eine Population dopaminergener Neurone. Sie wird in zwei Subpopulationen gegliedert, mit Bezeichnung A10dc und A10c (HÖKFELT et al., 1984). Sie sind zum einen in der rostralen Hälfte des Kerns ventral des Aqueduktes sowie zum anderen im mittleren Teil des DRN mit dorsokaudaler Ausdehnung gelegen (STRATFORD u. WIRTSHAFTER, 1990). Es wird angenommen, dass diese dopaminergen Zellgruppen eine Erweiterung der VTA darstellen (HÖKFELT et al., 1984). Es wurden Projektionen dieser Zellgruppen zum präfrontalen Kortex (YOSHIDA et al., 1989; STRATFORD u. WIRTSHAFTER, 1990), zu Nacc und Septum (STRATFORD u. WIRTSHAFTER, 1990) und zum Hippocampus beschrieben (POHLE et al., 1984). Berichte zu Projektionen zum dorsalen STR sind widersprüchlich. So sind Projektionen, zum Teil in sehr geringem Umfang, dargestellt worden (DESCARRIES et al., 1986; STRATFORD u. WIRTSHAFTER, 1989) bzw. konnten neuere Studien eine dopaminerge Raphe-STR-Projektion nicht bestätigen (STEINBUSCH et al., 1998).

2.2.2.2. Projektion der Raphekerne

a) Kaudale Zellgruppe

Die kaudalen Raphekerne projizieren zum Rückenmark, zu Hirnstammkernen und zum Kleinhirn (HALLIDAY et al., 1995). Dabei scheinen Kollateralprojektionen zu Rückenmark und Hirnstamm medulläre 5-HT-Neurone eines gemeinsamen Einflusses auf skeletomotorische, kardiovaskuläre und respiratorische Aktivitäten zu befähigen. Neurone des Ncl. raphe magnus sind an der primären nozizeptiven Informationsverarbeitung sowie der zentralen Schmerzmodulation beteiligt und gehören weiterhin durch direkte Projektion zu thermointegrativen Neuronen des Hypothalamus zum aufsteigenden thermoafferenten System des ZNS (BAUMGARTEN u. GROZDANOVIC, 1997).

b) Kraniale Zellgruppe

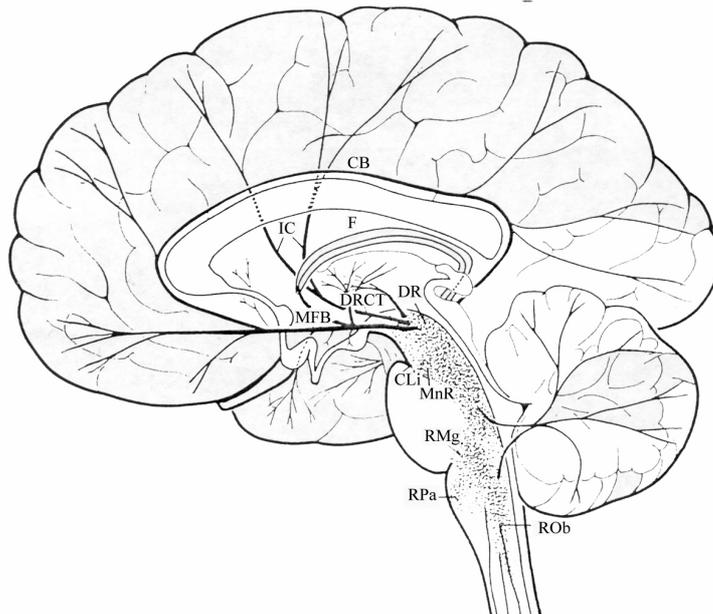
Charakteristisch für den DRN und MRN ist eine weitreichende Überlappung ihrer Projektionen hauptsächlich in telodienzephalen Regionen, aber auch im Hirnstamm (BAUMGARTEN, 1991; BAUMGARTEN u. GROZDANOVIC, 1997).

Zu den Terminalfeldern des DRN innerhalb des Hirnstammes gehören die mediale magnozellige Zone der Formatio reticularis, die cholinergen Nuclei pedunculopontinus und dorsolateralis, die weiteren Raphekerne sowie die Nuclei parabrachialis, rostroventrolaterale medulläre Abschnitte und der Locus coeruleus. Zusammen mit dem MRN innerviert der DRN das Zentrale Grau, Teile der Formatio reticularis und die dopaminergen Neurone der VTA und SN. Hirnstammverknüpfungen des DRN spielen eine Rolle bei der Koordination der Raphekernaktivität, für den Tonus von Rumpf- und proximaler Extremitätenmuskulatur und damit der Körperhaltung, für die Regulation des Schlaf-Wachstatus sowie der kardiovaskulären Steuerung. Der MRN innerviert innerhalb des Hirnstammes weiterhin die Area retrorubralis, den Ncl. interpeduncularis sowie den DRN (BAUMGARTEN u. GROZDANOVIC, 1997).

Aufsteigende Vorderhirnprojektionen des DRN und MRN innervieren gemeinsam Strukturen wie STR, Nacc., Tuberculum olfactorium, Amygdala, Hippocampus, Thalamus, Septum und Neokortex. Der DRN projiziert weiterhin zu beiden Segmenten des GP, der MRN innerviert außer den genannten Regionen die Habenula lateralis, Area praeoptica, den Ncl. mammillare, Hypothalamus sowie Bulbus olfactorius.

Das Projektionsmuster des DRN ist gekennzeichnet durch einen hohen Grad an Somatotopie und Kollateralisation. Kollateralprojektionen zu kortikalen, subkortikalen und endokrinen Komponenten des limbischen Systems befähigen somit beispielsweise einzelne Neurone zu einer gemeinsamen Modulation von Verhalten, Emotion und neuroendokriner Sekretion (PETROV et al., 1994; BAUMGARTEN u. GROZDANOVIC, 1997).

Abbildung 7



Serotonerge Projektion im ZNS

Dargestellt ist die mediosagittale Ebene des humanen Gehirns mit Lage der serotonergen Raphekerne und den aufsteigenden Hauptbahnen der 5-HT-Projektion.

CB: Cingulum; CLi: Ncl. linearis caudalis; DR: Ncl. raphe dorsalis; DRCT: kortikaler Trakt des DRN; F: Fornix; IC: Capsula interna; MFB: mediales Vorderhirnbündel; MnR: Ncl. raphe medianus; RMg: Ncl. raphe magnus; ROb: Ncl. raphe obscurus; RPa: Ncl. raphe pallidus
Abbildung nach BAUMGARTEN u. GROZDANOVIC (1997)

2.2.3. Serotonerge Rezeptoren im ZNS

Auf Grundlage des pharmakologischen Profils, primärer DNA-Sequenzen sowie des Signaltransduktionsmechanismus sind heute sieben 5-HT-Rezeptorklassen bekannt. Mit Ausnahme von 5-HT₃ gehören sie zur Gruppe der G-Protein-gekoppelten Rezeptoren. Der zentrale 5-HT₃-Rezeptor aktiviert direkt einen ligandengesteuerten Ionenkanal und fördert die Permeabilität von Kationen (Na⁺/ K⁺/ Ca²⁺). Die Rezeptoren sind an den „second messenger“ Adenylatzyklase (cAMP) bzw. an die Phosphoinositid-Kaskade gebunden. Tabelle 4 gibt einen Überblick über Rezeptortypen und -subtypen sowie deren effektorisches System.

Tabelle 4 Klassifikation von 5-HT-Rezeptoren

Rezeptor	5-HT ₁	5-HT ₂	5-HT ₃	5-HT ₄	5-HT ₅	5-HT ₆	5-HT ₇
Effektor	AC ↓	PLC ↑	Ionenkanal Na ⁺ /K ⁺ /Ca ⁺	AC ↑	AC ↓	?	AC ↑
Subtypen	5-HT _{1A} 5-HT _{1B} 5-HT _{1D} 5-HT _{1E} 5-HT _{1F}	5-HT _{2A} 5-HT _{2B} 5-HT _{2C}			5-HT _{5A} , 5-HT _{5B}		

Die Darstellung der 5-HT-Rezeptortypen erfolgte nach KENNET (1997).
AC: Adenylatzyklase; PLC: Phosphoinositid-Kaskade

2.2.4. Läsion serotonerger Neurone im ZNS – Bedeutung und Wirkung von 5,7-Dihydroxytryptamin

Mit Einführung der dihydroxylierten Tryptaminderivate durch BAUMGARTEN et al. (1971, 1972) sowie BAUMGARTEN u. LACHENMAYER (1972) wurde das Prinzip der selektiven Degeneration von Neuronen durch sogenannte „Falsche Transmitter“ auch für das serotonerge System möglich. Damit war eine bedeutsame methodische Basis geschaffen, die bis dahin noch lückenhaften Kenntnisse von Anatomie und Physiologie des 5-HT-Systems im ZNS zu erweitern (BAUMGARTEN u. GROZDANOVIC, 1997). BAUMGARTEN (1973) diskutierte die Wichtigkeit dieser Methodik weiterhin als mögliche Widerspiegelung eines Entstehungsmusters neurologisch-psychiatrischer Erkrankungen. Demnach könnten toxische Derivate von Transmittern neurochemisch endogene Psychosen sowie Systemdegenerationen hervorrufen.

Aufgrund einer gelbfluoreszierenden Kondensatbildung von 5,6-Dihydroxytryptamin (5,6-DHT) und 5,7-DHT mit Formaldehyd ist im Kurzzeitversuch (30 bis 45 min nach Injektion) eine Markierung serotonerger Neurone und deren Projektion möglich. Nach längerer Einwirkungszeit zeigen sich die toxischen Eigenschaften in Form von Axonschädigungen. Zwei Tage nach intraventrikulärer Verabreichung des Toxins sind serotoninhaltige Axone in ventrikelnahen Regionen fluoreszenzmikroskopisch nicht mehr nachweisbar. Im Elektronenmikroskop finden sich marklose Axone in allen Stadien des Untergangs (BAUMGARTEN u. LACHENMAYER, 1972; LACHENMAYER u. BAUMGARTEN, 1974).

5,7-DHT entfaltet seine Wirkung nach aktiver Aufnahme durch Terminale, Axone, Dendriten und Perikaria serotonerger Zellen. Die folgende intraneuronale Umwandlung von 5,7-DHT in ein Indolquinonimin führt zur Entwicklung der toxischen Eigenschaften (BAUMGARTEN u. LACHENMAYER, 1972). Die genauen molekularen Mechanismen der Toxinwirkung sind noch nicht charakterisiert worden. Bekannt ist, dass der 5-HT-Reuptake sowie die Monoaminoxidase (Metabolisierung von 5-HT) inhibiert sind (BJÖRKLUND et al., 1975a, b; KLEMM u. BAUMGARTEN, 1978). BAUMGARTEN u. LACHENMAYER (1972) nehmen an, dass die typischen stumpfförmigen Vergrößerungen der Terminalen bzw. die Axonschwellungen nach Toxingabe durch eine Hemmung des axonalen Transportes hervorgerufen werden. Das könnte zum einen die Folge eines direkten Effektes sein, wie z.B. die Präzipitation von Tubulinproteinen oder die Denaturierung mitochondrialer Enzyme mit resultierendem Energiemangel. Zum anderen wäre ein initialer toxinbedingter Zerfall von Terminalen mit folgender Anhäufung von Organellen in Axonstümpfen denkbar. Die Möglichkeit einer retrograden Degeneration der Perikaria nach vorangegangener Axonschädigung wird ebenfalls diskutiert (BAUMGARTEN u. LACHENMAYER, 1972; BAUMGARTEN et al., 1972).

Die Folgen einer direkten Applikation von 5,7-DHT in ein serotonerges Kerngebiet (DRN) wurden von HÖLZEL et al. (1984) untersucht. Die Autoren fanden 48 Stunden nach Läsion eine eindeutige Degeneration vorrangig polygonaler Neurone sowie eine starke Verringerung der Zellzahl ausschließlich dieses Neuronentyps. Zu den Degenerationserscheinungen an polygonalen Neuronen zählten Fortsatzfragmentierungen (dendritische Bruchstücke) sowie typische Zeichen des Zellzerfalls, wie granuliert Somata oder Somareste mit Dendritenstümpfen. Neurone des fusiformen Zelltyps zeigten Veränderungen an den Dendriten.

Die bevorzugte Anwendung von 5,7-DHT gegenüber 5,6-DHT begründet sich hauptsächlich in einer geringeren unspezifischen Toxizität sowie geringeren Tendenz zur Autooxydation. Die höhere chemische Stabilität bedingt günstigere Diffusionseigenschaften innerhalb des Hirngewebes. Neben einem Haupteffekt am serotonergen System besitzt 5,7-DHT eine recht hohe Affinität zum Uptake-System noradrenerger Neurone (BAUMGARTEN u. LACHENMAYER, 1972; BAUMGARTEN et al., 1973). Um eine eindeutig selektiv serotonerge Läsion zu erreichen, ist eine Vorbehandlung mit Noradrenalin-Aufnahmehemmern erforderlich. Die Kombination

Desipramin/ 5,7-DHT hat sich dabei als effektiv erwiesen (NAKAZATO u. AKIYAMA, 1998; BARONE et al., 1993; HÖLZEL et al. 1984; WUTTKE et al., 1977; BJÖRKLUND et al., 1975a, b).

Das dopaminerge System wird durch 5,7-DHT nicht bzw. nur geringgradig beeinflusst. BJÖRKLUND et al. (1973) fanden eine teilweise Schädigung von DA-Fasern nach direkter lokaler intrazerebraler und intraspinaler Injektion. Die intraventrikuläre Verabreichung selbst hoher Dosen zeigte in der Studie von BAUMGARTEN et al. (1973) jedoch keine negative Wirkung. Während nach einer 5,7-DHT-Behandlung der 5-HT Gehalt im Gehirn drastisch erniedrigt war, begleitet von einem stark erniedrigten Noradrenalinlevel, blieb der Gesamt-DA-Gehalt bis 10 Tage nach Läsion unverändert bzw. erhöhte sich leicht bis 45 Tage nach Läsion. WUTTKE et al., (1977) konnten nach intraventrikulärer Applikation flureszenzmikroskopisch diskrete Faserschäden in einigen Regionen (ventrikelnah) nachweisen, die Hauptzahl der DA-Fasern blieb unbeeinträchtigt. Die Autoren nehmen nicht an, dass mit funktionellen Konsequenzen zu rechnen ist. Nach direkter Kernläsion (DRN und MRN) konnten FILE et al. (1979) in STR und Hippocampus keine Veränderung des DA-Gehaltes feststellen. Gleiche Ergebnisse fanden AL-ZAHARANI et al. (1997) ebenfalls nach direkter Rapheläsion für mehrere Hirnregionen, u.a. den Nacc.

Eine Behandlung mit 5,7-DHT führt zu einer effektiven Läsion des serotonergen Systems mit resultierender Transmitterverarmung im gesamten ZNS. BAUMGARTEN et al. (1973) zeigten nach einmaliger intraventrikulärer Applikation einen drastischen Abfall der 5-HT-Konzentration in mehreren Hirnregionen. Bereits drei Stunden nach Toxingabe fiel der 5-HT-Gehalt im STR auf 60 % der Kontrollwerte. Nach 30 Tagen zeigte sich in dieser Studie im STR die Minimalkonzentration von 20 %, 45 Tage nach Läsion war der Gehalt auf 30 % angestiegen. Die direkte Kernläsion des DRN führte in der Studie von FILE et al. (1979) nach 14 Tagen zu einer striatalen 5-HT-Reduktion auf 65 %. Eine 94 %-ige Läsion beider rostraler Raphekerne (MRN und DRN) resultierte im STR in einem 5-HT-Verlust von 71 %. Nach einer 100 %-igen Läsion hingegen konnte im STR kein 5-HT mehr nachgewiesen werden (COMPAN et al., 1996).

Untersuchungen von DRESCHER et al. (1985) zur synaptosomalen K^+ -stimulierten [3H] 5-HT-Ausschüttung ergaben nach Läsion des DRN einen reduzierten Release, sowohl im dorsalen STR als auch im Nacc, nach MRN-Läsion war dieser Effekt nur im Nacc nachweisbar. NAKAZATO u. AKIYAMA (1998) beschrieben in ihrer Studie folgende Kurz- und Langzeitwirkungen von 5,7-DHT: Sofort nach intraventrikulärer 5,7-DHT-Applikation erhöhte sich die extrazelluläre Konzentration von 5-HT und 5-HIAA im STR, was auf einen inhibierten Reuptake bzw. Metabolisierung oder einen erhöhten Release zurückgeführt werden könnte. Bis 50 Tage nach Läsion ließen sich erhöhte 5-Hydroxyindol-Level (5-HT und 5-HIAA) nach Verabreichung von 5-HTP im STR feststellen. Als zu Grunde liegende Mechanismen wurden eine erhöhte 5-HT-Synthesefähigkeit aus 5-HTP sowie eine Hemmung der 5-HT-Aufnahme diskutiert. Nichtlädierte Neurone könnten den Autoren nach durch eine kompensatorische Hyperaktivität diesen Effekt, der 14 bis 17 Tage nach Läsion am deutlichsten war, hervorrufen.

2.3. Interaktion zwischen serotonerger und dopaminerger Transmissionssystem

Die Darstellung der serotonerger und dopaminerger Interaktion im Folgenden konzentriert sich auf anatomische, pharmakologische, elektrophysiologische und Verhaltensstudien. Es wird mit Schwerpunkt das dopaminerge System in Abhängigkeit von serotonerger Mechanismen besprochen. Die Darstellung der unter 2.1.3.6.5. aufgeführten, mit dem dopaminergen System in Zusammenhang stehenden Krankheiten, wird am Ende dieses Absatzes durch die Betrachtung des 5-HT-Systems innerhalb dieser Krankheitsbilder erweitert und somit die Bedeutung beider Systeme für klinische Zusammenhänge herausgestellt.

2.3.1. Einleitung/ Interaktion von Transmissionssystemen

Die Interaktion von Transmissionssystemen ist grundlegender Mechanismus der physiologischen Funktion des ZNS (RUSSEL, 1992). Transmittersysteme, als Bausteine des neuronalen Netzwerkes und Informationsprozessings, beeinflussen sich gegenseitig und tragen somit auf dieser Ebene das Potential der kompensatorischen Regulation entstehender Defizite oder Funktionsstörungen (LEVIN et al., 1992). McGAUGH (1992)

und LEVIN et al. (1992) formulieren, dass ein Fortschritt im Verständnis der Hirnfunktion ausschließlich mit Untersuchung der Transmitterwechselwirkungen möglich ist. Das Verständnis der neuronalen Interaktion als System ist gefragt. In weiterer Konsequenz verspricht dieses Wissen eine herausragende Bedeutung in Bezug auf die Entwicklung neuer Therapiestrategien. Heutige Therapieansätze beruhen vorrangig auf substituierender bzw. hemmender Regulation, je nachdem ob es sich um eine Systemüber- oder Unterfunktion handelt. Mögliche hirneigene systemübergreifende Adaptionen bzw. Kompensationen werden dabei nicht berücksichtigt. Ein angestrebtes Therapieziel wäre mit Kenntnis dieser ausgleichenden Funktionen auf verschiedenen Wegen erreichbar. LEVIN et al. (1992) merken dazu an, dass ein von einer bestimmten Krankheit relativ unbeeinflusstes System für die Therapie eben dieser Erkrankung bedeutsam sein könnte. Oder, dass die Behandlung nicht an dem gestörten System selbst ansetzt, sondern an einem intakten System, welches in gleiche Funktionen wie das geschädigte involviert ist.

Grundlage für überdachte Therapieansätze ist allerdings eine detaillierte Beschreibung dieses „Systems der Interaktion“. Während die isolierte Betrachtung von Transmissionssystemen wichtig und Voraussetzung für ein interaktives Verständnis ist (RUSSEL, 1992), wird von mehreren Autoren kritisch festgehalten, dass im Allgemeinen die Untersuchung der Systeme in ihrer Singularität, im Vergleich zu komplexen systemübergreifenden Ansätzen, in der Literatur Vorrang hat (YADID et al., 1994). Zukünftige Forschung sollte bestrebt sein, die einzelnen Komponenten zu einem Ganzen zusammensetzen, und damit das Gehirn als „integrativen Organismus“ zu betrachten und zu verstehen (LEVIN et al., 1992; RUSSEL, 1992).

Das serotonerge und dopaminerge Transmissionssystem zeigen eine enge funktionelle Beziehung, der sich besonders in den letzten Jahren mit vermehrter Aufmerksamkeit gewidmet wurde. Das bisher gewonnene Bild dieser Interaktion ist jedoch noch sehr lückenhaft und gestaltet sich aufgrund widersprüchlicher Ergebnisse äußerst kompliziert (KELLAND u. CHIODO, 1996). Von besonderer klinischer Relevanz ist die Tatsache, dass bestimmte Pharmaka neben DA- auch 5-HT-Wirkungen entfalten (CHEN u. REITH, 1994; MELTZER, 1992; FINK et al., 1991; MORGENSTERN et al., 1988; MORGENSTERN u. FINK, 1985; FINK u. MORGENSTERN, 1985). MELTZER (1989) erweiterte z.B. mit diesem Hintergrund die DA- zur DA/ 5-HT-Hypothese der Schizophrenie. Die Bedeutung des DA-Systems z.B. für das Phänomen der Abhängigkeit

ist bereits seit längerem bekannt (HEINZ, 1999a; GILI-MARTIN et al, 1997; WISE, 1996; WISE u. ROMPRE, 1989). Neuere Studien verweisen nun auch auf eine Beteiligung serotonerger Mechanismen bei Suchterkrankungen, wie z.B. den Alkoholismus (HEINZ et al., 1998a, c; SELLERS et al., 1992).

2.3.2.1. Abhängigkeit des dopaminergen Systems von serotonergen Mechanismen

2.3.2.2.1. Anatomie

Die Kenntnis der anatomischen Natur des Kontaktes zwischen Transmissionssystemen ist essentielle Grundlage der Interpretation von physiologischen, pharmakologischen und Verhaltensstudien von Interaktionen (LEVIN et al., 1992). Die umfangreiche Projektion der rostralen Raphekerne in sowohl DA-zellreiche Regionen als auch deren Terminalgebiete bildet somit das Basispotential einer 5-HT-Einflußnahme auf die Aktivität des dopaminergen Systems (KELLAND u. CHIODO, 1996).

a) Projektion der kranialen Raphekerne in dopaminerge Strukturen

Die serotonerge Innervation dopaminerge Strukturen hat ihren Ursprung in beiden rostralen Raphekernen und zeigt topographischen Charakter. Zu diesen serotonerg innervierten Regionen zählen die VTA (PARENT et al., 1981; HERVE et al., 1987), die SN, mit Konzentration in der SNr, (CORVAJA et al., 1993; FALLON u. LOUGHLIN, 1995), der pallidale Komplex (CHARARA u. PARENT, 1994) sowie STR und Nacc (SOGHOMONIAN et al., 1989; AZMITIA u. SEGAL, 1978; JACOBS et al., 1974; OLPE u. KOELLA, 1977; CONRAD et al., 1974). Die Innervation des STR entstammt dabei mit Vorrang dem DRN und zu geringeren Anteilen dem MRN (SOGHOMONIAN et al., 1989). Neurone des DRN mit Projektion zur SNr sind im dorsalen Teil des Kerns lokalisiert und senden Kollaterale ins STR (VAN DER KOOY u. HATTORY, 1980).

b) Projektion in die Ursprungsgebiete des mesotelenzephalen dopaminergen Systems

Die VTA, mit bevorzugter Projektion in limbische Gebiete (Nacc, Tuberculus olfactorius, Amygdala u.s.w.), besitzt ein dichtes Netzwerk serotonerger Terminale. Neben einer topographischen Verteilung der serotonergen Innervation in ventralen Abschnitten der VTA fanden HERVE et al. (1987), dass wenigstens 50 % der Varikositäten synaptischen Kontakt eingehen und dieser an dopaminergen und nichtdopaminergen Neuronen zu finden ist. Die Autoren diskutieren eine Einflussnahme von 5-HT auf dopaminerge Zellen durch direkt synaptische als auch extrasynaptische Mechanismen.

Die SN gehört neben der VTA zu den Hirngebieten mit der dichtesten serotonergen Innervation ($6-9 \times 10^6$ Varikositäten/ mm^3). Die gesamten serotonergen Varikositäten in der SNr, aber nur 50 % in der SNc zeigen eine synaptische Organisation. Dies spricht für eine synaptische und extrasynaptische 5-HT-Transmission in der SNc im Gegensatz zu einer vorrangig synaptischen Transmission in der SNr. Etwa 20 % des serotonergen Kontaktes in der SNr ist an dopaminergen Dendriten festzustellen (MOUKHLES et al., 1997). Die Autoren diskutieren eine Bedeutung von 5-HT für die nigrale Kontrolle motorischer Funktionen, da direkter Kontakt zu nigrostriatalen dopaminergen Neuronen sowie zu den nigralen GABA-ergen Ausgangsneuronen der BG besteht (MOUKHLES et al. 1997).

c) Projektion in die Terminalgebiete: dorsales und ventrales STR

Die striatale Verteilung serotonerger Terminale ist spezieübergreifend nicht homogen. LAVOIE u. PARENT (1990) fanden bei Affen eine Konzentration von 5-HT-Fasern und -terminalen in ventralen Regionen, wie Nacc, Tuberculum olfactorium, dem ventrolateralen Teil des Putamen bzw. ventromedialen Teil des Ncl. caudatus. Bei Ratten und Katzen gestalten sich die Verhältnisse ähnlich. SOGHOMONIAN et al. (1987, 1989) sowie TERNAUX et al. (1977) beschreiben für die serotonerge Innervationsdichte des STR einen rostrokaudal sowie dorsoventral steigenden Gradienten. Die Zahl serotonerger Varikositäten variiert dort von $1,5$ bis $4,8 \times 10^6/\text{mm}^3$ (durchschnittlich $2,6 \times 10^6/\text{mm}^3$). Weiterhin wurde die Zahl der 5-HT-Terminale an einem neostriatalen Neuron zwischen 100 und 200 angegeben. Es wird angenommen, dass die 5-HT-Innervation des STR hauptsächlich zur extrastriosomalen Matrix gerichtet ist (BAUMGARTEN u. GROZDANOVIC, 1997). WIDMANN u. SPERK (1986) beschrieben die Inhomogenität der Aminverteilung innerhalb des STR anhand der Gewebekonzentration. Sie bestätigten die genannten Gradienten, fanden aber in Regionen mit geringerer 5-HT-Konzentration höhere Metabolitlevel. Die Autoren vermuten deshalb eine teilweise Kompensation einer geringeren Innervation durch höhere Turnover-Raten.

Im Nacc sowie GP wurde mit $3 \times 10^6/\text{mm}^3$ bzw. $4,5 \times 10^6/\text{mm}^3$ ebenfalls eine hohe serotonerge Innervationsdichte festgestellt (SOGHOMONIAN et al., 1987). CHARARA u. PARENT (1994) beschreiben bei Affen eine erhöhte Dichte im GPi und vermuten daher eine direkte Einflussnahme von 5-HT auf die Aktivität eines der Hauptausgangskerne der BG.

d) Synaptische Organisation serotonerger Terminale im STR

Serotonerge Terminale innerhalb des STR befinden sich in Nähe zu einer Vielzahl von Strukturen. Dazu gehören andere Axonterminale, dendritische Spines sowie neuronale Somata (SOGHOMONIAN et al., 1989). Von diesen Terminalen zeigen weniger als 20 % typische synaptische Verknüpfungen, welche hauptsächlich mit Dendriten in Kontakt treten (ARLUISON u. DE LA MANCHE, 1980; SOGHOMONIAN et al., 1989). SOGHOMONIAN et al. (1989) vermuten daher, dass die MSN zu den Zielzellen der serotonergen Afferenzen zählen, Untersuchungen zu elektrischen Stimulation von Neuronen des DRN bestätigen diese Annahme (VANDERMAELEN et al., 1979). Damit ist die anatomische Basis für eine Modulation des neostriatalen Output-Systems durch 5-HT gegeben (SOGHOMONIAN et al., 1989).

Die serotonergen Synapsen zeigen eine asymmetrische Membrandifferenzierung (ARLUISON u. DE LA MANCHE, 1980; SOGHOMONIAN et al., 1989). Eine von fünf Spines mit serotonerger Synapse trat in der Studie von SOGHOMONIAN et al. (1989) mit einer weiteren, symmetrischen Synapse in Kontakt. FREUND et al. (1984) identifizierte etwas distal dopaminerge Spine-Synapsen asymmetrische Synapsen, so dass es denkbar scheint, dass dopaminerge und serotonerge Terminale zum Teil an gemeinsamen Spines der MSN enden (SOGHOMONIAN et al., 1989). Da eine Synapsenbildung serotonerger Terminale im STR verhältnismäßig gering ist, bezeichnen SOGHOMONIAN et al. (1989) die nichtjunktionale Appositionen als Hauptcharakteristikum der striatalen 5-HT-Innervation. Da sich vorrangig andere Axonterminale in Nähe der 5-HT-Varikositäten befinden, könnte dieser axo-axonale Kontakt eine präsynaptische Modulation anderer afferenter Systeme durch 5-HT (z.B. DA-System, Acetylcholin-System) ermöglichen (SOGHOMONIAN et al., 1989).

e) 5-HT-Rezeptoren im STR, Nacc, SN und VTA

Um die Rolle von 5-HT im STR und anderen DA-reichen Regionen erfassen zu können, ist es wichtig zu wissen, über welche Rezeptoren 5-HT seine Wirkung entfaltet. Es wurden mehrere Subtypen in den BG lokalisiert. Tabelle 5 gibt einen Überblick der 5-HT-Rezeptoren in ausgewählten DA-reichen Regionen.

Tabelle 5 5-HT-Rezeptoren in STR, Nacc, S N und VTA

Region	Rezeptor	Literatur
VTA	5-HT _{1B} ; 5-HT ₆ -mRNA	JOHNSON et al., 1992; GERARD et al., 1996;
SN	5-HT _{1B} ; 5-HT _{1F} ; 5-HT _{2C} ; 5-HT ₄ ; 5-HT ₃ ; 5-HT ₆ -mRNA	MENGOD et al., 1997; BEER et al., 1993; KILPATRICK et al., 1987; JAKEMANN et al., 1994; PATEL et al., 1995; GERARD et al., 1996
Nacc	5-HT _{1D} -mRNA; 5-HT _{1F} ; 5-HT ₆ -mRNA	BRUINVELS et al, 1994b; BEER et al., 1993; GERARD et al., 1996
STR	5-HT _{1B} -mRNA; 5-HT _{1D} -mRNA; 5-HT _{1E} -mRNA; 5-HT _{1F} ; 5-HT ₄ ; 5-HT ₆ -mRNA	BRUINVELS et al, 1994a, b; BEER et al., 1993; JAKEMANN et al., 1994; PATEL et al., 1995; GERARD et al., 1996

2.3.2.2.2. 5-HT/ DA-Interaktion in den Ursprungsgebieten des mesotelenzephalen dopaminergen Systems

KELLAND u. CHIODO (1996) beschreiben den Einfluss von 5-HT auf die Aktivität der DA-Neurone im Allgemeinen als inhibitorisch, sowohl in direkter als auch modulatorischer Weise. Das bisher gewonnene Bild dieser Interaktion gestaltet sich jedoch nicht eindeutig, da Ergebnisse sich widersprechen. Eine Erklärung der Schwierigkeiten, den Charakter des serotonergen Einflusses auf DA-Neurone zu erfassen wäre dann denkbar, wenn die präsynaptische Regulation anderer Transmittersysteme dieser Region, wie Glutamat und GABA (JOHNSON et al. 1992), im Vordergrund der 5-HT-Funktion stünde (KELLAND u. CHIODO, 1996). PRISCO et al. (1994) vermuten als Ursache für die Widersprüchlichkeit komplexe Effekte von 5-HT an den verschiedensten Rezeptor-Subtypen.

Aufgrund der Ergebnisse, dass die systemische Verabreichung des 5-HT_{1A}-Rezeptor-Agonisten 8-OH-DPAT zu einer Exzitation von 75 % der DA-Neurone in der VTA führte, schließen PRISCO et al. (1994) auf einen tonisch inhibitorischen Einfluss von 5-HT. Dieser Effekt scheint in der VTA durch den 5-HT_{1C}-Rezeptor vermittelt zu sein (PRISCO et al. 1994). In Übereinstimmung sind folgende Untersuchungen, bei denen selektive 5-HT-Aufnahmehemmer die basale Feuerungsrate der VTA-DA-Neurone reduzieren (PRISCO u. ESPOSITO, 1995; DI MASICO u. ESPOSITO, 1997).

Weiterhin wurde gezeigt, dass 5-HT den dendritischen DA-Release in der VTA (BEART u. MC DONALD, 1982) und der SN (WILLIAMS u. DAVIS, 1983) beeinflusst. Diese

besondere Form der somatodendritischen DA-Transmission unterscheidet sich erheblich von der klassischen synaptischen Transmission an Axonterminalen (CRAGG et al., 1997a). So dienen z.B. Vesikel nicht als Speicherort des Transmitters (NIERENBERG et al., 1996a), der DA-Release ist unabhängig von einer Zellexzitation und ist weniger stark vom DAT reguliert (CRAGG et al., 1997) und zeigt keine Modulation durch den D₂-Rezeptor (HOFFMAN u. GERHARDT, 1999). Die funktionelle Bedeutung des somatodendritischen DA ist noch nicht vollständig geklärt (IRAVANI u. KRUK, 1997). Es gibt Hinweise für eine Regulation der Aktivität von dopaminergen und nichtdopaminergen Neuronen (CONDE, 1992). Solche Veränderungen könnten die DA-Ausschüttung in Terminalregionen (GRACE, 1991) oder die DA-Synthese beeinflussen (NISSBRANDT et al., 1989). Mehrere Studien gehen von einer Interaktion von 5-HT und dendritischem DA aus (CHOPIN et al., 1994; LIMINGA et al., 1993; TRENT u. TREPPER, 1991). So führt die Applikation von 5-HT in die SNr zu einem dendritischen DA-Release (WILLIAMS u. DAVIS, 1983).

Im Gegensatz zu einer inhibitorischen Funktion von 5-HT auf DA-Neurone steht die folgende Untersuchung, in der die Mikroinfusion von 5-HT in die VTA 5-HT_{1B}-vermittelt zu einer Erhöhung der extrazellulären Konzentration von DA im Nacc führte (GUAN u. McBRIDE 1989). Dieser Effekt könnte KALIVAS (1993) zufolge auch auf die präsynaptische Inhibition GABA-erger Afferenzen durch 5-HT zurückzuführen sein, was durch JOHNSON et al. (1992) beschrieben wurde. KALIVAS (1993) vermutet eine biphasische Ansprechbarkeit mesenzephaler DA-Neurone auf 5-HT. Demnach bewirkt zum einen basales, endogen freigesetztes 5-HT über 5-HT₂ durch erhöhten dendritischen DA-Release eine DA-Autorezeptorstimulation mit resultierender Membranhyperpolarisation. Zum anderen führt eine erhöhte 5-HT-Freisetzung zu einer Stimulation von 5-HT_{1B}-Rezeptoren mit folgender Aktivierung dopaminergener Neurone durch Inhibition GABA-erger Afferenzen. PESSIA et al. (1994) berichteten über eine indirekte Einflussnahme von 5-HT auf DA-Neurone über die Stimulierung GABA-erger IN in der VTA.

Die Ergebnisse von DRAY et al. (1976, 78) nach elektrischer Stimulationen von DRN und MRN sowie mikroiontophoretisch appliziertem 5-HT führten ebenfalls zu dem Schluss, dass 5-HT die Aktivität des nigrostriatalen DA-Systems inhibiert. Im Gegensatz dazu stehen die Ergebnisse von NEDERGAARD et al. (1991), nach denen 5-HT in der SN *in*

in vitro die Feuerungsrate dopaminergischer Zellen erhöhte. KELLAND et al. (1990a) wiederum zeigten, dass die elektrische Stimulation der DRN nur eine Subpopulation von langsam feuernden DA-Neuronen in der SN inhibiert und nehmen an, dass die langsame Feuerungsrate dieser Neurone durch die inhibitorische 5-HT-Projektion bedingt ist. Die Autoren vermuten, dass nur etwa die Hälfte aller spontan aktiven nigrostriatalen DA-Neurone unter einem 5-HT-Einfluss stehen und demzufolge nur ein Teil der Neurone eine zuverlässige Reaktion auf eine erhöhte 5-HT-Transmission zeigen.

Auch Pharmaka mit selektiver Wirkung auf spezifische 5-HT-Rezeptor-Subtypen bewirken unterschiedliche Effekte auf die Aktivität dopaminergischer Neurone in der SN. 8-OH-DPAT, ein 5-HT_{1A}-Rezeptor-Agonist, erhöhte die Feuerungsrate von langsamen nigralen DA-Neuronen, 5-HT_{1B}-Agonisten führten dagegen zu einem inhibitorischen Effekt (KELLAND et al., 1990a; SINTON u. FALLON, 1988). Es wird vermutet, dass 5-HT_{1B}-Rezeptoren an Axonterminalen striatonigraler GABA-erger Neurone (HAMON et al., 1990) bzw. als Autorezeptoren an serotonergen Terminalen lokalisiert sind (DOUCET et al., 1995). Es ist daher nicht klar, ob der inhibitorische Effekt der 5-HT_{1B}-Agonisten auf DA-Neurone direkt 5-HT- oder über eine Steuerung des GABA-Releases vermittelt wird (IRAVANI u. KRUK, 1997).

Läsionen des serotonergen Systems mit verschiedenen Toxinen, wie Para-Chlorophenylalanin und 5,7-DHT (KELLAND et al., 1990a, b) zeigten nur geringe bzw. keinen Einfluss auf die basale Aktivität von DA-Neuronen. Gezeigt werden konnte aber, dass eine Verarmung an 5-HT die Inhibition von DA-Neuronen durch den D₂/D₃-Agonisten Quinpirol aufhebt (KELLAND et al., 1990a). Unterstützend für eine inhibitorische Funktion von 5-HT auf VTA-Neurone sind die Läsionsversuche von HERVE et al. (1979; 1981). Die elektrolytische Läsion von DRN und MRN führte zu einem Anstieg des DA-Umsatzes im Nacc.

2.3.2.2.3. 5-HT/ DA- Interaktion in Terminalregionen

a) 5-HT-Modulation von DA-Freisetzung, -Synthese und -Metabolismus

Obwohl auch hier die Ergebnisse nicht eindeutig sind, beschreiben die überwiegende Mehrheit der Daten eine DA-Release-fördernde Funktion von 5-HT in Terminalregionen (KELLAND u. CHIODO, 1996). Mikrodialyseuntersuchungen im STR zeigten nach Gabe eines 5-HT-Aufnahmehemmers, 5-HT sowie eines 5-HT_{1B}-Agonisten erhöhte DA- und Metabolitkonzentrationen, eine 5-HT-Verarmung nach 5,7-DHT-Läsion verhinderte diesen stimulatorischen Effekt. Die basalen DA- und Metabolitlevel waren jedoch nach Läsion nicht verändert, was die Autoren darauf schließen lässt, dass 5-HT keinen tonischen Einfluss auf den basalen DA-Release im STR ausübt (YADID et al., 1994). Zu gleichem Ergebnis kommen LUCAS et al. (2000b): 5-HT moduliert den DA-Release positiv unter den Bedingungen einer aktivierten nigrostriatalen DA-Transmission. Untersuchungen von BENLOUCIF u. GALLOWAY (1991), BENLOUCIF et al. (1993), INVERNIZZI et al. (1995) sowie KOCH et al. (1998) unterstützen ebenfalls eine Release-steigernde Funktion von 5-HT in STR und Nacc, 5-HT₃-, 5-HT_{1B}- sowie 5-HT₄-Rezeptoren sind dabei involviert.

ENNIS et al. (1981) und MURAMATSU et al. (1988) fanden dagegen eine Hemmung des DA-Releases im STR, vermittelt durch den 5-HT₂-Rezeptor. Für einen inhibitorischen serotonergen Effekt sprechen auch die PET- und Mikrodialysestudien von DEWEY et al. (1995). Die Verabreichung des 5-HT-Aufnahmehemmers Citalopram senkte die extrazelluläre Konzentration von DA im STR, Altanserin, ein 5-HT₂-Rezeptor-Antagonist, erhöhte die DA-Konzentration. SPAMPINATO et al. (1998) sowie LUCAS et al. (2000a) spezifizierten einen 5-HT₂-Rezeptor-Effekt. Sie konnten nachweisen, dass 5-HT_{2A}-Rezeptoren den striatalen DA-Release positiv, 5-HT_{2B/ C}-Rezeptoren jedoch negativ beeinflussen. Die in dieser Studie positive Modulation des DA-Releases durch 5-HT_{2A} sowie Citalopram zeigte dabei eine negative Abhängigkeit vom Grad der DA-Rezeptorbesetzung. Gegensätzliche Effekte erzielten DE DEURWAERDERE et al. (1998) regionsabhängig nach elektrischer Stimulation des DRN in STR und Nacc. Endogenes 5-HT senkte im STR aber erhöhte den DA-Release im Nacc.

Wie auch YADID et al. (1994) beschreiben WEST u. GALLOWAY (1996a) eine Desensitivierung des 5-HT-vermittelten DA-Releases nach kontinuierlicher 5-HT-

Perfusion oder wiederholter Pulsinjektion von 5-HT, d.h. der DA-Release nimmt wieder ab. Während als Ursachen dafür einerseits die Stimulation von DA-Autorezeptoren, eine Herunterregelung von 5-HT-Rezeptoren an DA-Terminalen oder ein erhöhter Reuptake bzw. Metabolismus diskutiert werden (YADID et al., 1994), spielt nach WEST u. GALLOWAY (1996a, b) eine Verstärkung der Proteinkinase C- bzw. cAMP/Proteinkinase A-„second messenger“ Kaskaden eine bedeutende Rolle für diese Desensitivierung des 5-HT-gesteuerten DA-Releases. Somit würde die Proteinkinase-abhängige Modulation von Rezeptorfunktionen einen intrazellulären Mechanismus zur striatalen DA-Transmissionsregulation darstellen (WEST u. GALLOWAY, 1996b).

Ein erhöhter DA-Metabolismus im STR ohne Beeinflussung des Releases wurde von DE SIMONI et al. (1987) nach elektrischer Stimulation der DRN gezeigt. Die Autoren charakterisieren diesen Effekt als präsynaptisch, auf Ebene von 5-HT-Rezeptoren an DA-Terminalen oder an Zellsomata in der SN. Gegenteilig sind auch hier die Ergebnisse von CRESPI et al. (1988), nach denen ebenfalls infolge Stimulation der DRN der striatale DA-Metabolismus verringert war.

Eine serotonerge Modulation der DA-Synthese im STR wurde von SPAMPINATO et al., (1985) beschrieben. In Abhängigkeit eines intakten nigrostriatalen Impulsflusses war die DA-Synthese reduziert.

Bedeutung des DAT für den 5-HT-vermittelten DA-Release

Mehrere *in vitro* (JACOCKS u. COX, 1992; YI et al., 1991) und *in vivo* Studien (DE DEURWAERDERE et al., 1996; SANTIAGO et al., 1998) zeigten, dass der DAT in die 5-HT-vermittelte DA-Release-Funktion involviert ist. DE DEURWAERDERE et al. (1996) schließen anhand ihrer Ergebnisse auf zwei unterschiedliche Mechanismen: Zum einen auf einen Tetrodotoxin/ Ca^{2+} -sensitiven Release-Prozess, vermittelt durch postsynaptische 5-HT-Rezeptoren, sowie auf einen Carrier-vermittelten, nichtexozytotischen Release-Mechanismus. SANTIAGO et al. (1995; 1998) bestätigen einen DAT-gesteuerten Release nach Gabe von 5-HT₃-, 5-HT₂- und 5-HT₁-Rezeptor-Agonisten sowie Clomipramin, einem 5-HT-Aufnahmehemmer. Die Effekte der gesteigerten DA-Ausschüttung waren mit DAT-Blockade durch die intrastriatale Applikation von Nomifensin aufgehoben.

b) DA und 5-HT auf Ebene pharmakologischer Interaktion

Es ist bekannt, dass verschiedene Pharmaka sowohl Wirkungen auf das DA- als auch 5-HT-System vermitteln (FINK et al., 1991; FINK u. MORGENSTERN, 1985; CHEN u. REITH, 1994). Von herausragender klinischer Bedeutung für die Therapie von Psychosen ist die Erkenntnis, dass atypische Neuroleptika sowohl DA- als auch 5-HT-antagonistische und damit systeminteraktive Wirkung entfalten (KELLAND u. CHIODO, 1996; MORGENSTERN et al., 1988; MORGENSTERN u. FINK, 1985). Das besondere Profil der atypischen Neuroleptika zeigt sich neben einer D₁-Affinität in einer relativ schwachen Bindung an D₂- und stärkeren Bindung an 5-HT_{2A}-Rezeptoren sowie geringeren extrapyramidalen Nebeneffekten (MATSUBARA et al., 1993). Es konnte gezeigt werden, dass 5-HT_{2A}-Antagonisten die Fähigkeit besitzen, kompensatorische Prozesse nach chronischer D₂-Blockade umzukehren, die für die Ausprägung extrapyramidaler Nebenwirkungen verbunden mit Neuroleptikamedikation mitverantwortlich gemacht werden (SALLER et al., 1990).

Clozapin, der Prototyp atypischer Neuroleptika, scheint in erster Linie die DA-Transmission in mesolimbischen Regionen zu beeinflussen (KELLAND u. CHIODO, 1996), zeigt aber auch 5-HT-antagonistische Eigenschaften (FINK et al., 1984). Clozapin inhibierte im Nacc die stimulierte Freisetzung von DA (VOLONTE et al., 1992) sowie die K⁺-stimulierte Freisetzung von [³H]5-HT (DRESCHER u. HETHEY, 1988). In 5-HT-denervierten Ratten erhöhte Clozapin den DA-Gehalt verglichen zum STR vorrangig im Nacc (CHEN et al., 1992). Die Hauptwirkung auf mesolimbische Regionen wird auch durch die Beobachtung unterstützt, dass eine chronische Behandlung mit atypischen Neuroleptika nur in der VTA zu einer Reduktion spontan aktiver DA-Neurone führt, während typische Neuroleptika ebenfalls die dopaminergen Neurone der SN beeinflussen (CHIODO u. BUNNEY, 1983; 1985).

Ausdruck einer bemerkenswerten Plastizität neuronaler Systeme ist die Fähigkeit der Synthese bzw. des Releases systemfremder Transmitter (JACKSON u. WIGHTMAN, 1995). ARAI et al. (1994; 1995; 1996) zeigten, dass 5-HT-Neurone in der Lage sind, exogen zugeführtes L-DOPA zu DA umzuwandeln und vermuten daher eine Beteiligung serotonerger Neurone an der therapeutischen Aktion von L-DOPA bei der Parkinsonbehandlung.

c) DA und 5-HT auf Ebene verhaltensbiologischer Interaktion

Die DA-Transmission im ventrolateralen Sektor des STR führt in Abhängigkeit einer D₁- und D₂-Stimulation zu einer Ausprägung intensiver orofazialer Bewegungen, wie Lecken, Beißen und Nagen (KELLEY et al., 1988). YEGHIAYAN et al. (1995) zeigten, dass die Infusion von 5-HT in die ventrolaterale Region des STR ebenfalls orofaziales Verhalten verstärkt, und dass dieser Effekt DA-abhängig ist. DA-Antagonisten blockierten das 5-HT-vermittelte Verhalten. Die Autoren vermuten daher eine bedeutsame Rolle einer DA-5-HT-Interaktion für die striatale Kontrolle motorischer Funktionen. Es wird in diesem Zusammenhang die DA-Release-fördernde Aktion von 5-HT über den DAT diskutiert. Eine Abschwächung des 5-HT-vermittelten Verhaltens nach DAT-Inhibition durch GBR 12909 unterstützt diese These (YEGHIAYAN et al. 1995).

GREEN (1984) beobachtete nach Injektion von 5-HT-Agonisten bei Ratten die Ausprägung eines charakteristischen Verhaltens, wie Vorhandtreten, Kreisbewegung und Hyperaktivität, welches sich ebenfalls durch DA inhibieren ließ. Für eine Interaktion beider Systeme bei motorischen Leistungen sprechen auch das Rotationsverhalten bei Ratten nach 5-HT-Läsion, ausgelöst durch 5-HT und antagonisiert durch den DA-Antagonisten Haloperidol (BLACKBURN et al., 1980) sowie die Hemmung hyperaktiven Verhaltens neonatal DA-lädierter Ratten durch 5-HT₂-Rezeptor-Antagonisten (LUTHMAN et al., 1991). Die Verhaltenshemmung könnte zum einen direkt mit der Inhibition einer in motorische Regulation involvierten serotonergen Transmission zusammenhängen, oder andererseits durch die 5-HT-Modulation einer verstärkten DA-Transmission verbliebener, nichtlädierter DA-Neurone bedingt sein (LUTHMAN et al., 1991).

Hypermotilität als Tiermodell mit Reflektion einer 5-HT-DA-Interaktion wurde von FINK et al. (1979), FINK u. OELSSNER (1981) und MORGENSTERN et al. (1983; 1988) anhand der LSD-potenzierten Apomorphin-vermittelten lokomotorischen Hyperaktivität beschrieben. LSD, als 5-HT-Agonist an Autorezeptoren der MRN, verstärkt infolge des reduzierten serotonergen Inputs in den Nacc die Apomorphin-vermittelte, auf Stimulation postsynaptischer DA-Rezeptoren im Nacc beruhende, Hyperaktivität bei Ratten (MORGENSTERN et al., 1988).

Als Hinweis auf eine Übernahme motorischer DA-regulierter Funktionen durch das 5-HT-System wurde die serotonerge Hyperinnervation im STR nach neonataler DA-Läsion

diskutiert (STACHOWIAK et al., 1984; LUTHMAN et al., 1991). BRUS et al. (1994) vermuten, dass in neonatal DA-lädierten Ratten 5-HT für die sich entwickelnde D₁-Rezeptor Supersensitivität essentiell ist. Im Vergleich zu allein DA-lädierten Tieren war bei Tieren mit zusätzlicher 5-HT-Läsion D₁-Rezeptor-Agonist-ausgelöstes orales und stereotypes Verhalten vermindert. Bei DA-lädierten Tieren zeigte sich ebenfalls eine Erhöhung der 5-HT_{2c}-Rezeptor-Sensitivität, so dass der 5-HT_{2c}-Rezeptor in Vermittlung der D₁-Rezeptor Supersensitivität eine Rolle spielen könnte (GONG et al., 1992; BRUS et al., 1994). BRUS et al. (1994) diskutieren mit Hintergrund dieser Interaktionsebene, dass 5-HT-Agonisten oder -Antagonisten hilfreich sein könnten bei Behandlung dyskinetischer oraler Aktivität, vorkommend z.B. bei Tardiver Dyskinesie. DE DEURWAERDERE u. CHESSLET (2000) unterstützen eine interaktive Abhängigkeit beider Systeme bei Ausprägung oraler Dyskinesie. Die Bedeutung von Rezeptor-Wechselwirkungen als spezifische Interaktion von 5-HT und DA beschreiben auch WADENBERG et al. (1994) auf Basis von 5-HT_{1A}- und D₂-Rezeptor-Mechanismen für die Vermittlung extrapyramidaler motorischer Funktionen.

2.3.2.2. Interaktion in Abhängigkeit vom dopaminergen System

Zahlreiche Untersuchungen in dieser Hinsicht wurden an 6-OHDA-dopaminerg lädierten Ratten vorgenommen. Das besondere Interesse an diesem experimentellen Ansatz gründet sich auf dessen Modellcharakter des MP (MRINI et al., 1995). So führt eine 6-OHDA-Läsion des DA-Systems in der neonatalen Phase bei adulten Ratten zu einer ausgeprägten, andauernden serotonergen Hyperinnervation des STR (STACHOWIAK et al., 1984; LUTHMAN et al., 1987; ABROUS et al., 1993; MRINI et al., 1995). Dieser Effekt nach DA-Läsion ist ausschließlich im STR zu finden (LUTHMAN et al., 1987). Der normale rostrokaudale Gradient der 5-HT-Innervationsdichte im STR wird mit der läsionsbedingten Hyperinnervation aufgehoben (STACHOWIAK et al., 1984; DESCARRIES et al., 1992). MRINI et al. (1995) beschreiben mit einer Dichtezunahme serotonerger Varikositäten im rostralen STR um 102 %, im mittleren Teil um 52 % und im kaudalen STR um 22 % eine Umkehrung des physiologischen Gradienten. Dieser erhöhten Dichte könnte das Sprießen von Kollateralen der DRN oder ein Persistieren einer während der Entwicklung auftretenden Hyperinnervation zugrunde liegen (ABROUS et al., 1993). Weiterhin könnte der Mangel einer kompetitiven Wechselwirkung mit nigrostriatalen Afferenzen um synaptische Zielstrukturen während der Entwicklung eine Rolle spielen (ABROUS et al.,

1993) bzw. der nichtjunktionalen Innervationstyp serotonerger Terminale für die Fähigkeit zur Hyperinnervation bedeutsam sein (DESCARRIES et al., 1992).

Die neonatale 6-OHDA-Läsion führt neben der Hyperinnervation zu erhöhtem 5-HT-Gehalt, erhöhter 5-HT-Wiederaufnahme sowie zu einem verringerten 5-HT-Umsatz. Da der DA-Umsatz nach Läsion erhöht ist, könnten auch auf dieser Ebene kompensatorische Mechanismen erkennbar werden (LUTHMAN et al., 1987). RADJA et al. (1993) beschreiben die Hochregulation von 5-HT_{1B}- und 5-HT₂-Rezeptoren als Folge einer Reorganisation des STR nach neonataler 6-OHDA-Läsion.

Die Ergebnisse nach dopaminergem Läsion adulter Ratten in Bezug zum 5-HT-System gestalten sich weniger eindeutig. Es wird von unveränderten serotonergen Parametern berichtet (SNYDER et al., 1986; STACHOWIAK et al., 1984), von verringertem 5-HT-Gehalt und erhöhtem 5-HT-Umsatz (KARSTAEDT et al., 1994), von herabgesetzter serotonerger Innervationsdichte (TAKEUCHI et al., 1991) sowie im Widerspruch dazu von einer 5-HT-Hyperinnervation vorrangig im kaudalen STR, in Abhängigkeit einer DA-Depletion von mehr als 90 % (ZHOU et al., 1991). Es konnte weiterhin gezeigt werden, dass nach unilateraler Läsion des nigrostriatalen Systems die Expression von 5-HT₂-Rezeptor-mRNA im STR erhöht ist, während die Expression von 5-HT_{1A} und 5-HT_{1C} unverändert blieb (NUMAN et al., 1995). Die Autoren vermuten daher, dass einzelne striatale 5-HT-Rezeptoren unter einer Kontrolle des dopaminergen Inputs stehen. Eine Zunahme der 5-HT-Innervation ist auch an adulten Affen mit MPTP-induziertem Hemiparkinson beschrieben worden (GASPAR et al., 1993). SCHNEIDER u. ROTHBLAT (1991) zeigten anhand des MPTP-Modells bei adulten Katzen, dass sich der 5-HT- und 5-HIAA-Gehalt im STR im Zusammenhang mit der symptomatischen Ausprägung nach MPTP-Läsion verändert. Es könnte somit ein Zusammenhang bestehen zwischen verbesserter Symptomatik und Erhöhung bzw. Normalisierung des 5-HT-Releases (SCHNEIDER u. ROTHBLAT, 1991; ROTHBLAT u. SCHNEIDER, 1999)

In vitro Versuche von KELLY et al. (1985) zeigten, dass DA und DA-Agonisten den 5-HT-Release steigern. BENKIRANE et al. (1987) dagegen zeigten eine D₁-vermittelte Inhibition der 5-HT-Ausschüttung in der SN. Eine Herabsetzung des striatalen 5-HT-Metabolismus nach elektrischer Stimulation des nigrostriatalen Systems zeigten CRESPI et al. (1988). Die herausragende Erweiterung der Aktion neuronaler Systeme als Beispiel

funktioneller Plastizität beschreiben STAMFORD et al. (1990) und JACKSON u. WIGHTMAN (1995) auch für das nigrostriatale DA-System. Sie zeigten, dass sowohl die 5-HT-Synthese, 5-HT-Freisetzung, als auch die DAT-vermittelte 5-HT-Wiederaufnahme unter bestimmten experimentellen Voraussetzungen von dopaminergen Neuronen kontrolliert werden können. JACKSON u. WIGHTMAN (1995) diskutieren die Möglichkeit, dass diese Art funktioneller Veränderung auch unter anderen Konditionen stattfinden könnte.

2.3.2.3. Erkrankungen mit Beteiligung/ Beeinträchtigung von 5-HT- und DA-System

1. Morbus Parkinson (MP)

Mehrere Postmortem-Studien an Parkinsonpatienten haben gezeigt, dass der 5-HT-Gehalt in verschiedenen Hirnregionen verringert ist. In STR, GP, SN und frontalem Kortex fanden sich Gehaltserniedrigungen bis zu 50 %, im Nacc bis zu 20 % (MELAMED et al., 1996). Ein Verlust serotonerger Neurone in DRN und MRN (HALLIDAY et al., 1990; JELLINGER, 1990) sowie Hinweise auf verringerte 5-HT-Transporter-Verfügbarkeit (HAAPANIEMI et al., 2001) und den Verlust serotonerger Terminale in STR und Kortex (CHINAGLIA et al., 1993) sind ebenfalls beschrieben worden. Es wird weiterhin angenommen, dass die bei etwa 50 % der Parkinsonpatienten auftretende Depression wenigstens teilweise durch eine Dysfunktion der 5-HT-Transmission bedingt wird (MURAI et al., 2001). 5-HT-Aufnahmehemmer mildern dieses Begleitphänomen (SLAUGHTER et al., 2001; HAUSER u. ZESIEWICZ, 1997).

MELAMED et al. (1996) diskutieren die Rolle einer beeinträchtigten 5-HT-Transmission in Zusammenhang mit Symptomen des MP wie Appetit- und Gewichtsverlust sowie Schlafstörungen. Die Kenntnis einer Interferenz von 5-HT-Funktion und L-DOPA-Wirkung im Zusammenhang mit auftretenden Nebenwirkungen bei der Therapie könnte einen Ansatz für veränderte Therapiestrategien liefern. In 5-HT-Terminalen aus exogenem L-DOPA gebildetes DA könnte eine unphysiologische Freisetzung von 5-HT bewirken. L-DOPA-induzierte Symptome wie Übelkeit, Erbrechen, Somnolenz, lebhafte Träume, Myoklonien und Psychosen könnten demnach auf eine Überstimulation serotonerger Rezeptoren zurückgeführt werden. Die Behandlung mit Methysergid, einem partialen 5-HT-Rezeptor-Antagonisten, sowie Ondansetron, einem 5-HT₃-Rezeptor-Antagonisten, konnte die Symptomatik der Myoklonien abschwächen bzw. psychotische Phänomene wie visuelle Halluzinationen mindern, ohne die MP-Symptome zu verstärken oder die L-

DOPA-Effizienz negativ zu beeinflussen (MELAMED et al., 1996). Am MP-Modell bei Affen konnte eine erhöhte Dichte von 5-HT_{1A}-Rezeptoren im Pach-Kompartiment des STR festgestellt werden, mit der Vermutung eines kompensatorischen Effekts (FRECHILLA et al., 2001). Die Frage nach primärer Involvierung des 5-HT-Systems in das Krankheitsgeschehen des MP oder einer sekundären Reaktion auf die herabgesetzte DA-Transmission bleibt noch zu klären (MELAMED et al., 1996; KARSTAEDT et al., 1994). Untersuchungen des 5-HT-Transportergens verweisen auf einen Risikofaktor für die Entwicklung einer Depression bei Parkinsonpatienten, nicht aber für die Entwicklung des MP selbst (MOSSNER et al., 2001; 2000).

2. Gilles de la Tourette-Syndrom

Mit Hilfe des SPECT-Imaging-Verfahrens konnten HEINZ et al. (1998b) zeigen, dass zwischen der Schwere der vokalen Tic-Symptomatik und der β -CIT-Bindung an serotonerge Transporter in Mittelhirn und Thalamus eine negative Korrelation besteht. Die Autoren vermuten eine erhöhte serotonerge Aktivität in VTA und SN interagierend mit einer Dysfunktion des DA-Releases im Ncl. caudatus. Olanzapin, ein atypisches Neuroleptikum mit D₂- und 5-HT_{2A/2C}-antagonistischer Wirkung, führte bei Tourette-Patienten zu einer Abschwächung der Symptomatik (BUDMAN et al., 2001). Die Behandlung mit Ondansetron, einem 5-HT₃-Antagonisten, konnte ebenfalls die Stärke der Tics abschwächen (TOREN et al., 1999). Es existieren Hinweise auf eine genetische Komponente des Tourette-Syndroms in Verbindung mit dem 5-HT-System, wie z.B. die Studie von HUANG et al. (2000) zum 5-HT_{2A}-Polymorphismus zeigt.

3. Drogenmissbrauch/ Abhängigkeit

a) Alkoholismus

Mehrere Studien verweisen darauf, dass sowohl der Krankheitsprozess der Alkoholabhängigkeit bzw. die Entzugsphase mit einer Dysfunktion des serotonergen Systems verbunden ist, als auch pathogenetisch Störungen der 5-HT-Transmission für eine Entwicklung des Alkoholismus von Bedeutung sein könnte. So zeigten, unterstützend für eine Involvierung des 5-HT-Systems bei Alkoholabhängigkeit, sowohl in Tierversuchen als auch in klinischen Studien an Patienten, 5-HT-Aufnahmehemmer sowie verschiedene 5-HT-Rezeptor-Agonisten und -Antagonisten eine effektive Wirkungen in Bezug auf einen gesenkten Alkoholkonsum (NARANJO u. SELLERS, 1989; BRUNO, 1989; MONTI u. ALTERWAIN, 1991; SELLERS et al., 1992; TOMKINS et al., 1995; WILSON et al.,

2000). HEINZ et al. (1998c) beschreiben für Abhängige im frühen Entzug eine mit der im Leben konsumierten Alkoholmenge korrelierende, herabgesetzte Verfügbarkeit serotonerger Transporter in der Rapheregion des Hirnstammes. Es wird eine verminderte Transporterdichte infolge kumulativer toxischer Ethanoleffekte angenommen. Die verringerte Transporterverfügbarkeit war ebenfalls mit verstärkter Angst und Depression in der frühen abstinenter Phase verbunden, was wiederum ein erhöhtes Rückfallrisiko bedeutet (HEINZ et al. 1998c).

Eine reduzierte 5-HT-Transporterfunktion wurde auch in Zusammenhang pathogenetischer Faktoren des Alkoholismus diskutiert (GOLDMAN, 1996), ebenso ein verminderter 5-HT-Umsatz im ZNS (HIGLEY et al., 1996a, b). Ratten mit gezüchteter Alkoholpräferenz besitzen einen herabgesetzten 5-HT-Umsatz sowie eine erhöhte Dichte von 5-HT_{1A}-Rezeptoren in verschiedenen Hirnregionen, wie Nacc und Hippocampus (MURPHY et al., 1987; WONG et al., 1990). Bei Alkoholikern mit impulsivem und gewalttätigem Verhalten zeigte sich ebenfalls ein herabgesetzter 5-HT-Umsatz (VIRKKUNNEN et al., 1996).

Die herausragende Bedeutung von Umweltfaktoren für die Entwicklung und Regulierung der serotonergen Transmission wurde von HEINZ (1999b) diskutiert. Das soziale Stressphänomen der frühkindlichen Isolation ist in diesem Zusammenhang in mehreren Studien untersucht worden. HEINZ et al. (1998a) beschreiben bei Rhesusaffen mit erfahrener postnataler Trennung vom Muttertier eine bis ins adulte Lebensalter andauernde erhöhte 5-HT-Transporterverfügbarkeit, korrelierend mit einem verminderten Gehalt von 5-HIAA im Liquor, einer geringeren Intoxikation nach erster Alkoholexposition sowie erhöhter Aggressivität. Die Assoziation dieser stressbedingten 5-HT-Dysfunktion mit einer herabgesetzten Intoxikationssensitivität und aggressivem Verhalten äußert sich damit in einem für den Alkoholismus prädisponierenden Status (HEINZ et al. 1998a). Psychopathologisch scheint für die frühe soziale Isolation mit folgender 5-HT-Funktionsstörung primär erhöhte Ängstlichkeit und Depressivität eine Rolle zu spielen, was sekundär den Ausdruck in Aggressivität und Alkoholabhängigkeit finden kann (HEINZ, 1999b; KNUTSON et al., 1998).

b) Kokainabhängigkeit

Die direkten Wirkungen von Kokain auf das 5-HT-System und die verschiedensten Interaktionsebenen von 5-HT und DA lassen vermuten, dass 5-HT eine bedeutsame Rolle bei der pharmakologischen Wirkung von Kokain spielt (KELLAND u. CUIODO, 1996). Kokain führt, durch Blockade der 5-HT-Transporter, zur Erhöhung des extrazellulären 5-HT (WEISS, 1997). Das Feuern serotonerger Neurone im DRN ist daher aufgrund der verstärkten Stimulation von Autorezeptoren verringert (JOHNSON et al., 1993). Die Dichte der 5-HT-Transporter ist mit chronischer Kokaingabe erhöht, 5-HT_{1A}-Autorezeptoren zeigen eine Supersensitivität, die 5-HT-Synthese ist reduziert. (WEISS, 1997; BAUMANN et al., 1993). JOHNSON et al. (1993) fanden nach chronischer Kokainexposition regionsspezifische Veränderungen des 5-HT-Gehaltes; im Hippocampus war der Gehalt erhöht, im STR unverändert. McNEISH et al (1993) beschreiben eine reduzierte Kokain-vermittelte Erhöhung der extrazellulären DA-Konzentration durch einen 5-HT₃-Antagonisten. Der 5-HT_{1B}-Rezeptor scheint eine Rolle bei der verstärkenden Aktion von Kokain zu spielen. Während der frühen Entzugsphase zeigt sich eine Hyposensitivität, die sich später in eine Hypersensitivität umkehrt. Im frühen Entzug zeigt sich ebenfalls eine starke Reduktion der 5-HT-Freisetzung. Da eine verringerte serotonerge Transmission mit Depressivität, panischen Störungen, Schlafstörungen, Impulsivität und Aggression verbunden wird, und diese Symptomatik bei Kokainabstinenz auftritt, scheint dieses 5-HT-Defizit direkt zum Kokain-Entzugssyndrom beizutragen (WEISS, 1997).

4. Schizophrenie

Mit der Erkenntnis, dass der Prototyp der atypischen Neuroleptika, Clozapin, neben der Wirkung an DA-Rezeptoren eine Affinität zu 5-HT_{2A}-Rezeptoren besitzt, wurde von MELTZER (1989) die 5-HT/ DA-Hypothese der Schizophrenie formuliert. So wurden mit mehreren 5-HT_{2A}-Antagonisten Behandlungserfolge bei Schizophreniepatienten erzielt (KELLAND u. CHIODO, 1996). Verschiedenste Störungen des serotonergen Systems sind beschrieben worden, die zum Teil recht widersprüchlich sind. Von erhöhten oder erniedrigten Gehalten an 5-HT in verschiedenen Regionen bzw. erhöhten oder erniedrigten Rezeptordichten wird berichtet (JOYCE, 1993; GUREVICH u. JOYCE, 1997). Es ist gezeigt worden, dass die Dichte der 5-HT-Transporter im dorsalen und ventralen STR stark erhöht ist (JOYCE et al., 1993). Es wird daher eine 5-HT-Hyperinnervation des STR bei schizophrenen Patienten vermutet.

Die Bedeutung von 5-HT für die Funktion des mPFC innerhalb des Schizophreniegeschehens sowie die Modulation der DA-Transmission in den BG in diesem Zusammenhang wird von mehreren Autoren diskutiert (KELLAND u. CHIODO, 1996; OHUOHA et al., 1993; GUREVICH u. JOYCE, 1997). Die unter dem Einfluss des mPFC stehende dopaminerge Transmission im STR könnte demnach von kortikalem 5-HT moduliert werden.

2.4. *In vivo* Bestimmung von Neurotransmittern im ZNS

2.4.1. Einleitung

Zu den ersten Nachweisverfahren von Transmittern im Extrazellulärraum *in vivo* gehörte die „Cup-Perfusions“-Methode, bei der ein direkter Kontakt bzw. Austausch zwischen Hirnoberfläche und einer in einem aufgesetzten Behältnis befindlichen physiologischen Lösung bestand und so die Substanzen aus dem Gewebe in die Lösung diffundierten (MACINTOSH u. OBORIN, 1953). Bei der „Push-Pull“-Technik wurde mit Hilfe einer Kanüle Flüssigkeit in ein Hirngebiet gepumpt und durch eine zweite Kanüle wieder abgesaugt (GADDUM, 1961). Eine Weiterentwicklung stellte die Diffusion durch semipermeable Membranen dar, wobei zunächst eine Implantation von Dialysesäckchen in das Gehirn vorgenommen wurde (BITO et al., 1966). Die heute angewendete Methode der *in vivo* Mikrodialyse beruht auf den Entwicklungen von UNGERSTEDT (1982). Dabei handelt es sich um eine Sammeltechnik, bei der Stoffe der Extrazellulärflüssigkeit durch eine semipermeable Membran in den eine Mikrodialysesonde durchströmenden künstlichen Liquor diffundieren.

Ein zweites, auf elektrochemischer Methodik basierendes, *in vivo* Nachweisverfahren ist die Voltammetrie. Ersten Arbeiten in den sechziger Jahren (CLARK u. LYONS, 1965) folgten die Veröffentlichungen von KISSINGER et al. (1973) und ADAMS (1976), mit denen die *in vivo* Voltammetrie ihre Begründung fand. Das Verfahren beruht auf der Bestimmung von Substanzen anhand ihrer Redoxeigenschaften. Ein an eine Elektrode angelegtes Potential bewirkt die Oxydation von Molekülen mit entsprechendem Redoxpotential, worauf der resultierende Oxydationsstrom gemessen wird (WESTERINK u. JUSTICE, 1991). Eine unzweifelhafte Bestimmung von extrazellulärem DA gelang

erstmalig in den frühen achtziger Jahren und unterstreicht somit die Schwierigkeit dieses Vorhabens seit der Einführung dieser Methodik im Jahre 1973 (GONON 1995). Im Gegensatz zur Mikrodialyse ermöglicht die Voltammetrie das Messen schnell auftretender Konzentrationsänderungen im Millisekundenbereich, wie die stimulierte Freisetzung und Wiederaufnahme von Transmittern und damit eine Charakterisierung der Transmissionskinetik (WESTERINK u. JUSTICE, 1991; GONON 1995).

2.4.2. Voltammetrie

2.4.2.1. Grundlagen

Die voltammetrische Nachweisbarkeit von Verbindungen basiert auf deren Oxydationsfähigkeit bei Redoxpotentialen einer bestimmten Potentialspanne. Das erklärt die relativ begrenzte Anzahl voltammetrisch messbarer Substanzen. Die anwendbare Potentialspanne ist beschränkt auf den Bereich von -0,2 bis +0,8 V. Das untere Limit ist durch Sauerstoff bestimmt, das in hoher Konzentration im Gewebe vorliegt und dessen Reduktion bei Potentialen negativer als -0,2 V massive Ströme erzeugt, die andere Redoxprozesse überlagern. Die obere Grenze ist durch die Oxydation einer unerschöpflichen Menge von Wasser festgelegt (STAMFORD et al., 1992).

Zu den voltammetrisch erfassbaren Substanzen innerhalb dieses Potentialfensters gehören die Katechol- und Indolamine sowie deren Metabolite. Es zählen weiterhin Ascorbinsäure und Harnsäure dazu, die ein den Aminen ähnliches Redoxpotential besitzen und in hoher Konzentration im Extrazellulärraum vorliegen. Die Redoxpotentiale der einzelnen Substanzen unterscheiden sich entsprechend der Molekülstruktur und funktionellen Gruppen. Leicht oxydierbare Verbindungen besitzen ein niedrigeres Redoxpotential als schwer oxydierbare Verbindungen. Katecholamine z.B. oxydieren leichter und damit bei geringerem Potential als Indolamine, da sich Elektronen aus OH-Gruppen leichter herauslösen als aus NH-Gruppen (STAMFORD et al., 1992; WESTERINK u. JUSTICE, 1991). Als ein Schlüsselproblem in Hinsicht auf die Interpretation eines *in vivo* Signals gilt die Tatsache, dass die Metabolite DOPAC und 5-HIAA jeweils bei gleichem Potential oxydieren wie das dazugehörige Amin, DA bzw. 5-HT (STAMFORD et al., 1992).

Das voltammetrische Meßsystem besteht in der Regel aus einem Drei-Elektrodensystem, mit einer Kohlefaserelektrode (carbon fiber electrode; CFE), einer Referenzelektrode

(Ag/AgCl-Elektrode) und einer Hilfselektrode (Ag-Elektrode). Die Funktion der Hilfselektrode besteht darin, die Potentialdifferenz zwischen CFE und Referenzelektrode konstant zu halten. Es ist ebenfalls ein Zwei-Elektrodensystem in Anwendung, bei dem die Hilfselektrode vernachlässigt wird (JUSTICE, 1987). Das zwischen CFE und Referenzelektrode angelegte Potential bewirkt die Oxydation von Substanzen an der CFE mit entsprechendem Redoxpotential. Der resultierende Elektronenfluss wird in Form eines verstärkten Stromflusses messbar, wobei eine direkte Proportionalität zwischen Stärke des Oxydationsstromes und der Menge oxydierter Moleküle besteht (STAMFORD et al., 1992; WESTERINK u. JUSTICE, 1991). In Abbildung 8 und 9 ist das Prinzip der Voltammetrie bzw. die Oxydation eines Katecholaminmoleküls schematisch dargestellt.

Abbildung 8

Das Grundprinzip der Voltammetrie

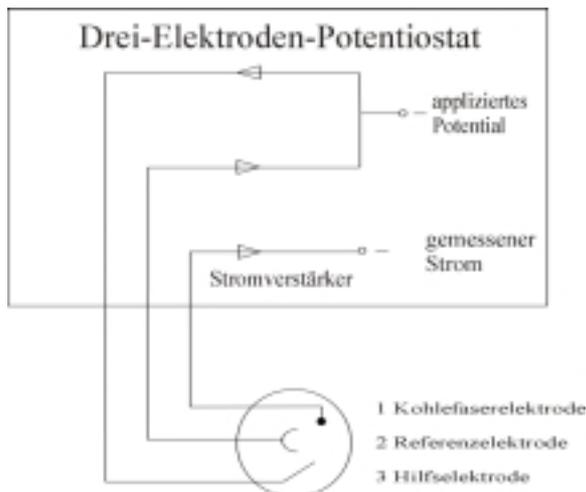
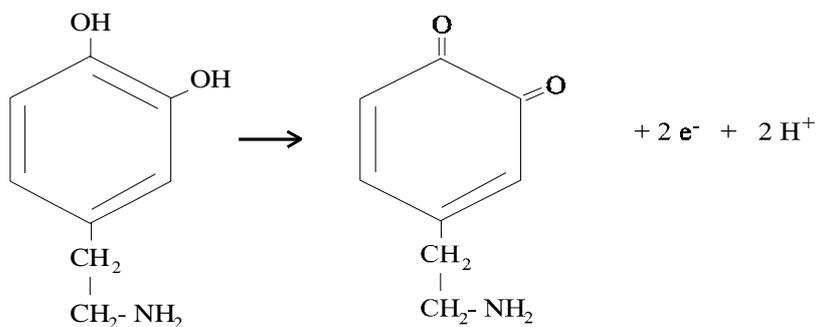


Abbildung 9

Oxydation eines Katecholaminmoleküls



2.4.2.2. Die Kohlefaserelektrode

Die CFE wird im Vergleich zu weiteren Elektrodenformen, wie die Kohlepastelektrode oder die Graphit-Epoxy-Elektrode, aufgrund ihrer besonderen Vorteile bevorzugt angewendet (STAMFORD et al., 1992). Eine der vorteilhaften Eigenschaften der CFE ist der geringe Durchmesser (7-30 μm) und damit eine sehr hohe räumliche Auflösung mit einem hohen Grad an anatomischer Spezifität, geringer Gewebeerstörung, kleiner Ladeströme und schneller Messzeiten (JUSTICE, 1987; STAMFORD et al., 1992). Die CFE besitzt eine hohe Sensitivität, exzellente elektrochemische Eigenschaften und erlaubt mit ihrer schnellen Reaktionszeit die Charakterisierung kinetischer Prozesse. Die Messungen erfassen Veränderungen im Extrazellulärraum, nicht jedoch Prozesse einzelner Synapsen (STAMFORD et al., 1992).

Faktoren, die die analytische Nutzbarkeit der Elektrode bestimmen, sind Sensitivität, die Detektionsgrenze, Selektivität, Stabilität und Reaktionszeit (McCREERY, 1995).

Die Sensitivität bestimmt die Nachweisbarkeit von Verbindungen in Abhängigkeit ihrer Konzentration. Die Sensitivität des voltammetrischen Meßsystems liegt im mikromolaren Bereich, so dass z.B. die basalen Level von DOPAC und Ascorbinsäure bestimmt werden können, aber nicht die der Amine, die in nanomolarer Konzentration im Extrazellulärraum vorliegen. Eine stimulierte Freisetzung mit Erreichen mikromolarer Konzentrationen ermöglicht den Nachweis von Aminen. Mit elektrochemischer Vorbehandlung lässt sich die Sensitivität für Katione erhöhen (GONON, 1984).

Die Detektionsgrenze ist abhängig von der Höhe des analytischen Signals im Vergleich zum Hintergrundrauschen. Eine niedrige Detektionsgrenze ist erreichbar durch eine hohe Sensitivität, verbunden mit geringen Hintergrundsignalen (McCREERY, 1995).

Die Selektivität ist charakterisiert durch die Messbarkeit eines speziellen Transmitters in einer Umgebung von mehreren elektroaktiven Substanzen mit möglicherweise vielfach höheren Konzentrationen (McCREERY, 1995). Die Selektivität bestimmt somit in entscheidendem Maße die Identifizierbarkeit eines Signals. Es existieren mehrere Methoden, die Selektivität zu erhöhen. Dazu gehört z.B. die elektrochemische Vorbehandlung der Elektroden sowie die Beschichtung mit Nafion. Die Nafionbeschichtung führt zum Aufbau eines „elektrostatischen Tores“ (McCREERY, 1995). Kationen, wie DA und 5-HT, erreichen die Elektrodenoberfläche zur Oxydation.

Anionen, wie Ascorbinsäure und DOPAC, werden abgestoßen (McCREERY, 1995; JUSTICE, 1987).

Die Stabilität beeinflusst die Nutzungsdauer einer Elektrode. Ein Aktivitätsverlust kann z.B. eintreten, wenn Moleküle an der Elektrode adsorbiert werden (McCREERY, 1995).

Die Reaktionszeit bestimmt die spezifische Nutzung einer Elektrode für das Erfassen von Prozessen mit zeitlicher Variation im Millisekunden- oder Minutenbereich. Sie variiert häufig aus Gründen der Oberflächenchemie.

Die Optimierung einer der genannten Variablen ist häufig mit der Benachteiligung einer anderen verbunden (McCREERY, 1995). So hat z.B. die Elektrodenvorbehandlung zur Selektivitätssteigerung eine Verlangsamung der Reaktionsfähigkeit der Elektrode zur Folge (GONON, 1995; STAMFORD et al., 1992).

2.4.2.3. Einteilung voltammetrischer Verfahren

Die verschiedenen Voltammetrieverfahren unterscheiden sich hauptsächlich in der Form des angelegten Potentials sowie in der Beschaffenheit der Arbeitselektrode (WESTERINK u. JUSTICE, 1991). Anhand der Potentialarten kann allgemein eine Unterteilung in „Puls-Methoden“ und „Potential-Gleit- (Sweep) Methoden“ vorgenommen werden. Zu den Puls-Methoden zählen die Chronoamperometrie, die Normal- (NPV) und Differenzpulsvoltammetrie (DPV), die Differenzdoppelpulsvoltammetrie (DDPV) sowie die „Square Wave“ Voltammetrie. Zu den Sweep-Verfahren gehören Linear-Sweep-Voltammetrie sowie Zyklische und Schnelle zyklische Voltammetrie (FCV). Im Allgemeinen geben Puls-Techniken eher quantitative Informationen über ein elektrochemisches Signal, wie Konzentration; die Sweep-Verfahren mehr qualitative Aussagen, wie chemische Peak-Identifikation und Reaktionskinetik (JUSTICE, 1987). Die kontinuierliche Amperometrie (CA) lässt sich in diese Kategorisierung nicht einordnen.

2.4.2.4. Kontinuierliche Amperometrie

Die CA ist ein voltammetrisches Verfahren, bei dem ein konstantes Potential an der Arbeitselektrode angelegt und eine kontinuierliche Strommessung vorgenommen wird. Der resultierende Oxydationsstrom umfasst die Oxydation sämtlicher Substanzen bei dem angelegten stationären Potential. Demnach handelt es sich um eine Methodik mit geringer Selektivität. Die Vorteile liegen in einer hohen Sensitivität und aufgrund des konstant

gehaltenen Potentials in einer hervorragenden zeitlichen Auflösung. Dadurch erlaubt die CA die Darstellung von Prozessen, wie den stimulierten DA-Release, in realer Kinetik. Eine unterstützende pharmakologische Behandlung ist nicht notwendig (WIGHTMAN et al., 1991; DUGAST et al., 1994; GONON, 1995). Verbunden mit dem amperometrischen Detektor AMU 110 besitzt das Meßsystem der CA eine sehr schnelle Reaktionszeit von 1 ms und ein exzellentes Detektionslimit zur Messung von Strömen unter 0,1 pA (GONON, 1995).

Messung von DA-Release und Clearance mit CA

Voraussetzung für das Erfassen dopaminerger Prozesse durch die CA ist die Stimulation einer ausreichend hohen DA-Ausschüttung (DUGAST et al., 1994). Die hauptsächlich angewendete Methode ist die elektrische Stimulation der afferenten dopaminergen Projektionsbahn, gelegen im Medialen Vorderhirnbündel (MFB) (GONON, 1995). DUGAST et al. (1994) z.B. zeigten mit CA im Nacc, dass eine Einpulsstimulation (Rechteckpuls: 300 μ A, 0,5 ms) zur einer DA-Ausschüttung mit Clearance-Zeit von 200 ms führt. Sie bestätigten weiterhin die Bedeutsamkeit kurz aufeinanderfolgender Stimuli bzw. Entladungen (6 Pulse, 20 Hz) für die Höhe des DA-Releases und damit für die Effektivität der DA-Transmission (GONON u. BUDA, 1985; WIGHTMAN u. ZIMMERMAN, 1990). Es wird davon ausgegangen, dass die durch Elektrostimulation des MFB amperometrisch messbare Stromänderung allein der Oxydation des freigesetzten DA zuzuschreiben ist (GONON, 1995; DUGAST et al., 1994). Messtechnische, anatomische, physiologische und pharmakologische Kriterien zur Identifizierbarkeit dieses Messsignals werden erfüllt. So entsprechen 1. Stimulations- und Messregion der anatomischen Spezifität, zeigt 2. das Signal die Charakteristika eines aktionspotentialabhängigen Transmitter-Releases (zeitliche Korrelation mit der Stimulation, Ca^{2+} -Abhängigkeit, negativer Einfluss von Tetrodotoxin), führt 3. pharmakologische Behandlung zu erwarteten Modifikation des Signals (z.B. Verlangsamung der Eliminationsrate von DA nach Gabe des DA-Uptake-Inhibitors Nomifensin), haben 4. Serotonin- und Noradrenalin-Uptake-Inhibitoren keinen Einfluss auf die Messung, und 5. zeigen Amplitude und Kinetik des evozierten Signals eine Abhängigkeit von Frequenz und Dauer der elektrischen Stimulation (DUGAST et al., 1994).