

1. Einleitung

Der schweizer Chemiker A. Hofmann entdeckte 1943 die halluzinogene Wirkung des Lysergsäurediethylamid (LSD) (Hofmann, 1970); die krankhaften Zustände, die es hervorrief, wurden als „Modell der Psychose“ bezeichnet. Es konnte gezeigt werden, daß es zwischen LSD und dem 1948 isolierten und in seiner chemischen Formel definierten Serotonin (Rapport et al., 1948) einen Antagonismus gab und daß die Strukturformeln beider Substanzen ähnlich waren (Gaddum, 1953). Diese beiden Fakten legten die Vermutung nahe, daß das Serotonin in die neurophysiologischen Prozesse des Gehirns involviert war (Wooley und Shaw, 1954).

Mit Untersuchungen zu den Wirkungsmechanismen von Reserpin und Isoniazid und der Entwicklung der trizyklischen Antidepressiva, wie Imipramin, und deren Wirkung auf die Monoamine, wurde die Hypothese aufgestellt, daß ein Defizit von Noradrenalin und Serotonin (5-HT) an den Synapsen der auslösende Mechanismus der Depression sei. Dabei wurde zunächst dem Noradrenalin die Hauptrolle zugewiesen (Schildkraut, 1965), später setzte sich jedoch mehr und mehr die Serotoninhypothese durch (van Praag et al., 1970).

Im Zuge der Untersuchungen zum Zusammenhang zwischen Serotonin und Depression fand man heraus, daß Serotonin ebenfalls am Auftreten von aggressivem Verhalten beteiligt war (Yen et al., 1959); daß die Behandlung der Zwangsstörung (OCD) mit Clomipramin erfolgreich war (Lopez-Ibor und Fernandez-Cordaba, 1967) und daß Panikattacken, die zu den Angstneurosen zählen, mit Imipramin vorgebeugt werden konnte (Klein und Fink, 1962). Erst mit der Einführung der Benzodiazepine, die über eine anxiolytische Wirkung verfügten, und der Kenntnis über deren Einfluß auf den Monoaminumsatz, entwickelte sich eine Serotoninhypothese für das Angstverhalten. In verschiedenen Studien konnte gezeigt werden, daß eine Verminderung der Aktivität des serotonergen Transmissionssystems durch Gabe von serotoninentspeichernden Substanzen (File und Hyde, 1977; Lorens, 1978) oder durch Serotoninrezeptor-Blockade (Commissaris et al., 1981) eine Erhöhung von Elektroschock-bestraftem Verhalten in Konflikttests zur Folge hatte, die durch Gabe von 5-Hydroxytryptophan (5-HTP) aufgehoben werden konnte. Dies legte die Vermutung nahe, daß erhöhte Aktivität des serotonergen Neurotransmissionssystems angstfördernd wirkt, während Antagonismus oder Reduktion serotonerger Aktivität angstmindernd ist.

Bei den nachfolgenden Untersuchungen, die sich auf unterschiedliche Weise mit der Verminderung von Serotoningehalten und seinen Auswirkungen auf das Angstverhalten

beschäftigten, fiel das Augenmerk auf zwei serotonerge Ursprungsgebiete, die vornehmlich in das Vorderhirn projizieren; den dorsalen und den medianen Raphekern. Sie unterscheiden sich hauptsächlich durch ihre verschiedenen Projektionsgebiete und durch die Morphologie ihrer Fasern. In Studien zum Angstverhalten lag dabei der Schwerpunkt zumeist auf Untersuchungen des dorsalen Raphekerns.

Ziel der vorliegenden Arbeit ist es, die neurotoxische Läsion des medianen Raphekerns zu unterschiedlichen Zeitpunkten nach der Läsion auf das Angstverhalten im Elevated plus maze-Test und ihren Einfluß auf die Exploration und die Lokomotion zu überprüfen. Mithilfe der *in vivo* Mikrodialyse sollen dabei neurochemische Veränderung während des Aufenthaltes auf dem Elevated plus maze sichtbar gemacht und überprüft werden, inwieweit das serotonerge System nach der Läsion auf die pharmakologische Provokation mit Fenfluramin reagiert. Weiterhin ist zu ermitteln, wie sich die Läsion des dorsalen Raphekerns und die Läsion beider Raphekerne auf das Angstverhalten im Elevated plus maze-Test auswirken. Zusätzlich soll der Einfluß der Läsion des medianen bzw. des dorsalen Raphekerns auf die appetitmindernde Wirkung des Neuropeptids Cholezystokinin untersucht werden.

2. Literaturübersicht

2.1. Der Neurotransmitter Serotonin

Obwohl die Wirkungen von 5-Hydroxytryptamin (5-HT) das Interesse von Wissenschaftlern schon vor über einem Jahrhundert weckten, kann man die „Geburt“ von 5-HT auf den Artikel der Arbeitsgruppe von Page (Rapport et al., 1948) datieren, in dem er von einem vasokonstriktorischem Faktor berichtete, den er in kristalliner Form isolierte und dessen chemische Struktur definierte. Es handelte sich um das 5-Hydroxytryptamin. Er schlug vor, dieses Monoamin wegen seiner Gewinnung aus Serum und seiner physiologischen Wirkung auf die Gefäße ‚Serotonin‘ zu nennen.

Studien über Serotonin im Gehirn begannen in den frühen 50er Jahren, als Twarog und Page (1953) es mit einer sensitiven Bioanalyse im Gehirngewebe nachweisen konnten. Kurz darauf wurde von Wooley und Shaw (1954) eine mögliche zentrale Rolle für Serotonin postuliert, basierend auf den psychotomimetischen Aktivitäten von LSD, das die Wirkung von Serotonin an der glatten Muskulatur antagonisierte. Seit dieser Zeit gibt es intensive Bemühungen der Forschung um ein besseres Verständnis dieses Neurotransmitters, und es ist derzeit bekannt, daß serotonerge Systeme in verschiedenem Ausmaß an der Ausbildung einer Vielzahl von ZNS-Funktionen wie neuronale Entwicklung (Lauder, 1983), Thermoregulation (el-Hawary und Feldberg, 1966), Schmerz (Tenen, 1967), motorische Regulation (Jacobs, 1991), Schlaf (Jouvet, 1967), Appetit (Fernstrom und Wurtmann, 1971), Sexualverhalten (Gorzalka et al., 1990), Aggression (Sheard, 1969; Soubrié, 1986), Angst (Chopin und Briley, 1987) und Gemütslage (Golden et al., 1991) beteiligt sind.

2.1.1. Anatomie der serotonergen Ursprungskerne

Die ersten Autoren, die multipolare Zellen im Zentrum (bzw. Mittellinie oder Raphe) des Vertebratenhirnstamms beschrieben, waren Koelliker (1891) und Cajal (1911). Ihre Bedeutung blieb unklar. Brodal und Mitarbeiter fanden 1960, daß die Raphekerne zahlreiche Verbindungen zum Vorderhirn aufwiesen. Die Methode Serotonin durch Formaldehydgas in ein Fluorophor zu überführen (Falck et al., 1962), führte zur ersten Darstellung der Verteilung serotonerger Neurone im Säuger-ZNS (Dahlström und Fuxe, 1964). Eine selektive und empfindliche immunhistochemische Technik entwickelten Steinbusch und Mitarbeiter 1978, durch die Herstellung von Antikörpern für Serotonin, das Formaldehyd-vermittelt mit Albumin verbunden ist. Diese Methode wurde unlängst durch die Herstellung von Antikörpern für aromatische Aminosäuren-Hydroxylasen (PH8) erweitert, welche mit der Tryptophanhydroxylase kreuzreagieren (Haan et al., 1987; Cotton et al., 1988).

Das Vorkommen heterogener Populationen von Serotoninneuronen innerhalb der Raphekerne konnte nicht nur durch immunhistochemische Techniken, sondern auch durch Nissl-Färbung und Golgi-rapid-Imprägnationstechnik nachgewiesen werden (Danner und Pfister, 1980; Hölzel und Pfister, 1983; Baker und Halliday, 1995).

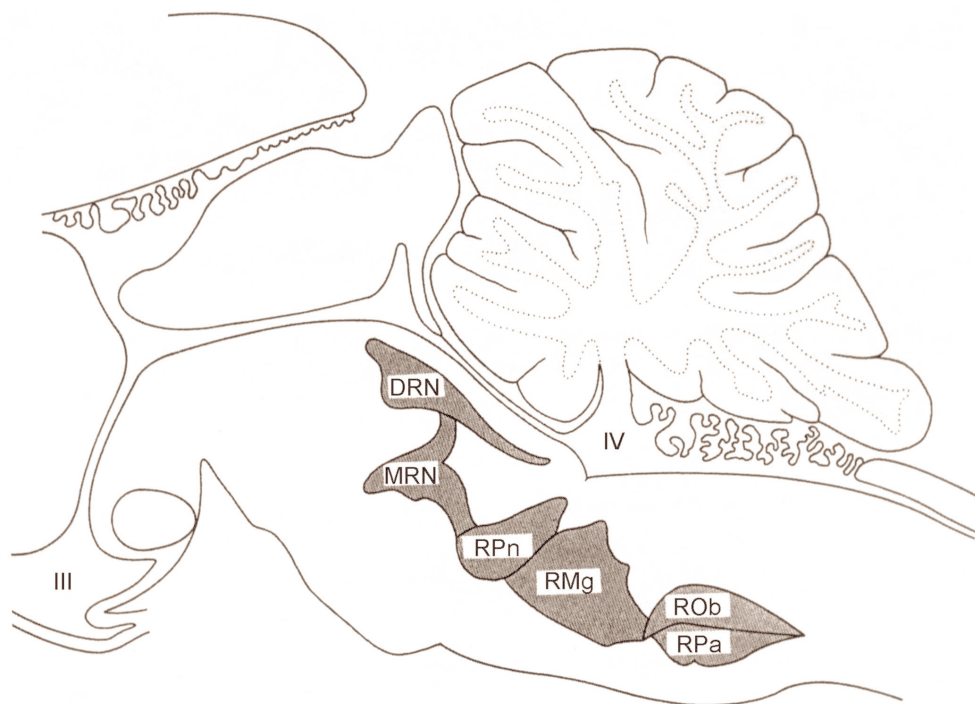


Abbildung 1

Schematische Darstellung der Raphekerne (verändert nach Palkovits et al., 1977)

Die Einteilung der Raphekerne beim Säugetier (ausgenommen Mensch) erfolgt zunächst in eine rostrale und eine kaudale Zellgruppe, die sich ventral des vierten Ventrikels (IV) im Hirnstamm befinden. Zur rostralen Zellgruppe gehören der Nucleus raphes dorsalis (DRN), der Nucleus raphes medianus (MRN) und der Nucleus raphes pontis (RPn). Letzterer kommt nicht bei allen Spezies vor und wird auch als kaudaler Teil des medianen Raphekerns angesehen. Zur kaudalen Zellgruppe gehören der Nucleus raphes magnus (RMg), der Nucleus raphes obscurus (ROb) und der Nucleus raphes pallidus (RPa) (siehe Abb. 1).

Nicht alle Raphe-Neurone enthalten 5-HT und die Zahl der 5-HT-Neurone schwankt erheblich in den verschiedenen Raphekernen. Einige serotonerge Zellen liegen außerhalb der Raphekerne. In ihrer Fluoreszenz-histochemischen Studie unterteilten Dahlström und Fuxe (1964) die 5-HT-Neurone im Hirnstamm alphanumerisch in neun Gruppen, beginnend mit der Gruppe B1 in der kaudalen Medulla oblongata bis zur Gruppe B9 im Mittelhirn (Einteilung siehe Tab. 1)

Alphanumerische Klassifikation	Zytoarchitektonische Region
B1	Nucleus raphes pallidus (RPa) Kaudale ventrolaterale Medulla
B2	Nucleus raphes obscurus (Rob)
B3	Nucleus raphes magnus (RMg) Rostrale ventrolaterale Medulla Lateraler Nucleus reticularis paragigantocellularis
B4	Zentrales Grau der Medulla oblongata
B5	Nucleus raphes medianus (MRN) der Pons
B6	Nucleus raphes dorsalis (DRN) der Pons
B7	Nucleus raphes dorsalis (DRN) des Mittelhirns
B8	Nucleus raphes medianus (MRN) des Mittelhirns Nucleus linearis caudalis
B9	Medialer Lemniscus

Tabelle 1

B-Nomenklatur der 5-HT-Neurone (nach Dahlström und Fuxe, 1964)

2.1.2. Serotonerge Projektionen zum Vorderhirn

Der größte Teil der serotonergen Projektionen in das Di- und Telenzephalon hat seinen Ursprung in den rostralen mesopontinen Raphekernen (d. h. im Nucleus raphe dorsalis, medianus und pontis; B5-8) und in den Zellen außerhalb der Raphekerne im supralelemniskalen Gebiet B9, während die kaudalen Raphekerne (B1-4) hauptsächlich ins Rückenmark projizieren (Halliday et al., 1995).

Viele Großhirnzielgebiete erhalten Afferenzen parallel vom dorsalen und medianen Raphekern. Die Unterscheidung zwischen dorsalen und medianen Raphekern-Efferenzen, die Axonterminalen zu den gleichen Zielgebieten unterhalten, ist erleichtert durch Unterschiede in der Morphologie und Neurotoxinsensitivität der Axone: Fasern, die dem dorsalen Raphekern entspringen sind generell sehr fein und haben pleomorphe kleine Varikositäten von granulärer oder fusiformer Gestalt, die aus dem medianen Raphekern sind hauptsächlich durch große kugelförmige oder ovoide Varikositäten und Variationen im Axondurchmesser („perlschnurförmig“ oder „grobkörnig“) charakterisiert (Hornung et al., 1990), während ein nicht näher definierter Prozentsatz ebenfalls vom „feinen“ Fasertyp sind (Halasy et al., 1992). Die feinen Fasern des dorsalen Raphekerns (und ihre Äquivalente des medianen Raphekerns) sind höchst empfindlich gegen neurotoxische Schädigung durch bestimmte Amphetamine, wie p-Chloroamphetamin (pCA), 3,4-Methylenedioxyamphetamin (MDA) und 3,4-Methylenedioxymethamphetamin (MDMA) (Molliver et al., 1990; McQuade und Sharp, 1995).

Azmitia und Segal (1978) untersuchten die unterschiedlichen Projektionen des dorsalen und medianen Raphekerns mittels Autoradiographie und Neurotoxinläsion. Sie konnten sechs aufsteigende Faserbündel unterscheiden, wobei der dorsale Raphekern der alleinige Ursprung von vier Faserbündeln war und sich ein Faserbündel mit dem medianen Raphekern teilte. Die Stränge wurden klassifiziert als solche, die im medialen Großhirnbündel (MFB) liegen (*dorsal raphe forebrain tract* DRFT, *median raphe forebrain tract* MRFT) und die außerhalb liegen (*raphe medial tract* RMT, *dorsal raphe arcuate tract* DRAT, *dorsal raphe cortical tract* DRCT, *dorsal raphe periventricular tract* DRPT). Das DRFT liegt im ventrolateralen Abschnitt des medialen MFB und zieht vorwiegend zu lateralen Großhirngebieten (z. B. zu den Basalganglien, zur Amygdala und zum pyriformen Kortex). Das MRFT liegt im ventromedialen Abschnitt des MFB und zieht zu medialen Großhirngebieten (z. B. zum Cortex cinguli, zum medialen Septum und zum Hippokampus).

Das DRCT liegt ventrolateral des medialen longitudinalen Faszikulus und zieht zum Striatum und zum parieto-temporalen Kortex. Das DRPT liegt direkt unter dem Aquädukt des Mittelhirns und zieht rostral zur periventriculären Region des Thalamus und Hypothalamus. Das DRAT zieht lateral vom dorsalen Raphekern zum ventrolateralen Mittelhirn und projiziert zum ventrolateralen Nucleus corporis geniculati und dem hypothalamischen suprachiasmatischen Kern. Das RMT führt Fasern vom dorsalen und medianen Raphekern und verläuft ventral zwischen Faszikulus retroflexus und projiziert zum Nucleus interpeduncularis und zum Mammilarkörper (s. Abb. 2).

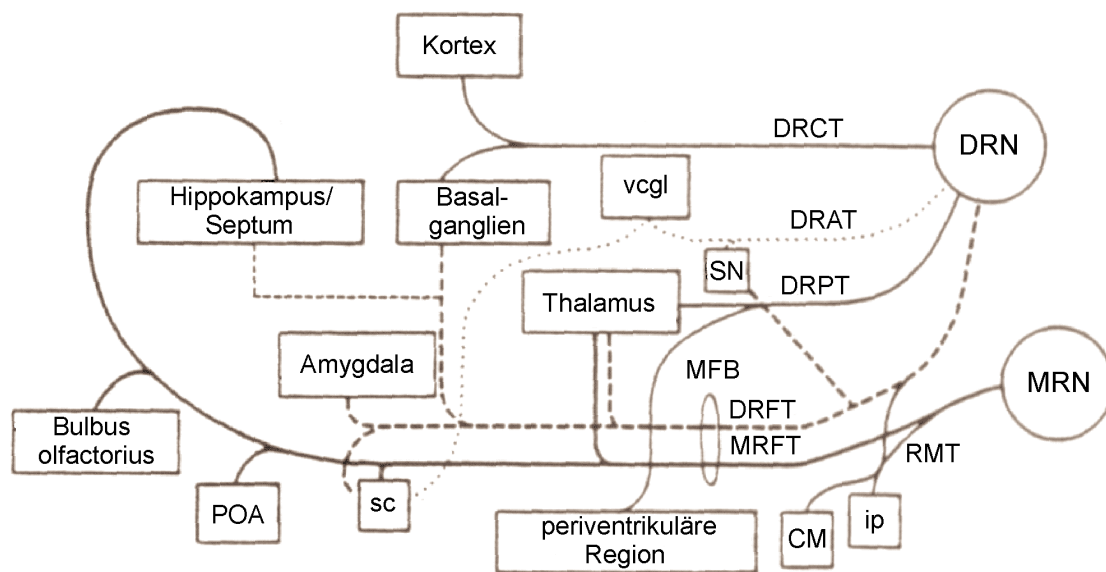


Abbildung 2

Schematische Darstellung der sechs serotonergen aufsteigenden Hauptprojektionen im ZNS der Ratte, modifiziert nach Azmitia und Segal (1978)

CM	Corpus mammillare	DRAT	<i>dorsal raphe arcuate tract</i>
ip	Nucleus interpeduncularis	DRCT	<i>dorsal raphe cortical tract</i>
POA	Area praeoptica	DRFT	<i>dorsal raphe forebrain tract</i>
sc	Nucleus suprachiasmaticus	DRPT	<i>dorsal raphe periventricular tract</i>
SN	Substantia nigra	MRFT	<i>median raphe forebrain tract</i>
vcgl	Nucleus ventralis corporis geniculati lateralis	RMT	<i>raphe medial tract</i>

2.1.3. Synthese und Metabolismus von Serotonin

5-HT wird aus der essentiellen Aminosäure L-Tryptophan synthetisiert, die von der Tryptophanhydroxylase zu 5-Hydroxytryptophan (5-HTP) hydroxyliert wird. 5-HTP wird von der aromatischen Aminosäuredecarboxylase zum Amin (5-HT) decarboxyliert.

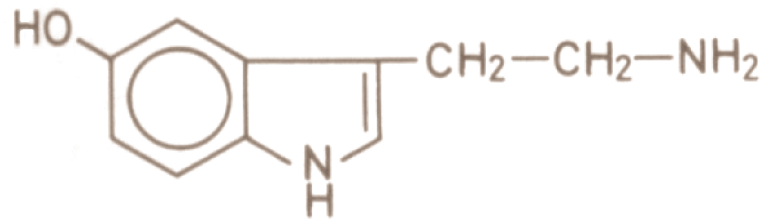


Abbildung 3

Strukturformel von 5-Hydroxytryptamin

Normalerweise wird rund 1% des mit der Nahrung aufgenommenen Tryptophans in 5-HT umgewandelt. Die plasmamembrangebundene Tryptophanhydroxylase ist ein für Tryptophan spezifisches Enzym, ähnlich der Phenylalanin- und Tyrosinhydroxylase, das, wie die letztgenannte, Tetrahydropteridin verwertet. Die aromatische Aminosäuredecarboxylase ist unspezifisch; es ist das gleiche Enzym, das 3,4-Dihydroxyphenylalanin (DOPA) zum entsprechenden Amin (Dopamin) decarboxyliert.

L-Tryptophan gelangt mittels eines Carriers durch die Blut-Hirn-Schranke und durch die Plasmamembran des Neurons. Der Gehalt von Tryptophan im Gehirn ist abhängig von der Konzentration des Tryptophans im Serum, der Konzentration großer neutraler Aminosäuren, die den Transport von Tryptophan ins ZNS modifizieren können und von der Aktivität der Tryptophanhydroxylase, die vermutlich über 5-HT_{1B}-Autorezeptoren reguliert wird (Göthert, 1989).

Im ZNS wird 5-HT in Vesikeln der Terminalen serotonerger Neurone gespeichert. Wie bei den Katecholaminen sind an der Speicherung ATP und ein spezifisches Bindungsprotein (SBP) beteiligt (Hertz und Tamir, 1981). Das SBP bindet mit hoher Affinität an 5-HT und bildet den 5-HT-SBP Komplex. Die Freisetzung von 5-HT-SBP aus den Vesikeln ist Ionenabhängig (Ca²⁺, Na⁺), und der Anstieg von intrazellulärem Ca²⁺ induziert eine erhöhte Ausschüttung von 5-HT-SBP in den synaptischen Spalt. Die veränderte Ionenkonzentration

im synaptischen Spalt bewirkt eine Aufspaltung des 5-HT-SBP Komplexes und die Freisetzung von 5-HT (Gershon und Tamir, 1984; Hertz und Tamir, 1984).

Die Aufnahme des Neurotransmitters in die Nervenendigungen führt zu einer Inaktivierung von 5-HT. Die Wiederaufnahme von 5-HT geschieht durch einen spezifischen 5-HT Transporter, der in der präsynaptischen Membran lokalisiert ist (Briley, 1985; Dawson und Wamsley, 1983). Ende 1991 wurde der 5-HT-Transporter im Nagergehirn isoliert (Blakely et al., 1991). Das erste Enzym bei der Inaktivierung von 5-HT ist die Monoaminoxidase A (MAO-A). Sie bildet aus 5-HT und anderen Indol-Alkylaminen (z. B. Tryptamin, 5-Methoxytryptamin) das korrespondierende Aldehyd, das dann enzymatisch (durch Aldehyd- oder Alkoholdehydrogenasen) in die entsprechende Säure oder den entsprechenden Alkohol umgewandelt wird. Die Säure- und Alkoholprodukte, 5-Hydroxyindolessigsäure (5-HIAA) und 5-Hydroxytryptophol werden metabolisch in ihre 5-Methoxyderivate überführt. In der Zirbeldrüse (die Konzentration von 5-HT in dieser Struktur ist 50 mal höher als im gesamten Gehirn) wird 5-HT zu N-Acetylserotonin und dann zu N-Acetyl-5-Methoxytryptamin (Melatonin) metabolisiert.

2.1.4. Einteilung und Verteilung der Serotonin-Rezeptoren

Eine Charakterisierung von Serotonin-Rezeptoren wurde 1957 von Gaddum und Picarelli unternommen, die berichteten, daß die Serotonin-induzierte Kontraktion des Meerschweinchen-Ileums durch Morphium oder Dibenzylin nur partiell geblockt, aber durch die Anwendung beider Substanzen komplett antagonisiert wurde. Die Einteilung erfolgte daraufhin in 'M' und 'D'-Rezeptoren.

In Bindungsstudien mit [³H]Serotonin, [³H]Spiperon und [³H]Lysergid konnten Peroutka und Snyder (1979) zwei verschiedene Serotonin-Rezeptoren unterscheiden: den 5-HT₁-Rezeptor mit einer hochaffinen (nanomolare 5-HT-Konzentrationen) Bindung für Serotonin und den 5-HT₂-Rezeptor mit einer hochaffinen Bindung für Spiperon und einer niedrigaffinen (mikromolare 5-HT-Konzentrationen) Bindung für Serotonin. Pedigo et al. (1981) berichteten aufgrund von Bindungsstudien mit Spiperon, daß der 5-HT₁-Rezeptor in zwei Subtypen, den 5-HT_{1A} und 5-HT_{1B} unterteilt werden kann. Bald wurde 8-Hydroxy-N,N-Dipropyl-2-Aminotetralin (8-OH-DPAT) als selektiver Ligand für den 5-HT_{1A}-Subtyp entdeckt (Middlemiss und Fozard, 1983). Diese Unterteilung der 5-HT₁-Bindungsstelle wurde

fortgeführt mit dem 5-HT_{1C}- (Mengod et al., 1990a; Pazos et al., 1984) (inzwischen umbenannt in den 5-HT_{2C}-Rezeptor), 5-HT_{1D}- (Heuring und Peroutka, 1987), 5-HT_{1E}- (Leonhardt et al., 1989) und 5-HT_{1F}- (Amlaiky et al., 1992; Adham et al., 1993) Rezeptor; der 5-HT_{1D}-Rezeptor wurde weiter unterteilt in den 5-HT_{1Dα}- und 5-HT_{1Dβ}-Subtyp (Sumner und Humphrey, 1989) (inzwischen umbenannt in 5-HT_{1D}- und 5-HT_{1B}-Rezeptor).

Die 5-HT₂- Rezeptoren werden unterteilt in den 5-HT_{2A}-Rezeptor, dessen Bindungsstellen und mRNA Verteilung im Gehirn der Ratte und des Menschen beschrieben wurden (Mengod et al., 1990b), den 5-HT_{2B}- (Kursar et al., 1992; Foguet et al. 1992) und den 5-HT_{2C}-Rezeptor (s. o.).

Weiterhin wurden der 5-HT₃-Rezeptor (Fozard, 1984; Yakel und Jackson, 1988), der 5-HT₄-Rezeptor (Dumuis et al., 1988), der 5-HT₅-Rezeptor (Plassat et al., 1992; Matthes et al., 1993; Erlander et al., 1993), der 5-HT₆-Rezeptor (Monsma et al., 1993; Ruat et al., 1993) und der 5-HT₇-Rezeptor (Lovenberg et al., 1993a; Plassat et al. 1993) beschrieben.

Damit erscheint die Mannigfaltigkeit der unterschiedlichen Serotonin-Rezeptortypen die größte aller bekannten Neurotransmitter zu sein.

Die heute vom Serotonin Receptor Nomenclature Committee of the International Union of Pharmacology (NC-IUPHAR) anerkannte Einteilung (s. Tabelle 2) der 5-HT-Rezeptoren erfolgt nach folgenden Hauptkriterien (Hoyer und Martin, 1997):

1. Die molekulare Struktur
2. die Liganden-Bindungs-Affinität der Agonisten und Antagonisten auch unter Berücksichtigung der involvierten „second Messenger“-Systeme und als unterstützendes Kriterium
3. der intrazelluläre Transduktionsmechanismus (z. B. Ionenkanal oder G-Protein gekoppelt).

Nomenklatur	Vorkommen im ZNS	Transduktion	selektiver Agonist	
5-HT ₁	5-HT _{1A}	Septum, Hippokampus, Kortex, Raphe Nuclei	G _{i/o}	8-OH-DPAT
	5-HT _{1B}	Substantia nigra, Globus pallidus, Purkinje-Zellen im Cerebellum	G _{i/o}	SB 216641
	5-HT _{1D}	N. accumbens, Kortex	G _{i/o}	—
	5-ht _{1E} *	ähnlich 5-HT _{1B}	G _{i/o}	—
	5-ht _{1F} *	Hippokampus, Kortex, Striatum	G _{i/o}	—
5-HT ₂	5-HT _{2A}	Kortex, Claustrum, Nucleus olfactorius, Basalganglion	G _{q/11}	α-Me-5-HT
	5-HT _{2B}	Cerebellum	G _{q/11}	α-Me-5-HT
	5-HT _{2C}	Hippokampus, Amygdala, Kortex, Substantia nigra	G _{q/11}	α-Me-5-HT
5-HT ₃	Hirnstamm, Hippokampus, Amygdala, Habenula, Kortex	intr. Ionen- Kanal	2-Me-5-HT	
5-HT ₄	Substantia nigra, Striatum, Septum, Hippokampus, Amygdala	G _S	BIMU 8	
5-ht ₅ *	5-ht _{5A}	Kortex, Hypothalamus, Hippokampus, Corpus callosum	G _S	—
	5-ht _{5B}	Unbekannt	unbekannt	—
5-ht ₆ *	Striatum, Kortex, Hippokampus	G _S	—	
5-HT ₇	Kortex, Thalamus, Amygdala	G _S	—	

* Die Kleinschreibweise wurde von der NC-IUPHAR für aktuell nur als Gen-Produkte beschriebene Rezeptoren

Tabelle 2

Übersicht über Funktion, Verteilung und aktuelle Einteilung der 5-HT-Rezeptortypen

selektiver Antagonist	Therapeutische Relevanz	Literatur
(±) WAY 100635	Angstverhalten; Depression; Ernährungsverhalten; Thermoregulation;	Kia et al., 1996; Hoyer und Martin, 1997; Traber und Glaser, 1987; Wieland und Lucki, 1990; Marsden et al., 1989; Goodwin et al., 1987
GR55562	Beeinflussung der Lokomotion; Ernährungsverhalten	Maroteaux et al., 1992; Kennett und Curzon, 1988; Hoyer et al., 1994
—	Angstverhalten;	Bruinvels et al., 1993; Dolberg et al., 1995
—	unbekannt	Miller und Teitler, 1992; Lowther et al., 1992
—	unbekannt	Amlaiky et al., 1992; Lovenberg et al., 1993b
Ketanserin	Depression; Migräne; Angstverhalten; Schlafregulation	Garlow et al., 1993; D'Haenen et al., 1992; Saxena und Den Boer, 1991, Castelao et al., 1989
SB200646	unbekannt	Choi und Maroteaux, 1996;
Mesulergin	Beeinflussung der Lokomotion; Ernährungsverhalten; Migräne; Angstverhalten	Mengod et al., 1990a; Abramowski et al., 1995; Kennett et al., 1989; Fozard und Gray, 1989; Curzon und Kennett, 1990
Ondansetron	Schmerzempfinden; Angstverhalten; Kognition; Ernährungsverhalten; Erbrechen	Waeber et al., 1988/89; Fozard, 1994; Costall und Naylor, 1991; 1994; Higgins et al., 1992; Barnes et al., 1992
GR113808	Kognition; Angstverhalten; Schmerzempfinden; Entzugssymptomatik;	Grossmann et al., 1993; Jakemann et al., 1994; Waeber et al., 1994; Eglén et al., 1995a,b; Costall und Naylor, 1993; Ghelardini et al., 1996; Panocka et al., 1995
—	unbekannt	Carson et al., 1996; Mengod et al., 1997
—	unbekannt	Hoyer und Martin, 1997; Mengod et al., 1997
—	unbekannt	Glatt et al., 1995; Kohen et al., 1996
—	Depression; circadianer Rhythmus	Gustafson et al., 1996; Sleight et al., 1995; Lovenberg et al., 1993b

eingeführt, bei denen bisher noch nichts über ihre „physiologische Relevanz“ bekannt ist.

SB 216641: N-(3-(2-Dimethylamino) Ethoxy-4-Methoxyphenyl)-2'-Methyl-4'-(5-Methyl-1,2,4-Oxadiazol-3-yl)-(1,1'-Biphenyl)-4-Carboxamid

BIMU 8: Endo-N-(8-Methyl-8-Azabicyklo(3.2.1.)Okt-3-yl)-2,3-Dihydro-(1-Methyl)Ethyl-2-Oxo-1H-Benzimidazol-1-Carboxamidhydrochlorid

(±) WAY 100635: N-(2-(4-(2-Methoxyphenyl)-1-Piperazinyl)Ethyl)-N-(Pyridinyl)-Cyclohexan carboximid 3 HCl

GR55562: 3-(3-(Dimethylamino)Propyl)-4-Hydroxy-N-(4-(4-Pyridinyl)Phenyl) Benzamid

SB200646: N-(1-Methyl-5-Indolyl)-N-(3-Pyridyl) Urea

GR113808: 1-(2-((Methylsulfonyl)Amino)Ethyl)-4-Piperidyl Methyl 1-Methyl-1H-Indol-3-Carboxylat

2.2. Angst

Angst ist eine physiologische Emotion, die häufig, zumindest in sanfter und flüchtiger Form von jedem Menschen erfahren wird. Das mag ein Grund sein, weshalb extreme Formen der Angst nicht als Krankheit erkannt und erst später von Ärzten untersucht wurden, als andere Formen der Neurose wie Hysterie oder Depression. Melancholie, Epilepsie und Wahnsinn sind in den Hippokratischen Schriften klar beschrieben, aber nicht die psychischen und physischen Manifestationen schwerer Angstzustände. Ende des letzten und Anfang des 20. Jahrhunderts beschäftigten sich Darwin, Freud, Westphal, Kraepelin und Pawlow mit dem Charakter, sowie der Einteilung pathologischer Angstzustände und der Abgrenzung zu anderen Neurosen. Pawlow nutzte dazu Ergebnisse aus „experimentellen“ Studien an Labortieren. Anfang der 60er Jahre erwachte nach EEG-Untersuchungen und der Einführung der Benzodiazepine das verstärkte Interesse der biologischen Psychiatrie. Bald folgte die erste Veröffentlichung praktischer diagnostischer Kriterien einiger psychischer Erkrankungen. Die ‘Erforschung diagnostischer Kriterien’ folgte und bereitete den Weg für DSM-III (Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders). Dies hatte einen weltweiten Einfluß auf die psychiatrische Praxis.

2.2.1. Pathologische Angstzustände beim Menschen

Angst wird als ein unangenehmer Gemütszustand beschrieben, der auf der psychischen Seite mit dem Gefühl von Anspannung, Erwartung bevorstehender Bedrohungen oder Gefahren und Unsicherheit einhergeht und auf der physischen Seite begleitet wird von Symptomen wie Schweißausbruch, Tachykardie, Muskelzittern, Koordinationschwäche und Schmerzen in Brust und Oberbauch. Der Unterschied zwischen ‘normaler’ und pathologischer Angst ist gekennzeichnet durch den Ursprung der ersteren vor einer konkreten Gefahr in der äußeren Umgebung und der letzteren vor keiner konkreten Bedrohung, einer Gefahr, die für den Außenstehenden nicht existiert. Die Unterscheidung ist nicht immer einfach und zuletzt auch durch die Komplexität der Angststörungen erschwert. Nach dem DSM-IV werden die Angstsyndrome folgendermaßen eingeteilt:

- Panikstörungen ohne Agoraphobie
- Panikstörungen mit Agoraphobie

- Agoraphobie ohne Panikstörung in der Vorgeschichte
- Spezifische Phobie
- Soziale Phobie
- Zwangsstörung
- Posttraumatische Belastungsstörung
- Akute Belastungsstörung
- Generalisierte Angststörung
- Angststörung aufgrund eines medizinischen Krankheitsfaktors
- Substanzinduzierte Angststörung
- Nicht näher bezeichnete Angststörung

Die Therapie dieser Angstsyndrome geschieht mittels Verhaltenstherapie oder Anxiolytika oder einer Kombination aus beiden. Dabei sind zur Bewertung des subjektiven Gefühls Angst verschiedene Skalen (z. B. Hamilton Skala) entwickelt worden. Diese Untersuchungsmethoden werden als Hilfsmittel für die Diagnosenstellung, den Verlauf und den Therapieerfolg bei der Behandlung von Angststörungen angewendet. Die psychischen Manifestationen der Angst sind lediglich im klinischen Versuch beim Menschen nachzuvollziehen. Im Tierexperiment gibt es für diese menschlichen psychischen Beschwerden keine direkt meßbaren Parameter. Für die Entwicklung neuer Anxiolytika und das Verständnis der Neurobiologie ist es jedoch notwendig, über Angsttests am Tier zu verfügen, die Rückschlüsse auf den Menschen ermöglichen.

2.2.2. Angst im tierexperimentellen Verhaltenstest

Es ist unwahrscheinlich, daß Tiermodelle jemals menschliche Angstzustände exakt widerspiegeln können angesichts der zahlreichen pathologischen Angstsyndrome, die beim Menschen beschrieben sind. Tiermodelle sind auf meßbare Verhaltensänderungen limitiert, während beim Menschen angstauslösende Gedanken die Hauptkomponente ausmachen. Menschliche Angst ist ein Resultat kumulativer Interaktionen zwischen persönlichen Charaktereigenschaften und der Umwelt, wohingegen Tiermodelle auf bestimmte Situationen isoliert gehaltener Populationen beschränkt sind.

Alle Tiermodelle messen Reaktionen auf Reize, die als Bedrohung für das Wohlbefinden, die Sicherheit oder das Überleben interpretiert werden können und von denen man ausgeht, daß sie im Menschen Angst induzieren. Unter den mehr als 30 Tiermodellen für das Angstverhalten gibt es eine Vielzahl von verschiedenen Ansatzpunkten. Man kann die Angsttests in zwei große Kategorien unterteilen (Griebel, 1995, s. Abb. 4): Die erste beinhaltet Tests, die auf ethologischen Modellen basieren, die spontane oder natürliche Reaktionen des Tieres auf Streßreize berücksichtigen (z. B. Exposition eines Versuchstieres einer neuen Umgebung); die zweite umfaßt konditionierte Reaktionen des Tieres auf belastende und oft schmerzhaft Reize (z. B. elektrischer Fußschock). Die Validierung dieser Tiermodelle erfolgte mittels klinisch erprobter Substanzen, die beim Menschen angstmindernd oder -auslösend wirken (z. B. anxiolytisch: Benzodiazepine, Barbiturate, Ethanol, 5-HT_{1A}-Rezeptor-Agonisten, α_2 -Adrenozeptor-Agonisten, Monoamin-Wiederaufnahmehemmer, β -Blocker, MAO-Inhibitoren; z.B. anxiogen: FG 7142, Pentylentetrazol, Koffein, Yohimbin). Dabei ist zu beachten, daß nicht jedes Anxiolytikum in allen Angsttests gleich wirkt, sondern auch unverändertes Verhalten oder gar anxiogene Reaktionen auftreten können. Dies deutet darauf hin, daß die unterschiedlichen Tiermodelle verschiedene Schattierungen der Angst widerspiegeln, denn auch beim Menschen sprechen die verschiedenen Angstsyndrome (z. B. Panikattacken und generalisiertes Angstsyndrom) auf unterschiedliche Pharmaka an.

Die auf konditioniertem Verhalten basierenden Angsttests beruhen auf einer Bestrafung des Tieres (meist milde Elektroschocks), die zum Ziel hat, eine bestimmte Verhaltensweise (z. B. Nahrungs- oder Wasseraufnahme, Platzpräferenz) des Tieres zu unterdrücken oder zu provozieren. Von Nachteil ist hierbei, wenn zum Wirkungsspektrum der zu testenden Substanzen appetitbeeinflussende, oder sedative Wirkungen oder Veränderungen der Nozizeption gehören. Dies kann zu falsch positiven Ergebnissen führen (Miczek, 1973).

Die auf unkonditioniertem Verhalten basierenden Angsttests nutzen angeborene und natürliche Verhaltensweisen des Tieres auf unterschiedliche Stressoren (z. B. Sozialkontakt, fremde Umgebung). Das Prinzip der auf Exploration basierenden Angsttests beruht darauf, daß es bei einem Tier, das einer neuen Umgebung ausgesetzt wird, zu einer Konkurrenz von exploratorischen Tendenzen (motiviert durch Neugier) und zurückweichenden Tendenzen (motiviert durch Angst) kommt. Insofern entsteht ein Konflikt zwischen Annäherung und Vermeidung (Montgomery, 1955). Ein solcher Test nimmt daher mit zunehmender Versuchszeit häufig den Verlauf eines umgekehrten U; initial überwiegt die ablehnende Haltung des Tieres gegenüber einer neuen Umgebung, mit voranschreitender Versuchszeit

verstärkt sich die Motivation, die Umgebung zu erkunden, nach fortschreitender Exposition sinkt die Exploration in dem Maße wie die Neuartigkeit der Umgebung nachläßt.

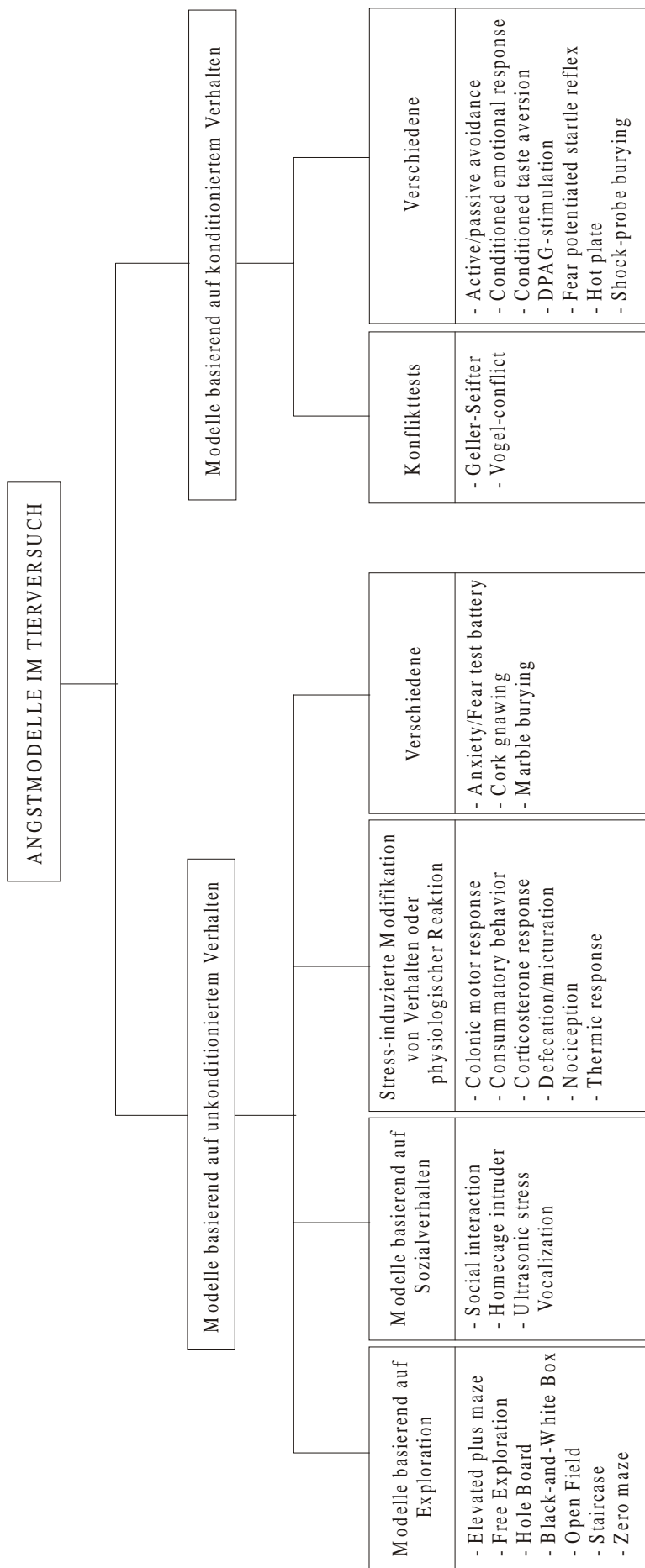


Abbildung 4
 Einteilung tierexperimenteller Angstmodelle, modifiziert nach Griebel (1995)

Der Hole Board-Test

Das Hole Board ist eine Apparatur, in der sich das Versuchstier frei bewegen kann. Es hat mehrere runde Öffnungen in der Bodenplatte, durch die das Versuchstier seinen Kopf stecken kann (vgl. Abb. 8). Der Test bewertet die gerichtete Exploration eines Versuchstieres (Kopf durch das Loch stecken) und seine Lokomotion (Boissier et al., 1964; File und Wardill, 1975). Auch wenn der Hole Board-Test nicht zu den klassischen Angsttests gehört, konnte doch durch eine Reihe von Studien gezeigt werden, daß gerichtete Exploration und Lokomotion unabhängig variieren können (File, 1977; Lister, 1987a). Während niedrige Dosierungen von Pharmaka, die als Anxiolytika bekannt sind (z. B. Benzodiazepine, Ethanol oder Barbiturate) die gerichtete Exploration deutlich verstärkten, war dies bei der Lokomotion nicht der Fall (File et al., 1985). Lister (1987b) konnte zeigen, daß niedrige Dosen von Benzodiazepinen, Ethanol oder Barbituraten häufig beide Parameter erhöhen. Studien mit Stimulanzien wie Amphetamin oder Koffein haben eine Erhöhung der lokomotorischen Aktivität zur Folge, ohne eine Zunahme, sondern häufig mit einer Abnahme der Exploration einhergehend (Pellow et al., 1985). Ebenso wurde eine Reihe von anxiogenen Substanzen im Hole Board getestet (z. B. inverse Agonisten von Benzodiazepin, Yohimbin). Diese Pharmaka induzieren eine Verminderung der Exploration, während die Lokomotion weitgehend unbeeinflusst bleibt (File und Lister, 1982, Lister, 1987c; Chopin et al., 1986; Pellow et al., 1985). Zusammenfassend kann gesagt werden, daß Pharmaka-induzierte Veränderungen des Explorationsverhaltens im Hole Board-Test durch Pharmaka-induzierte Veränderungen im Angstverhalten hervorgerufen werden können.

Der Elevated plus maze-Test

Der Elevated plus maze-Test basiert auf der Arbeit von Montgomery (1955). Die Apparatur besteht aus einem kreuzförmigen, erhöhten Gestell mit je zwei gegenüberliegenden Armen, die von Seitenwänden umgeben sind (geschlossen) und zwei Armen ohne Seitenwände (offen) (vgl. Abb. 7). Das Versuchstier kann sich darin frei bewegen. Unbehandelte Tiere zeigen eine deutliche Präferenz für die geschlossenen Arme und halten sich seltener in den offenen Armen auf (Pellow et al., 1985; Lister, 1987d). Als Parameter für angstassoziiertes Verhalten werden die Eintritte und die Aufenthaltszeit in den offenen Armen gemessen. Zusätzlich wird die Zahl der Eintritte in alle Arme festgehalten. Ein längerer Aufenthalt in

den offenen Armen und ein vermehrter Eintritt in die offenen Arme, ohne Änderung der Gesamteintritte, wird als 'anxiolytische' Wirkung betrachtet (Handley und Mithani, 1984). Mit dem Elevated plus maze-Test können aber auch 'anxiogene' Wirkungen erkannt werden (Pellow et al., 1985; Handley und Mithani, 1984). Die Anzahl der Gesamteintritte in die offenen und geschlossenen Arme dient dabei als Maß für die lokomotorische Aktivität.

2.2.3. Angst und Serotonin

Benzodiazepine reduzieren den Umsatz von Katecholaminen und Indolaminen im Gehirn (Corrodi et al., 1971; Haefely et al., 1981). Vergleichsergebnisse aus neurochemischen und Verhaltensuntersuchungen deuten darauf hin, daß der Effekt von Benzodiazepinen auf Noradrenalin einer Toleranzbildung unterliegt und mit der sedierenden Wirkung korreliert ist. Im Gegensatz dazu zeigt der Effekt auf Serotonin keine Toleranzausbildung und korreliert mit der anhaltenden anxiolytischen Wirkung. Andere biochemische Studien zeigen, daß nicht nur der Umsatz, sondern auch die Ausschüttung von Serotonin gemindert ist (Jenner et al. 1975; Saner und Pletscher, 1979).

Die Hypothese, daß erhöhte Aktivität der serotonergen Neurotransmission angstfördernd wirkt, während Reduktion oder vollständige Hemmung angstmindernd sind, stammt aus frühen Arbeiten, die zeigten, daß Serotoninreduktion mit para-Chlorophenylalanin (pCPA), para-Chloroamphetamin (pCA) (File und Hyde, 1977; Lorens, 1978) oder Serotonin Rezeptorblockade (Commissaris et al., 1981) eine Zunahme von Elektroschock-bestraften Verhaltensweisen in Konflikttests bewirkte. Es folgte eine Vielzahl von Studien, die sich auf unterschiedliche Weise mit einer Verminderung der serotonergen Funktion und den Auswirkungen auf das Angstverhalten beschäftigten: durch elektrolytische Läsion des medianen und/oder dorsalen Raphekerns; Läsionen mit Ibutensäure oder spezifischen Neurotoxinen, die intracerebroventrikulär (i.c.v.) oder direkt in die Raphekerne appliziert wurden, Indolamin-Entspeicherer wie pCPA oder pCA und Rezeptorblocker wie Methysergid, Cinanserin, Mianserin und Metergolin, die in der Regel peripher verabreicht wurden. Die Verabreichung von 5,7-Dihydroxytryptamin (5,7-DHT), einem Neurotoxin, das spezifisch serotonerge Neurone zerstört, brachte unterschiedliche Befunde. So berichteten Briley et al. (1990) von einer anxiolytischen Wirkung nach i.c.v.-Applikation im Elevated plus maze-Test, wobei die i.c.v.-Applikation von 5,7-DHT bei Carli et al. (1989) keinen

Effekt im Black-and-White Box-Test zeigte. In konditionierten Angsttests, wie dem Vogel-conflict-Test, wurden nach i.c.v.-Applikation von 5,7-DHT ebenfalls unterschiedliche Ergebnisse erzielt. Während Söderpalm und Engel (1992) eine anxiolytische Wirkung beobachteten, blieb ein Effekt bei Shimizu et al. (1992) aus. Auch bei der gezielten Neurotoxinapplikation in die dorsale Raphe ergab sich ein ähnliches Bild; in unkonditionierten Tests, wie dem Social interaction-Test zeigte sich eine anxiolytische Wirkung (File et al., 1979), die im Elevated plus maze-Test ausblieb (Critchley et al., 1992). In Konflikttests wurde sowohl von einer anxiolytischen Wirkung im Geller-Seifter-Test (Thiébot et al., 1983), als auch von unverändertem Verhalten im Vogel-conflict-Test berichtet (Takao et al., 1992). Die Ausschaltung des medianen Raphekerns mit spezifischen serotonergen Neurotoxinen ist in bezug auf das Angstverhalten am wenigsten untersucht. Lediglich eine Studie berichtet über eine Untersuchung im Social interaction-Test, in dem keine Verhaltensänderung gefunden wurde (File et al., 1979).

2.3. Ernährungsverhalten

Epidemiologische Studien deuten darauf hin, daß die Häufigkeit von Eßstörungen wie Anorexia nervosa und Bulimia nervosa in den letzten drei bis vier Jahrzehnten zugenommen hat (Casper, 1983). Lange Zeit herrschte Unsicherheit bei der Abgrenzung beider Krankheitsbilder voneinander. Das gegenwärtig DSM-IV verbietet beide Diagnosen im gleichen Patienten. Eine wichtige Rolle beim Auftreten von Eßstörungen scheint der Neurotransmitter Serotonin zu spielen.

2.3.1. Eßstörungen und Serotonin

Es gibt zahlreiche experimentelle und klinische Studien, die die These einer Dysregulation von Serotonin bei der Pathophysiologie der Eßstörungen unterstützen (Brewerton et al., 1990; 1992; Goldbloom und Garfinkel, 1990; Jimerson et al., 1990; Kaye und Weltzin, 1991). Das Interesse an Serotonin in Verbindung mit Eßstörungen liegt an seiner bekannten Funktion als zentraler Sättigungsvermittler. So bewirkte sowohl in klinischen Studien als auch im Tierversuch eine pharmakologische Erhöhung der Aktivität des serotonergen Neurotransmissionssystems zunehmende Sättigung. 5-HT_{1A}-Rezeptor-Agonisten, die über eine Aktivierung von präsynaptischen Autorezeptoren die serotonerge Neurotransmission vermindern, steigerten dagegen die Nahrungsaufnahme (Dourish et al., 1988b). Als Kontrollzentrum dieser serotonergen Wirkung wird der Hypothalamus angesehen und hier besonders die Projektionen zum paraventriculären (PVN) und ventromedialen (VMN) Nucleus des medialen Hypothalamus, die Sättigung in bezug auf den Energiehaushalt des Körpers kontrollieren, und zum Nucleus suprachiasmaticus (SCN), der ein zirkadianer Schrittmacher ist und zeitliche Muster der Nahrungsaufnahme steuert (Leibowitz et al., 1988; Sakaguchi und Bray, 1989). Im Tierexperiment konnte gezeigt werden, daß bei freier Wahl verschiedener Diäten nach peripherer Applikation geringer Dosen des Serotoninwiederaufnahmehemmers Fenfluramin eine Hemmung der Kohlenhydrataufnahme am Anfang der Aktivitätsphase erfolgte, während in höheren Dosen auch die Protein- und Fettaufnahme vermindert wurde (Weiss et al., 1990). Der Serotoninwiederaufnahmehemmer Fluoxetin bewirkte sowohl nach peripherer als auch nach PVN-Injektion eine dosisabhängige Reduktion der Kohlenhydrataufnahme nur am Anfang der Dunkelphase, wobei die Protein-

und Fettaufnahme unbeeinflusst blieb (Weiss et al., 1991). Das umgekehrte Verhältnis zeigte sich nach serotonerger Reduktion durch intraventrikuläre Injektion eines serotonergen Neurotoxins (Shor-Posner et al., 1985). Wie aus den Studien von Weiss et al. (1990; 1991) schon ersichtlich ist, wirkt sich auch der Rhythmus der serotonergen Aktivität, während des zirkadianen Hell-/Dunkel-Zyklus auf das Nahrungsaufnahmeverhalten aus. Die Zeit der stärksten serotonergen Aktivität liegt bei der Ratte am Anfang der aktiven Nahrungsaufnahmepériode, am Übergang der Hell- in die Dunkelphase (Stanley et al., 1989). Am Anfang der Dunkelphase ist die pharmakologische serotonerge Stimulation des PVN, VMN oder SCN am effektivsten in der Unterdrückung der Nahrungs- und insbesondere der Kohlenhydrataufnahme, während sie zu anderen Zeitpunkten der Dunkelphase unbeeinflusst bleibt (Weiss et al., 1990; 1991).

Folgerungen aus diesen tierexperimentellen Untersuchungen konnten für das Verständnis der Nahrungsaufnahme beim Menschen abgeleitet werden. Wie im Tierexperiment unterdrücken serotonerge Wirkstoffe die Nahrungsaufnahme, indem sie die Häufigkeit und die Größe der Mahlzeiten durch ein erhöhtes Sättigungsgefühl reduzieren (Silverstone und Goodall, 1986; Wurtmann und Wurtmann, 1984; Hill und Blundell, 1986). In klinischen Studien konnte bei Patienten mit Eßstörungen eine Beeinträchtigung der Aktivität des serotonergen Systems gezeigt werden (Kaye und Weltzin, 1991; Jimerson et al., 1990). Von besonderem Interesse sind dabei bulimische Patienten, die eine verminderte Fähigkeit besitzen, ein Sättigungsgefühl zu entwickeln und speziell Kohlenhydrate überkonsumieren (Kaye et al., 1992). Sie zeigen eine verminderte serotonerge Aktivität im Gehirn, verminderte Ansprechbarkeit serotonerger postsynaptischer Rezeptoren und nach den Mahlzeiten einen verringerten Anstieg von Tryptophan im Verhältnis zu anderen neutralen Aminosäuren im Plasma, welches die Synthese von Serotonin im Gehirn bestimmt (Kaye und Weltzin, 1991; Jimerson et al., 1990). Bei der Behandlung von Eßstörungen wurde von positiven Resultaten mit Fenfluramin und Fluoxetin berichtet, die die serotonerge Aktivität erhöhen und Eßattacken bei bulimischen Patienten vermindern (Fluoxetine Bulimia Nervosa Collaborative Group [FBNCG], 1992). Bei Patienten mit Anorexia nervosa konnten nach Behandlung mit Cyproheptadin (einem 5-HT-Agonisten) Gewichtszunahmen erzielt werden (Halmi et al., 1986).

Eßstörungen treten überwiegend bei Frauen auf und entwickeln sich bevorzugt in der Jugend (Silverman, 1983). Dabei kommt es zu Störungen der Kohlenhydrataufnahme und -verteilung über den 24-Stundenzyklus (Wurtmann und Wurtmann, 1989). Von besonderem Interesse hierzu sind Tierexperimente, die Geschlechtsunterschiede im Ernährungsmuster festgestellt haben. So konnte gezeigt werden, daß weibliche Ratten eine stärkere Vorliebe für

Kohlenhydrate besitzen als männliche, und daß es bei den weiblichen Tieren eine tageszeitliche Verschiebung der Kohlenhydrataufnahme in die inaktive Phase gibt (Leibowitz et al., 1991). Diese Ernährungsmuster, die in ähnlicher Form beim Menschen gefunden wurden (Drewnowski et al., 1992), traten bei den weiblichen Tieren zwischen dem Absetzen und dem Eintritt in die Pubertät auf. Die Möglichkeit eines Zusammenhangs zwischen diesen Geschlechtsunterschieden und dem zentralen Serotoninsystem wird unterstützt durch die Tatsache, daß weibliche Ratten eine größere Anzahl von 5-HT_{1B}- und 5HT_{1A}-Rezeptoren im medialen Hypothalamus besitzen, sowie eine verstärkte Ansprechbarkeit auf serotonerge Wirkstoffe aufweisen (Leibowitz und Jhanwar-Uniyal, 1990). Sie zeigen eine höhere serotonerge Umsatzrate und reagieren stärker auf Substanzen, die die Serotoninsynthese im Gehirn modulieren (Haleem et al., 1990). Zusätzlich belegen klinische Studien, daß Fasten die Empfindlichkeit für die Serotoninvorstufe Tryptophan bei Frauen, aber nicht bei Männern, ändert (Goodwin et al., 1987).

2.3.2. Nahrungsaufnahme und CCK

Cholezystokinin (CCK), eines der am besten charakterisierten Peptide, ist ursprünglich im Verdauungstrakt entdeckt (Ivy und Oldberg, 1928) und später im Gehirn lokalisiert worden (Beinfeld et al., 1981). Spezies-spezifische Unterschiede in der Aminosäuresequenz von CCK wurden entdeckt. Die 33-Aminosäuresequenz und ihr aus 8-Aminosäuren bestehendes C-Terminal konnten bei Schwein, Ratte, Huhn, Chinchilla, Hund und Menschen isoliert werden (Fan et al., 1987; Rehfeld, 1978). Das nicht-sulfatierte Oktapeptid und das Tetrapeptid konnten im Rattenhirn nachgewiesen werden (Frey, 1983). Die Verteilung von CCK im Gehirn wurde 1975 von Vanderhaeghen et al. beschrieben. CCK oder CCK-mRNA findet sich in Neuronen folgender Hirnareale; zerebraler Kortex, Klastrum, Hippokampus, Subikulum, Amygdala, Septum, Tuberculus olfactorius, Hypothalamus, Thalamus, ventrales Mesenzephalon, zentrales Grau, Edinger-Westphal Kern, Colliculi superior und inferior und Nucleus parabrachialis (Beinfeld et al., 1981; Crawley, 1985). Zwei Rezeptor-Subtypen konnten unterschieden werden, die nach ihrem Vorkommen benannt wurden; der CCK_A- (vorwiegend alimentär vorkommend) und der CCK_B-Rezeptor-Subtyp (vorwiegend im Gehirn vorkommend) (Innis und Synder, 1980; Sankaran et al., 1980; Hays et al., 1980). Cholezystokinin wird während der Nahrungsaufnahme vom Dünndarm ausgeschüttet, und es

wurde angenommen, daß es als Sättigungssignal dient (Gibbs et al., 1973b). Diese Hypothese basierte auf der Feststellung, daß systemische CCK-Applikation die Nahrungsaufnahme bei Ratten reduzierte (Gibbs et al., 1973a). Seitdem haben zahlreiche Studien mit Agonisten und Antagonisten diese Hypothese in vielen Spezies, einschließlich Mensch, unterstützt (Morley, 1985; Smith und Gibbs, 1992). So konnte langsame i.v.-Injektion von CCK die Nahrungsaufnahme von gesunden Probanden reduzieren, die von keinen weiteren, unangenehmen Wirkungen berichteten (Geary et al., 1992; Melton et al., 1992; Muurahainen et al., 1991).

Studien mit Agonisten legen die Peripherie als Ursprung der CCKergen Wirkung nahe. Der primäre Wirkungsort bleibt dabei jedoch unbekannt, aber ein intakter Vagusnerv ist Voraussetzung für die appetitmindernde Wirkung von CCK (Crawley et al., 1981; South und Ritter, 1988). Antagonisten, wie Devazepid, die am CCK_A-Rezeptor-Subtyp angreifen, hoben die appetitmindernde Wirkung von CCK auf (Hanson und Strouse, 1987; Dourish et al., 1988a). Aber auch vom Antagonisten am CCK_B-Rezeptor-Subtyp, L-365,260 (3R(+)-N(2,3-Dihydro-1-Methyl-2-Oxo-5-Phenyl-1H-1,4-Benzodiazepin-3-yl)-N1-(3-Methylphenyl)-Urea), wurde berichtet, daß er die Futtermittelaufnahme bei Ratten erhöht (Dourish et al., 1989) und Gewichtszunahmen bei frisch entwöhnten Ratten verstärkt (O'Neill et al., 1990). Da Devazepid und L-365,620 die Blut-Hirn-Schranke passieren können, bleibt unklar, ob die Wirkungen von endogenem CCK auf die Nahrungsaufnahme zentral oder peripher vermittelt werden.

Möglicherweise wirkt Cholezystokinin über eine Interaktion mit anderen Neurotransmittern. Peripher appliziertes CCK induziert Konzentrationsänderungen von zentralen Monoaminen (Kaneyuki et al., 1989). Zahlreiche Befunde deuten auf Wechselwirkungen zwischen CCK und Serotonin hin, wobei Serotonin die appetitmindernde CCKerge Wirkung vermitteln soll (Cooper und Dourish, 1990). Durch die Vorbehandlung mit Metergolin, einem 5-HT₁-/5-HT₂-Rezeptor-Antagonisten, der die Blut-Hirn-Schranke passiert, konnte die CCK-induzierte Reduktion der Nahrungsaufnahme blockiert werden (Grignaschi et al., 1993). Dieser Effekt wurde mit Xylamidin Tosylat, einem peripher wirkenden 5-HT₂-Antagonisten nicht erzielt, was darauf hinweist, daß zentrales 5-HT eine Rolle bei der CCK induzierten Reduktion der Nahrungsaufnahme spielt (Stallone et al., 1989). Auch die Prämedikation mit Mianserin, einem nichtselektiven 5-HT-Antagonisten, und 8-OH-DPAT, das über präsynaptische 5-HT_{1A}-Rezeptoren die serotonerge Entladungsrate vermindert, konnte die anorektische Wirkung von CCK aufheben (Poeschla et al., 1992; 1993). Die genauen

Wirkungsmechanismen, beteiligten Rezeptoren und anatomischen Strukturen sind jedoch nicht endgültig aufgeklärt.

Basierend auf den Befunden aus zahlreichen Studien, daß CCK sättigungsvermittelnde Wirkungen aufweist, wurden Untersuchungen durchgeführt, die mögliche Abweichungen der CCKergen Funktion in Eßstörungen aufdecken sollten. In drei Studien an Patienten mit Anorexia nervosa wurde von signifikant erhöhten CCK-Werten im Plasma berichtet (Harty et al., 1991; Phillip et al., 1991; Tamai et al., 1993). Eine vierte Studie konnte jedoch keine Abweichung gegenüber Kontrollwerten feststellen (Geraciotti et al., 1992). In bulimischen Patienten wurde eine verschlechterte CCK-Sekretion in Verbindung mit der Nahrungsaufnahme festgestellt (Geraciotti und Liddle, 1988; Pirke et al., 1994) und geringere Konzentrationen von CCK im Liquor cerebrospinalis (Lydiard et al., 1993). Übergewichtige Patienten zeigen normale oder gering erhöhte Plasma-CCK-Werte (Burhol et al., 1984). Intravenös appliziertes CCK konnte die Nahrungsaufnahme bei übergewichtigen Patienten reduzieren, einschließlich Patienten mit Adipositas durch Hypothalamusschädigung. Aber dieser Effekt war auf die ersten 10 Minuten des Einnehmens der Mahlzeit limitiert (Boosalis et al., 1992; Pi-Sunyer et al., 1982). Diese Befunde deuten darauf hin, daß CCK eine Rolle bei der Pathologie von Eßstörungen spielt. Ob diese Veränderungen ursächlich oder infolge des Krankheitsgeschehens auftreten, müssen zukünftige Untersuchungen zeigen.

2.4. Neurotoxine

Thoenen und Tanzer entdeckten 1968, daß die langanhaltende Verminderung von Noradrenalin in sympathisch innervierten Organen durch 6-Hydroxy-Dopamin (6-OH-DA) auf einer Degeneration von Noradrenalinterminalen beruhte. Dies war die Basis für die Entwicklung eines neuen Konzepts neurobiologischer Forschung: Die Methode selektiver chemischer Neurodegeneration. Der erfolgreiche Einsatz dieser Methode, um Degenerationen noradrenerger und dopaminerger Neurone im Gehirn zu erzielen, regte die Suche nach Komponenten mit entsprechenden Effekten auf zentrale Serotoninneurone an. Mit den an 5,6- und 5,7-dihydroxylierten Tryptaminen (5,6- und 5,7-DHT) schienen Substanzen gefunden zu sein, mit denen man lang anhaltende und selektive Zerstörungen serotonerger Neurone vornehmen kann (Baumgarten und Björklund, 1976).

5,7-Dihydroxytryptamin

Nachdem Baumgarten et al. (1971) Studien mit unterschiedlichen Dihydroxytryptaminderivaten begonnen hatten, stellte sich zunächst das 5,6-DHT als vielversprechend heraus. Zwar erzeugte 5,6-DHT in niedrigen Dosierungen eine langanhaltende Verminderung von Serotonin im Rückenmark, aber nur eine geringe Senkung des 5-HT-Gehaltes im Vorderhirn. Höhere Dosierungen führten jedoch nicht nur zu größerer Schädigung serotonerger Neurone, sondern auch von myelinisierten Axonen und Gliazellen, einer signifikanten Reduktion von Noradrenalin- und Dopamingehalten und wurden vom Versuchstier nicht mehr toleriert. Daraufhin wurde das Augenmerk verstärkt auf 5,7-DHT gerichtet, welches ähnliche Degenerationen an serotonergen Neuronen verursachte wie 5,6-DHT, aber auch in hohen Dosierungen vom Versuchstier vertragen wurde und somit stärkere 5-HT-Gehaltsabsenkungen ermöglichte. 5,7-DHT verursachte auch Degenerationen an noradrenergen, jedoch nicht an dopaminerger Neuronen (Baumgarten und Lachenmayer, 1972). Dies kann durch Prämedikation mit katecholaminergen Aufnahmehemmern verhindert werden (Tabatabaie und Dryhurst, 1998).

Es wird angenommen, daß die Selektivität von 5,6- und 5,7-DHT mit ihrer Aufnahme in die serotonergen Terminalen durch die aktiven Transportmechanismen für 5-HT in Zusammenhang stehen. Nach Erreichen einer kritischen intraneuronalen Konzentration verursachen sie dann ihre neurotoxischen Effekte. Zu ihrem Wirkungsmechanismus gibt es

zwei Hypothesen, die beide die intraneuronale Oxidation der Dihydroxytryptamine als Voraussetzung ihrer Toxizität zugrunde legen (Rotman et al., 1976). Die erste Hypothese geht davon aus, daß bei der Autooxidation von 5,6- und 5,7-DHT reaktive Quinone entstehen, die an Proteine und Makromoleküle binden, die essentiell für die neuronale Funktion sind. Die zweite Hypothese beruht auf der Annahme, daß als Nebenprodukt der Dihydroxytryptaminoxidation zytotoxische reaktive Sauerstoffradikale (reactive oxygen species, ROS) entstehen. Beiden Hypothesen ist gemein, daß die entstehenden Radikale irreversibel an Proteine binden, besonders an ihren SH-Gruppen und zur Denaturierung dieser Proteine führen, sowie eine Hemmung der Atmungskette bewirken, durch die Bindung an deren Enzyme und somit die Bereitstellung von ATP blockieren (Baumgarten und Björklund, 1976).

2.5. Nachweis von Neurotransmittern *in vivo*

Seit Jahren ist man bestrebt, freigesetzte Neurotransmitter in der extrazellulären Flüssigkeit des Gehirns am lebenden Organismus messen zu können. MacIntosh und Oborin berichteten 1953 von flüssigkeitsgefüllten Dialysesäckchen, die auf der Gehirnoberfläche befestigt wurden, wobei entweder der Behälter oder nur die Flüssigkeit im Innern des Behälters ausgetauscht wurde. Die Nachteile dieser Methode, geringer Oberflächenkontakt und direkte Berührung von Hirngewebe mit der Flüssigkeit, überwogen den Vorteil dieser Methode, die Unversehrtheit des Hirngewebes.

Später versuchte man Flüssigkeit als Austauschmedium durch eine Kanüle in das zu untersuchende Hirngebiet zu pumpen, die nachfolgend wieder abgesaugt wurde, das sogenannte „Push-Pull“-Verfahren (Gaddum, 1962). Aber auch hier ergab sich der Nachteil des direkten Kontakts zwischen Gewebe und künstlicher Zerebrospinalflüssigkeit und eventuelle Schäden durch zu große Flüssigkeitsmengen während der „Push“-Phase. Zusätzlich mußte eine Aufbereitung der Sammelflüssigkeit erfolgen, weil Verunreinigungen mit Hirngewebe bei der Analyse hinderlich waren.

Schließlich wurde noch die Technik der Gewinnung des Liquors aus der Cisterna magna durch die Implantation eines Dauerkatheters entwickelt, allerdings muß dabei die Konzentration der Neurotransmitter in der Zerebrospinalflüssigkeit (CSF) nicht mit der Konzentration im Gewebe korrelieren (Sarna et al., 1983).

Heutzutage gibt es zwei Methoden, die eine genaue und verhältnismäßig schonende Untersuchung gewährleisten können; die *in vivo* Voltammetrie und die *in vivo* Mikrodialyse.

Bei der Technik der *in vivo* Voltammetrie werden dünne Kohlefasern in das Gehirn implantiert und durch Oxidation und Reduktion die Konzentration bestimmter elektrochemisch aktiver Substanzen gemessen. Dies geschieht durch eine der Konzentrationsänderung proportionale Änderung des Stromflusses an der Elektrode. Die Vorteile dieser Methode liegen in der geringen Schädigung des umliegenden Gewebes durch die Untersuchungssonde (8-40 µm Durchmesser) und die Schnelligkeit der Meßvorgänge, die bis zu 100 mal pro Sekunde ablaufen können (Millar et al., 1992; O'Connor und Kruk, 1992). Von Nachteil sind jedoch das begrenzte Spektrum von Substanzen, die mit der Voltammetrie bestimmt werden können. Dabei ist die Trennung der zu untersuchenden Transmitter (z. B. 5-HT, Dopamin) von ihren Metaboliten und anderen elektrochemisch aktiven Stoffen im

Gehirn (z.B. Ascorbinsäure) oft erschwert oder noch nicht möglich. Ebenfalls nachteilig ist die kurze Dauer, in der die Voltammetrie-Sonden im arbeitsfähigen Zustand sind.

2.5.1. Intrazerebrale Mikrodialyse

Das Grundprinzip der intrazerebralen Mikrodialyse beruht auf der Diffusion von Substanzen durch eine semipermeable Membran, die die Grenze zwischen dem Extrazellularraum des ZNS und dem künstlichen Liquor im Innern einer kleinen, in das ZNS implantierten Sonde bildet.

Substanzen können sich entsprechend ihres Konzentrationsgefälles und der Durchlässigkeit der Membran nach dem Diffusionsgesetz verteilen. Ein permanenter Austausch des künstlichen Liquors sichert im Innern der Sonde ein gleichbleibendes und hohes Konzentrationsgefälle.

Einer der ersten, die das Prinzip der Diffusion durch eine semipermeable Membran im ZNS anwendeten, waren Bito et al. (1966) die Dialysesäckchen in den Kortex von Hunden implantierten. Um zeitliche Veränderungen der Konzentration von Substanzen im ZNS zu verfolgen, wurde diese Technik durch einen Flüssigkeitsaustausch weiterentwickelt (Delgado et al., 1972). Von einer neuartigen Methode zum Sammeln von künstlichem Liquor nach Durchströmen einer Kapillare berichteten 1982 Ungerstedt und Mitarbeiter. Sie verbanden die offenen Enden von zwei parallelen Kanülen mit einem U-förmigen Stück Dialyseschlauch, durch den der künstliche Liquor gepumpt wurde (Abb. 5 II). Der Dialyseschlauch war eine einzelne Kapillare (\varnothing 200-300 μm) aus einem kommerziellen Dialysator. Damit war zum ersten Mal eine kontinuierliche Probensammlung möglich. Ergänzt wurde diese Methode durch die transversale Mikrodialysetsonde, bei der eine Dialysekupillare horizontal durch das ZNS geführt wird (Abb. 5 III). Das darauffolgende Modell, die konzentrische Mikrodialysetsonde (Abb. 5 I) bestand aus zwei ineinander angeordneten Kanülen mit einer Spitze aus Dialyseschlauch (Ungerstedt und Hallstrom, 1987). Der Vorteil dieses Designs ist der geringe Durchmesser der Sonde (300 μm), wobei im Vergleich zur U-förmigen Sonde mit ihrer langen Dialysemembran allerdings die Diffusionsfläche geringer ist.

Um die Bedeutung von Neurotransmissionssystemen zu untersuchen, reicht die Beurteilung des Verhaltens allein nicht aus. Mit Hilfe der Mikrodialysetechnik ist es heutzutage möglich, Konzentrationsänderungen von Substanzen in der Extrazellulärflüssigkeit zu bestimmen,

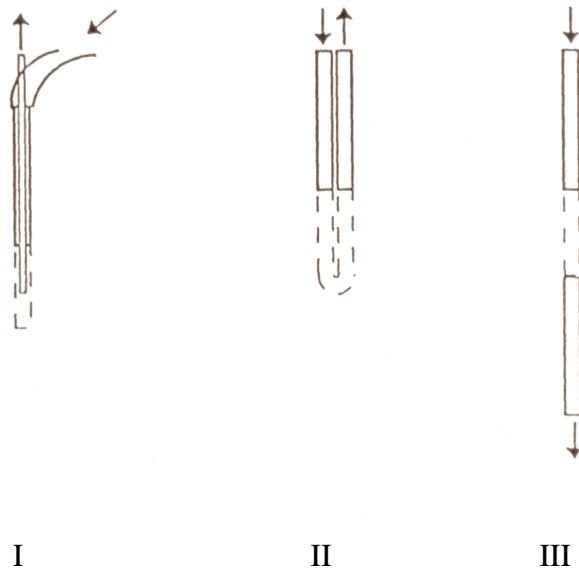


Abbildung 5

Schematische Skizze einer konzentrischen Mikro dialysesonde (I), einer Dialyseschleife (II), und einer transversalen Mikro dialysesonde (III)

wobei zeitgleich eine Analyse des Verhaltens durchgeführt werden kann. Damit ist die Möglichkeit gegeben, Konzentrationsveränderungen, die durch Verhaltensänderungen induziert werden, zu erfassen. Es ist jedoch genau zu prüfen, ob die Veränderungen Ursache oder Wirkung darstellen.

Vorteile der Mikro dialyse:

- Die kontinuierliche Sammlung eines sterilen und proteinfreien Perfusates aus einem oder mehreren begrenzten Hirngebieten kann über längere Zeit erfolgen.
- Die Analyse der so gewonnenen Perfusate erfolgt mit entsprechend empfindlichen speziellen chemischen Analyseverfahren, wobei es möglich ist ein breites Spektrum von Neurotransmittern und Metaboliten parallel und mit genügender Empfindlichkeit zu bestimmen.
- Die Mikro dialyse kann am wachen und frei beweglichen Tier erfolgen. Narkosen Nebenwirkungen können damit ausgeschlossen werden.
- Durch die Mikro dialysesonde können dialysemembrangängige Pharmaka ohne zusätzliche Belastungen für das Tier in die zu untersuchenden Gehirngebiete gebracht werden.

Nachteile der Mikrodialyse:

- Es entstehen relativ große Gewebeschäden durch Gewebsverletzungen in der Umgebung der Mikrodialysesonde.
- Es erfolgt eine Auswaschung des Extrazellularraumes durch die kontinuierliche Diffusion von Transmittern, Metaboliten oder Vorstufen in die Mikrodialysesonde und eine lokale Hypoxie um die Dialysesonde aufgrund der entgasten und sauerstoffarmen Dialyseflüssigkeit.
- Die Sammelphasen für das Perfusat von 20 Minuten sind relativ lang, so daß kurzfristige Anstiege oder Abfälle der Konzentrationen der zu messenden Substanzen nicht erfaßt werden können. Einen Ausweg aus dieser schlechten zeitlichen Auflösung bieten die *online* Mikrodialysen mit sensibleren Detektoren, wie neuere HPLC-Anlagen mit elektrochemischen Detektoren oder die Durchführung einer *online* Massenspektroskopie.