

**Pharmakologische Magnetresonanztomographie des  
Gehirns der Ratte bei hoher magnetischer Feldstärke:  
Methodische Besonderheiten und Einsatz zur  
Untersuchung der biologischen Substrate angeborener  
Angst**

Dissertation  
der Fakultät für Biologie  
der Ludwig-Maximilian-Universität München

eingereicht von

Raffael Kalisch  
aus Offenburg

am 6. März 2002

Die Dissertation wurde von November 1998 bis März 2002 unter direkter Anleitung von Frau Dr. Dorothee P. Auer und in Zusammenarbeit mit Herrn Prof. Dr. Rainer Landgraf am Max-Planck-Institut für Psychiatrie, München, angefertigt.

Daten aus Teil I wurden unter dem Titel

Raffael Kalisch, Gregor-Konstantin Elbel, Christoff Gössl, Michael Czisch und Dorothee P. Auer. Blood pressure changes induced by arterial blood withdrawal influence BOLD signal in anesthetized rats at 7 Tesla: implications for pharmacologic MRI. *Neuroimage* 14, 891-898 (2001)

veröffentlicht.

Erstgutachter: Prof. Dr. Rainer Landgraf  
Zweitgutachter: Prof. Dr. Dr. Gerd Schuller  
Datum der mündlichen Prüfung: 26. September 2002

*Für Hilke*

## Danksagung

Ich danke Gott.

Gott in seinen verschiedenen Formen hat mir beim Erstellen dieser Arbeit u.a. geholfen als Dr. Dorothee Auer, die mir als unmittelbare Betreuerin der Doktorarbeit stets mit Rat, Anregungen und konstruktiver Kritik zur Seite stand und den lebenden Beweis erbrachte, daß es immer eine Lösung gibt,

Dr. Rainer Landgraf, der mir als Doktorvater und Kollaborationspartner jedwede Unterstützung gewährte,

Dr. Gregor Elbel, mit dem zusammen ich im ersten Jahr der Doktorarbeit das Set-up für die Bildgebung an der Ratte aufbaute und von dessen Kreativität und Engagement ich in dieser Zeit unglaublich profitierte; seine Hilfsbereitschaft und Großherzigkeit werden mir stets in Erinnerung bleiben,

Dr. Michael Czisch, der, *deus ex machina*, im zweiten Jahr meiner Doktorarbeit als rettender Physiker vom Himmel fiel und mir jederzeit dort weiterhalf, wo meine physikalischen und Computerkenntnisse zu ungenügend waren,

Armin Mann, der immer dann einsprang, wenn die Technik ihren Dienst versagte und für den kein Problem zu knifflig war,

Dr. Christian Kaufmann, ohne den die SPM-Auswertung der Daten sicher unmöglich gewesen wäre,

Dr. Benno Pütz, der nicht nur das Netzwerk, sondern die gesamte Arbeitsgruppe am Leben erhielt,

Dr. Christoff Gössl und Dr. Alexander Yassouridis, die mich über die Untiefen der Statistik lotsten,

Dr. Alexandra Wigger, die durch das Wunder der Rattenvermehrung mit zwei Ratten eine ganze Studie nähren konnte,

Albin Varga, Beate Pichlmeier, Zoran Dobrica, Michaela Hartl und Günther Guggenberger-Schmidt vom Tierstall-Team, bei denen meine Ratten jederzeit in guter Obhut waren,

Martin Erlbeck und Timo Wagner von der Feinmechanischen Werkstatt, die nicht nur fein, sondern auch schnell arbeiteten und von unseren ausgefallenen Wünschen eher angespornt zu sein worden schienen,

Dr. Mirjam Schubert, die stets zur Stelle war, wenn ich eine helfende Hand brauchte,

Dr. Jan Schadrack, der in der ersten Zeit der Methodenetablierung seine Erfahrungen und reichen Kontakte zur Verfügung stellte,

Dagmar Dröse, Dr. Rudi Hipp und Dr. Julia Henke vom Klinikum rechts der Isar, deren tierexperimentelles Wissen und Können von unschätzbarem Wert waren,

Dr. Michael Neumeier, ohne dessen Rattenkopf-Spule von einem Signal-zu-Rausch-Verhältnis keine Rede hätte sein können,

Dr. Thorsten Thiel, der uns eine EPI-Sequenz zur Verfügung stellte,

Oliver Schieferstein, der Software zur On-line-Datenerfassung programmierte,

Susanne Droste, die RIA-Messungen durchführte,

Dr. Frauke Ohl, die mehrere, leider fruchtlose Verhaltensexperimente für mich durchführte,

Reinhold Borschke, der immer alles besorgen konnte,

Liane Hartl, die manche Botschaft in die Welt schickte,

Biserka Dominko, die die Kapazität der westlichen Marktwirtschaft zur jederzeitigen  
Bedarfsdeckung austestete,  
Max Berger, Thomas Richinger und Herbert Müller vom EDV-Team, die den Elektronen freie  
Bahn verschafften, wenn irgendwo eine Leitung verstopft war,  
Uwe Wolff und Felix Zeller, die sich bereitwillig zu Endnote-Experten ausbilden ließen,  
Dr. Thomas Merl, der ein sehr angenehmer Zimmergenosse und mehr war,  
viele namenlose Helfer und gute Geister, die im Hintergrund ihren Dienst taten und auf deren  
Fleiß das Funktionieren des Instituts beruhte,  
und schließlich in Gestalt von sicherlich einigen Hundert Ratten, die mehr gaben als alle  
anderen, nämlich ihr Leben, und denen dafür besonderer Dank gebührt.

# INHALTSVERZEICHNIS

1 ALLGEMEINE EINLEITUNG	1
2 TEIL I: Der Einfluß von Blutdruckveränderungen auf das BOLD-Signal	3
3 TEIL II: Diazepam-phMRI an einem Rattenmodell angeborener Angst	22
4 ALLGEMEINE DISKUSSION	78
5 LITERATURVERZEICHNIS	79
6 VERÖFFENTLICHUNG	89
7 ANHANG	98

<b>1 ALLGEMEINE EINLEITUNG</b>	<b>1</b>
<b>2 TEIL I: Der Einfluß von Blutdruckveränderungen auf das BOLD-Signal</b>	<b>3</b>
<b>2.1 Einleitung</b>	<b>3</b>
2.1.1 Der BOLD-Kontrast	3
2.1.2 Die Verwendung des BOLD-Kontrastes in der pharmakologischen Magnetresonanztomographie	4
2.1.3 Blutdruck und BOLD-Kontrast	4
<b>2.2 Material und Methoden</b>	<b>5</b>
2.2.1 Operationsmethoden und physiologische Überwachung	5
2.2.2 Experimenteller Ablauf	6
2.2.3 Magnetresonanztomographie	9
2.2.4 Datenanalyse	10
<b>2.3 Ergebnisse</b>	<b>11</b>
2.3.1 Durch Blutabnahme und –reinfusion induzierte Blutdruckänderungen	11
2.3.2 Korrelationen zwischen Blutdruck und BOLD	13
2.3.3 Räumliche Beziehung zwischen Blutdruck und BOLD	13
<b>2.4 Diskussion</b>	<b>14</b>
2.4.1 Methodische Beschränkungen der Blutabnahme- und Reinfusionstechnik	15
2.4.3 CBF, CBV und BOLD während Blutdruckveränderungen	16
2.4.4 Bedeutung der Ergebnisse für das phMRI	18
2.4.5 Lösungsansätze	18
2.4.6 Human-phMRI	19
2.4.7 Schlußbemerkung	21

<b>3 TEIL II: Diazepam-phMRI an einem Rattenmodell angeborener Angst</b>	<b>22</b>
<b>3.1 Einführung</b>	<b>22</b>
3.1.1 Begriffsklärungen	22
3.1.2 Klinische Relevanz	23
3.1.3 Die Neurobiologie der Generalisierten Angststörung	24
3.1.4 Theorien der Angst	26
3.1.4.1 Ethologie	26
3.1.4.2 Neuroanatomie	26
a) Aktives Vermeidungsverhalten (Furcht)	26
b) Passives Vermeidungsverhalten (Angst)	27
c) Gemeinsamkeiten	28
d) Abweichende Theorien	29
e) Höhere Zentren	30
3.1.4.3 Neurochemie	35
a) Serotonin und Noradrenalin	35
b) CRH, AVP und HPA-Achse	36
c) GABA	37
3.1.4.4 Persönlichkeitsunterschiede	38
3.1.5 HAB- und LAB-Ratten als Angstmodell	39
3.1.5.1 Zuchtstrategie	39
3.1.5.2 Verhalten	41
3.1.5.3 Neurobiologie	42
<b>3.2 Diazepam-phMRI bei HAB- und LAB-Ratten</b>	<b>44</b>
3.2.1 Einleitung	44
3.2.1.1 Methodische Vorbemerkungen	44
3.2.1.2 Studiendesign	45
3.2.2 Material und Methoden	46
3.2.2.1 Tiere	46
3.2.2.2 Operationsmethoden und physiologische Überwachung	46
3.2.2.3 Magnetresonanztomographie	47
3.2.2.4 Datenanalyse	49
3.2.3 Ergebnisse	52
3.2.3.1 Physiologische Parameter	52
3.2.3.2 BOLD-Signal	53
a) Karten	53

b) Zeitkurven	56
3.2.4 Diskussion	68
3.2.4.1 Biologisches Korrelat der BOLD-Antwort	68
a) Mögliche nicht-neuronale Korrelate	68
b) Mögliche neuronale Korrelate	69
3.2.4.2 Schaltkreise übersteigter Ängstlichkeit – Mediopräfrontale Hypoaktivitätshypothese	72
3.2.4.3 Weiterführende Arbeiten	75
<b>3.3 Schlußbemerkung</b>	77
<b>4 ALLGEMEINE DISKUSSION</b>	78
<b>5 LITERATURVERZEICHNIS</b>	79
<b>6 ANHANG</b>	89
Abkürzungsverzeichnis	90
Kleine Einführung in die Physik der Magnetresonanztomographie	92
Lebenslauf	94

## 1 ALLGEMEINE EINLEITUNG

Die Methode der funktionellen Magnetresonanztomographie (fMRI, *functional magnetic resonance imaging*) wurde bereits kurz nach ihrer Einführung Anfang der neunziger Jahre auch zur Darstellung von Änderungen der Hirnaktivität nach Gabe pharmakologischer Substanzen eingesetzt (Q. Chen et al. 1995a; Y. I. Chen et al. 1995b; Cuenod et al. 1993; Silva et al. 1995). Ein Durchbruch in der methodischen Validierung des sog. phMRI (pharmakologisches fMRI) wurde 1997 von Chen et al. in einer Tierstudie erreicht. Die Autoren konnten zeigen, daß Amphetamin und 2 $\beta$ -carbomethoxy-3 $\beta$ -(4-fluoropheny)tropan (CFT), zwei Substanzen, die die Konzentration des Neurotransmitters Dopamin im synaptischen Spalt erhöhen, eine Erhöhung des fMRI-Signals bewirken, die mit der mikrodialytisch gemessenen Konzentration extrazellulären Dopamins korreliert. Wurden dopaminerge Zellen selektiv durch ein Neurotoxin zerstört, konnte in ihrem Projektionsgebiet keine Signalerhöhung mehr beobachtet werden. Seither findet das phMRI eine zunehmende Anwendung in Human- wie in Tiermodellen. Dabei wurde die Wirkung solch unterschiedlicher Substanzen wie Kokain (Breiter et al. 1997; Marota et al. 2000), die Dopaminrezeptor-Agonisten Apomorphin (Nguyen et al. 2000; Zhang et al. 2000) und Bromocriptin (Hagino et al. 1998), der Dopamin-Antagonist Haloperidol (Hagino et al. 1998), Heroin (Xu et al. 2000), Nikotin (Stein et al. 1998) und der GABA<sub>A</sub>-Rezeptor-Antagonist Bicucullin (Mügglers et al. 2001; Reese et al. 2000) untersucht.

Ziel der vorliegenden Arbeit war es, die Wirkung des Anxiolytikums Diazepam auf die Hirnaktivität zweier Rattenlinien, die sich in ihrem angeborenen Angstverhalten unterscheiden, zu vergleichen. Es waren dies die Linien HAB (*high anxiety-related behavior*) und ihr Gegenstück LAB (*low anxiety-related behavior*), die durch selektive Züchtung nach einem Angstkriterium aus Wistarratten hervorgegangen sind (Liebsch et al. 1998b). Diazepam wirkt bei HAB-Ratten wesentlich stärker anxiolytisch als bei LAB-Ratten (Liebsch et al. 1998a). Man kann daraus folgern, daß Diazepam differentiell auf Hirnregionen wirken muß, die Angstverhalten steuern. In umgekehrter Logik sollte eine Region, für die gezeigt werden kann, daß sie von Diazepam unterschiedlich angesprochen wird, eine Rolle in der extrem unterschiedlichen Regulation des Angstverhaltens bei den beiden Linien spielen. phMRI sollte also als ein Werkzeug eingesetzt werden, die neuroanatomischen Substrate individueller Unterschiede in der Ängstlichkeit zu identifizieren.

Anders als über die Schaltkreise, die akutes Angstverhalten steuern, ist über die Hirnstrukturen, die die Ausprägung solcher „Persönlichkeitsmerkmale“ beeinflussen, wenig bekannt. Das HAB-Tiermodell und die hier vorgelegte Studie möchten zum besseren Verständnis individueller Unterschiede auch im menschlichen Verhalten und insbesondere zur Aufklärung der Ursachen pathologischer Ängstlichkeit, wie sie in der Klinik beobachtet werden, beitragen.

Um zu einer für Untersuchungen des Nagerhirns ausreichenden räumlichen Auflösung zu gelangen, wurde für diese Studie phMRI erstmals bei einer magnetischen Feldstärke von 7 Tesla etabliert. Im Zuge der Etablierung wurden technische Herausforderungen durch die Besonderheiten des Hochfeldes gelöst und physiologische Störgrößen des phMRI-Signals identifiziert und kontrolliert. Teil I schildert den Einfluß von Änderungen des systemischen Blutdrucks, wie sie beispielsweise im Rahmen pharmakologischer Stimulierung auftreten können, auf das phMRI-Signal. In diesem Zusammenhang wird auch eine allgemeine Einführung in die Methodik des phMRI gegeben. Der zweite Teil der Arbeit beschreibt die Anwendung des phMRI auf das Tiermodell der angeborenen Angst.

Anm.: Alle Werte sind als Mittelwert $\pm$ Standardabweichung angegeben.

## 2 TEIL I: Der Einfluß von Blutdruckveränderungen auf das BOLD-Signal

### 2.1 Einleitung

#### 2.1.1 Der BOLD-Kontrast

Der sogenannte *blood oxygenation level-dependent* (Blutoxygenierungs-abhängige) oder BOLD-Kontrast ist heute die am weitesten verbreitete Methode zur funktionellen Bildgebung des Gehirns sowohl im Menschen wie auch beim Tier.

Magnetresonanztomographische Meßsequenzen, die empfindlich für den BOLD-Kontrast sind, erfassen Veränderungen in den Transversalrelaxations-Konstanten T2 oder T2\* von Protonenspins, deren Hauptquelle das Wasser in Blut und Gewebe ist (für eine kurze Einführung in die Grundbegriffe der Magnetresonanztomographie – auch Kernspintomographie oder kurz MR - s. Anhang). Aufgrund seiner paramagnetischen Natur ruft desoxygeniertes Hämoglobin (dHb) mikroskopische Verzerrungen des Magnetfeldes hervor, die in verkürzten transversalen Relaxationszeiten resultieren (Ogawa et al. 1993b; Thulborn et al. 1982). Neuronale Aktivierung erhöht die lokale dHb-Produktion durch eine Steigerung des zerebralen Sauerstoffverbrauchs (CMRO<sub>2</sub>, *cerebral metabolic rate of oxygen*), löst jedoch auch einen Anstieg des lokalen zerebralen Blutflusses (CBF, *cerebral blood flow*) aus. Ein Anstieg des CBF verringert über eine beschleunigte Auswaschung die dHb-Konzentration, wirkt also dem Effekt des erhöhten Sauerstoffverbrauchs entgegen. In den meisten Aktivierungsparadigmata findet man einen Anstieg von T2 oder T2\*, was damit erklärt wird, daß die dHb-Auswaschung die dHb-Produktion übertrifft (Villringer 1999).

Auch das zerebrale Blutvolumen (CBV, *cerebral blood volume*) erhöht sich bei neuronaler Aktivierung (Mandeville et al. 1998), ein Effekt der wahrscheinlich in erster Linie durch einen Anstieg des venösen Blutvolumens bedingt ist (Weisskoff 1999). Da venöses Blut verhältnismäßig desoxygeniert ist, werden dadurch T2 oder T2\* im Gewebe verkürzt. Wie genau das komplexe Zusammenspiel zwischen Hirnmetabolismus und –häodynamik die Größe der BOLD-Antwort bestimmt, ist bis heute noch nicht völlig verstanden.

### 2.1.2 Die Verwendung des BOLD-Kontrastes in der pharmakologischen Magnetresonanztomographie

Die pharmakologische Magnetresonanztomographie (phMRI, *pharmacologic magnetic resonance imaging*) ist eine besondere Anwendung der funktionellen Magnetresonanztomographie (fMRI, *functional magnetic resonance imaging*), die den BOLD-Kontrast dazu verwendet, um pharmakologische Effekte auf die Hirnaktivität räumlich und zeitlich zu charakterisieren. In diesem speziellen Falle ist es denkbar, daß die zerebrale Hämodynamik nicht nur eine Funktion der lokalen neuronalen Aktivität ist, sondern auch durch systemische kardiovaskuläre oder respiratorische sowie durch direkte vasomotorische Wirkungen eines Pharmakons beeinflusst werden kann. Auch kann nicht ausgeschlossen werden, daß Neurotransmitter, deren lokale extrazelluläre Konzentrationen durch das Pharmakon verändert werden, Auswirkungen auf den Vasotonus haben.

Um einen neuronalen Substanzeffekt räumlich und zeitlich korrekt zu beschreiben, ist die Kontrolle dieser potentiellen konfundierenden Variablen erforderlich. In der vorliegenden Studie wurden die Auswirkungen von Veränderungen des mittleren arteriellen Blutdrucks, kurz BP, auf das BOLD-Signal untersucht, da in diesem Labor wiederholt Ähnlichkeiten zwischen dem BOLD-Signal und BP-Zeitkurven im Ruhezustand (Elbel et al. 2000) und nach pharmakologischer Stimulation (Kalisch et al. 2000) beobachtet worden waren.

### 2.1.3 Blutdruck und BOLD-Kontrast

Der Einfluß des BP auf den BOLD-Kontrast wurde erstmals von Zaharchuk *et al.* (1999) an der anästhesierten Ratte untersucht. Ein allmähliches Absinken des BP von  $-1$  mmHg/min, hervorgerufen durch eine kontinuierliche arterielle Blutabnahme, bewirkte innerhalb der Grenzen maximaler Autoregulation keine signifikanten Änderungen des BOLD-Signals. Es muß jedoch darauf hingewiesen werden, daß BP-Veränderungen nach Substanzgabe häufig abrupt auftreten. Beispielsweise steigerte Amphetamin in der ersten Tier-phMRI-Studie (Y. C. Chen et al. 1997) den BP innerhalb von vier Minuten um 20 mmHg.

In der vorliegenden Studie wurde daher versucht, den Zusammenhang zwischen BOLD-Signal und plötzlichen BP-Änderungen zu beschreiben. Dazu wurde ein hämorrhagisches Hypotensionsmodell an der Ratte benutzt, bei dem der BP durch schnelle Abnahme verschiedener arterieller Blutvolumina manipuliert wurde. Dies führte zu BP-Änderungen von

durchschnittlich  $-7,8 \pm 4,7$  mmHg/min und von unterschiedlicher Amplitude. Gleichzeitig wurde das BOLD-Signal mit Hilfe einer weitgehend T2-empfindlichen Spin-Echo Echoplanar Imaging-Sequenz (SE-EPI) bei einer Feldstärke von 7 Tesla gemessen. Um zu überprüfen, ob ein möglicher Effekt des BP auf das BOLD-Signal von einem bestimmten Narkosehintergrund abhängt, wurden drei verschiedene handelsübliche Anästhetika (Isofluran, Halothan und Propofol) eingesetzt.

## **2.2 Material und Methoden**

### **2.2.1 Operationsmethoden und physiologische Überwachung**

Alle angewendeten Verfahren waren nach dem Tierschutzgesetz und lokalen Richtlinien genehmigt (TVA-Nr. 211-2531-15/99). Die Studie wurde an neun männlichen Wistarratten von Charles River (Deutschland) durchgeführt, die je nach Anästhesieform drei Gruppen mit  $n=3$  zugeordnet wurden: Isofluran (Tiere I1 bis I3, 412 bis 457 g), Halothan (Tiere H1 bis H3, 399 bis 421 g) und Propofol (Tiere P1 bis P3, 411 bis 437 g).

Vorbereitung und Anästhesie erfolgten nach einem Standardprotokoll (Elbel et al. 2000): Die Tiere wurden nach einer 45minütigen Gewöhnungszeit im MR-Labor mit Halothan anästhesiert, oral intubiert und mechanisch bei einer Frequenz von 50 Atemzügen pro Minute und einem Ein- zu Ausatemverhältnis von 40:60 mit 1,9% Isofluran in 40% O<sub>2</sub> und 60% N<sub>2</sub> beatmet. Als Respirator wurde ein RUS-1301/s (Föhr Medical Instruments, Deutschland) verwendet. Die Luft wurde angefeuchtet. Der Austrocknung von Schleimhäuten und Augen wurde durch Aufbringung von Salbe (Bepanthen, Roche, Schweiz) auf Zunge und Augen begegnet. Intubationsbesteck und -aufbau sowie Vorgehensweise sind in Abb. 1 dargestellt. Eine - oder in der Propofolgruppe zwei - Schwanzvenen, die Schwanzarterie und eine Femoralarterie wurden katheterisiert. Hierzu wurde ein Polyethylenschlauch von einem Innendurchmesser von 0,4 mm und einem Außendurchmesser von 0,8 mm (SIMS Portex, Großbritannien) verwendet, der am Anfang leicht ausgezogen und am Ende in eine Braunüle eingebracht war. Die Tiere wurden dann in einem im Hause gefertigten Rattenbett mit eingebauter Kopfhalterung und Wasserheizung fixiert (Abb. 2). Das Bett besaß weiter eine Halterung für eine speziell für Rattenköpfe gefertigte Empfangs-Oberflächenspule (M. Neumeier, Boehringer Ingelheim, Deutschland). Die Körpertemperatur wurde mit einer Rektalsonde (Datex, Finnland) erfaßt und manuell bei  $38 \pm 0,5$  °C gehalten. Zur Messung der arteriellen Sauerstoffsättigung (SpO<sub>2</sub>) und der Herzfrequenz (HF) wurde ein fiberoptisches

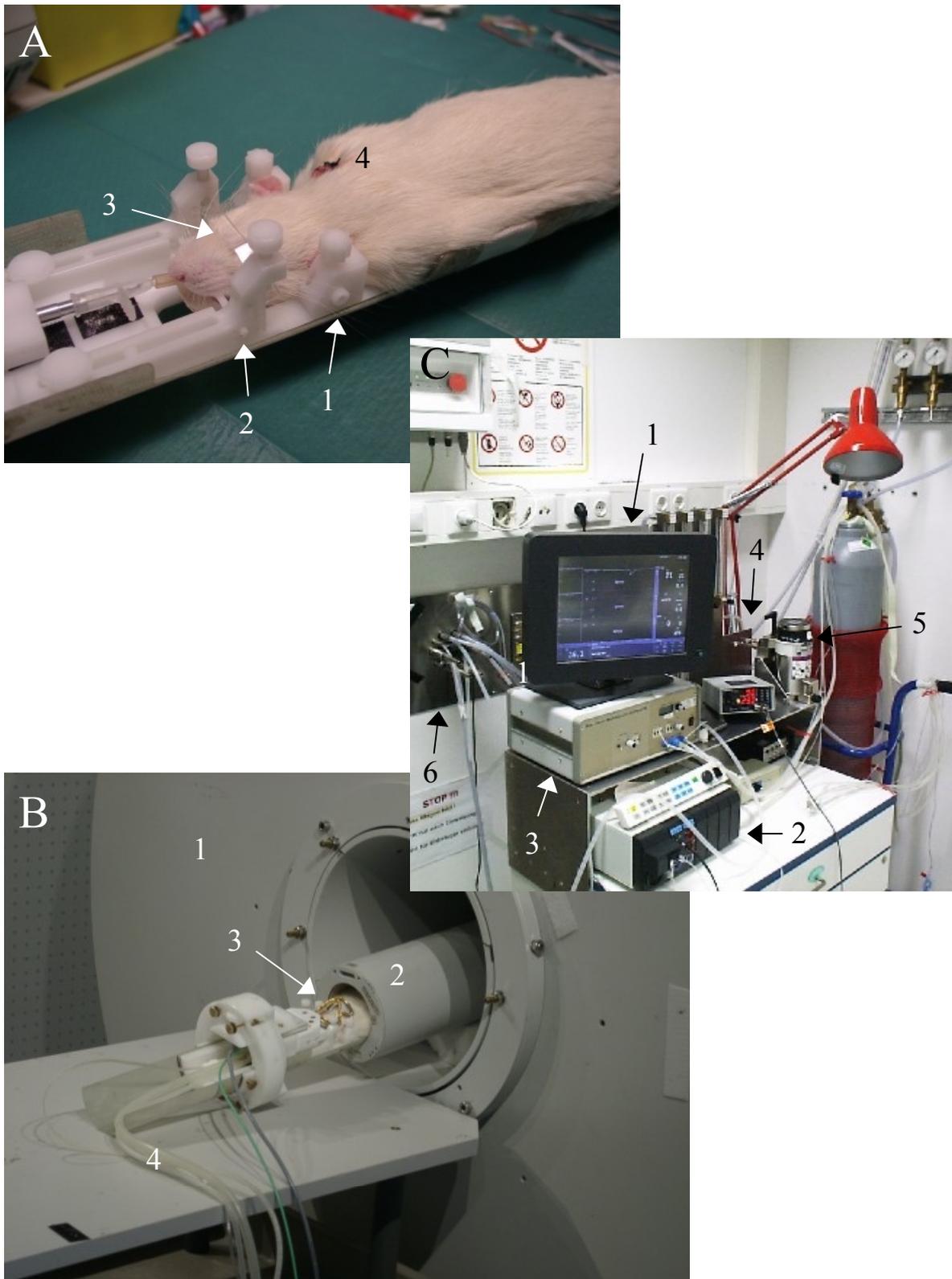
Pulsoxymeter (Nonin, USA) am linken Hinterlauf befestigt. Die HF wurde aus dem Rohsignal mit Hilfe speziell angepasster, LabView-basierter Software berechnet. Die Atemgase ( $O_2$ ,  $CO_2$ ), die Konzentration der gasförmigen Anästhetika und der Atemwegsdruck ( $P_{aw}$ ) wurden durch einen Datex AS/3-Anästhesiemonitor überwacht. Der Monitor, der für die klinische Anwendung gebaut ist, benötigt ein Probenvolumen von ca. 200 ml/min, das im Bereich des Atemminutenvolumens der Ratte liegt. Dadurch wird die Messung des endexpiratorischen  $CO_2$  ( $EtCO_2$ ) systematisch verfälscht. Durch eine Reduzierung der Atemfrequenz von 50 auf 15/min über drei bis vier Zyklen kann das  $EtCO_2$  jedoch hinreichend genau bestimmt werden, indem man die Differenz der  $EtCO_2$ -Werte bei beiden Frequenzen bildet und diese als additiven Korrekturterm einsetzt (Elbel et al. 2000). Eine derartige Kalibration wurde wiederholt während der Operation und kurz vor der Messung durchgeführt, wodurch  $EtCO_2$  im Verlaufe der Untersuchung bei 35 bis 40 mmHg gehalten werden konnte. Insbesondere wurde  $EtCO_2$  während des phMRI-Experiments so reguliert, daß es nicht mehr als  $\pm 1$  mmHg vom Anfangswert abwich. Der BP wurde kontinuierlich über einen an den Anästhesiemonitor angeschlossenen Druck-Transducer (ST33, pvb, Deutschland) gemessen. Die physiologischen Daten wurden alle 20 s auf einem PC gespeichert. Am Ende der Untersuchung wurden die Tiere mit i.v. KCl euthanasiert.

### 2.2.2 Experimenteller Ablauf

Nach Lagerung des Tiers im Tomographen wurde die Narkose auf 1.1% Isofluran, 0.9% Halothan bzw. 0.475 mg/kg/min i.v. Propofol umgestellt. Die Dosierung beider Inhalationsnarkotika entspricht 0.8 MAC bei der Ratte (Flecknell 1996); bei Propofol werden in der Literatur für eine chirurgische Langzeitnarkose 0,5 – 1 mg/kg/min empfohlen (Flecknell 1996). In den Tieren I1 bis I3, H1 und P1 wurde unmittelbar vor und nach jedem MR-Experiment eine Blutgasanalyse auf einem Ciba Corning-Meßsystem (Deutschland) durchgeführt. Um die experimentellen Bedingungen einer phMRI-Messung nachzuahmen, wurde während des Versuches zehn Minuten vor der ersten Hämorrhagie mit 2 mg/kg Pancuroniumbromid (CuraMed, Deutschland) eine Muskelrelaxation induziert. Dann wurden wiederholt Blutvolumina von 0,2 bis zu 4 ml aus der Femoralarterie abgenommen. Dies geschah jeweils innerhalb von ein bis zwei Minuten und bewirkte so schnelle BP-Abfälle unterschiedlicher Amplitude. Nach jeder Abnahme wurde das heparinisierte Blut reinfundiert, um eine längere Hypovolämie zu vermeiden. Zwischen aufeinanderfolgenden Eingriffen



**Abb. 1** Intubation einer Ratte. **A** Intubationsbesteck bestehend aus Kinder-Laryngoskop (1), Mandrin aus Kupferdraht (2), Tubus, gefertigt aus einem Zentralvenösen Katheter mit flexiblem Mittelteil aus Silikonschlauch (3), und Pinzette (4). **B** Die Ratte wird nach Vornarkotisierung im Halothan-Topf in Rückenlage an den Vorderzähnen aufgehängt. **C** Die Zunge wird zurückgezogen und das Laryngoskop eingeführt, um unter Sicht der Stimmritze intubieren zu können. **D** Intubierte Ratte, Tubus (1) und Konnektor zu Beatmungsschläuchen (2).

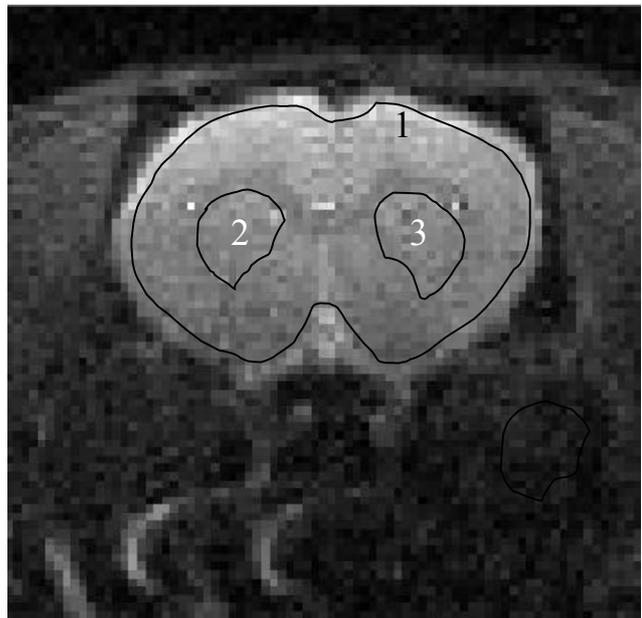


**Abb. 2** Lagerung und Überwachung einer beatmeten Ratte. **A** Lagerung in Rattenbett mit Kopffixierung bestehend aus Ohrstiften (1), Beißschiene (2) und Sicherheitsbügel (3). Die Wunde am Rücken (4) ist bei der Entfernung des Transponders entstanden. **B** Gelagerte Ratte an der Vorderöffnung des Tomographen (1) in Gradientenrohr (2) mit Oberflächenspule (3) und Beatmungsschläuchen (4). **C** Beatmungs- und Anästhesieüberwachungseinheit mit Kontrollbildschirm für Atem- und Narkosegase, Atemwegsdruck, Blutdruck und Körpertemperatur (1), Anästhesiemonitor (2), Respirator (3), Pulsoxymeter (4), Narkosegasverdampfer (5) und abgeschirmtem Penetrationspanel (6) für Beatmungsschläuche und Kabelleitungen in den eigentlichen Scanner-Raum (m. frndl. Genehm. Dr. G.-K. Elbel).

lagen mindestens fünf Minuten. Die Messungen wurden fünf Minuten vor der Pancuronium-Injektion begonnen und dauerten zwischen 60 und 90 Minuten.

### 2.2.3 Magnetresonanztomographie

Alle Versuche wurden auf einem Bruker 7 Tesla Avance Biospec 70/30-Scanner (Bruker, Deutschland) durchgeführt. Für anatomische Aufnahmen wurde eine RARE-Sequenz mit TR=5000 ms, TE=6,9 ms, RARE-Faktor 16 und einer räumlichen Auflösung von  $0,25 \times 0,25 \times 1 \text{ mm}^3$  verwendet. Die BOLD-Experimente erfolgten mit einer vierfach segmentierten SE-EPI mit TR=5000 ms, TE=34,7 ms, einer zeitlichen Auflösung von 3 Bildern pro min und einer räumlichen Auflösung, die der der anatomischen Bilder entsprach. Dazu wurde mit Hilfe eines Rattenhirnatlanten (Paxinos und Watson 1998) eine axiale Schicht über frontoparietalem Kortex und Caudatoputamen 1 mm rostral des Bregmas positioniert (Abb. 3). Die weitgehend T2-sensitive Spin-Echo-Sequenz wurde an Stelle einer T2\*-empfindlichen Gradienten-Echo-Sequenz eingesetzt, um Inflow-Effekte (Gao et al. 1996; Turner 1997) und den Beitrag großer Gefäße (Boxerman et al. 1995; Kennan et al. 1994) gering zu halten.



**Abb. 3** Schnittführung und Definierung der Zielregionen „gesamte Schicht“ (1) und „Striata“ (2, 3). Sequenz: SE-EPI (s. Text).

### 2.2.4 Datenanalyse

Die BOLD-Zeitkurven und die entsprechenden Verläufe von BP, HF, EtO<sub>2</sub> und EtCO<sub>2</sub> wurden zunächst visuell begutachtet. Dabei zeigte der BP die auffälligsten Ähnlichkeiten mit den BOLD-Zeitkurven. Die weitere Analyse wurde daher auf den BP eingeschränkt.

Um unabhängig von einer unmittelbaren zeitlichen Beziehung zu Blutabnahmen oder -reinfusionen schnelle BP-Änderungen identifizieren zu können, wurden die Steigungen der über drei Zeitpunkte geglätteten BP-Kurven betrachtet. Als „Ereignisse“ wurden diejenigen

BP-Veränderungen definiert, die in zwei aufeinanderfolgenden Zeitpunkten eine Steigung von  $> 1$  mmHg pro Zeitpunkt, d.h. pro 20 s aufwiesen. Auf diese Weise konnte die Variation in den BP-Zeitkurven maximal ausgenutzt werden. Startpunkt  $t_0$  und Maximum  $t_{\max}$  eines Ereignisses waren durch die Änderung des Vorzeichens der Steigung bestimmt. Die Amplitude (in mmHg) eines Ereignisses wurde als die Differenz ungeglätteter BP-Werte zwischen  $t_0$  und  $t_{\max}$  festgelegt. Die Steigung eines Ereignisses war der Quotient aus Amplitude und Dauer. Jegliches Ereignis, das innerhalb der ersten 15 min des Versuchs, also vor der ersten Blutabnahme, stattfand, wurde verworfen.

Zielregionen wurden nach Maßgabe des Rattenhirnatlanten (Paxinos und Watson 1998) mit der FUNTool-Software (Bruker, Deutschland) in die EPI-Bilder eingezeichnet (Abb. 3) und mittlere BOLD-Zeitkurven extrahiert.

Für jedes negative Ereignis wurde – beginnend fünf Minuten vor und endend 10 Minuten nach  $t_0$  - der Kreuzkorrelationskoeffizient (KK) zwischen BOLD- und synchronem BP-Verlauf berechnet. Da die niedrige Abtastrate u.U. Verschiebungen der beiden Zeitkurven bedingen konnte, wurden die KKs über  $\pm 1$  Zeitpunkt optimiert. Dabei blieben alle Zeitkurven ungefiltert.

Die Nullhypothese, daß es keine Korrelation zwischen BP und BOLD gebe, wurde mit einem Einstichproben-Mediantest nach Wilcoxon überprüft. Der Test wurde zunächst über alle Ereignisse in allen Tieren durchgeführt, um die allgemeine Abhängigkeit von BP und BOLD zu ermitteln. In einem zweiten Schritt wurden die Anästhesiegruppen getrennt getestet. Die Datenanalyse wurde mit Excel 97 und SPSS 9.0 vorgenommen.

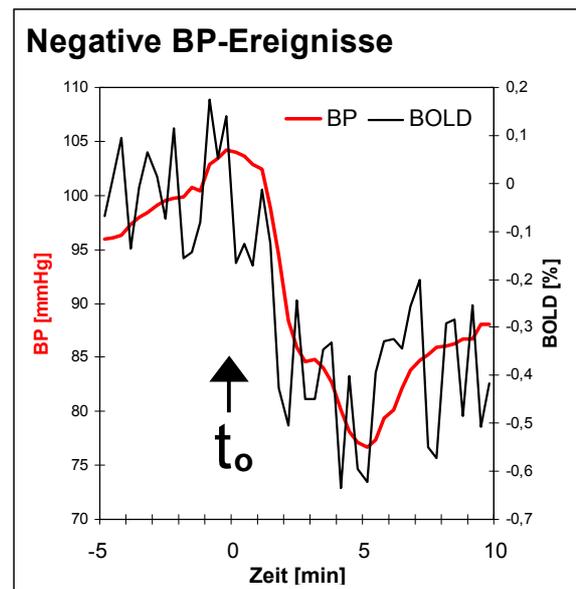
Zur Beschreibung des räumlichen Musters der BP-BOLD-Korrelationen wurden KK-Karten erzeugt. Die Berechnung erfolgte pixelweise unter Verwendung gleitender BOLD-Mittelwerte (zeitliche Glättung  $\pm 1$  Zeitpunkt, räumliche Glättung in einem 3x3-Kernel) mit FUNTool. Daraufhin wurden erneut Mediantests über alle Tiere durchgeführt, um die Beziehung zwischen BP und BOLD im rechten und linken Caudatoputamen zu ermitteln (Abb. 3). Diese Zielregionen wurden ausgewählt, da sie ausschließlich parenchymales Gewebe ohne größere, oberflächliche Gefäße enthalten.

## 2.3 Ergebnisse

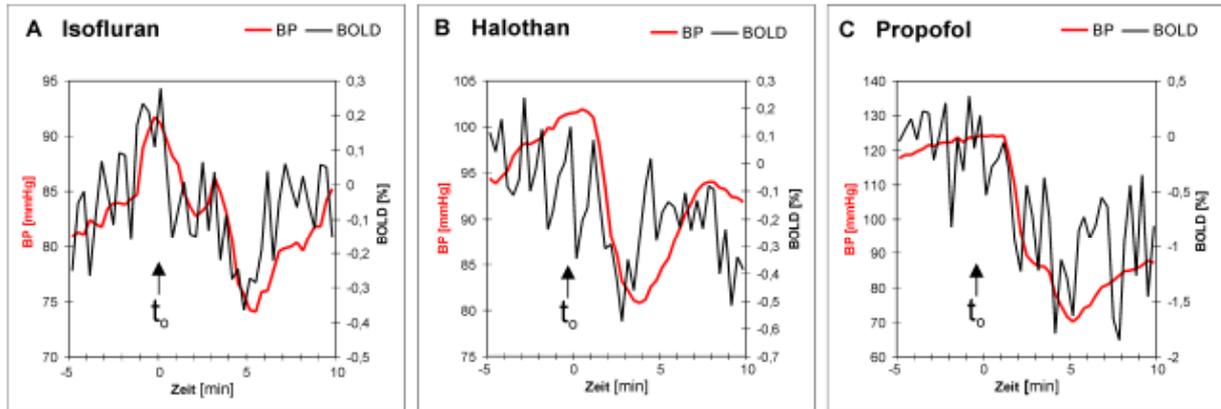
### 2.3.1 Durch Blutabnahme und –reinfusion induzierte Blutdruckänderungen

Zehn Minuten nach der Pancuronium-Injektion war der BP erhöht, jedoch stabil. Die darauffolgenden Blutabnahmen und –reinfusionen verursachten BP-Änderungen, die entweder unmittelbar auf einen Eingriff folgten oder „spontan“ auftraten, d.h. einige Zeit, nachdem die Eingriffe bereits eine BP-Antwort verursacht hatten. Beispielsweise erholte sich in einigen Fällen der BP selbsttätig und beinahe vollständig innerhalb weniger Minuten nach einer Blutabnahme. In diesen Fällen wurde die Reinfusion erst vorgenommen, nachdem sich der BP stabilisiert hatte, um auf einem höheren BP-Niveau ein zusätzliches positives BP-Ereignis zu erzeugen. Dies führte jedoch nur selten zu einem deutlichen zusätzlichen BP-Anstieg. Zwei Tiere (I1 und H3) gerieten nach einigen Eingriffen in einen Zustand anhaltender BP-Instabilität, der durch oszillatorisches BP-Verhalten gekennzeichnet war; diese Ereignisse wurden aus der Analyse ausgeschlossen.

Abb. 4 zeigt den mittleren Zeitverlauf negativer BP-Ereignisse. Die mittlere Steigung der BP-Abfälle war  $7,8 \pm 4,7$  mmHg/min; die Amplituden reichten von  $-2,8$  bis  $-82,6$  mmHg. In Abb. 5 sind die mittleren Zeitverläufe negativer BP-Ereignisse in den drei Anästhesiegruppen dargestellt. Die mittleren Steigungen lagen bei  $-6,6 \pm 4,2$  mmHg/min unter Isofluran,  $-7,0 \pm 4,3$  mmHg/min unter Halothan und  $-10,3 \pm 5,5$  mmHg/min unter Propofol (Tab. 1).



**Abb. 4** Durch arterielle Blutabnahme hervorgerufene, über alle negativen Blutdruck(BP)-Ereignisse gemittelte BP-Zeitverläufe und zugehörige, gemittelte BOLD-Signalverläufe (Skalierung bezogen auf die fünf Minuten vor dem Ereignis). Zahl der Ereignisse: 32. Zahl der Tiere: 9. Zielregion: gesamte Schicht. Zur Mittelung wurde der Startpunkt  $t_0$  der BP-Abfälle als Zeitpunkt 0 gesetzt. Die BOLD-Werte wurden bezogen auf die ersten 5 min skaliert. Alle gemittelten und dargestellten Zeitkurven sind ungeglättet.



**Abb. 5** Durch arterielle Blutabnahme hervorgerufene, über negative Blutdruck(BP)-Ereignisse gemittelte BP-Zeitverläufe und zugehörige, gemittelte BOLD-Signalverläufe in den drei Anästhesiegruppen. Die Zahl der gemittelten Ereignisse war 12 unter Isofluran (A), 11 unter Halothan (B) und 9 unter Propofol (C). Zahl der Tiere: 3 pro Gruppe.

Es stellte sich als schwierig heraus, unter Propofol kleinere oder mittlere BP-Abfälle von  $-10$  bis  $-50$  mmHg zu erzeugen. Daher lagen die durchschnittlichen BP-Abfälle unter den gasförmigen Narkotika bei  $-20$  mmHg, jedoch unter Propofol bei  $-50$  mmHg. Zudem stellte sich heraus, daß die Zahl positiver Ereignisse aus einer stabilen BP-Lage heraus zu klein war, um sinnvolle Aussagen treffen zu können (Daten nicht gezeigt). Im folgenden werden daher nur negative Ereignisse berücksichtigt.

[Hb] fiel von  $14,1 \pm 1,1$  vor auf  $11,5 \pm 0,8$  g/dl nach der MR-Messung. Weitere physiologische Daten bezüglich der negativen Ereignisse finden sich in Tab. 1.

Anästhetikum	Isofluran	Halothan	Propofol
Mittlerer BP 10 min nach Pancuronium [mmHg]	103.2 $\pm$ 4.9	111.6 $\pm$ 8.1	133.3 $\pm$ 12.3
Abgenommene Blutvolumina [ml]	0.2 bis 3.5	0.5 bis 4	0.5 bis 3
<b>Negative BP-Ereignisse:</b>			
Gesamtzahl	12	11	9
Amplituden [mmHg]	-2.8 bis -61.7	-8.1 bis -46.1	-4 bis -82.6
Max. BP bei $t_0$ [mmHg]	110.5	117.9	144.9
Min. BP bei $t_{max}$ [mmHg]	46.6	58.6	47.1
Mittlere Steigung [mmHg/min]	-6.6 $\pm$ 4.2	-7.0 $\pm$ 4.3	-10.3 $\pm$ 5.5

**Tab. 1** Negative Blutdruck(BP)-Ereignisse.

### 2.3.2 Korrelationen zwischen Blutdruck und BOLD

Die Kreuzkorrelationen (KKs) zwischen BP- und BOLD-Zeitkurven während der negativen BP-Ereignisse wichen in der Gesamtgruppe aller neun Tiere signifikant von Null ab (Median 0,41,  $p < 0,01$ , Zielregion: gesamte Schicht, s. Tab. 2). Die gemittelten BP- und BOLD-Zeitkurven zeigt Abb. 4. Dieser Effekt ließ sich nicht durch ein besonderes Anästhesieverfahren erklären, da alle drei Anästhesiegruppen signifikante KKs aufwiesen (Isofluran: 0,54,  $p < 0,01$ ; Halothan: 0,28,  $p < 0,01$ ; Propofol: 0,56,  $p < 0,01$ , Tab. 2, Abb. 5).

Getestete Gruppe (Zielregion gesamte Schicht)	Median der KKs	p	Ereignisse	Tiere
Alle Tiere	0.41	<0.01	32	9
Isoflurangruppe	0.54	<0.01	12	3
Halothangruppe	0.28	<0.01	11	3
Propofolgruppe	0.56	<0.01	9	3

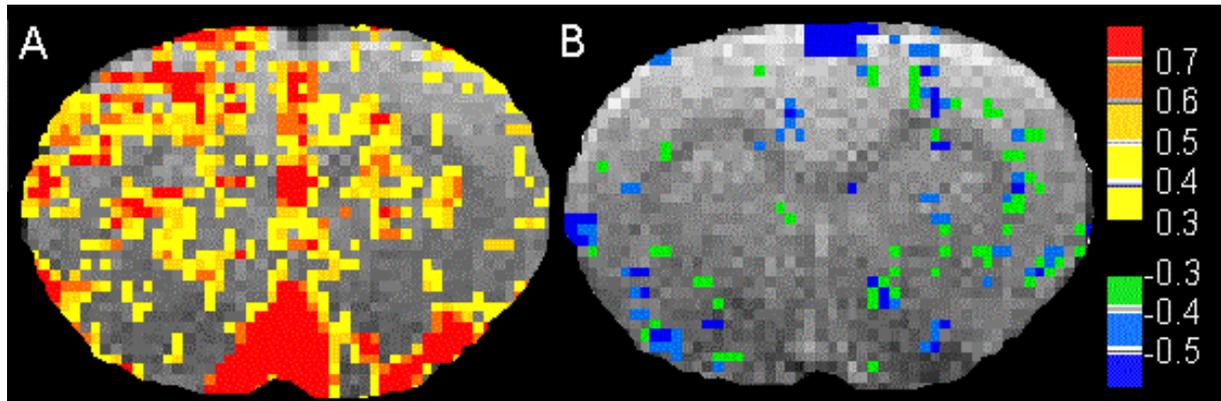
**Tab. 2** Korrelationen zwischen BP und BOLD. KK: Kreuzkorrelation.

### 2.3.3 Räumliche Beziehung zwischen Blutdruck und BOLD

Zur Beantwortung der Frage nach der räumlichen Homogenität der beobachteten BP-BOLD-Korrelationen wurden KK-Karten unter Verwendung des BP als Referenzvektor berechnet. Abb. 6 zeigt eine repräsentative Karte für ein BP-Ereignis. Es zeigte sich, daß die Höhe der Korrelation regional unterschiedlich war. In Regionen mit größeren Gefäßen wie der Kortexoberfläche, dem Sinus sagittalis und einer dreieckigen, basal gelegenen Region, die die vorderen Hirnarterien und –venen sowie das Organum vasculosum laminae terminalis enthält, fanden sich positive Korrelationen  $>0,5$  und negative Korrelationen  $<-0,5$ . Im Hirnparenchym wurden positive Korrelationen im Kortex und – in Form verhältnismäßig symmetrisch verteilter kleinerer Flecken oder Cluster – auch im subkortikalen Gewebe beobachtet. Darüber hinaus gab es auch einige Orte negativer Korrelation. Asymmetrien im Kortex mögen mit B<sub>1</sub>-Inhomogenitäten der verwendeten Oberflächenspule zusammenhängen.

Um auszuschließen, daß die gemessene Gesamtkorrelation lediglich durch hohe Korrelationen an der Hirnoberfläche, also wahrscheinlich durch große oberflächliche Gefäße, zustande kommt, wurden – analog einer häufig angewandten Auswertungspraxis zur Analyse

regionaler Zeitkurven aus einem pHMRI-Experiment – eine linke und eine rechte striatäre Zielregion definiert (Abb. 3). Auch hier waren BP und BOLD signifikant, wenngleich weniger stark korreliert (rechtes Striatum: Median 0,2,  $p < 0,01$ ; linkes Striatum: Median 0,14,  $p < 0,01$ ;  $n =$  je 32 Ereignisse; Analyse über alle Tiere).



**Abb. 6** Karte der Kreuzkorrelation zwischen Blutdruck- und BOLD-Signalzeitverläufen während einer fünfzehnminütigen, experimentell induzierten BP-Veränderung in einem Isofluran-narkotisierten Tier (I3). **A** positive Korrelationen. **B** negative Korrelationen. Die Farbtabelle bezeichnet Kreuzkorrelationsschwellen.

## 2.4 Diskussion

In der vorliegenden Studie wurden durch wiederholte Abnahme verschiedener Volumina arteriellen Blutes negative Änderungen des BP von verschiedener Höhe und Steigung erzeugt. Das BOLD-Signal, das während dieser Eingriffe gemessen wurde, war signifikant mit dem mittleren arteriellen Blutdruck korreliert. Die beobachteten Korrelationen waren räumlich heterogen, wobei höhere Korrelationen in großen Oberflächengefäßen gefunden wurden. Dennoch wies auch das Parenchym signifikante Korrelationen zwischen BP- und BOLD-Zeitkurven auf. Diese Beziehung galt für alle drei Narkosebedingungen.

Letzteres legt nahe, daß BP-induzierte BOLD-Änderungen nicht auf eine bestimmte Anästhesie zurückzuführen sind, sondern in der Tat ein allgemeines Phänomen für anästhesierte Ratten zumindest bei hoher Feldstärke darstellen. Angesichts der geringen Gruppengrößen und der Erzeugung mehrerer und somit nicht-unabhängiger Ereignisse pro Tier wäre es nicht statthaft, Unterschiede zwischen den verwendeten Narkotika zu untersuchen, was im Rahmen dieser Studie auch nicht beabsichtigt war. Auch kann aus den vorhandenen Daten nicht auf den wachen Zustand geschlossen werden.

### 2.4.1 Methodische Beschränkungen der Blutabnahme- und Reinfusionstechnik

Die Blutabnahme- und Reinfusionsmethode hat ihre eigenen Beschränkungen. Zuvorderst gelang es nur selten, größere BP-Anstiege aus einer normotensiven Ruhelage heraus zu generieren. Beinahe jedes positive BP-Ereignis in dieser Studie folgte direkt auf einen mehr oder weniger starken BP-Abfall. Die positiven BP-Ereignisse entstanden somit in einer unstablen physiologischen Situation, die anders als diejenige der negativen Ereignisse war und darüber hinaus kaum mit der Situation in einem phMRI-Experiment verglichen werden kann, wo der BP-Anstieg pharmakologisch von einem normalen Niveau aus induziert wird.

Um Komplikationen vergleichbar einem hämorrhagischen Schock zu vermeiden, wurden die Hypovolämieperioden durch die Blutreinfusionen begrenzt und zudem niemals mehr als 10 mg/kg Blut pro Eingriff abgenommen. Bei Hunden konnte 15 Minuten nach einem Blutverlust von 10 ml/kg mit einer radioaktiven Kontrastmittelmethode keine signifikante Änderung des CBF festgestellt werden (R. Y. Chen et al. 1984). Auch konnte ein typisches Zeichen des hämorrhagischen Schocks – ein HF-Anstieg bei dauerhaft erniedrigtem BP (Kirkeby et al. 1997; Mittmann et al. 1976) – in keinem der Experimente beobachtet werden. Dennoch ist nicht völlig auszuschließen, daß durch einige der größeren Blutabnahmen dem Schock verwandte physiologische Antworten ausgelöst wurden wie beispielsweise die Freisetzung vasoaktiver Substanzen oder eine bedeutende und lang anhaltende Verringerung des Herzausstoßes und des Schlagvolumens, begleitet von einer Reduzierung des CBF und der zerebralen O<sub>2</sub>-Versorgung und einem Anstieg der O<sub>2</sub>-Extraktion (R. Y. Chen et al. 1984; Mittmann et al. 1976; Schmoker et al. 1992). All diese Veränderungen würden jedoch zu einem starken, dauerhaften Abfall des BOLD-Signales führen. Im Gegensatz dazu stieg in dieser Studie das BOLD-Signal wieder an, sobald der BP anstieg.

Eine andere mögliche Komplikation bestand in der unvermeidlichen Verringerung des [Hb]. Obwohl durch die Reinfusionen versucht wurde, einen bleibenden Blutverlust zu verhindern, mußten die Pancuronium-Injektion und der Gebrauch NaCl-gefüllter Katheter bei der Reinfusion notwendigerweise zu einer gewissen Hämodilution führen. Dies sollte jedoch keine entscheidenden Auswirkungen auf die dargelegten Schlußfolgerungen zum Einfluß akuter BP-Veränderungen auf das BOLD-Signal haben, da es als unwahrscheinlich betrachtet werden muß, daß in den kurzen Zeiten der Hypovolämie zwischen Abnahme und Reinfusion eine relevante Flüssigkeitsverschiebung vom extra- ins intravaskuläre Kompartiment

stattfinden konnte. Eher muß davon ausgegangen werden, daß der schnelle Wiederanstieg des BP dieser Flüssigkeitsverschiebung entgegengewirkt haben sollte (Mittmann et al. 1976). Hinzu kommt, daß der mikrovaskuläre Hämatokrit vermutlich auch dann konstant bleibt, wenn der arterielle stark reduziert wird (Hudetz et al. 1999).

Die geschilderten Beschränkungen und Einschränkungen hätten durch eine Strategie pharmakologischer BP-Modulierung vermieden werden können. Dies hätte jedoch unweigerlich andere Nachteile mit sich gebracht. Insbesondere wäre es schwierig gewesen, mögliche substanzvermittelte neuronale oder direkt-zerebrovaskuläre Effekte auszuschließen.

#### 2.4.3 CBF, CBV und BOLD während Blutdruckveränderungen

Jegliche Diskussion des BP-Effektes auf das BOLD-Signal muß den Mechanismus der zerebralen Autoregulation berücksichtigen. Die zerebrale Autoregulation paßt den Durchmesser arterieller und arteriolärer Gefäße so an, daß der CBF auch bei Schwankungen des systemischen BP konstant bleibt. Allgemein gesagt führt ein Anstieg des systemischen BP zu zerebraler Vasokonstriktion, ein Abfall zu Vasodilation (Kuschinsky 1999). Die Geschwindigkeit, mit der BP-Änderungen auftreten, hat wahrscheinlich großen Einfluß darauf, inwieweit der CBF konstant gehalten werden kann. So haben Barzo *et al.* (1993) mit Hilfe der Laser-Doppler-Flußmessung gezeigt, daß der CBF in Urethan-anästhesierten Ratten unverändert bleibt, solange eine Hypotension mit weniger als 24 mmHg/min ausgelöst wird.

Um die Autoregulation weitest möglich zu erhalten und auch um den Verhältnissen in Tier-phMRI-Studien möglichst nahe zu kommen, wurden hier verhältnismäßig niedrige Narkosedosen verwendet. Zudem wurde darauf geachtet, daß der BP während der Eingriffe nicht deutlich unter 50 mmHg fiel. Dieser Wert wird als die Untergrenze vollständig intakter Autoregulation angesehen (Kuschinsky 1999). Der Literatur nach zu urteilen, ist die Autoregulation bei den gewählten Dosen durch Propofol nicht (Werner et al. 1993) und durch Isofluran und Halothan nur teilweise beeinträchtigt (Hoffman et al. 1991; Lee et al. 1994; Morita et al. 1977). Da die BP-Änderungsgeschwindigkeiten deutlich unter der von Barzo *et al.* (1993) vorgeschlagenen kritischen Grenze von 24 mmHg/min blieben, kann davon ausgegangen werden, daß der CBF und damit die dHb-Auswaschung und die Sauerstoff-Extraktionsfraktion durch die BP-Veränderungen nicht wesentlich beeinflusst wurden.

Zur Erklärung der BOLD-Signal-Verringerungen während der BP-Abfälle bietet sich die Hypothese eines Anstiegs des CBV an. Wenn sich als Reaktion auf einen Abfall des

Perfusionsdruckes die zerebralen Widerstandsgefäße öffnen, muß dies einen Anstieg des CBV nach sich führen.

Arterien und Arteriolen werden üblicherweise als Hauptregulatoren des CBF betrachtet. Eine Vergrößerung des Durchmessers pialer Arterien während eines Absinkens des BP ist wiederholt beschrieben worden (s. z.B. Auer et al. 1987a; Kontos et al. 1978). Wenn Bildvoxel in der grauen Substanz mehr frisches, oxygeniertes Blut erhalten, sollte dies zu einem Anstieg des T2 führen. Da jedoch Arteriolen weniger als 15% des Blutvolumens eines typischen kortikalen Voxels ausmachen (Weisskoff 1999) und das arterielle T2 bei 7 Tesla (50 ms (Ogawa et al. 1993a)) nur geringfügig länger als das Gewebe-T2 ist (42 bis 48 ms (Cremillieux et al. 1998)), dürfte dieser Effekt weniger bedeutsam sein. Hingegen konnte während Hypotension auch eine Erweiterung von Venen beobachtet werden (Auer et al. 1987b). Dabei ist wichtig zu bedenken, daß auch nur mäßige Venodilation einen beträchtlichen CBV-Anstieg bewirken dürfte, da das venöse Kompartiment mehr als 40% des Blutvolumens eines kortikalen Voxels ausmacht (Weisskoff 1999). Das venöse T2 liegt bei 7 T nur bei 15 bis 20 ms (Ogawa et al. 1993a), und dies könnte die Ursache der beobachteten BOLD-Signal-Reduktionen sein.

In einer Studie mit allmählicher BP-Absenkung von  $-1$  mmHg/min bei 4,7 T fanden Zaharchuk et al. (1999) BOLD-Signal-Veränderungen weder mit einer T2- noch mit T2\*-sensitiven Sequenz. Interessanterweise fanden sie auch eine lediglich nicht-signifikante CBV-Zunahme innerhalb des Rahmens intakter Autoregulation. Diesen scheinbaren Widerspruch zur herrschenden Auffassung der Autoregulation erklären die Autoren mit einer Begrenzung der Vasodilation auf das arterielle und arterioläre Kompartiment. Unter dieser Annahme ist nur folgerichtig, daß BOLD nicht absank (das arterielle T2 ist ca. 100 ms, das T2 des Gewebes hingegen ca. 50 ms bei 4,7 T (Meyer et al. 1995; van Zijl et al. 1998)). Dennoch mag eine abruptere BP-Veränderung, die venöse Dilation hervorruft, bei einem venösen T2 von  $\approx 22$  ms (Meyer et al. 1995) bei 4,7 T sehr wohl das T2 der grauen Substanz verkürzen und damit das BOLD-Signal beeinflussen.

Die zunehmende Angleichung von venösem und Gewebe-T2 bei abnehmender Feldstärke sollte zu einem geringeren Einfluß von BP-Änderungen bei niedrigeren Feldstärken führen. Entsprechend wurden nur geringe BOLD-Veränderungen nach Steigerung des BP mit Kokainmethiodid bei 3 T gefunden (F. Luo, Wisconsin, persönliche Mitteilung). Hingegen hatte Noradrenalin bei 9,4 T einen sehr ausgeprägten Effekt auf das BOLD-Signal (U.I. Tuor, Winnipeg, persönliche Mitteilung). Der Effekt ist also wahrscheinlich feldstärkenabhängig.

Bei Erzeugung abrupter BP-Veränderungen würde der Ansatz von Zaharchuk et al. (1999), CBF, CBV und BOLD unter dem selben Paradigma zu messen, erlauben, den genauen physiologischen Mechanismus, der den BP-induzierten BOLD-Änderungen unterliegt, besser zu charakterisieren und die vorgeschlagene Hypothese konstanten CBFs und erhöhten CBVs zu testen. Um die negativen Korrelationen im Sinus sagittalis zu verstehen, müssen möglicherweise Flußgeschwindigkeits-Effekte mitberücksichtigt werden.

#### 2.4.4 Bedeutung der Ergebnisse für das pHMRI

Die vorgestellten Daten legen nahe, daß durch kardiovaskuläre Nebenwirkungen eines Pharmakons ausgelöste Veränderungen des BP zu Veränderungen des BOLD-Signals beitragen und damit eine mögliche konfundierende Variable im pHMRI darstellen. Die Eliminierung dieser Konfundierenden wird dadurch erschwert, daß das Muster der Signaländerungen nicht global uniform ist. Um jedoch den BOLD-Kontrast zur quantitativen Messung der pharmakologischen (De-)Aktivierung von Hirnregionen einsetzen zu können, ist es zwingend erforderlich, neuronale BOLD-Effekte von möglichen systemischen, physiologischen Konfundierenden zu trennen.

#### 2.4.5 Lösungsansätze

Eine Trennung neuronaler von systemischen Effekten mag durch Berücksichtigung ihrer zeitlichen Dynamik gelingen, falls diese unterschiedlich ist. Hierzu existieren adaptive statistische Methoden (Bloom et al. 1999; Gössl et al. 2001).

Alternativ könnte ein systematischer Vergleich verschiedener Anästhetika und Anästhesietiefen zur Identifikation einer optimalen Narkose mit geringstmöglichem Artefakt führen, wengleich bedacht werden sollte, daß in dieser Studie BP-BOLD-Korrelationen unter allen drei Narkotika beobachtet wurden. Ein solch systematischer Ansatz könnte auch helfen, kritische Amplituden und Geschwindigkeiten von BP-Änderungen zu definieren. In jedem Fall würde dies jedoch experimentelle Einschränkungen mit sich bringen.

Eine andere Lösung könnte in einer kontinuierlich angepaßten Infusion eines systemisch vasoaktiven Agens wie Phenylephrin liegen, mit dem der BP während der Wirkungsdauer des interessierenden Pharmakons konstant gehalten werden kann. Dies ist in den Abb. 7 und 8 dargestellt.

In Teil II dieser Doktorarbeit ließen Vorexperimente vermuten, daß nach Gabe von Diazepam-Lipuro (B.Braun, Deutschland) der BP als Folge des verwendeten Vehikels leicht anstieg und das BOLD-Signal abfiel. (Hingegen rief Diazepam in alkoholischer Lösung einen zeitlich ähnlichen Abfall sowohl von BP als auch von BOLD hervor, der keine Separierung der beiden Größen erlaubte (Daten nicht gezeigt)). Zudem schienen bei Diazepam-Lipuro die Amplituden von BP-Anstieg und BOLD-Abfall nicht miteinander korreliert zu sein, so daß unter den spezifischen experimentellen Bedingungen BP und BOLD entkoppelt zu sein schienen. Wie in Teil II berichtet, stellten sich die BP-Veränderungen nach Diazepam jedoch im Gruppenmittel selten als signifikant von Null verschieden heraus und waren zwischen den experimentellen Gruppen nicht zu unterscheiden. Die in Teil I beschriebene BP-BOLD-Problematik entfiel also hier.

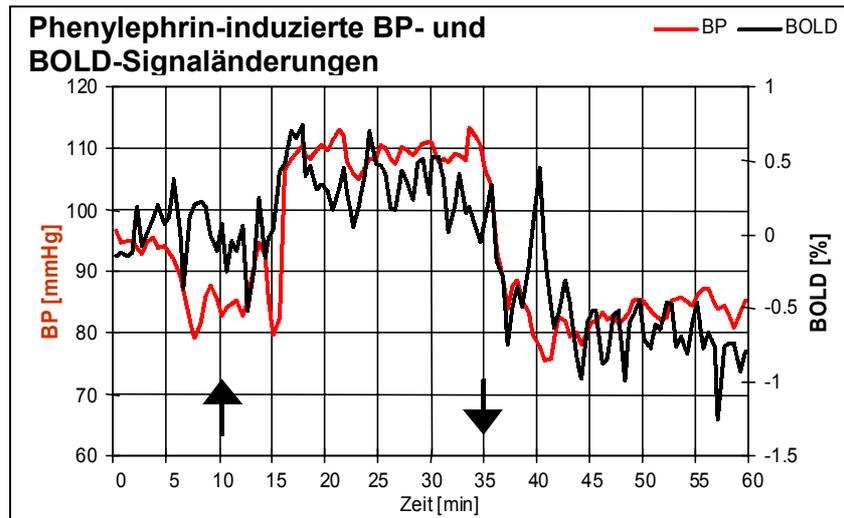
#### 2.4.6 Human-phMRI

BOLD-phMRI ist aufgrund seiner Nicht-Invasivität eine attraktive Methode, pharmakologische Effekte am wachen Menschen zu untersuchen. Es ist daher nun von besonderem Interesse, den Einfluß des BP auf BOLD am Menschen und bei niederen Feldstärken zu ermitteln. Die bisher einzige Studie zu diesem Thema (Harper et al. 2000) verwendete das Valsalva-Manöver (Atmen gegen die geschlossene Glottis), Eintauchen der Hand in kaltes Wasser u.a. Methoden und erreichte damit BP-Steigerungen von 30-40 mmHg innerhalb von zwei Minuten. Das beobachtete weit verteilte Muster von T2\*-Zunahmen wurde von den Autoren als Karte BP-regulatorischer Regionen interpretiert. Angesichts der hier gezeigten Ergebnisse ist nicht auszuschließen, daß autoregulatorische Phänomene zu dem Muster beigetragen haben. Lediglich eine detaillierte Analyse der Zeitkurven sollte hier Aufschluß geben können, welche der beiden Hypothesen zutrifft.

**Abb. 7** Die Beobachtung, daß positive (durch Phenylephrin induzierte) Blutdruck(BP)-Veränderungen ebenfalls das BOLD-Signal beeinflussen, ist eine zusätzliche Validierung der Studie.

In dem Experiment wurde eine 446 g schwere, männliche LAB-Ratte (s. Teil II) mit 0.8% Halothan anästhesiert und nach einer zehnmütigen

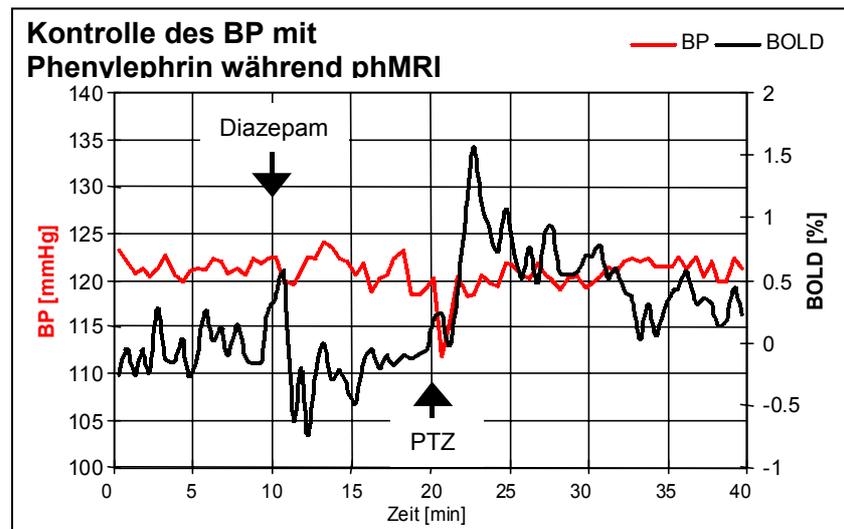
Ruhephase über 25 Minuten mit kontinuierlich zwischen 5 und 40 ml/h angepaßten Volumina des  $\alpha$ -adrenergen Agonisten Phenylephrin i.v. infundiert (Lösung: 2,5  $\mu$ g/ml in NaCl). Dieser periphere Vasokonstriktor überschreitet nicht die Blut-Hirn-Schranke, seine Effekte auf das BOLD-Signal sind also höchstwahrscheinlich nicht neuronal vermittelt. Zielregion: gesamte Schicht. Sequenz: RARE (s. Teil II). Skalierung der BOLD-Werte bezogen auf Ruhephase.



**Abb. 8** Kontrolle des Blutdrucks mit Phenylephrin während phMRI. Die Phenylephrin-Methode könnte eine Lösungsmöglichkeit für das beschriebene „Blutdruck-Problem“ im phMRI darstellen.

In dem Experiment wurde eine 371 g schwere, männliche LAB-Ratte mit 0.8% Halothan anästhesiert, bevor ihr

Blutdruck mit einer kontinuierlich angepaßten Phenylephrin-Infusion (s. Abb. 7) auf ca. 120 mmHg eingeregelt wurde. Nach einer zehnmütigen Ruhephase wurden 1 mg/kg des Benzodiazepins Diazepam ( $\downarrow$ ) und zehn Minuten später 20 mg/kg des Benzodiazepin-Antagonisten Pentylentetrazol (PTZ,  $\uparrow$ ) i.v. verabreicht. Die gegensinnigen Auswirkungen auf das BOLD-Signal entsprechen der theoretisch zu erwartenden neuronal-hemmenden bzw. erregenden Funktion der Substanzen. Da der Blutdruck dank der Phenylephrin-Infusion konstant bleibt, kann er nicht zu Erklärung der BOLD-Antworten herangezogen werden. Weiteres s. Abb. 7.



#### 2.4.7 Schlußbemerkung

Es konnte gezeigt werden, daß systemische Verringerungen des arteriellen Blutdrucks in anästhesierten Ratten bei 7 Tesla räumlich heterogene, negative BOLD-Signal-Änderungen hervorrufen. Diese Beziehung zwischen BP und BOLD erschwert die Analyse pharmakologischer Wirkungen auf die Hirnaktivität mit BOLD-Kontrast-basierten Bildgebungsverfahren und sollte das Augenmerk auf autoregulatorisch bedingte BOLD-Effekte lenken, die die neurovaskuläre Kopplung im pHMRI überlagern können.

### **3 TEIL II: Diazepam-phMRI an einem Rattenmodell angeborener Angst**

Ziel der hier vorgestellten Studie war es, zur Identifikation der neuronalen Substrate übersteigter Ängstlichkeit beizutragen. Sie bediente sich eines Tiermodells, welches den Anspruch erhebt, extreme *trait anxiety* aufzuweisen und dadurch ein wesentliches Merkmal der Angststörungen zu modellieren (Liebsch et al. 1998b). Hierbei handelt es sich um die Rattenlinie HAB (*high anxiety-related behavior*) und ihr Gegenstück LAB (*low anxiety-related behavior*), die durch selektive Züchtung nach dem Kriterium ihres Angstverhaltens im *Elevated Plus Maze* (EPM), einem klassischen Test nicht erlernter Angst bei Nagern, aus Wistarratten hervorgegangen sind (Liebsch et al. 1998b).

Die Studie machte sich zunutze, daß Diazepam in einer Dosis von 1 mg/kg bei HAB-Ratten wesentlich stärker anxiolytisch wirkt als bei LAB-Ratten (Liebsch et al. 1998a). Wie bereits in der Allgemeinen Einleitung dargelegt kann daraus gefolgert werden, daß Diazepam differentiell auf Hirnregionen wirken muß, die Angstverhalten steuern. In umgekehrter Logik sollte eine Region, für die gezeigt werden kann, daß sie von Diazepam unterschiedlich angesprochen wird, eine Rolle in der extrem unterschiedlichen Regulation des Angstverhaltens bei den beiden Linien spielen.

#### **3.1 Einführung**

##### **3.1.1 Begriffsklärungen**

Zum besseren Verständnis des Untersuchungsgegenstandes scheinen zunächst einige Begriffsklärungen angebracht. Damasio hat eine Unterscheidung in Emotion und Gefühl vorgeschlagen (Damasio 1999). Demnach bezeichnet Emotion die Gesamtheit der biologischen Reaktionen auf ein äußeres oder inneres Ereignis, welches die Homöostase bedroht, mit dem Ziel, diese aufrecht zu erhalten. Eine Emotion beinhaltet somit kognitive, muskuloskeletale, viszerale, endokrine und autonome Komponenten. Zumindest beim Menschen sind Emotionen des weiteren von einer affektiven Komponente begleitet, die wir allgemein als Gefühl bezeichnen. Wir wissen nicht, inwieweit Tiere zu Gefühlen in der Lage sind. Eine Modellierung von Gefühlen ist daher in der tierexperimentellen Forschung unmöglich. Die folgende Arbeit beschränkt sich folgerichtig auf die Neurobiologie der Angst.

Es erscheint weiter hilfreich, Angst von Furcht abzugrenzen. Nach allgemeingültiger Definition im deutschen wie im englischen Sprachraum bezeichnet Furcht eine negative Emotion gegenüber einem konkreten Objekt, wohingegen Angst ungerichtet ist (Fowler und Fowler 1964; Wahrig 1968). Dementsprechend unterscheiden die Blanchards in ihrer Ethologie des Nagerverhaltens zwischen Furcht vor einer tatsächlich und Angst vor einer nur potentiell vorhandenen Gefahr (R. J. Blanchard et al. 1993). Das Unterscheidungskriterium ist hier die Vermeidungsdistanz. In sehr ähnlicher Weise trennen Gray und McNaughton (2000) zwischen Furcht bei der Entfernung von und Angst bei der Annäherung an eine Gefahrenquelle, wobei das Unterscheidungskriterium die Vermeidungsrichtung ist. In den meisten Fällen fallen beide Definitionen zusammen. Flüchtet beispielsweise eine Ratte, so kann man von einer tatsächlich vorhandenen Gefahr in unmittelbarer Nähe ausgehen (Furcht); zeigt eine Ratte vorsichtiges Erkundungsverhalten ihrer Umgebung, so ist anzunehmen, dass sie einen Ortswechsel beabsichtigt, bei dem sie möglicherweise einer Gefahrenquelle begegnen könnte (Angst).

Das hier verwendete Tiermodell weist eine generelle, ungerichtete Ängstlichkeit auf, die sich beispielsweise im Verhalten der Ratten auf dem EPM oder auch im *Open Field* (OF) äußert (Henniger et al. 2000; Liebsch et al. 1998b). Furchtreaktionen wurden bisher nicht untersucht. Im weiteren wird daher lediglich das Angstsystem betrachtet und das Furchtsystem nur der Vollständigkeit oder des besseren Verständnisses halber erwähnt.

Zuletzt muß *trait* von *state anxiety* abgegrenzt werden. Unter *state anxiety* versteht man die zu einem gegebenen Augenblick vorherrschende Emotion; hingegen bezeichnet *trait anxiety* die Prädisposition eines Individuums, in den Zustand der Angst zu geraten. HAB-Ratten zeigen genetisch determiniert eine starke Prädisposition zu Angstverhalten (Wigger et al. 2001), und die vorgestellte Studie versuchte, die neuroanatomischen Effektoren dieser Prädisposition zu finden.

### 3.1.2 Klinische Relevanz

Ein hohes und schwer kontrollierbares Maß an ungerichteter Angst, die über längere Zeit immer wieder auftritt, sowie unangemessen sorgenvolle Zukunftserwartung sind Hauptmerkmale der Generalisierten Angststörung (GAD, *Generalized Anxiety Disorder*, DSMIV, American Association of Psychiatry 1994). Die Ein-Jahres-Prävalenz der GAD liegt bei 3%, die Lebenszeit-Prävalenz bei 5% (Am. Ass. Psychiatry 1994). GAD ist eine chronische Erkrankung, die mit einer starken Beeinträchtigung des alltäglichen Lebens

verbunden ist. Auch tritt pathologische Ängstlichkeit häufig im Rahmen anderer psychiatrischer Erkrankungen - wie z.B. anderer Angsterkrankungen oder Depression - auf (Brawman-Mintzer et al. 1993). Weitere, häufige Symptome der GAD sind Ruhelosigkeit, Reizbarkeit, Muskelspannungen, Konzentrationsschwierigkeiten, leichte Ermüdbarkeit und Schlafstörungen (Am. Ass. Psychiatry 1994).

Angesichts der großen Unterschiede zwischen den Spezies ist es sicher unzulässig, HAB-Ratten als Modell einer spezifischen menschlichen Angsterkrankung anzusehen. GAD soll hier lediglich – aber in Analogie zum extremen Phänotyp der HAB-Ratten - als Beispiel einer extremen Ausprägung der Ängstlichkeit betrachtet werden. Tatsächlich ist die Unterscheidung zwischen normaler und pathologischer Angst häufig schwer zu treffen, weshalb beispielsweise Rosen und Schulkin (1998) Angst ausdrücklich als Kontinuum betrachten. Neurobiologische Besonderheiten, wie sie bei GAD gefunden wurden, mögen also lediglich die äußerste Ausformung eines Phänotyps darstellen, der in abgemilderter Form auch bei subklinischer Ängstlichkeit auftreten mag. Der folgende Überblick über die Neurobiologie der GAD soll daher als Einstieg in eine Diskussion der „Neurobiologie der Ängstlichkeit“ und als Motivation für die nachfolgend beschriebene Studie an HAB- und LAB-Ratten verstanden werden.

### 3.1.3 Die Neurobiologie der Generalisierten Angststörung

Über die neurobiologischen Korrelate der GAD ist bisher wenig bekannt. Klinische Studien haben Hinweise auf Störungen in mehreren Neurotransmitter- und Neuropeptidsystemen ergeben. So sind möglicherweise die Zahl und/oder die Sensitivität zentraler Benzodiazepin (BZP)-Rezeptoren reduziert (Weizman et al. 1987; Ferrarese et al. 1990; Rocca et al. 1991); selbiges mag für den  $\alpha_2$ -adrenergen Rezeptor gelten (Abelson et al. 1991; Cameron et al. 1990; Charney et al. 1989), verbunden mit erhöhten Plasma-Noradrenalin(NA)-Konzentrationen (Sevy et al. 1989). Die Befunde zum serotonergen System sind inkonsistent. Es wurden Hinweise sowohl auf erhöhtes (Garvey et al. 1993, 1995) als auch erniedrigtes (Iny et al. 1994) Serotonin (5-HT) gefunden. GAD-Patienten sind außergewöhnlich sensitiv für die anxiogenen Effekte des gemischten Rezeptoragonisten/-antagonisten m-Chlorophenylpiperazin (mCPP, Germine et al. 1992). Eine Hypersensitivität auf Rezeptorliganden (hier Pentagastrin) wurde ebenfalls im Cholezystokinin(CCK)-System gefunden (Brawman-Mintzer et al. 1997).

In Übereinstimmung mit einer möglichen Rolle der GABAergen, serotonergen und noradrenergen Systeme sind BZPe, das Azapiron Buspiron (ein 5-HT<sub>1A</sub>-Agonist) und der 5-HT- und NA-Wiederaufnahmehemmer (SNRI, *serotonin and norepinephrine reuptake inhibitor*) Venlafaxin effektive Therapeutika (Ballenger 2001). Darüber hinaus häufen sich Hinweise zur Effektivität selektiver Serotonin-Wiederaufnahmehemmer (SSRIs, *selective serotonin reuptake inhibitors*, Rocca et al. 1997). Unlängst wurden Monoaminoxidase-Inhibitoren (MAOIs), Trizyklische Antidepressiva (TCAs) wie Imipramin und das Antidepressivum Nefazodon (ein 5-HT-Rezeptor-Antagonist, SSRI und adrenerger Antagonist) in die Diskussion gebracht.

Zwei Studien (Avery et al. 1985; Tiller et al. 1988) legen eine Übererregbarkeit der Hypothalamus-Hypophysen-Nebennieren-Achse (HPA-Achse, *hypothalamus-pituitary-adrenal gland*) nahe, ein Ergebnis, das im Widerspruch zu einer Arbeit von Rosenbaum et al. (1983) steht. Neben endokrinen wurden autonome Abnormalitäten berichtet (Hoehn-Saric et al. 1989). Demnach hatten GAD-Patienten unter Streß, nicht jedoch in Ruhe, reduzierte Hautleitfähigkeit, Atemfrequenz, Blutdruck und Herzfrequenzvariabilität. Die Reaktion von GAD-Patienten auf Streß und Beanspruchung müssen also als gestört bezeichnet werden.

Auf Bildgebungsebene wurden erhöhter Ruhemetabolismus im okzipitalen, temporalen und frontalen Kortex relativ zum Gesamthirn und eine absolute Verringerung des Ruhemetabolismus in den Stammganglien beschrieben (Wu et al. 1991). Eine Clorazepat-Therapie verringerte global den Ruhemetabolismus, erhöhte ihn jedoch im medialen frontalen Kortex relativ zu den anderen Regionen. Die BZP-Rezeptordichte ist im linken Temporalpol bei GAD-Patienten niedriger; auch ist der BZP-Rezeptor homogener über das Hirn verteilt als bei Gesunden (Tiihonen et al. 1997).

Jeder Versuch, die aufgeführten Daten sinnvoll zu interpretieren, verdeutlicht die Notwendigkeit, Neuroanatomie, Neuropharmakologie und Neuroendokrinologie des normalen Angstverhaltens zu verstehen. Erst seine eingehende Erforschung kann den theoretischen Rahmen schaffen, innerhalb dessen Abweichungen von der Norm erklärt werden können. Glücklicherweise wurden in den letzten Jahrzehnten enorme Fortschritte in der Erforschung der Mechanismen des normalen Angstverhaltens gemacht. Das folgende Kapitel enthält daher eine kurze Zusammenfassung des gegenwärtigen Wissens und wird als Basis für die Interpretation der in der daran anschließenden pHMRI-Studie erzielten Ergebnisse dienen.

### 3.1.4 Theorien der Angst

#### 3.1.4.1 Ethologie

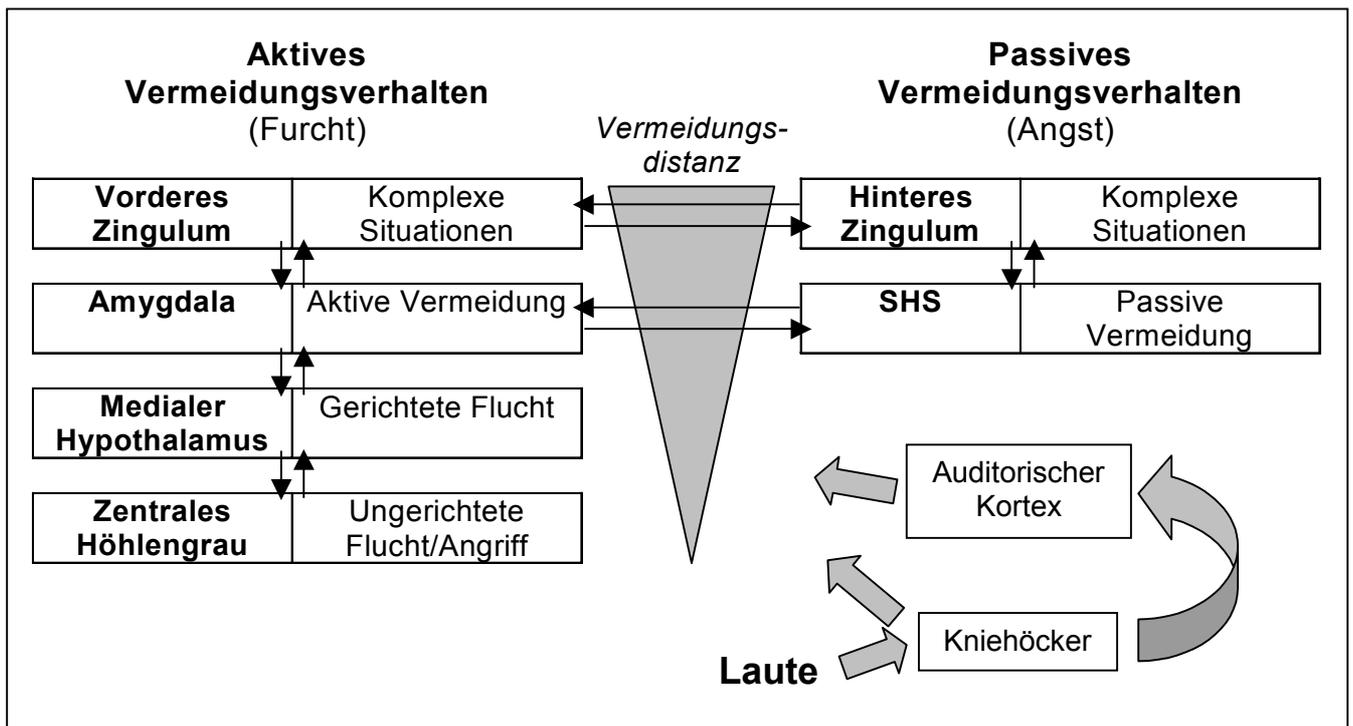
Die wohl umfassendste Theorie der Angst wurde von Gray und McNaughton (2000) vorgestellt. Wie oben bereits angedeutet unterscheiden die Autoren auf Verhaltensebene zwischen aktiver Vermeidung einer konkreten Gefahr, z.B. durch Flucht oder Angriff (Furcht), und passiver Vermeidung einer nicht klar als solche identifizierbaren Gefahr, z.B. durch bewegungsloses, aber wachsames Verharren oder vorsichtige Erkundung der Umgebung (Angst). Kennzeichnend für das passive Vermeidungsverhalten ist ein motivationaler Konflikt zwischen Vermeidung einer potentiellen Bedrohung und Erreichung eines anderen Zieles, die eine Annäherung an die potentielle Gefahrenquelle erforderlich macht. Dahingegen besteht beim aktiven Vermeidungsverhalten kein Zielkonflikt (mehr).

#### 3.1.4.2 Neuroanatomie

Das neurale Substrat beider Formen des Vermeidungsverhaltens wird von Gray und McNaughton (2000) hinsichtlich der Komplexität und Flexibilität des gesteuerten Verhaltens hierarchisch gegliedert, wobei höhere Ebenen nicht nur zunehmend vielfältigere Verhaltensformen steuern, sondern auch modulierend auf niedrigere Ebenen einwirken. Vor allem basierend auf pharmakologischen, Läsions- und Stimulationsstudien an Nagern wird folgendes Bild entworfen:

##### a) Aktives Vermeidungsverhalten (Furcht)

Im Rahmen des aktiven Vermeidungsverhaltens wird die *Flight-or-Fight*-Reaktion, die bei unmittelbarer Bedrohung zu panikartigem Angriff oder ungerichteter Flucht führt, im Zentralen Höhlengrau (PAG, *periaqueductal gray*) angesiedelt. Dem übergeordnet ist ein Gebiet im Medialen Hypothalamus (MHT), in dem eine gerichtete Flucht ausgelöst werden kann und das die Ausführung des ungerichteten *Flight-or-Fight*-Programmes im PAG hemmt. Auch können hier verschiedene autonome Reaktionen wie Tachykardie, Blutdruckerhöhung, Pupillenerweiterung etc. ausgelöst werden. Diesen Zentren übergeordnet ist wiederum der zentrale Kern der Amygdala (CEA). Er hat außer zu den beiden genannten Angstzentren weitreichende Projektionen zu endokrinen (Nucleus paraventricularis hypothalami, PVN



**Abb. 9** Aktives und passives Vermeidungssystem. Abgewandelt nach LeDoux (1994) und Gray und McNaughton (2000). SHS: Septo-Hippokampales System. Erläuterungen s.Text.

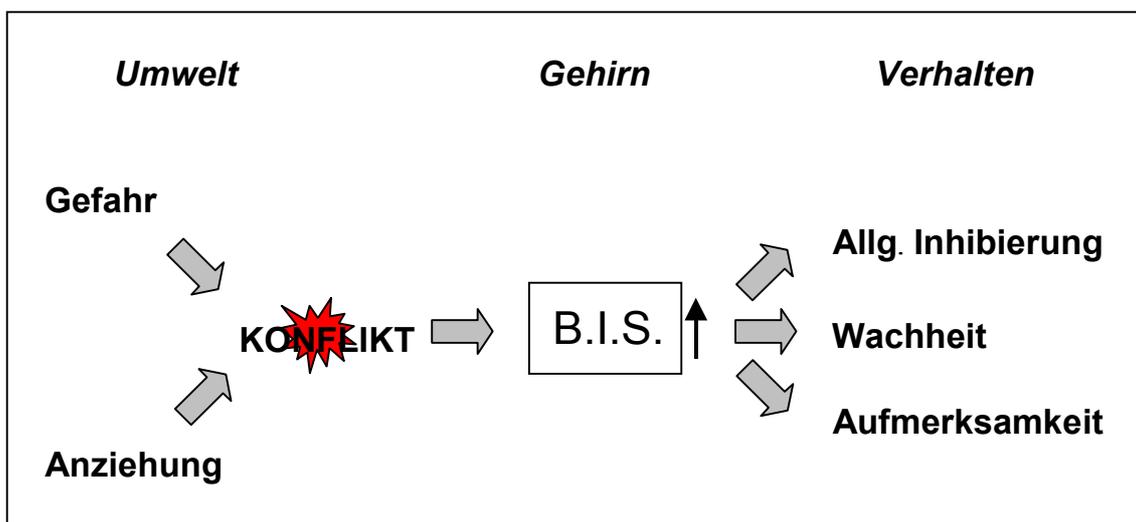
(*paraventricular nucleus*)), autonomen (Nucleus parabrachialis, Nucleus ambiguus, dorsaler Motorkern des Vagus), gesichtsmotorischen (Nervus trigeminalis, Nervus facialis) und aktivitäts- und aufmerksamkeitssteuernden (Area tegmentalis ventralis, Locus coeruleus, basales Vorderhirn) Effektorregionen, die er koordiniert.

Als höchstes Integrationszentrum betrachten Gray und McNaughton (2000) das vordere Zingulum (ACC, *anterior cingulate cortex*), welches komplexes Vermeidungsverhalten steuern soll.

#### b) Passives Vermeidungsverhalten (Angst)

Dem aktiven Vermeidungssystem stehen die Schaltkreise für passive Vermeidung (oder Angst) gegenüber, dessen zentralen Bestandteil das sog. Septohippokampale System (SHS) darstellt, bestehend aus Septum, Hippokampus (HC), Gyrus dentatus, Entorhinalem Kortex, Subikulum und Hinterem Zingulum (PCC, *posterior cingulate cortex*). Das SHS erkennt Zielkonflikte (z.B. zwischen der Durst-motivierten Annäherung an eine Wasserquelle und der Vermeidung von Räubern, die sich dort möglicherweise aufhalten) und verleiht dann negativen Stimuli eine stärkere Wertung, wodurch eine Verlagerung zu

Vermeidungsverhalten bewirkt wird. Die Aktivierung dieses *Behavioral Inhibition System* (BIS, Abb. 10) unterbricht über Projektionen vom Subikulum zu Nucleus accumbens (NAc) und von dort zur Substantia nigra (SN) (wodurch aufsteigende Eingänge ins Caudatoputamen (CPu) beeinflusst werden können) und zum ventralen Pallidum (welches über den mediodorsalen Thalamus (MD) zu PFC und ACC weiterprojiziert) laufende Bewegungsprogramme oder stimuliert exploratives Verhalten. Über pallidäre Ausgänge zum retikulären Thalamus und damit indirekt zum gesamten Kortex wird die Wahrnehmung der Umgebung verstärkt. Die vigilanz- und aufmerksamssteigernde Funktion des BIS (mit ihren autonomen „Nebenwirkungen“) wird zudem über die Amygdala vermittelt. Abb. 9 zeigt weiterhin, daß der PCC hinsichtlich der Komplexität des von ihm gesteuerten Verhaltens die hierarchisch höchste Stellung im passiven Vermeidungssystem einnimmt.



**Abb. 10** Funktionen des *Behavioral Inhibition System* (BIS). Abgewandelt nach Gray und McNaughton (2000). Erläuterungen s.Text.

### c) Gemeinsamkeiten

Sowohl für das Furcht- wie auch für das Angstsystem gilt, daß hierarchisch höhere Ebenen bei zunehmender Entfernung vom Gefahrenstimulus eingeschaltet werden (Abb. 9). Nach LeDoux (1994) besitzt das Gehirn Notfallsysteme, die eine Art „*quick and dirty*“-Modus bereitstellen, und höhere Zentren, die ihre Arbeit „*slowly and sophisticatedly*“ verrichten, wenn eine feiner abgestimmte Vermeidungsantwort vorteilhaft ist.

Abb. 9 zeigt auch – beispielhaft für das auditorische System –, daß die sensorischen Eingänge beider Systeme zunächst identisch und ebenfalls hierarchisch gegliedert sind. Höhere Ebenen leisten eine zunehmend feinere Stimulusprozessierung. Die Bedrohungsinformation kann dabei direkter und schneller (*quick and dirty*) ohne Einbeziehung des Kortex oder langsamer, aber besser verarbeitet (*slow and sophisticated*) über den Kortex zu den ausführenden Zentren gelangen. Die Effektorregionen erhalten diese Eingänge zu jeder Zeit unabhängig von ihrer hierarchischen Position und sind somit zu „selbständigem“ Handeln in der Lage, das erst unterbrochen wird, wenn sich höhere Zentren hemmend einschalten. Als wichtige Eingangswege des Furchtsystems seien hier nur kurz die lateralen (LA) und basolateralen (BLA) Amygdalakerne, die Afferenzen von Thalamus, Kortex und HC erhalten (letzterer vermittelt eher den „Alarm“ des Angstsystems als einen spezifisch sensorischen Input) und zum CEA projizieren. Ein wichtiger Eingangsweg des Angstsystems ist der Entorhinale Kortex, den man als sensorischen Kortex des SHS bezeichnen könnte. Er ist neben dem thalamokortikalen perzeptiven System verbunden mit dem PFC und den Basalganglien (Ziele und ablaufende motorische Programme), den (emotionalen) Gedächtnisnetzwerken des Temporallappens und BLA und Hypothalamus (konkrete Gefahrenmeldungen).

Es wird deutlich, daß aktives und passives Vermeidungssystem eng miteinander verknüpft sind.

#### d) Abweichende Theorien

Der wichtigste Unterschied zwischen der Gray-McNaughtonschen Theorie und den Theorien von Graeff (1994) und LeDoux (1996) besteht darin, daß letztere von einem einheitlichen Angstsystem ausgehen. Die Trennung zwischen Furcht und Angst ist in der Natur der Stimuli zu suchen, die mehr oder weniger konkret sein können. Nach LeDoux (1996) werden konkrete Stimuli in der Amygdala verarbeitet, die auch für die Assoziation zwischen unconditionierten und konditionierten Reizen zuständig ist; komplexere Stimuli, wie beispielsweise über den Kontext, werden vom HC behandelt. Der HC ist bei LeDoux (1994) die höchste Ebene der Gefahrenanalyse, die in der Hierarchie noch über dem polysensorischen Kortex angesiedelt ist und die in der Lage ist, komplexe Situationen zu analysieren. Entsprechend kodiert der HC komplexe, erlernte Vermeidungsverhaltensweisen, insbesondere inhibitorisches Vermeidungsverhalten. Letztere Einschätzung ist vor allem Experimenten der Gruppe um McGaugh und Cahill (z.B. Parent et al. 1995) zu verdanken, die

zeigen konnten, daß die Amygdala in inhibitorischen Vermeidungsparadigmata nur modulierend eingreift. Graeffs (1994) Vorstellungen decken sich hiermit weitgehend. Er betont jedoch die dem HC noch übergeordnete Rolle des Zingulums bei komplexem, diskriminatorischem Vermeidungsverhalten. Weiterhin wird auf eine zentrale Rolle des HC bei der Bildung und der hippocampalen Kortizes bei der Speicherung emotionaler Gedächtnisinhalte hingewiesen (z.B. Cahill und McGaugh 1998).

Eine weitere Meinung wird von der Gruppe um Davis vertreten: Der *Bed Nucleus* der Stria terminalis (BNST) stellt zytoarchitektonisch und konnektivitätsbedingt eine Fortsetzung des „motorischen“ CEA dar. Es konnte gezeigt werden, daß der CEA durch konkrete, der BNST durch weniger konkrete oder Kontextstimuli aktiviert wird (Davis 1998). Davis hat daher vorgeschlagen, den CEA als Effektorregion für Furcht- und den BNST als Effektorregion für Angstverhalten zu betrachten.

#### e) Höhere Zentren

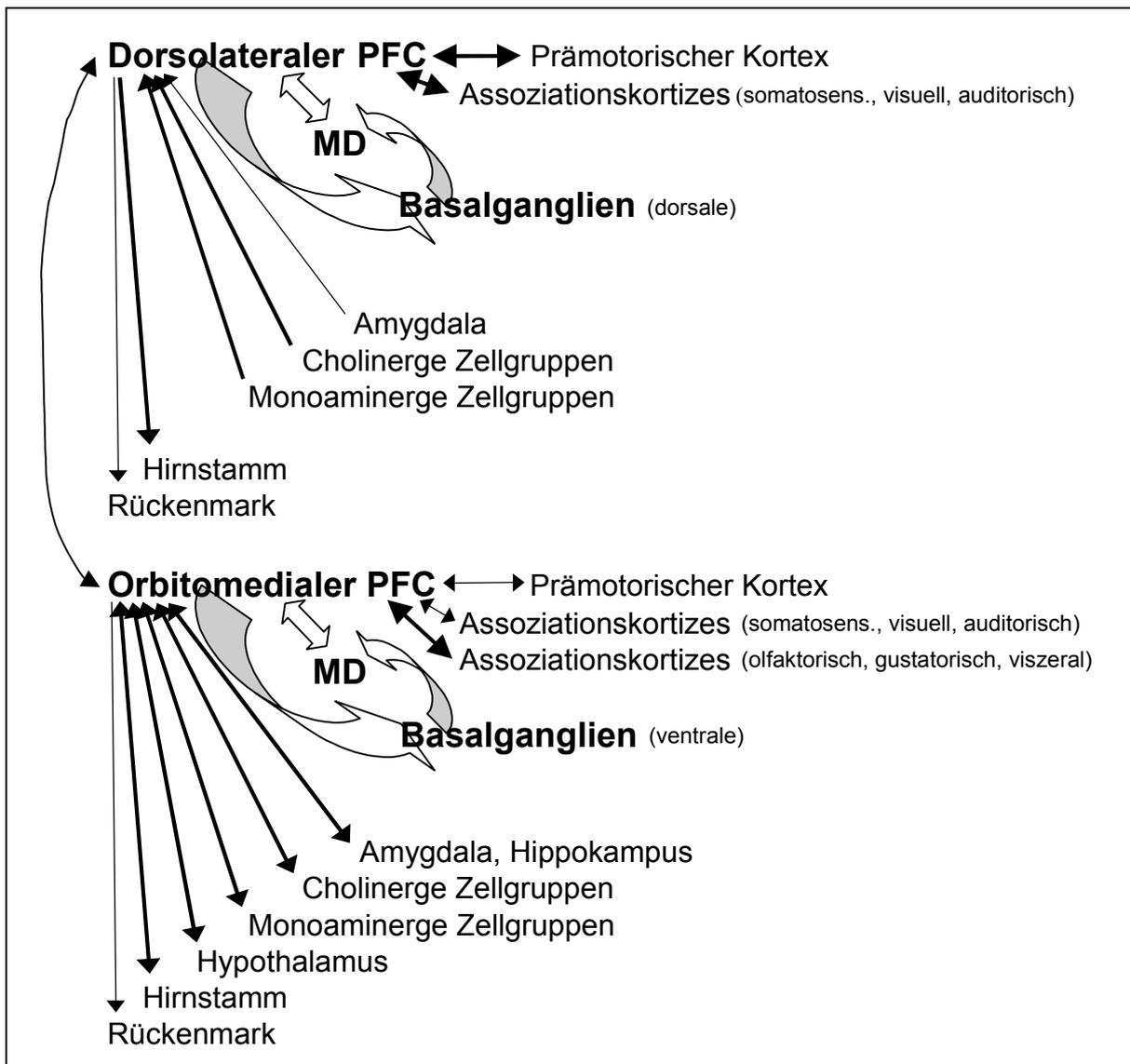
Wie bereits erwähnt, wird in der Theorie von Gray und McNaughton (2000) dem vorderen Zingulum eine übergeordnete Rolle im aktiven und dem Hinteren Zingulum im passiven Vermeidungssystem zugeschrieben. Aufgrund seines Afferenzmusters (s.u.) soll sich das Zingulum dabei in erster Linie mit internen Ereignissen wie viszeralen, propriozeptiven oder Schmerzsignalen beschäftigen. Für äußere Ereignisse und Erinnerungen an dieselben ist der PFC „zuständig“. Eine besondere Bedeutung hat er beim Menschen durch die Verarbeitung verbal enkodierter Gefahrensignale erhalten (Gray und McNaughton 2000). Wie ebenfalls bereits erwähnt, weisen Graeff und LeDoux höhere Funktionen eher dem HC zu, ohne jedoch eine Beteiligung präfrontaler oder zingulärer Areale am Angstverhalten auszuschließen.

Ein Charakteristikum der geschilderten Theorien ist, daß ihre Aussagen umso weniger spezifisch werden, je höher die Strukturen in der neuroanatomischen Hierarchie stehen bzw. je komplexer ihre Aufgaben werden - eine Problematik, die durch die schlechte Übertragbarkeit experimenteller Daten zwischen Nagern, nicht-menschlichen Primaten und Menschen verstärkt wird. Letzteres ist nicht nur der Unterschiedlichkeit insbesondere in komplexeren Verhaltensformen, sondern auch in der Anatomie von PFC und Zingulum zwischen den unterschiedlichen Modellorganismen geschuldet. Da es in dem hier verwendeten Tiermodell bisher keine Hinweise auf Störungen einfacher, d.h. weitgehend standardisierter, von niederen Zentren gesteuerter Verhaltensprogramme gibt (s.u.), ist es

jedoch naheliegend, Unterschiede zwischen HAB- und LAB-Ratten eher in höheren Zentren, d.h. auf einer übergeordneten Regulationsebene zu suchen. Es sei daher ein kurzer Überblick über Anatomie und Funktion von PFC und Zingulum gegeben.

*Präfrontaler Kortex.* Mit kleineren Einschränkungen kann man den PFC als Projektionskortex des Nucleus mediodorsalis thalami (MD) definieren, über den er limbische, viszerale, olfaktorische und stammganglionäre Informationen erhält (Groenewegen und Uylings 2000). Während die verschiedenen Areale des PFC direkt oder indirekt über den MD von beinahe allen anderen Hirnregionen Eingänge erhalten, fällt auf, daß er weder direkte Afferenzen von den primären sensorischen Kortizes noch direkte Efferenzen zu skeletomotorischen Neuronen besitzt; wohl aber erhält er bedeutende direkte Eingänge von den temporalen und parietalen Assoziationskortizes und vom Prämotorischen Kortex. Er projiziert direkt zu den Basalganglien, über die er in das motorische Geschehen eingreift, außerdem meist reziprok zu den genannten Eingangsarealen. Er kann also beispielsweise über limbische (Amygdala, HC, Hypothalamus) und Hirnstammareale (PAG, Motorkern des Vagus...) nicht-skeletomotorische Reaktionen beeinflussen (Groenewegen und Uylings 2000).

Aus dem Gesagten geht hervor, daß der PFC v.a. hoch prozessierte Informationen verarbeitet und das Verhalten eher indirekt beeinflusst. Entsprechend haben PFC-Läsionen selten unmittelbar auffällige perzeptive oder exekutive Konsequenzen. Da der PFC zudem den phylogenetisch jüngsten Teil des Neokortex darstellt, wird er als die höchste hierarchische Ebene des Gehirns aufgefaßt, die v.a. eine integrative Rolle in der Planung und zeitlichen Koordinierung des Verhaltens hat (Fuster 2001). Über seine Projektionen zu den Basalganglien, die ihrerseits zum MD und damit indirekt wieder zum PFC projizieren, ist der PFC in eine Reihe paralleler Schleifen eingebunden, die unterschiedliche Funktionen kognitiver, sensorimotorischer, emotional-sozialer oder viszeraler Natur ausüben (Alexander et al. 1986). Zudem kann das Limbische System über Verbindungen zum MD die Funktion dieser Schleifen modulieren (Groenewegen und Uylings 2000). Grob kann man sagen, daß beim Primaten die dorsolateralen Areale eher mit kognitiven Aufgaben betret sind – sie erhalten die stärksten temporal- und parietal-kortikalen Afferenzen und projizieren v.a. zu den dorsalen Stammganglien, während die orbitomedialen Gebiete eher viszeral-emotionale Funktionen haben – sie erhalten starke Eingänge von den olfaktorischen, gustatorischen und viszeralen Assoziationskortizes, aus dem Limbischen System (v.a. BLA und HC), vom HT, vom Hirnstamm und von den monoaminergen und cholinergen Zellgruppen (Groenewegen und Uylings 2000).

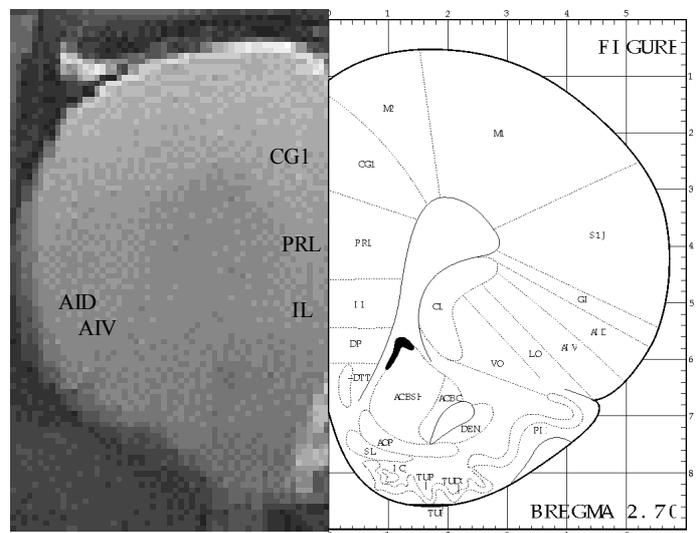
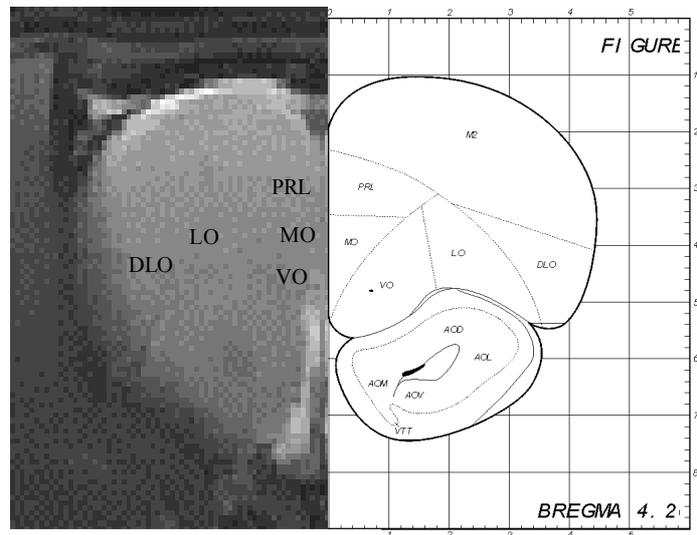


**Abb. 11** Schema der Verbindungen von dorsolateralem und orbitomedialem Kortex. Abgewandelt nach Groenewegen und Uylings (2000). MD: Nucleus mediodorsalis thalami. Erläuterungen s. Text.

Gray und McNaughton (2000) betonen die Ähnlichkeit der Auswirkungen orbitomedialer Läsionen beim Menschen und beim Affen und septo-hippokampaler Läsionen bei der Ratte. Typischerweise kommt es hierbei zu einer Verhaltensdisinhibition, weshalb dem orbitomedialen PFC allgemein hemmende Eigenschaften zugeschrieben werden.

Bei der Ratte kann der PFC nach zytoarchitektonischen Kriterien in drei Subdivisionen - orbitaler, lateraler und medialer PFC (oPFC, mPFC, lPFC) – unterteilt werden (Groenewegen und Uylings 2000). Der oPFC enthält, der Nomenklatur von Paxinos und Watson (Paxinos und Watson 1998) folgend, die Areale MO, VO, LO und DLO, der mPFC

die Areale Cg1 (Zingulum 1), PrL (Prälimbischer Kortex) und IL (Infralimbischer Kortex), der IPFC besteht aus dem Agranulären Insulären Kortex (AIV und AID, s. Abb. 12). Groenewegen und Uylings (2000) haben eine funktionelle Unterteilung ähnlich der bei Primaten versucht, wobei sie dem „kognitiven PFC“ lediglich die dorsorostralen Anteile der Cg1-Region und möglicherweise Gebiete im Frontalpol zuordnen.



**Abb. 12** Lokalisierung der Subareale des präfrontalen Kortex (PFC) mit Hilfe eines Rattenatlas nach Paxinos und Watson (1998).

Orbitaler PFC (oPFC): MO, VO, LO, DLO.

Medialer PFC (mPFC): PRL, IL.

Lateraler PFC (IPFC): AIV, AID.

Vorderes Zingulum (ACC): CG1.

Abkürzungen s. Anhang.

*Zingulum.* Das Zingulum erhält über den Nucleus anterior thalami bedeutende Afferenzen aus den Corpora mammillaria des HT (Papez 1937). Es wurde daher schon von diesem Autor – beim Menschen - als eine „rezeptive Region für die Erfahrung von Emotion“ vorgeschlagen. Da das Zingulum ähnlich dem PFC wichtige sensorischen Eingänge indirekt über den Thalamus erreichen, stellen Gray und McNaughton (2000) beide auf dieselbe hierarchische Stufe – das Zingulum als Haupt eines interozeptiven, den PFC als Haupt eines

eher exterozeptiven und gedächtnisgesteuerten Systems, eine Einteilung, die jedoch angesichts der vielen interozeptiven Afferenzen des PFC sicher weiterer Verfeinerung bedarf.

Die hierarchische „Gleichstellung“ von PFC und Zingulum erscheint insbesondere im Falle des vorderen Zingulums (ACC) gerechtfertigt, das in motorische, prämotorische und präfrontale Areale des Frontalkortex übergeht und dessen rostrale Anteile wie der PFC in basalganglionär-mediothalamische Schleifen eingebunden sind (Alexander et al. 1986). Dies wird noch dadurch unterstrichen, daß zumindest bei der Ratte eine klare Trennung zwischen mPFC und ACC kaum vorgenommen werden. Die Region Cg1 ist dort wie auch PrL und IL eng mit Limbischem System und Hirnstamm verbunden (Groenewegen und Uylings 2000). Somit stellt sich auch die Frage, ob die Gray-McNaughtonsche Unterscheidung zwischen einem orbitomedialen PFC-System mit BIS-ähnlichen Eigenschaften und einem furchtbezogenen ACC-System zumindest bei der Ratte aufrecht erhalten werden kann. Die elektrophysiologische und Läsionsliteratur hat denn auch dem mPFC/ACC der Ratte Funktionen sowohl im Angst- als auch im Furchtverhalten zugesprochen, wobei der mPFC/ACC generell hemmend zu wirken scheint (al Maskati und Zbrozyna 1989; Holson 1986; Holson und Walker 1986; Jinks und McGregor 1997; Markowska und Lukaszewska 1980; Morgan et al. 1993; Morgan und LeDoux 1995; Nonneman et al. 1974; Quirk et al. 2000, s. jedoch auch Fryszak und Neafsey 1991; Gewirtz et al. 1997).

Das Hintere Zingulum (PCC) erhält anders als der ACC keine mediodorsalen thalamischen Afferenzen, ist dafür aber sehr eng mit dem hippocampalen System und den benachbarten Kortizes verbunden (Wyss und Van Groen 1992). Entsprechend ist es am *Water Maze*-Lernen, einem klassischem Test hippocampaler Funktion, beteiligt (Riekkinen et al. 1995). Der PCC mag daher für den HC eine ähnlich übergeordnet-exekutive Rolle spielen wie der Frontale Kortex für den sensorischen. Er besitzt Ausgänge zum PFC, zum PAG und zu den Oberen Hügeln, v.a. aber zum Nucleus caudatus (Gray und McNaughton 2000). Dies setzt ihn in eine Position, die Aktion des septo-hippokampalen Inhibitionssystems zu überwachen und zu steuern. Die Einschätzung des PCC als höchste Instanz des passiven Vermeidungssystems durch Gray und McNaughton (2000) beruht bisher allerdings weitgehend auf diesen konnektivistischen Schlußfolgerungen.

Abschließend kann gesagt werden, daß die genaue Funktion präfrontaler und zingulärer Areale im Angstverhalten der Ratte noch weitgehend unerforscht ist.

### 3.1.4.3 Neurochemie

Um zu verstehen, wie unser Gehirn Gefahrensignale verarbeitet und in eine emotionale Reaktion umsetzt, müssen Erkenntnisse über die Schaltkreise der Angst mit dem Wissen über die beteiligten Neurotransmitter- und Neuropeptidsysteme in Verbindung gebracht werden.

Es liegt nahe, eine Rolle von Transmittersystemen, die Angriffspunkte für die Pharmakotherapie der Angststörung darstellen (s. 3.1.3), auch in der normalen Regulation des Angstverhaltens zu anzunehmen. Eine ausführliche Diskussion dieser Systeme würde den Rahmen dieser Arbeit sprengen. Es sei daher nur kurz auf Gray und McNaughtons und Graeffs Vorstellungen zu den serotonergen und noradrenergen Systemen sowie auf das im zurückliegenden Jahrzehnt in den Mittelpunkt des Interesses gerückte CRH-System (*corticotropin releasing hormone*) – und in diesem Zusammenhang die HPA-Achse – verwiesen. Umfassender wird lediglich das GABAerge System behandelt, welches das Zielsystem in der hier vorgestellten Studie war.

#### a) Serotonin und Noradrenalin

Das SHS steht unter dem Einfluß serotonerger Fasern aus den Raphé-Kernen und noradrenerger Fasern aus dem Locus coeruleus (LC), die bei Streß verstärkt Neurotransmitter ausschütten. Klassische Anxiolytika verringern nicht die basale, jedoch die streß-induzierte 5-HT- und NA-Freisetzung (Fuxe et al. 1975). Zudem haben Läsionen der monoaminergen Faserbündel ähnlich wie Läsionen des SHS anxiolytische Verhaltenseffekte (Gray und McNaughton 2000). Gray und McNaughton (2000) glauben, daß 5-HT und NA die Informationsverarbeitung des SHS verbessern, indem sie das synchrone Feuern septo-hippokampaler Neurone (den sog. Theta-Rhythmus), begünstigen. Es muß jedoch darauf hingewiesen werden, daß weite Teile des Vorderhirns, u.a die Amygdala, unter dem Einfluß der monoaminergen Transmittersysteme stehen und deren Läsionseffekte daher keinen Beweis für eine Steuerung der Angst durch das SHS darstellen.

Die postulierte anxiogene Wirkung von 5-HT und NA steht in Gegensatz zu der zunehmend berichteten anxiolytischen Wirkung von SSRIs und SNRIs in der Klinik (Ballenger 2001; Rocca et al. 1997). Die Annahme einer anxiogenen Wirkung insbesondere von 5-HT stammt vor allem aus Konfliktextperimenten in Nagern, in denen eine Verringerung der serotonergen Aktivität zu einer Verstärkung durch Bestrafung unterdrückten Verhaltens führt (Graeff et al. 1997). Da die Injektion von 5-HT-Rezeptor-Antagonisten in die BLA

anxiolytisch und von 5-HT-Rezeptor-Agonisten anxiogen wirkt, vermuten Graeff et al. (1997) – anders als Gray und McNaughton - die Amygdala als Hauptort der 5-HT-vermittelten Anxiogenese. Andererseits reduziert 5-HT Verteidigungsverhalten, das durch elektrische Stimulation des PAG ausgelöst wird. Graeff et al. (1997) schlagen daher eine Unterdrückung ungerichteter, panikartiger Verteidigungsprogramme im PAG und eine Förderung flexiblerer, z.T. erlernter Verteidigungsprogramme in MHT und Amygdala durch 5-HT vor, also gewissermaßen eine Verlagerung von Panik zu Angst/Furcht. Dies stimmt mit dem offensichtlichen Erfolg der SSRIs bei Panikerkrankungen überein und könnte gleichzeitig akute, anxiogene Effekte dieser Substanzklasse erklären (Westenberg und Den Boer 1993). Die Komplexität insbesondere des 5-HT-Systems mit seiner Vielzahl von Rezeptortypen und –subtypen, die zudem eine anatomisch unterschiedliche Verteilung aufweisen, haben ein besseres Verständnis seiner Funktion im Angstverhalten bisher verhindert.

#### b) CRH, AVP und HPA-Achse

CRH (*Corticotropin releasing hormone*) wird von Neuronen im PVN bei Streß sezerniert, gelangt ins Portalblut und löst im Hypophysen-Vorderlappen die Freisetzung von Adrenokortikotropem Hormon (ACTH) aus, welches die Freisetzung von Glukokortikoiden (Kortisol, in der Ratte Kortikosteron (CORT)) aus der Nebennierenrinde bewirkt (Berne und Levy 1992). Ein weiteres hypothalamisches ACTH-Sekretagog ist Arginin-Vasopression (AVP, Gibbs 1986), das insbesondere bei starkem systemischen Streß wie Hämorrhagie, Hypoglykämie oder Schmerz hinzutritt (Giuffre et al. 1988; Plotsky et al. 1985a, b). Über einen negativen Rückkopplungsmechanismus hemmt das Streßhormon CORT die CRH-Freisetzung im PVN (Berne und Levy 1992). Außerdem moduliert es über zerebrale Rezeptoren, die besonders im HC und im PFC (hier v.a. im mPFC) eine hohe Dichte aufweisen (McEwen et al. 1986), die Regulation der Verhaltensantwort auf Streß (Korte 2001).

CRHerge Neurone befinden sich nicht nur im PVN, sondern auch u.a. in Amygdala, BNST, Locus coeruleus und Kortex; Septum, Kortex, Kleinhirn, Hypothalamus und andere Regionen exprimieren den CRH-Rezeptor (CRHR1, Koob 1999). Tatsächlich kann man ein hypothalamisches und ein zerebrales CRH-System unterscheiden. Letzteres spielt eine direkte Rolle bei der Verhaltensantwort auf Streß (Pich et al. 1993) und wird – anders als ersteres - durch CORT-Freisetzung aktiviert (Schulkin et al. 1998). Mehrere Blut-Hirn-Schranken-

gängige CRHR1-Antagonisten befinden sich zur Zeit in klinischer Testung (s. z.B. Zobel et al. 2000).

### c) GABA

GABA ist der wichtigste, ubiquitär vorkommende inhibitorische Neurotransmitter im Gehirn. Er vermittelt seine hemmende Wirkung weitgehend über den ionotropen GABA<sub>A</sub>-Rezeptor, der an einen Chloridionen-Kanal gekoppelt ist; des weiteren über den metabotropen GABA<sub>B</sub>-Rezeptor und den ionotropen GABA<sub>C</sub>-Rezeptor, der nur in der Retina vorkommt (zusammengefaßt in Barnard et al. 1998). Die klassischen Anxiolytika der Substanzklassen Barbiturate und Benzodiazepine (BZPe) binden an den GABA<sub>A</sub>-Rezeptor-Ionenkanal-Komplex. Dieser besteht aus fünf membranständigen Untereinheiten. Unterschiedliche Kombinationen von mindestens sieben bisher bekannten Typen von Untereinheiten -  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ ,  $\delta$ ,  $\epsilon$ ,  $\pi$ ,  $\rho$  - setzen den Komplex zusammen, wobei die meisten dieser Typen Subtypen besitzen. Die anatomische Verteilung verschiedener Typ-Subtyp-Kombinationen ist äußerst komplex (Barnard et al. 1998).

Barbiturate verlängern durch Bindung an den sog. Picrotoxin-Rezeptor, der Bestandteil des Komplexes ist, die Öffnungsintervalle des Ionenkanals (Berne und Levy 1992). BZPe erhöhen durch Bindung an den BZP-Rezeptor, der sich auf den Subtypen  $\alpha_1$ ,  $\alpha_2$ ,  $\alpha_3$  und  $\alpha_5$  befindet, die Affinität von GABA zu seinem Rezeptor und verstärken dadurch die GABAerge Neurotransmission (Berne und Levy 1992).

Interessanterweise sind BZPe bei der Behandlung der Spezifischen Phobien, die gewissermaßen eine Reinform von Störungen des Furchtsystems darstellen, ineffektiv (Fredrikson et al. 1995). Die verhältnismäßig selektive Wirkung der BZPe auf das Angstsystem hat sich in verhaltenspharmakologischen Tierstudien bestätigt (D. C. Blanchard et al. 1989; D. C. Blanchard et al. 1990).

Hinderlich für eine „GABA-Hypothese der Angst“ ist die erwähnte ubiquitäre, nicht auf Angstregionen beschränkte Verteilung des Rezeptors und die Beobachtung sedativ-hypnotischer Nebenwirkungen der klassischen Anxiolytika bei höheren Dosen. Es ist nicht klar, weshalb Substanzen, die eine ubiquitäre, inhibitorische Neurotransmission simulieren oder verstärken, bei niederen Dosen bevorzugt Angst, weniger jedoch Furcht oder lokomotorische Aktivität dämpfen.

Die Arbeiten von Rudolph *et al.* (1999) und Löw *et al.* (2000) eröffnen Wege zu einer Lösung des Dilemmas. Den Autoren gelang es, durch Einführung einer Punktmutation in den

BZP-Rezeptor diesen für seinen Liganden insensitiv zu machen, ohne ansonsten den GABA<sub>A</sub>-Rezeptor-Ionenkanal-Komplex in seiner Funktion zu beeinträchtigen. Transgene Mäuse, die diese mutierten BZP-Rezeptoren exprimierten, waren in ihrem Verhalten völlig normal, reagierten jedoch nicht mehr auf das BZP Diazepam (Low et al. 2000; Rudolph et al. 1999). Je nachdem, welche  $\alpha$ -Untereinheit mutiert war, waren die Tiere für unterschiedliche Wirkungen des Diazepam unempfindlich. Es stellte sich heraus, daß die anxiolytische Wirkung des BZP von der Untereinheit  $\alpha_2$  vermittelt wird, die die vorherrschende Untereinheit im limbischen System, im Kortex und in den Basalganglien darstellt (Low et al. 2000). Es darf also spekuliert werden, daß Diazepam zuerst die  $\alpha_2$ -Bindungsstellen absättigt und dadurch vorrangig Systeme inhibiert, die Angst vermitteln. Die weiträumige Verteilung der  $\alpha_2$ -Untereinheit erlaubt noch nicht, eine bestimmte Struktur als Kernregion des Angstsystems zu benennen oder zu erklären, warum Furcht und Lokomotion weniger angesprochen werden. Die genaue Untersuchung der regionalen Expressionsmuster von Subtypkombinationen und ihrer BZP-Affinitäten kann hierauf aufbauend jedoch helfen, die Anzahl möglicher Hypothesen einzuschränken.

Gray und McNaughton (2000) postulieren das SHS als Substrat der GABA-vermittelten Anxiolyse. Diese Hypothese beruht auf der Ähnlichkeit der Verhaltenseffekte von SHS-Läsionen, nicht jedoch Amygdala-Läsionen, und der Gabe klassischer Anxiolytika. Ähnlich wie anxiolytisch wirkende Läsionen der monoaminergen Eingänge in das SHS reduzieren die klassischen Anxiolytika zudem den hippocampalen Theta-Rhythmus (McNaughton et al. 1986), was als ein Zeichen beeinträchtigter Informationsverarbeitung im SHS betrachtet wird (s. 3.1.4.3a).

#### 3.1.4.4 Persönlichkeitsunterschiede

Auffälligkeiten, wie sie beispielsweise die GAD charakterisieren (3.1.3), werden also tatsächlich in den Systemen angetroffen, die an normalem Angstverhalten beteiligt sind, wenngleich die Forschung noch weit davon entfernt ist, die genauen Ursache-Wirkungs-Beziehungen zwischen neurobiologischen Störungen und Pathologie zu verstehen. Die in den vorangegangenen Abschnitten geschilderten Ergebnisse und Theorien schaffen aber eine gute Basis für die weitergehende Erforschung individueller Unterschiede im Angstverhalten.

Zwischen normaler Ängstlichkeit und der extremen Ausformung der Angst, wie sie z.B. in der GAD, aber auch anderen Angsterkrankungen angetroffen werden, mag, wie bereits diskutiert (3.1.2), ein unscharfer Übergangsbereich liegen, dessen sich die

Persönlichkeitsforschung annimmt. Es sollte erwartet werden, daß biologische Parameter, die subklinisch ängstliche Typen kennzeichnen, stärker ausgeprägt in Angstpatienten anzutreffen sind.

Die Persönlichkeitsforschung am Menschen hat bisher im wesentlichen zwei Resultate hervorgebracht: Eine starke Asymmetrie der basalen Aktivität des PFC – mit deutlich stärkerer rechts- als linksseitiger Aktivierung – korreliert mit der Neigung zu negativen affektiven Reaktionen (Davidson und Tomarken 1989). Präfrontale Asymmetrie ist eine zeitlich stabile Größe (Tomarken et al. 1992), muß also als eine *trait*-Variable aufgefaßt werden. Sie tritt bereits bei Neugeborenen auf und ist dort verbunden mit einer stark emotionalen Reaktionen auf Trennung von der Mutter (Davidson und Fox 1989). Sie wurde im Zusammenhang mit Angst- und Depressionserkrankungen beobachtet (Davidson 1995).

Als zweite Hirnregion, die an der Ausprägung individueller Unterschiede im Angstverhalten beteiligt sein könnte, wurde wiederholt die Amygdala diskutiert. Ihre Reaktivität auf negative Reize ist bei Gesunden mit der Disposition zu negativem Affekt korreliert (Irwin et al. 1997). Entsprechend zeigen Phobiker eine Überaktivierung der Amygdala auf phobische Stimuli (Birbaumer et al. 1998), und bei Depressiven sind Ruhemetabolismus der Amygdala und negativer Affekt eng miteinander verknüpft (Abercrombie et al. 1998).

Davidson (2000) hat basierend auf diesen Daten und den in den obigen Kapiteln dargelegten Erkenntnissen ein Modell vorgeschlagen, nach dem die individuelle Ausprägung des Angstverhaltens von der Aktivität der Amygdala und der Stärke der vom mPFC ausgehenden Hemmung der Amygdala abhängt. Die Ergebnisse von Wu et al. (1991), die eine relative Zunahme des mPFC-Ruhemetabolismus nach Pharmakotherapie der GAD beobachtet hatten, fügen sich hervorragend in dieses Modell ein.

### 3.1.5 HAB- und LAB-Ratten als Angstmodell

#### 3.1.5.1 Zuchtstrategie

Die selektive Züchtung von Nagern erlaubt es, Individuen mit extremen Verhaltensweisen zu produzieren und so die Auffindung biologischer Korrelate dieser Verhaltensweisen zu erleichtern. Sie stellt gewissermassen ein Pendant zur Persönlichkeitsforschung am Menschen dar. Ein Anwendungsbeispiel dieser Strategie in der Angstforschung sind die Maudsley-Rattenlinien, die anhand ihrer Defäkationshäufigkeit im

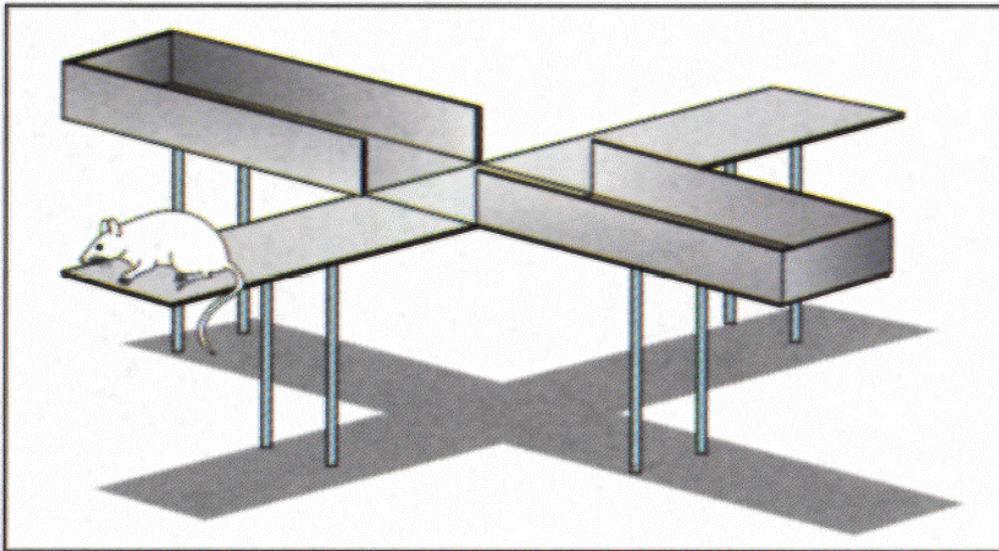
*Open Field* (OF) selektiert wurden (Broadhurst 1962). Es stellte sich heraus, daß Ratten, die im OF häufiger defäkierten, auch in anderen Angsttests wie dem *Elevated Plus Maze* (EPM) oder dem *punished drinking*-Paradigma emotionaler reagierten (Broadhurst und Levine 1963; Commissaris et al. 1986; Overstreet et al. 1992, s. jedoch auch Paterson et al. 2001). Weiterhin zeigten sie eine besonders geringe Aktivierbarkeit des sympathischen Nervensystems bei Streß (Harrington und Hanlon 1966). Die Entdeckung, daß vor allem solche Angstparameter verändert waren, die stark mit der Aktivierung des sympathischen Nervensystems korrelierten, schränkte die Bedeutung dieser Zuchtlinie für die Angstforschung jedoch ein. Dennoch postulieren Gray und McNaughton (2000), daß in den emotionaleren Tieren sowohl das aktive als auch das passive Vermeidungssystem verändert seien und führen hierfür Unterschiede im hippokampalen Theta-Rhythmus, im noradrenergen System, im PAG und in der Amygdala an.

Der EPM ist ein anderer weit verbreiteter Test für unconditionierte Angst bei Ratten und Mäusen. Er besteht aus einer kreuzförmigen, erhöhten Plattform, bei der zwei (gegenüberliegende) Arme offen und zwei durch Seitenwände geschützt sind (s. Abb. 13). Nager halten sich bevorzugt in den geschlossenen Armen auf, wahrscheinlich, da sie in einem offenen Raum eher mit dem Angriff eines Freßfeindes rechnen müssen (Treit et al. 1993). Es wird angenommen, daß sich ein Tier im EPM in einem Zielkonflikt zwischen Erkundung einer neuen Umgebung (Neugier) und Vermeidung einer möglichen Bedrohung (Angst) befindet (Montgomery 1955), eine Situation, die die Voraussetzungen für die Aktivierung des *Behavioral Inhibition System* nach Gray erfüllt. Eine abweichende Meinung vertritt die Gruppe um File, die eine Sensitivität des EPM für panikolytische Agenzien berichtet hat (Johnston und File 1988). Es ist jedoch aus Gründen der *face validity* schwer ersichtlich, inwieweit „EPM-Angst“ spezifisch Panik darstellen soll. Zudem werden im EPM Verhaltensweisen der vorsichtigen Umgebungserkundung (*risk assessment*), jedoch keine *fight or flight*-Reaktionen beobachtet.

Die Dauer des Aufenthaltes in den offenen Armen sowie die Anzahl der Eintritte kann als negatives Maß der Ängstlichkeit eines Individuums und damit als Zuchtkriterium verwendet werden. Neben der ethologischen oder Konstruktvalidität ist der EPM als Angstmodell pharmakologisch sehr gut abgesichert: BZPe, nicht jedoch Antidepressiva, erhöhen dosisabhängig die Zahl und Dauer der Aufenthalte in den offenen Armen (Briley et al. 1986; Handley und McBlane 1993; Treit et al. 1993). Zudem bietet er den Vorteil, daß Veränderungen des lokomotorischen Verhaltens anhand der Anzahl der Eintritte in die geschlossenen Arme von Veränderungen des emotionalen Verhaltens unterschieden werden

können (Rodgers und Dalvi 1997, s. jedoch auch Weiss et al. 1998 für den Fall von Psychostimulantien).

Anhand ihres Verhaltens im EPM werden von der Arbeitsgruppe von Rainer Landgraf am Max-Planck-Institut für Psychiatrie seit über zehn Jahren die sog. HAB- und LAB-Ratten (*high and low anxiety-related behavior*) selektiv gezüchtet. Grundlage der Zucht sind Wistarratten.



**Abb. 13** Schematische Darstellung eines *Elevated Plus Maze* (EPM) mit (todes-)mutiger Ratte (aus Max-Planck-Forschung 1999).

### 3.1.5.2 Verhalten

Außer im EPM sind HAB-Ratten auch in anderen Tests unconditionierter Angst, dem *Open Field* und der *Black-White Box*, wesentlich ängstlicher als LAB-Ratten (Henniger et al. 2000; Liebsch et al. 1998b). Nach Trennung von ihrer Mutter stoßen neugeborene HAB-Ratten mehr Ultraschallschreie aus als LAB-Ratten (Wigger et al. 2001), ein Maß der Angst, das unabhängig von der Lokomotion ist (Tornatzky und Miczek 1994).

Individuell gehaltene HAB- und LAB-Ratten unterscheiden sich nicht in ihrer basalen Körpertemperatur, Futter- und Wasseraufnahme oder lokomotorischen Aktivität. Unter Streß jedoch zeigen LAB-Ratten einen stärkeren Anstieg der Körpertemperatur und der Lokomotion (Liebsch et al. 1998a). Die genannten Unterschiede im Vokalisierungsverhalten sowie die Möglichkeit, im EPM lokomotorische Aktivität von Angst zu trennen, machen es jedoch

unwahrscheinlich, daß die beobachteten Unterschiede im Angstverhalten auf lokomotorische Unterschiede zurückzuführen sind.

Eher mögen unterschiedliche Streßbewältigungsstrategien den lokomotorischen Unterschieden zugrunde liegen. HAB-Ratten zeigen im *Forced Swim*-Test ein weniger aktives Verhalten, d.h. sie lassen sich früher treiben als LAB-Ratten, ein Verhalten, das häufig als depressionsähnlich interpretiert wird (Liebsch et al. 1998b).

Darüberhinaus besitzen HAB-Ratten ein besseres olfaktorisches Kurzzeitgedächtnis (Landgraf und Wigger 2002) und ein besseres deklaratives Gedächtnis (Ohl et al. 2001). Zumindest in letzterem Falle mag dies zum Teil auf die genannten Aktivitätsunterschiede zurückzuführen sein (Landgraf und Wigger 2002). Auch ist gezeigt worden, daß akuter Streß die deklarative Gedächtnisleistung verbessert (Cahill und McGaugh 1998; McGaugh et al. 1996), was als Argument für eine Ursächlichkeit emotionaler für kognitive Verhaltensunterschiede bei HAB- und LAB-Ratten angeführt werden kann. Dennoch ist nicht auszuschließen, daß hier eine weitere, unabhängige Verhaltensdimension koselektiert wurde. Da die emotionalen Unterschiede zwischen den beiden Linien in Tests nicht-konditionierter Angst gemessen wurden, ist eine Ursächlichkeit kognitiver für emotionale Unterschiede jedoch wenig wahrscheinlich.

Wie durch Aufzucht bei Adoptivmüttern der jeweils anderen Linie gezeigt werden konnte, sind die genannten Unterschiede im Angstverhalten angeboren (Wigger et al. 2001). Die extreme Ängstlichkeit stellt damit ein *trait*-Merkmal von HAB-Ratten dar, das sich in erhöhter Reaktivität in potentiell bedrohlichen Situationen äußert. Der entscheidende Vorteil von HAB- und LAB-Ratten gegenüber anderen Zuchtlinien liegt in der Abwesenheit von Unterschieden in physiologischen Parametern, die direkt oder indirekt das Angstverhalten beeinflussen könnten (Liebsch et al. 1998a; Liebsch et al. 1998b).

### 3.1.5.3 Neurobiologie

Die Untersuchung neurobiologischer Unterschiede zwischen HAB- und LAB-Ratten hat sich bisher im wesentlichen auf die HPA-Achse und das CRH-, das serotonerge und das GABAerge System konzentriert.

HAB-Ratten reagieren auf Streß mit einer deutlich stärkeren Aktivierung der HPA-Achse (M. E. Keck et al. 2002; Liebsch et al. 1998a), ein Merkmal, daß – gemessen mit Hilfe des Dexamethason/CRH-Tests - auch bei den meisten depressiven (Holsboer-Trachsler et al. 1991) und ca. 30% der GAD-Patienten (Avery et al. 1985; Tiller et al. 1988) auftritt. Während

keine Unterschiede der CRH-mRNA-Expression und –Freisetzung im PVN gefunden werden konnten, wird das zweite ACTH-Sekretagog AVP im PVN von HAB-Ratten basal und unter Streß signifikant stärker exprimiert und freigesetzt (A. Wigger, persönliche Mitteilung). Tatsächlich konnte gezeigt werden, daß die Hyperaktivierung der HPA-Achse in HAB-Ratten von AVP vermittelt wird (M. E. Keck et al. 2002). Ein AVP-V1-Rezeptorantagonist wirkt in den Tieren anxiolytisch (A. Wigger, persönliche Mitteilung). In der Promoterregion des AVP-Gens, nicht jedoch der CRH-, Oxytozingene oder der jeweiligen Rezeptorgene wurde eine Punktmutation entdeckt, die bei 100% der HAB-Ratten und bei 0% der LAB-Ratten auftritt und deren funktionelle Bedeutung noch unklar ist (A. Wigger, persönliche Mitteilung). Vermutlich über nicht-hypothalamische Mechanismen wirkt der CRH-Rezeptor-Antagonist R121919 bei HAB-Ratten auf dem EPM wesentlich stärker anxiolytisch als bei LAB-Ratten (M. E. Keck et al. 2001).

Weder im PVN noch im dorsalen HC findet sich zwischen den beiden Linien ein Unterschied in der 5-HT-Freisetzung unter basalen Bedingungen; hingegen setzen HAB-Ratten im *Forced-Swim*-Test mehr 5-HT im PVN frei als LAB-Ratten. Diese wiederum weisen höhere hippocampale 5-HT-Konzentrationen nach *Forced-Swim*- sowie OF-Test auf (Umriukhin et al., in Begutachtung). Ersteres kann mit einer HPA-aktivierenden Funktion von 5-HT in Einklang gebracht werden (Bagdy et al. 1989; Calogero et al. 1989). Letzteres steht im Widerspruch zur Theorie einer anxiogenen Wirkung des 5-HT im HC nach Gray und McNaughton (2000). Demgegenüber schlagen Takahashi et al. (2000) eine Rolle hippocampalen 5HTs bei der Kontrolle der lokomotorischen Aktivität vor. Die erhöhte 5HT-Freisetzung im HC von LAB-Ratten könnte also auch ein Korrelat einer aktiveren Streßbewältigungsstrategie dieser Linie sein (s. 3.1.5.2).

Ähnlich wie der CRH-Antagonist R121919 wirkt Diazepam (1 mg/kg) auf dem EPM bei HAB-Ratten etwa 10fach stärker anxiolytisch als bei LAB-Ratten (Liebsch et al. 1998a). Trotz dieses erheblichen Unterschieds konnten keine Unterschiede in der Dichte oder Affinität von GABA<sub>A</sub>-Rezeptoren im kortikalen Homogenisat von HAB und LAB gefunden werden (Hermann et al. 2000). Aufgrund der geringen räumlichen Auflösung der verwendeten Technik kann dieses Ergebnis regionale Unterschiede nicht ausschließen. Andere mögliche Unterschiede in der GABAergen Neurotransmission (wie beispielsweise unterschiedliche Konzentrationen oder Freisetzungsmuster des Transmitters oder anderer endogener Liganden oder Unterschiede in Rezeptorstruktur und –funktion) wurden bisher nicht untersucht.

## 3.2 Diazepam-phMRI bei HAB- und LAB-Ratten

### 3.2.1 Einleitung

Die in 3.1.5.3 genannten Unterschiede in der anxiolytischen Wirkung des Diazepam bei HAB- und LAB-Ratten lassen die Schlußfolgerung zu, daß Diazepam einen differentiellen Effekt auf Hirnregionen hat, die mit der Regulation des Angstverhaltens befaßt und die insbesondere für Unterschiede im Angstverhalten zwischen HAB und LAB verantwortlich sind. D.h. umgekehrt: Jede Region, deren neuronale Aktivität durch Diazepam bei HAB und LAB unterschiedlich beeinflusst wird, ist ein Kandidat für die unterschiedliche Regulation des Angstverhaltens bei HAB und LAB und – weitergehend - für die Regulation des Angstverhaltens als solche.

#### 3.2.1.1 Methodische Vorbemerkungen

Zur Erstellung eines „Fingerabdrucks“ der Diazepam-Wirkung bietet sich das phMRI an. Da der BOLD-Effekt neuronale Aktivität nur indirekt mißt und durch Veränderung systemischer physiologischer Parameter beeinflusst werden kann, macht – wie in Teil I ausführlich begründet – erst eine Kontrolle dieser Parameter die Erstellung von Diazepam-Karten mit phMRI möglich.

Der hier verfolgte Ansatz, eine differentielle Diazepam-Wirkung im Verhalten und im phMRI aufeinander zu beziehen, setzt implizit ein grundsätzlich ähnliches Hirnaktivierungsmuster in dem Streß und Angst auslösenden Verhaltensexperiment und dem aversiven phMRI-Experiment (Anästhesie, maschinelle Beatmung, mechanische Immobilisierung des Kopfes, postoperativer Streß, Lärmbelastung) voraus. Da der Zwang zur Immobilisierung der Tiere eine parallele Erfassung des Verhaltens unter phMRI-Bedingungen verhindert, können im phMRI gefundene Unterschiede jedoch nicht als Beweis der Beteiligung einer gefundenen Region an dem interessierenden Verhalten gewertet werden.

Vielmehr muß das phMRI vor allem als hypothesengenerierender Ansatz aufgefaßt werden. Generierte Hypothesen können in einem zweiten Schritt durch Anwendung invasiver Methoden wie Elektrophysiologie, Läsion, Mikrodialyse oder lokale Substanzapplikation parallel zur Verhaltenserfassung getestet werden. Diese invasiven Methoden machen in jedem Falle die Vorauswahl einer oder einiger weniger Kandidatenregionen erforderlich. Gegenüber einer theoriegesteuerten Auswahl der Zielregionen hat das phMRI den Vorteil, zumindest bei

entsprechendem statistischen und methodischen Ansatz keine Region zu bevorzugen, also gewissermaßen neutraler als ein vorinformierter Experimentator zu sein. Dies kann zur Entdeckung bisher nicht berücksichtigter Regionen führen.

Die konkrete technische Ausführung im Rahmen des hier verwendeten Versuchsaufbaus relativierte diesen Vorteil jedoch zum Teil: Die zur Erzielung eines ausreichenden Signal-zu-Rausch-Verhältnisses (SNR, *signal-to-noise ratio*) notwendige Oberflächenspule leuchtete das Hirn inhomogen aus. Die mit der Entfernung zu Spule abnehmende SNR führte insbesondere zu einer ungenügenden Ausleuchtung basaler und weit kaudaler Regionen. Sie verhinderte beispielsweise einen Vergleich der Diazepam-Wirkung in Amygdala und ventralem HC bei einer vernünftigen Anzahl an Versuchstieren. Damit konnte hier keine Aussage über diese beiden für die Theorie der Angst hoch interessanten Gebiete getroffen werden. Hingegen waren der gesamte PFC, weite Teile des restlichen Kortex, die Striata, der dorsale Thalamus, der dorsale HC und die Hügelplatte der Analyse zugänglich.

Eine weitere Einschränkung mußte für unmittelbar an die Kortexoberfläche oder die Ventrikel angrenzenden Voxel gemacht werden, die - wie die vorausgehende Studie gezeigt hat - häufig schwer interpretierbare Signaländerungen aufweisen (s. Abb. 6). Dem wurde in der hier vorgestellten Untersuchung durch eine Nichtberücksichtigung solcher Voxel bei der Definition von Zielregionen sowie bei der Interpretation der Diazepam-Karten Rechnung getragen.

### 3.2.1.2 Studiendesign

Ziel der Studie war es nicht, die Dosis-Wirkungs-Beziehung zwischen Diazepam und der Veränderung der Hirnaktivität systematisch zu beschreiben. Vielmehr stand die Identifikation regionaler Linienunterschiede in der Diazepam-Wirkung im Vordergrund. Hierzu wurden bei (n=6 vs. 6) HAB- und LAB-Ratten eine niedrige Dosis von 0,2 mg/kg und bei (n=6 vs. 6) weiteren Tieren eine höhere Dosis von 1 mg/kg Diazepam appliziert und die Effekte in jeder Dosisgruppe zwischen den Linien verglichen. Durch den Vergleich HAB (1 mg minus 0,2 mg) vs. LAB (1 mg minus 0,2 mg) konnten nicht Diazepam-spezifische Effekte, wie z.B. Vehikeleffekte, ausgeschlossen werden.

Bei LAB-Ratten, die zu diesem Zeitpunkt in größerem Maße zur Verfügung standen, wurde zur zusätzlichen Absicherung eine Vehikelbedingung eingeführt (n=5), die erlaubte, die Dosisabhängigkeit der zerebralen BOLD-Antwort auf Diazepam zu demonstrieren.

### 3.2.2 Material und Methoden

#### 3.2.2.1 Tiere

Alle angewendeten Verfahren waren nach dem Tierschutzgesetz und lokalen Richtlinien genehmigt (TVA-Nr. 211-2531-25/98). Es wurden ausschließlich männliche Auszuchttratten der Zuchtlinien HAB und LAB (Liebsch et al. 1998b) verwendet, die im Alter von neun Wochen auf dem EPM auf die Erhaltung der Zuchtmerkmale geprüft worden waren. Im Alter von drei Wochen wurden die Tiere mit einem Transponder ausgestattet. Die Tiere wurden konventionell in Gruppen bis zu fünf Tieren bei einem Lichtzyklus von 6 bis 18 Uhr gehalten und hatten freien Zugang zu Wasser und Futter (Alleinfuttermittel 1314, Altromin, Deutschland).

Am Tag des Experiments wurden das Experimentaltier um 9 Uhr in einen mit Wasser und Futter ausgestatteten Käfig umgesetzt und in den Operationsraum im MR-Labor gebracht. Dort wurde es bis 12 Uhr gelassen. Wenn ein Tier einzeln im Gruppenkäfig zurückblieb, wurde es am nächsten Tag ins Experiment genommen.

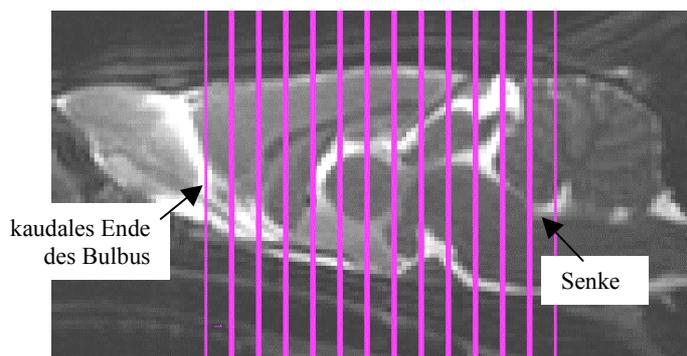
Je 6 altersmäßig angegliche HAB- und LAB-Tiere erhielten 0,2 oder 1 mg/kg Diazepam, 5 LAB-Tiere erhielten Vehikel. Ein Tier zeigte unmittelbar vor der Diazepam-Injektion einen abrupten BP-Anstieg von 103 auf 110 mmHg, der sich direkt auf das BOLD-Signal auswirkte und eine sinnvolle Bestimmung der Diazepam-Antwortamplitude unmöglich machte. Die Messung wurde an einem anderen Tier ähnlichen Gewichts wiederholt. Durchschnittliches Alter und Gewicht der Gruppen zeigt Tab. 3 (s. Ergebnisteil).

#### 3.2.2.2 Operationsmethoden und physiologische Überwachung

Um 12 Uhr wurden die Tiere wie unter 2.2.1 beschrieben anästhesiert und dann kontrolliert beatmet. Der Transponder wurde durch einen oberflächlichen Schnitt im Nackenbereich entfernt, die Wunde vernäht und mit Lidocain (Xylocain, Astra, Deutschland) bestrichen. Eine Schwanzvene und eine Schwanzarterie wurden katheterisiert. Halterung und physiologische Überwachung (Temperatur, O<sub>2</sub>, CO<sub>2</sub>, Anästhesiegas, Paw, BP, HF, SpO<sub>2</sub>) waren identisch zu 2.2.1. Auch wurde auf eine Konstanthaltung des EtCO<sub>2</sub> ( $\pm 1$  mmHg) und der Körpertemperatur ( $38 \pm 0,5^\circ\text{C}$ ) geachtet. Die physiologischen Daten wurden alle 30 s auf PC gespeichert. Während der Operation wurde eine Halothandosis von 1,5% verwendet, nach Einlagerung im Tomographen wurde diese auf 0.8% reduziert.

### 3.2.2.3 Magnetresonanztomographie

Die Experimente wurden in einem Bruker 7 Tesla Avance Biospec 70/30-Scanner (Bruker, Deutschland) mit der beschriebenen Empfangs-Oberflächenspule durchgeführt (s.2.2.1). Zur Festlegung der Schnittführung wurden zunächst mit Hilfe mehrerer schneller T2-gewichteter RARE-Aufnahmen ( $TR=1561$  ms,  $TR_{\text{eff}}=75,4$  ms, RARE-Faktor 16, Matrix  $192 \times 192$ , FOV  $5 \text{ mm}^2$ , 2 Wiederholungen) die drei orthogonalen Raumebenen relativ zum Rattenhirn bestimmt. Die sagittale Aufnahme erlaubte dann, eine reproduzierbare, axiale Schnittführung mit 13 Schichten von 1 mm Dicke zu definieren, die den größten Teil des Gehirns abdeckte (Abb. 14). Dies und die Benutzung eines Schichtabstandes, der für jedes Tier individuell an die Entfernung zwischen rostraler und kaudaler Schnittbegrenzung angepaßt wurde (Abb. 14), ermöglichten später die einfache Normalisierung der Hirne mit SPM99 (s.u.).

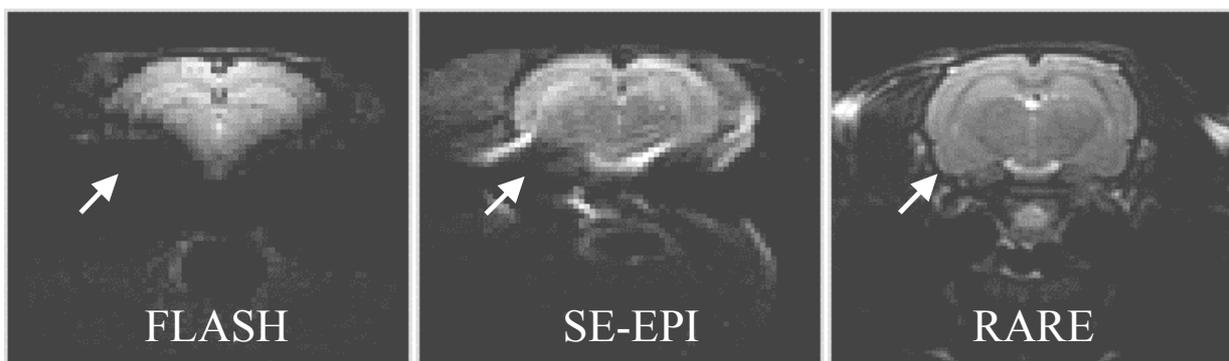


**Abb. 14** Axiale Schnittführung von 13 Schichten à 1 mm. Der Schichtabstand wurde so angepaßt, das die vorderste Schicht am Bulbus olfactorius endete und die Mitte der letzten Schicht den ventralsten Punkt einer Senke am unteren Rand des Kleinhirns durchlief. Ergebnis s. Abb. 16.

Nach Abschluß der Vorbereitungen und ca. 20 bis 30 min vor dem pHMRI wurden in einer Untergruppe von Tieren ( $n=3$  HAB,  $n=9$  LAB)  $650 \mu\text{l}$  Blut aus der Arterie abgenommen und mit  $300 \mu\text{l}$  NaCl substituiert.  $630 \mu\text{l}$  wurden auf Eis mit  $70 \mu\text{l}$  Aprotinin (Trasylol, Bayer, Deutschland), einem Proteasehemmer, in EDTA-beschichteten Reaktionsgefäßen gemischt und bei  $4^\circ\text{C}$  und  $4000$  rpm für 15 min zentrifugiert.  $80 \mu\text{l}$  des Überstandes wurden für die ACTH-Bestimmung bei  $-80^\circ\text{C}$ ,  $50 \mu\text{l}$  für die CORT-Bestimmung bei  $-20^\circ\text{C}$  tiefgefroren. Der restliche Überstand wurde für andere Messungen aufbewahrt. Die Bestimmung erfolgte per Radioimmunassay (ICN Biomedicals, Costa Mesa, USA).

Die funktionellen Aufnahmen erfolgten mit einer gemischt T1/T2-gewichteten RARE-Sequenz mit  $TR=1875$  ms,  $TE_{\text{eff}}=19,5$  ms, RARE-Faktor 6, einer Matrix von  $96 \times 96$ , einem FOV von  $3,5 \text{ mm}^2$  (räumliche Auflösung  $0,356 \times 0,356 \times 1 \text{ mm}^3$ ), einer zeitlichen Auflösung von 2 Bildern/min, 32 Dummy Scans (entspricht 1 min) und 80 Wiederholungen (entspricht 40 min). Als T2-sensitive Sequenz ist die RARE weniger empfindlich für den BOLD-Kontrast

als eine T2\*-sensitive Gradienten-Echo-Sequenz. Gradienten-Echo-Sequenzen haben jedoch den Nachteil, für Suszeptibilitätsunterschiede im Gewebe wesentlich empfindlicher zu sein. Wie Abb. 15 zeigt, führt dies zu bedeutenden Verzerrungen im Bereich des Innenohrs, die eine Darstellung von beispielsweise der Amygdala oder des ventralen HC unmöglich macht. Zudem sind T2\*-Sequenzen empfindlicher für Inflow-Effekte (Gao et al. 1996; Turner 1997) und den Beitrag großer Gefäße (Boxerman et al. 1995; Kennan et al. 1994). Die T2-Gewichtung erlaubt also, Signalveränderungen spezifischer zu werten. Die T1-Gewichtung entstand durch die Wahl eines verhältnismäßig kurzen TE, wodurch innerhalb von 30 s 13 Schichten aufgenommen werden konnten.

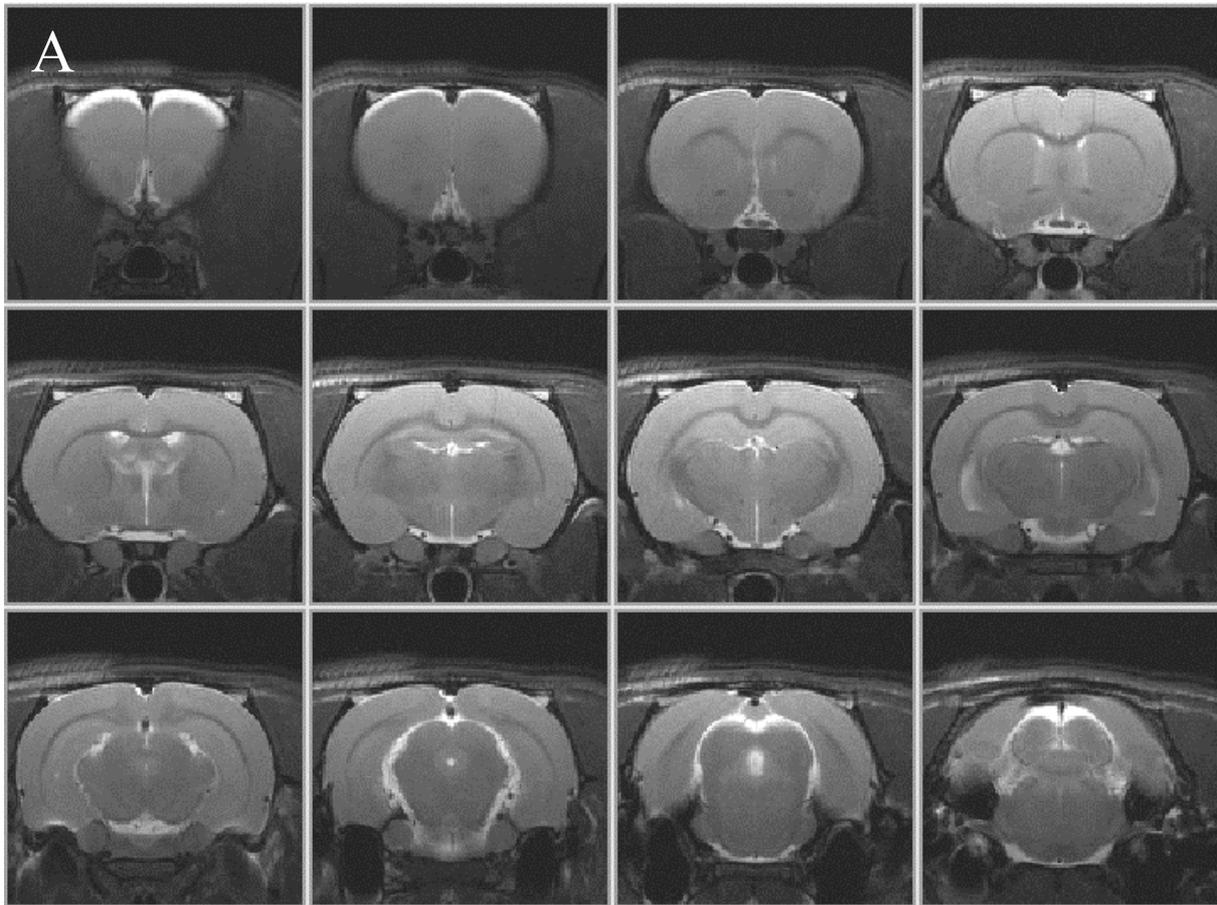


**Abb. 15** Vergleich einer T2\*-sensitiven Gradienten-Echo-Sequenz (FLASH), einer hauptsächlich T2-sensitiven Spin-Echo-Sequenz (SE-EPI) und einer gemischt T1/T2-sensitiven Spin-Echo-Sequenz (RARE). Die Suszeptibilitätsartefakte an der Grenze zwischen luftgefülltem Innenohr und Schädel verhindern in den BOLD-Kontrast-empfindlicheren FLASH- und SE-EPI-Aufnahmen die Darstellung beispielsweise der Amygdala (↗). Die weniger BOLD-sensitive RARE-Aufnahme wurde daher für das hypothesenfreie *Screening* des gesamten Hirns bevorzugt (zur Erklärung technischer Begriffe s. Anhang).

Vor Beginn der Messung wurde mit 4 ml/kg einer 2 mg/ml-Lösung Vecuroniumbromid (Norcuron, Organon Teknika, Deutschland, innerhalb einer Stunde vor Benutzung in NaCl gelöst) eine Muskelrelaxation durchgeführt, die ca. eine Stunde anhielt. Die phMRI-Messung wurde erst gestartet, nachdem sich der BP stabilisiert hatte (etwa 15 min). Zehn Minuten nach Meßbeginn wurde mit einer Geschwindigkeit von 0,4 ml/min 0,2 oder 1 mg/kg Diazepam (Diazepam-Lipuro, B.Braun, Deutschland) oder ein identisches Volumen Vehikel (Lipofundin MCT 20%, B.Braun) i.v. infundiert. Die niedrige Dosis war hierbei mit Vehikel aufgestockt, so daß ein Tier von 400 g stets 0,08 ml erhielt. Da der Katheter mit einer Venenverweilkanüle mit Injektionsventil abgeschlossen war, mußte zur Überwindung des Totraumes im Injektionsventil zusätzlich 0,1 ml gegeben werden. Der Katheter wurde dann bei derselben Geschwindigkeit mit 0,35 ml NaCl über den Hauptweg nachgespült.

Nach Abschluß des phMRI wurden anatomische Aufnahmen mit 96x96er (TR=5090 ms, TR<sub>eff</sub>=48,2 ms, RARE-Faktor 8, 4 Wiederholungen RARE) und mit 256x256er-Matrix (identische Parameter) in exakt derselben Schnitfführung wie das phMRI vorgenommen. Offensichtliche anatomische Unterschiede wurden dabei zwischen den Gruppen nicht gefunden (Abb. 16).

Am Ende der Untersuchung wurden die Tiere euthanasiert.



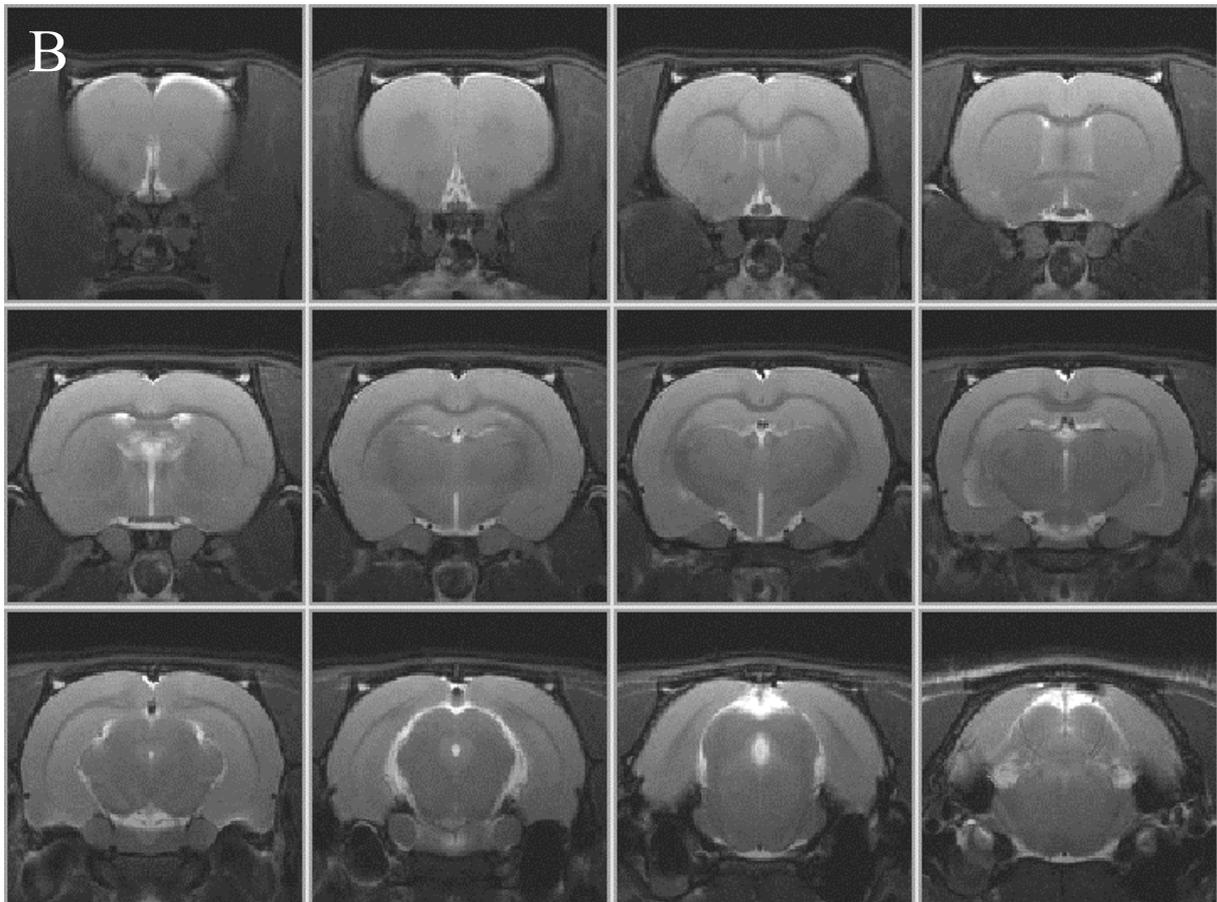
**Abb. 16 A** Morphologie des Gehirns einer HAB-Ratte (408 g) in der in Abb. 14 erläuterten Schnitfführung. Die letzte Schicht ist nicht dargestellt. Sequenz: RARE mit 256x256 Matrix (s. Text). **B (umseitig)** LAB-Ratte (424 g). Auffällige morphometrische Unterschiede konnten bei den beiden Linien nicht festgestellt werden.

#### 3.2.2.4 Datenanalyse

Die statistische Analyse der Datensätze erfolgte mit SPM99 (*statistical parametric mapping*, Wellcome Department, Großbritannien, Frackowiak et al. 1997).

Die Hirne wurden in den anatomischen Aufnahmen mit Hilfe des *region growing*-Algorithmus des FUNTool-Software-Pakets (Bruker, Deutschland) maskiert und die Masken

auf die auf 256x256 Pixel extrapolierten pHMRI-Datensätze übertragen. Diese wurden auf 15



Schichten erweitert, indem die erste und die letzte Schicht eines jeden Aufnahmezeitpunkts

verdoppelt wurden. Dies erlaubte in der darauffolgenden Normalisierung die Beibehaltung der ersten (nicht jedoch der letzten Schicht), so daß schließlich die Schichten 1 bis 12 ausgewertet werden konnten. Beim Import der Bilder in SPM99 wurde der Schichtabstand aller Tiere auf 1,2 mm angeglichen. Aufgrund der festen Einspannung der Tiere in die Kopfhalterung erwies sich eine Bewegungskorrektur als unnötig; die mit Hilfe der SPM-Bewegungskorrektur ermittelten translationellen und rotationellen Bewegungen der Hirne über 80 Aufnahmezeitpunkte überschritten nicht 6% der Kantenlänge eines Voxels. Zur Erstellung einer Normalisierungsvorlage (*template*) wurden in einem ersten Schritt fünf HAB- und fünf LAB-Hirne aus der Studie (mittleres Gewicht der Tiere 423 g) auf ein identisch vorbehandeltes und auf  $0,4 \times 0,4 \times 1,2 \text{ mm}^3$  geglättetes Hirn einer 400 g schweren, männlichen Wistar ratte normalisiert. Normalisierungsparameter waren: 12 Iterationen,  $7 \times 8 \times 7$  Basisfunktionen, very heavy regularization, nearest neighbour-Interpolation. Die normalisierten HAB- und LAB-Hirne wurden auf  $0,4 \times 0,4 \times 1,2 \text{ mm}^3$  geglättet und gemittelt. Das Mittelbild wurde dann als Normalisierungsvorlage für alle HAB- und LAB-Hirne der

Studie verwendet. Nach erfolgter Normalisierung wurden die Hirne auf 0,8x0,8x1,2 mm<sup>3</sup> geglättet.

Der Diazepam-Effekt (Zeitpunkte 20 bis 80) wurde datengestützt durch eine Gammafunktion ( $f(x) = (x^{a-1} e^{-x/b}) / (\Gamma(a) b^a)$ ,  $x > 0$ , Formparameter  $a=2$ ,  $b=10$ ) modelliert, die den Wiederanstieg des Signals in den ersten 15 bis 20 min nach Diazepam-Gabe hinreichend gut nachvollzog (s. Abb. 27, Ergebnisteil). Entsprechend üblicher Praxis wurden regelhaft auftretende Drifts durch einen Hochpaßfilter mit einer Periode von 4800 s (doppelte Scandauer) beseitigt. Bei zwei Tieren, bei denen die Messung durch technisches Versagen nach 72 bzw. 48 Wiederholungen abbrach, wurde mit einer Periodenlänge von 4320 bzw. 2880 s gefiltert. Die Inferenz basierte auf einem *fixed-effects*-Modell, da ein *random-effects*-Modell bei der geringen Gruppengröße nicht sinnvoll anwendbar war. Dementsprechend müssen alle Ergebnisse mit Vorsicht – im Sinne nicht konfirmatorischer, sondern hypothesengenerierender Analyse – interpretiert werden. Die Korrektur für multiple Vergleiche wurde nach der Gaußschen Feldtheorie durchgeführt. Statistische Schwelle war  $p < 0,05$ .

Zur beispielhaften Darstellung regionaler Signalverläufe wurden post hoc zwei Zielregionen, der linke mPFC (in dem sich ein maximaler HAB-LAB-Unterschied fand, s.u.) und der linke primärmotorische Kortex (MC1, in dem sich die beiden Linien kaum unterschieden), ausgewählt. Die Zielregion mPFC bestand aus einem Rechteck der Ausdehnung 0,6/2,4/1,2 mm in x/y/z-Richtung um den Mittelpunkt -5/12/-60 mm und umfaßte 85 Voxel (s. Abb. 25, Ergebnisteil). Die Zielregion MC1 bestand aus einer Kugel mit Radius 0,3 mm um den Mittelpunkt -30/22/-60 mm und umfaßte 109 Voxel (s. Abb. 26, Ergebnisteil). Beide Regionen wurden so in das *template* eingezeichnet, daß die Kortexoberfläche nicht berührt wurde. Dies geschah aufgrund der in Teil I beobachteten schwer interpretierbaren Zeitverläufe in oberflächlichen Voxeln. Um in die Mittelung der Zeitkurven alle Voxel in den Zielregionen einzubeziehen, wurde der F-Kontrast „effects of interest“ mit einer unkorrigierten Schwelle von  $p < 0,99$  verwendet. Die Kurven waren hochpaßgefiltert. Zur Darstellung von Einzelvoxel-Zeitkurven wurden ebenfalls hochpaßgefilterte Kurven herangezogen. Die weitere Auswertung der Zeitverläufe erfolgte mit Excel97.

Zur Beschreibung der Diazepam-induzierten BP-Veränderungen wurde die Differenz der Mittelwerte vor (Zeitpunkte 1 bis 22) und nach Diazepam (Zeitpunkte 23 bis 80 für „BP<sub>30min</sub>“ bzw. Zeitpunkte 23 bis 50 für „BP<sub>15min</sub>“) gebildet.

### 3.2.3 Ergebnisse

#### 3.2.3.1 Physiologische Parameter

Tab. 3 zeigt Alter, Gewicht, BP- und HF-Werte der Tiere. Keiner der Basalwerte unterschied sich signifikant zwischen den Linien, weder im Vergleich aller Tiere noch im dosisspezifischen Vergleich. Der BP stieg jeweils leicht an, was ein Effekt des hier verwendeten Vehikels war. Signifikant  $>0$  war der Anstieg jedoch nur in der LAB-Vehikel-Gruppe ( $BP_{30min}$  und  $BP_{15min}$ ) und in der HAB-0,2mg-Gruppe ( $BP_{15min}$ ). Unterschiede zwischen den Linien waren nicht signifikant. Physiologische Unterschiede können also nicht ursächlich für Unterschiede in der BOLD-Antwort gewesen sein.

Die ACTH-Plasma-Konzentrationen der Tiere vor Beginn des pHMRI lagen bei  $307 \pm 116$  pg/ml, die CORT-Konzentrationen bei  $1038 \pm 1034$  ng/ml. Typische basale Werte bei nicht-anästhesierten HAB- und LAB-Ratten sind  $<30$  pg/ml bzw.  $<100$  ng/ml; eine EPM-Exposition, die als schwacher emotionaler Streß eingestuft werden kann, führt akut (nach 5 min) zu ACTH-Werten von 150 - 350 pg/ml und CORT-Werten von 200 – 250 ng/ml. Ähnliche Effekte hat ein kombinierter emotionaler und physikalischer Streß wie der *Forced Swim*-Test (Liesch et al. 1998a). Die MR-Situation muß also als sehr starker Stressor betrachtet werden.

Linie	Diazepamdos is [mg/kg]	n	Alter [Tage]	Gewicht [g]	Basaler BP [mmHg]	Basale HF [min]	$BP_{30min}$ [mmHg]§	$BP_{15min}$ [mmHg]#
<b>HAB</b>	0,2	6	132±29	450±39	94±23	313±20 (n=5)	2,5±2,5	3,9±2,3*
	1	6	107±17	422±41	100±9	315±7 (n=4)	0,7±5	2,5±3,2
<b>LAB</b>	0	5	126±25	419±49	96±11	310±14 (n=3)	5,7±4,3*	8,6±4,2*
	0,2	6	125±17	409±31	114±35	331±20 (n=5)	1,9±6,8	6±8,1
	1	6	114±18	393±35	105±17	326±27 (n=4)	3±8,6	8,1±6,4

§ BP-Anstieg in 30 min nach DIA (Mittel der Zeitpunkte 23 bis 80 minus Mittel der Zeitpunkte 1 bis 22)  
# BP-Anstieg in 30 min nach DIA (Mittel der Zeitpunkte 23 bis 50 minus Mittel der Zeitpunkte 1 bis 22)  
\* signifikanter Anstieg ( $p < 0,05$ , t-Test)

**Tab. 3** Physiologische Werte.

### 3.2.3.2 BOLD-Signal

#### a) Karten

Abbildungen 17 bis 21 zeigen die BOLD-Signalveränderungen in den fünf Gruppen HAB-0,2 mg, HAB-1 mg, LAB-Vehikel, LAB-0,2 mg und LAB-1 mg. Blaue Voxel kennzeichnen einen signifikanten Signalabfall, rote einen Signalanstieg nach Diazepam- bzw. Vehikelgabe. Rote Voxel sind in allen Gruppen auf Ventrikel, Hohlräume, die Kortexoberflächen sowie Orte großer Gefäße (wie z.B. eine trianguläre basale Region in den Schichten 1 bis 3, die die vorderen Hirnarterien und -venen enthält) beschränkt und stellen somit keine parenchymalen Substanzeffekte dar. Sie werden daher im weiteren nicht diskutiert. Die parenchymale Diazepam-Antwort bestand ausschließlich in Signalreduktionen. Basierend auf der Annahme, daß dies durch eine erhöhte lokale dHb-Konzentration aufgrund verringerter neuronaler Aktivität bedingt war (s. Teil I), werden Diazepam-bedingte Signalreduktionen im folgenden auch als „Deaktivierung“ bezeichnet.

Das Vehikel selbst induzierte v.a. kortikal Signalreduktionen (Abb. 19). Der Effekt des Diazepam war jedoch stärker und wies eine Dosisabhängigkeit auf (vgl. Abb. 19 bis 22). Bei der hohen Dosis war der Diazepam-Effekt entsprechend der ubiquitären Rezeptorverteilung und den Ergebnissen von metabolischen und CBF-Kartierungsstudien (de Wit et al. 1991; Eintrei et al. 1999; Kelly et al. 1986; Laurie und Pratt 1989; Mathew et al. 1985; Mathew und Wilson 1991; Nehlig et al. 1987) global und verhältnismäßig homogen (Abb.n 18 und 21). Wie einleitend erwähnt (3.2.1.1) wiesen basale und kaudale Gebiete ein zu schlechtes SNR auf, um die Substanzeffekte hinreichend abzubilden. Der Vergleich der Abbildungen 18 und 21 scheint auf eine global stärkere Deaktivierung bei LAB-Ratten hinzuweisen.

Den direkten Vergleich zwischen HAB- und LAB-Ratten bei den beiden Dosen zeigen die Abbildungen 22 und 23. Der Unterschied war bei der niedrigen Dosis (Abb. 22) marginal und weitgehend auf Ventrikel, Hohlräume und Oberflächen beschränkt. (In blau kodierten Voxeln ist hier die Diazepam-Antwort der LAB-Ratten kleiner als die der HAB-Ratten, d.h. positive Signalveränderungen sind geringer und/oder negative Signalveränderungen stärker ausgeprägt. Da in nicht-parenchymalen Voxeln stets nur positive Signalveränderungen auftraten (s.o.), bedeutet dies, daß LAB-Ratten in blau kodierten nicht-parenchymalen Voxeln einen weniger starken Signalanstieg auf Diazepam hin aufwiesen.) Mutmaßlich parenchymale Unterschiede fanden sich lediglich in Schicht 1 (rot, unklar, ob oPFC oder Nucleus olfactorius oder auch Oberfläche zwischen den beiden) und in den Schichten 3, 4 und 7 (blau,

Basalganglien und HC). Da in parenchymalen Voxeln stets nur negative Signalveränderungen (Deaktivierungen) auftraten (s.o.), bedeutet dies, daß LAB-Ratten hier in rot kodierten parenchymalen Voxeln einen geringeren und in blau kodierten parenchymalen Voxeln einen stärkeren Signalabfall nach Diazepam zeigten. (Die Diazepam-Antwort war bei LAB-Ratten blauen Voxeln sozusagen „stärker“.)

Bei der hohen Dosis (Abb. 23) unterschieden sich HAB- und LAB-Ratten hingegen deutlich. Alle roten Voxel fanden sich wieder lediglich in nicht-parenchymalen Regionen, in denen folglich LAB-Ratten einen stärkeren Signalanstieg nach Diazepam hatten. Der Vergleich demonstriert, daß die stärkere (stärker negative, „blaue“) parenchymale Diazepam-Antwort der LAB-Ratten keineswegs global homogen, sondern im mPFC, im Zingulum, in den Basalganglien, im Thalamus und in einigen Kortexbereichen zu lokalisieren ist. Hingegen sind weite rostrale Kortexareale und der größte Teil des HC ausgespart. LAB-Ratten reagierten also nicht einfach global stärker auf Diazepam (was angesichts des stärkeren anxiolytischen Verhaltenseffekts auf HAB-Ratten auch eher kontraintuitiv gewesen wäre), sondern in „ausgewählten“ Regionen.

Erst der Vergleich HAB (1 mg minus 0,2 mg) vs. LAB (1 mg minus 0,2 mg) erlaubte jedoch die Identifikation von Unterschieden zwischen HAB- und LAB-Ratten in der Antwort auf 1 mg/kg Diazepam unter sicherem Ausschluß von Vehikeffekten (Abb. 24). Alle rot kodierten Voxeln konnten aufgrund ihrer nicht-parenchymalen Lage von der Benennung von Kandidatenregionen für die unterschiedliche Regulation des Angstverhaltens in HAB- und LAB-Ratten ausgeschlossen werden. Das auffällige blaue Cluster in den Schichten 1 bis 5 umfaßt den ventro- und medioorbitalen PFC (Paxinos-Region VO, MO, Schicht 1), den medialen PFC (PrL, evtl. IL, Schichten 1, 2), den ACC (Cg1, Cg2, Schichten 1 bis 5) sowie Anteile des sekundärmotorischen Kortex (M2, Schichten 1 bis 4) und wird im folgenden kurz als mPFC/ACC bezeichnet. Im Falle des rechts basal sich anschließenden Clusters in Schicht 2 kann nicht eindeutig bestimmt werden, ob es sich um kaudale Anteile des VO, rostrale Bereiche des Caudatomputamen (CPu) oder den Nucleus accumbens (NAc, Paxinos: Acb) handelt.

Kleinere, vereinzelte blaue Cluster erhalten dort Glaubwürdigkeit, wo sie eindeutig parenchymal liegen und zudem in der weniger stringent berechneten Abbildung 23 Teil größerer Cluster sind. Es sind dies die Basalganglien (CPu, Schichten 3 bis 5) mit einem Schwerpunkt möglicherweise im lateralen Globus pallidus (LGP, Schicht 4); die linken primärmotorischen und primärsensorischen Kortex (M1, S1, Schichten 5 und 6); der mediodorsale und zentromediane Thalamus (MD, CM, Schicht 6); die Habenula (Hb, Schicht

8), der rechte dorsale laterale Kniehöcker (DLG, Schichten 8 und 9); das Hintere Zingulum (retrosplenialer Kortex, RS, Schichten 8 bis 11); die Colliculi superiores (u.a. SuG, Schicht 10); das rechte Subikulum/CA1 (S, CA1, Schicht 10) und die rechten primären und sekundären visuellen Kortizes (V1, V2, Schicht 11, Tab. 4).

Es sei jedoch angemerkt, daß morphologische Abweichungen der einzelnen Tiere in den hinteren Schichten i.A. am stärksten waren und die Normalisierung dort erschwerten. Dies stellt oberflächennahe Regionen wie den Kniehöcker, die Colliculi und die visuellen Kortizes als Kandidatenregionen in Frage. Angesichts seiner medianen, d. h. gefäßnahen Lage sollte auch die Einstufung des Hinteren Zingulums (PCC) als Kandidatenregion nur unter Vorbehalt geschehen. Des weiteren ist jede anatomische Zuordnung kleiner Cluster angesichts von Glättungs- und Normalisierungsschritten, die zur Berechnung der Karten notwendig sind, zwangsläufig mit Unsicherheit behaftet. Schließlich können Rechts-Links-Unterschiede angesichts der bereits in Teil I festgestellten nicht völlig homogenen Ausleuchtung der Oberflächenspule kaum interpretiert werden. Sie werden daher im folgenden nicht diskutiert.

Schicht	Paxinos-Nomenklatur*	Kandidatenregion	T-Wert#	Z-Wert#	Koordinaten# [mm]
1 2 3 4 5 2	PrL, VO, MO Cg1, PrL, (IL), M2 Cg1, Cg2, M2 Cg1, Cg2, M2 Cg1, Cg2 VO, CPu oder Acb? (rechts)	<b>mPFC/ACC</b>     <b>?</b>	8,24	∞	-5/11/-60
3 4 5	CPu CPu, LGP CPu	<b>Basalganglien</b>	6,21	6,18	-23/-23/-36
5 6	M1, S1 (links) M1, S1 (links)	<b>Primärer motorischer und somatosensorischer Kortex</b>	8,09	∞	-16/34/-24
6	MD, CM	<b>Thalamus</b>	6,24	6,23	3/-25/-12
8	Hb	<b>Habenula</b>	5,56	5,59	18/-1/12
8 9	DLG (rechts) DLG (rechts)	<b>Lateraler Kniehöcker</b>	6,82	6,78	27/-3/24
8 9 10 11	RS RS RS RS	<b>Hinteres Zingulum</b>	7,54	7,48	-11/23/48
10	SuG u.a.	<b>Colliculi superiores</b>	8,64	∞	1/5/36
10	S, CA1 (rechts)	<b>Hippokampus</b>	6,34	6,3	51/-1/36
11	V1, V2 (rechts)	<b>Primärer und sekundärer visueller Kortex</b>	4,71	4,69	33/23/48

\* nach Paxinos und Watson (1998)  
# im Maximum des Clusters

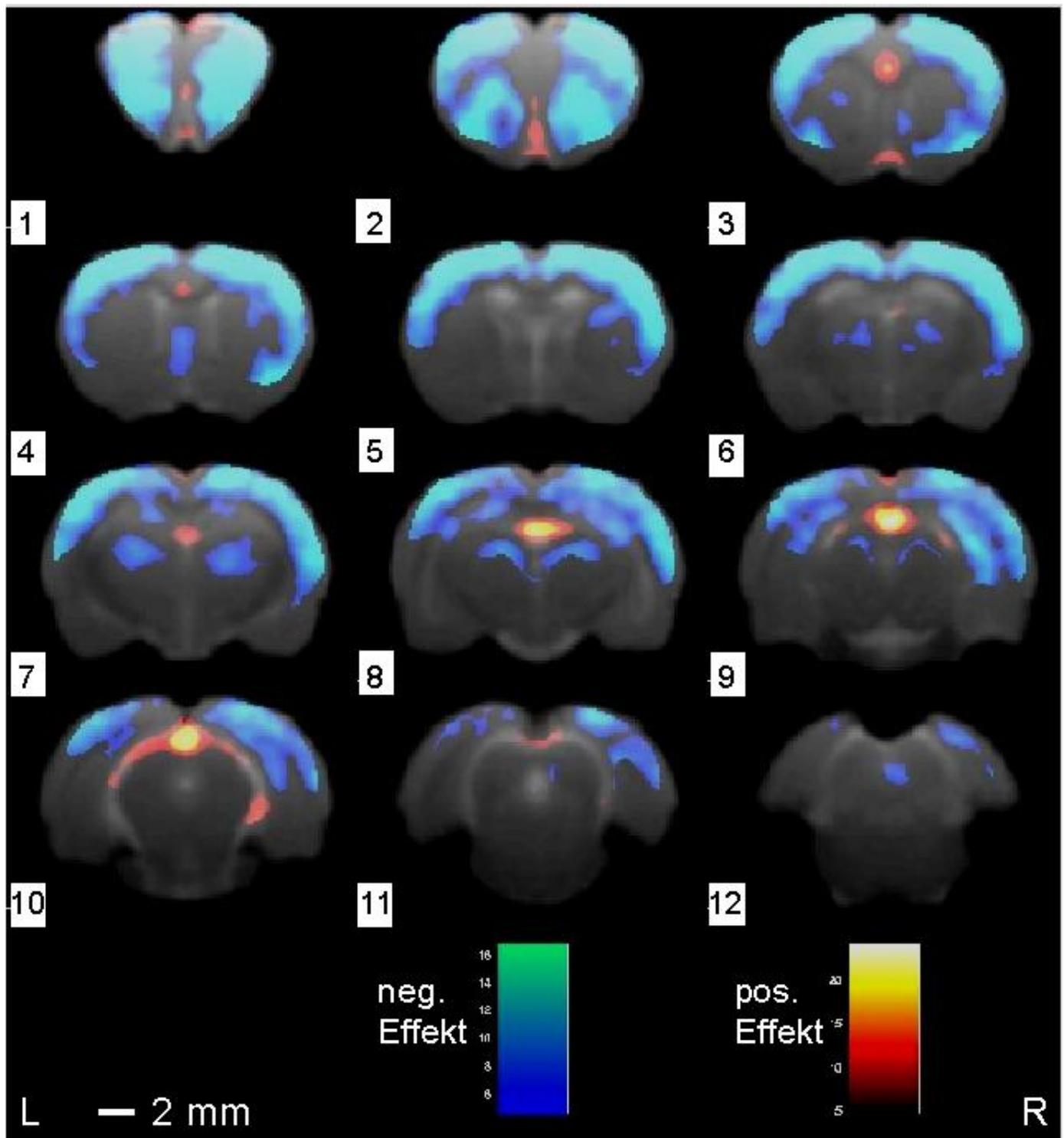
**Tab. 4** Kandidatenregionen für die unterschiedliche Regulation des Angstverhaltens in HAB- und LAB-Ratten.

## b) Zeitkurven

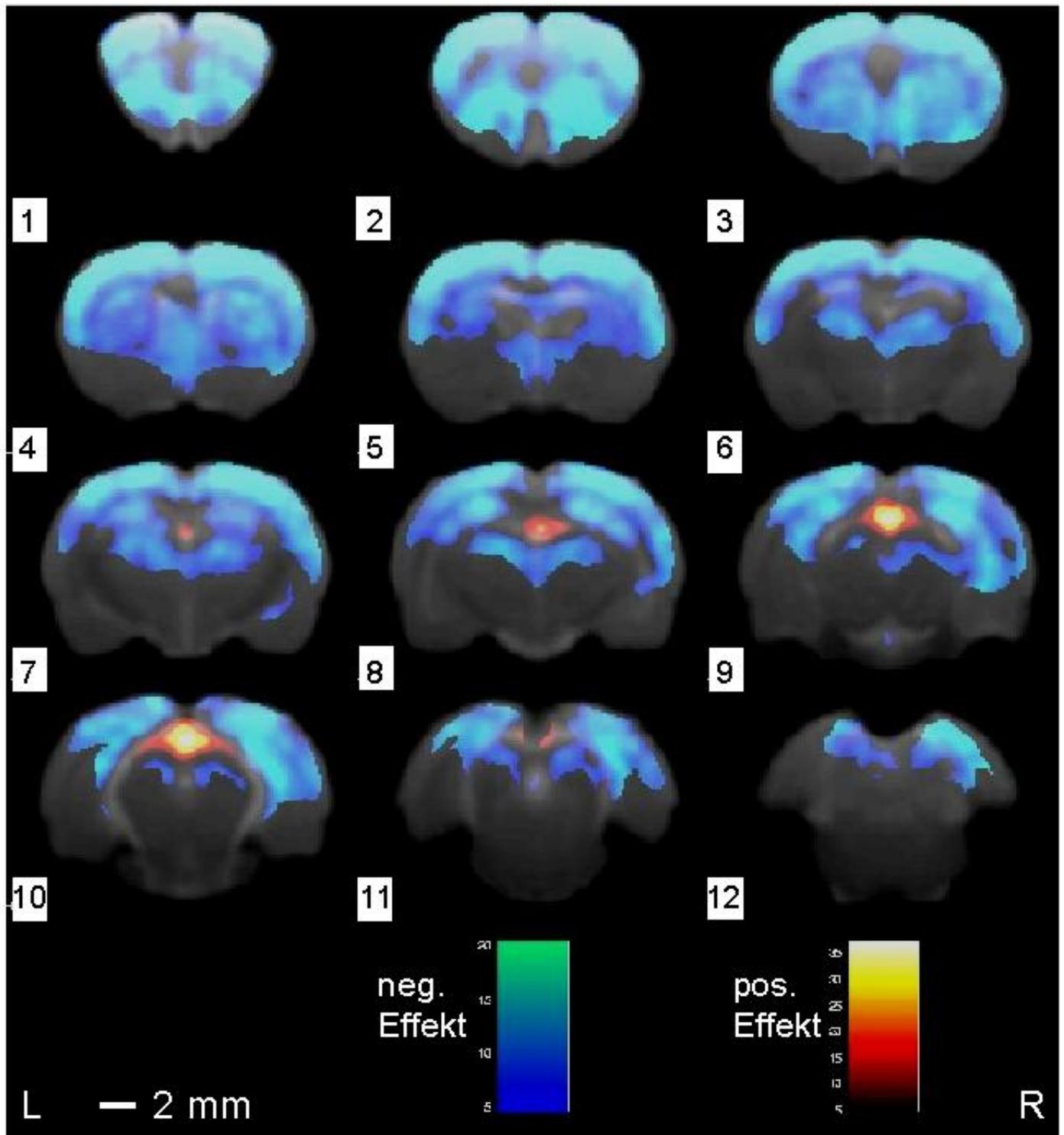
Abb. 25 zeigt mittlere BOLD- und BP-Zeitverläufe aus dem linken mPFC/ACC. Der deutlich ausgeprägte Antwortunterschied bei der hohen Dosis wird sofort ersichtlich. Er äußert sich sowohl in Amplitude als auch in Dauer der Antwort. In HAB-Ratten ist die Diazepam-Gabe gar von einem unmittelbaren, ca. fünf Minuten anhaltenden Signalanstieg gefolgt. Dieser ist außer in der LAB-1mg-Gruppe auch in allen anderen Gruppen zu finden und ist somit nicht mit Sicherheit von einem Vehikeleffekt zu trennen. (Der Verdacht eines kurzzeitigen, nur in der LAB 1 mg-Gruppe von der starken Diazepam-Antwort maskierten BP-Effektes, konnte nach Inspektion von BP- und BOLD-Zeitkurven der einzelnen Tiere nicht bestätigt werden.)

Abb. 26 zeigt Zeitkurven aus einer Vergleichsregion ohne HAB-LAB-Unterschiede (linker primärmotorischer Kortex). Der Vergleich mit dieser Region macht die Stärke der Diazepam-Antwort im mPFC/ACC der LAB-Ratten (Abb. 25) deutlich. Der für HAB-Ratten im mPFC/ACC typische initiale Signalanstieg war im primärmotorischen Kortex nicht zu finden.

BOLD-Signal-Verläufe und Fits aus dem Einzelvoxel mit dem höchsten Antwortunterschied im mPFC/ACC (Koordinaten  $-5/11/-60$  in Schicht 2) zeigt Abb. 27.



**Abb. 17** Diazepam-Effekt in **HAB-Ratten (0,2 mg/kg)**. Farbtabelle bezeichnet t-Werte einer SPM-Statistik. Statistische Schwelle:  $p < 0.05$ , korrigiert für multiple Vergleiche. Blaue Voxel: Signalabfall nach Diazepam. Rote Voxel: Signalanstieg.



**Abb. 18** Diazepam-Effekt in **HAB-Ratten (1 mg/kg)**.  $p < 0.05$  korrigiert. Blaue Voxel: Signalabfall nach Diazepam. Rote Voxel: Signalanstieg.

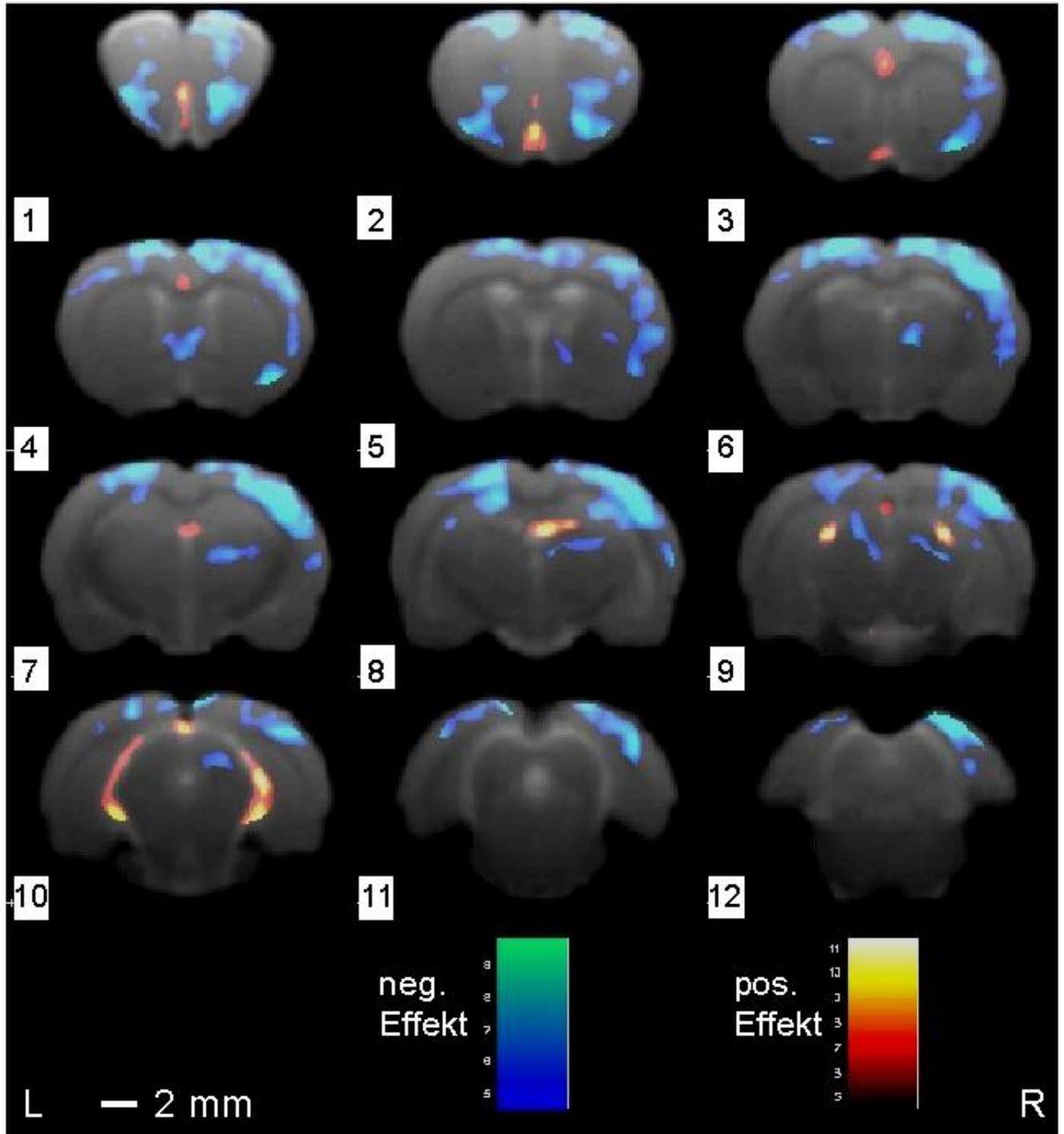


Abb. 19 Vehikel-Effekt in LAB-Ratten.  $p < 0.05$  korrigiert. Blaue Voxel: Signalabfall nach Vehikel. Rote Voxel: Signalanstieg.

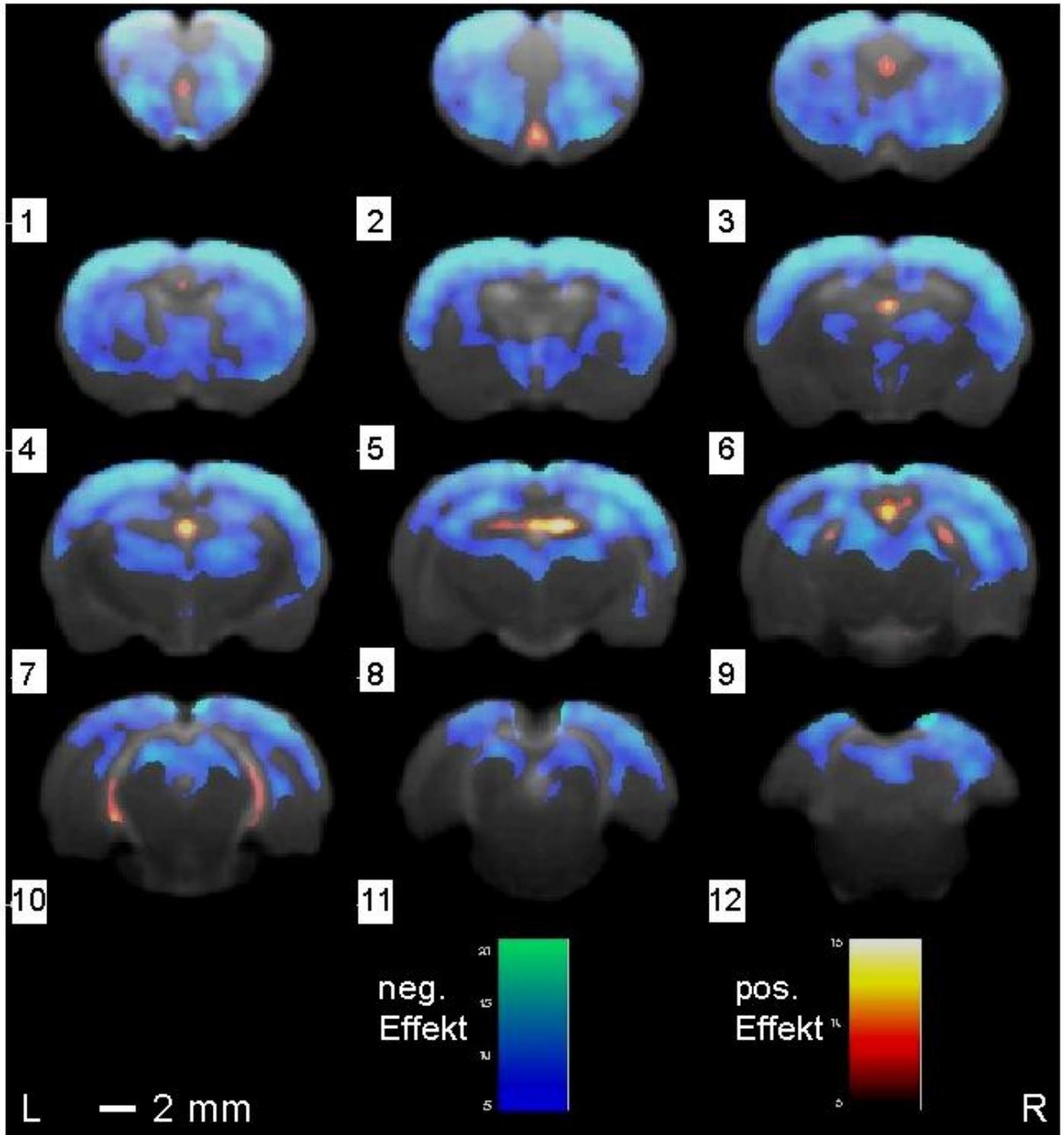
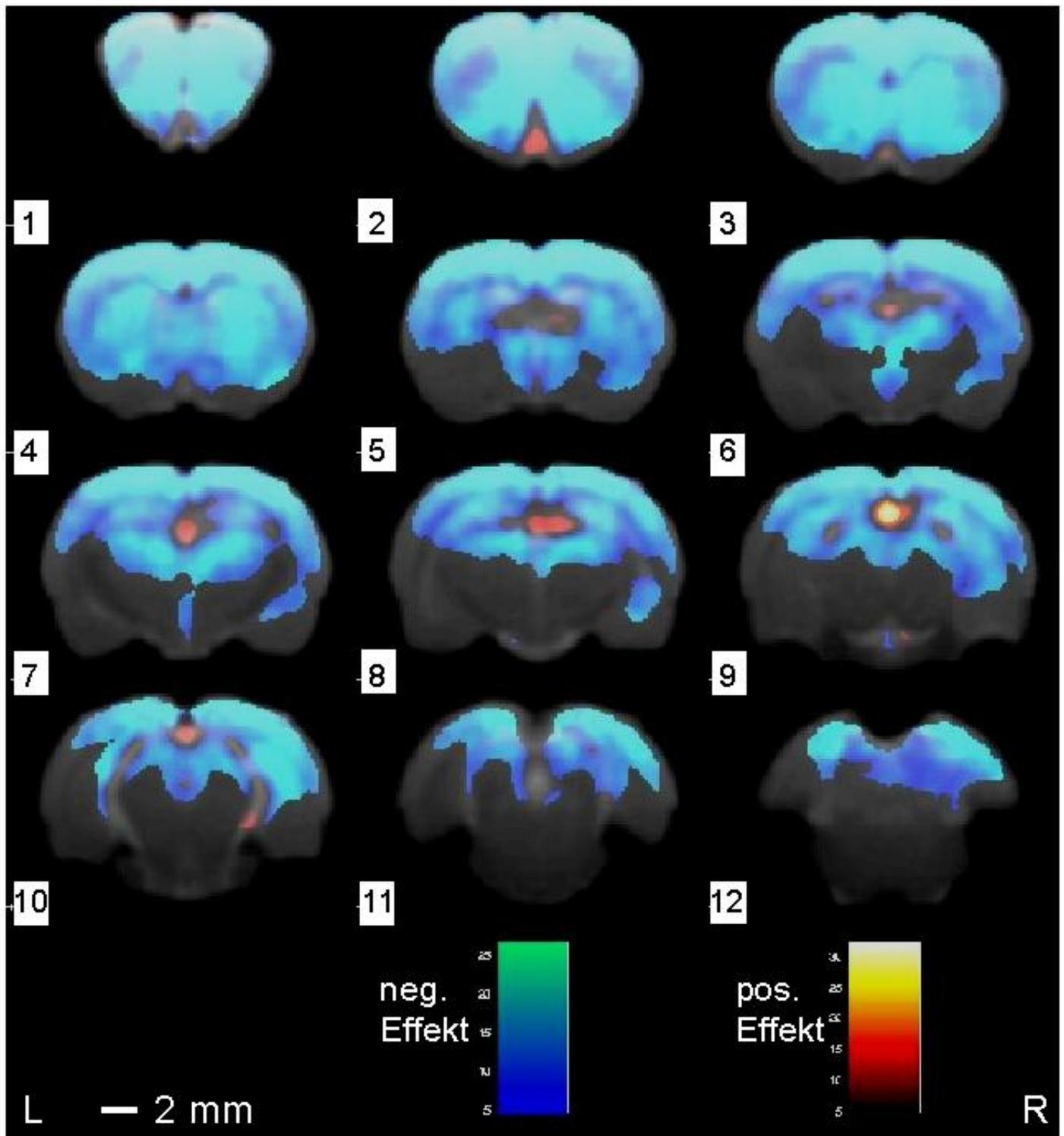
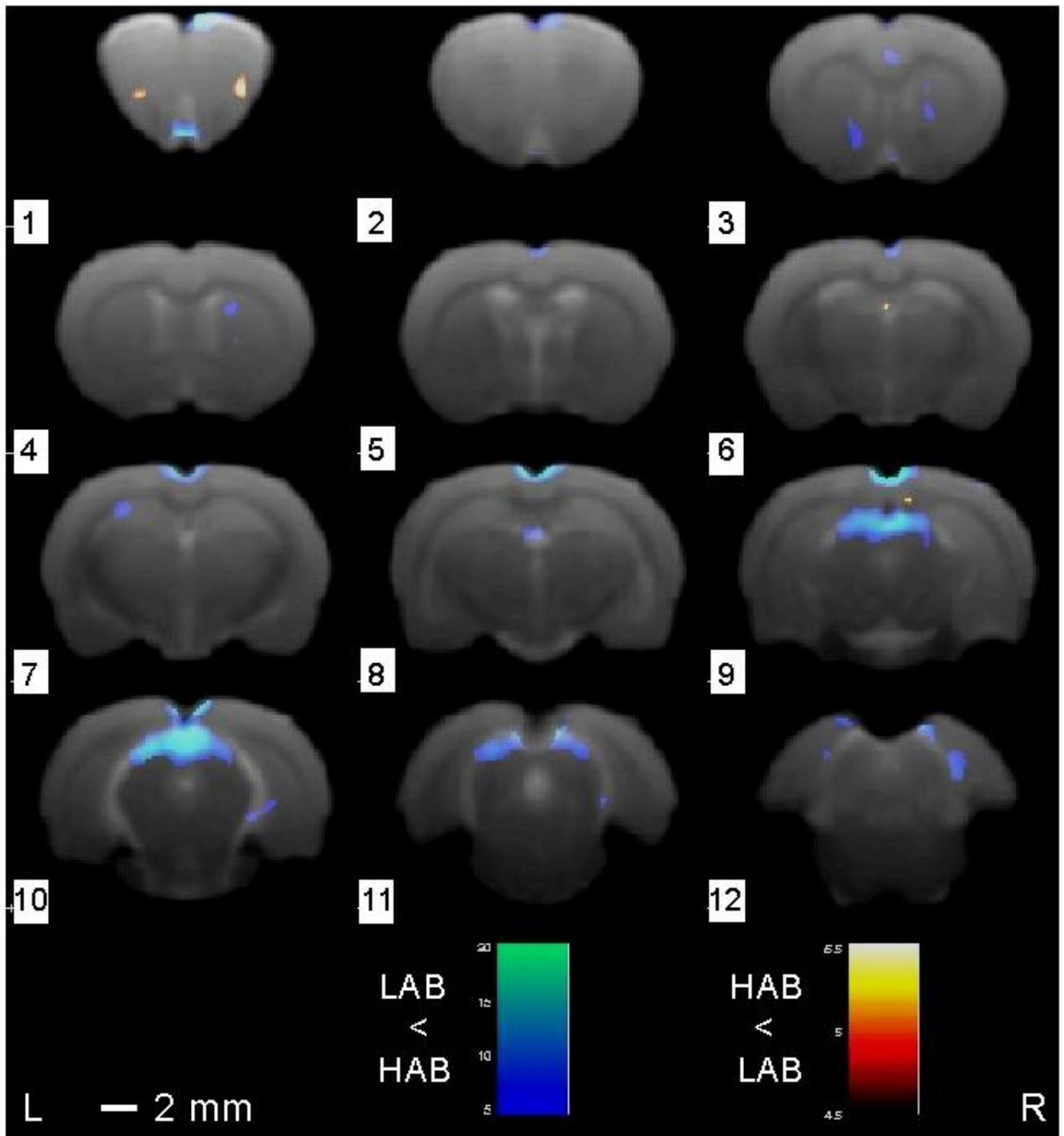


Abb. 20 Diazepam-Effekt in LAB-Ratten (0,2 mg/kg).  $p < 0.05$  korrigiert. Blaue Voxel: Signalabfall nach Diazepam. Rote Voxel: Signalanstieg.



**Abb. 21** Diazepam-Effekt in LAB-Ratten (1 mg/kg).  $p < 0.05$  korrigiert. Blaue Voxel: Signalabfall nach Diazepam. Rote Voxel: Signalanstieg.



**Abb. 22** Vergleich des Diazepam-Effekt in **HAB- vs. LAB-Ratten** bei **0,2 mg/kg**,  $p < 0.05$  korrigiert. Blaue Voxel: Antwort in LAB-Ratten kleiner, d.h. Signalanstiege mit kleinerem Betrag, Signalreduktionen mit größerem (negativen) Betrag. Signalreduktionen/Deaktivierungen nach Diazepam (die „Diazepam-Antwort“) sind also in blauen Voxeln bei LAB-Ratten „stärker“ als bei HAB-Ratten. Rote Voxel: Antwort in LAB-Ratten größer, d.h. Signalanstiege mit größerem Betrag, Signalreduktionen mit kleinerem (negativen) Betrag. Signalreduktionen nach Diazepam (die „Diazepam-Antwort“) sind also in roten Voxeln bei LAB-Ratten „schwächer“ als bei HAB-Ratten. S.a. Text.

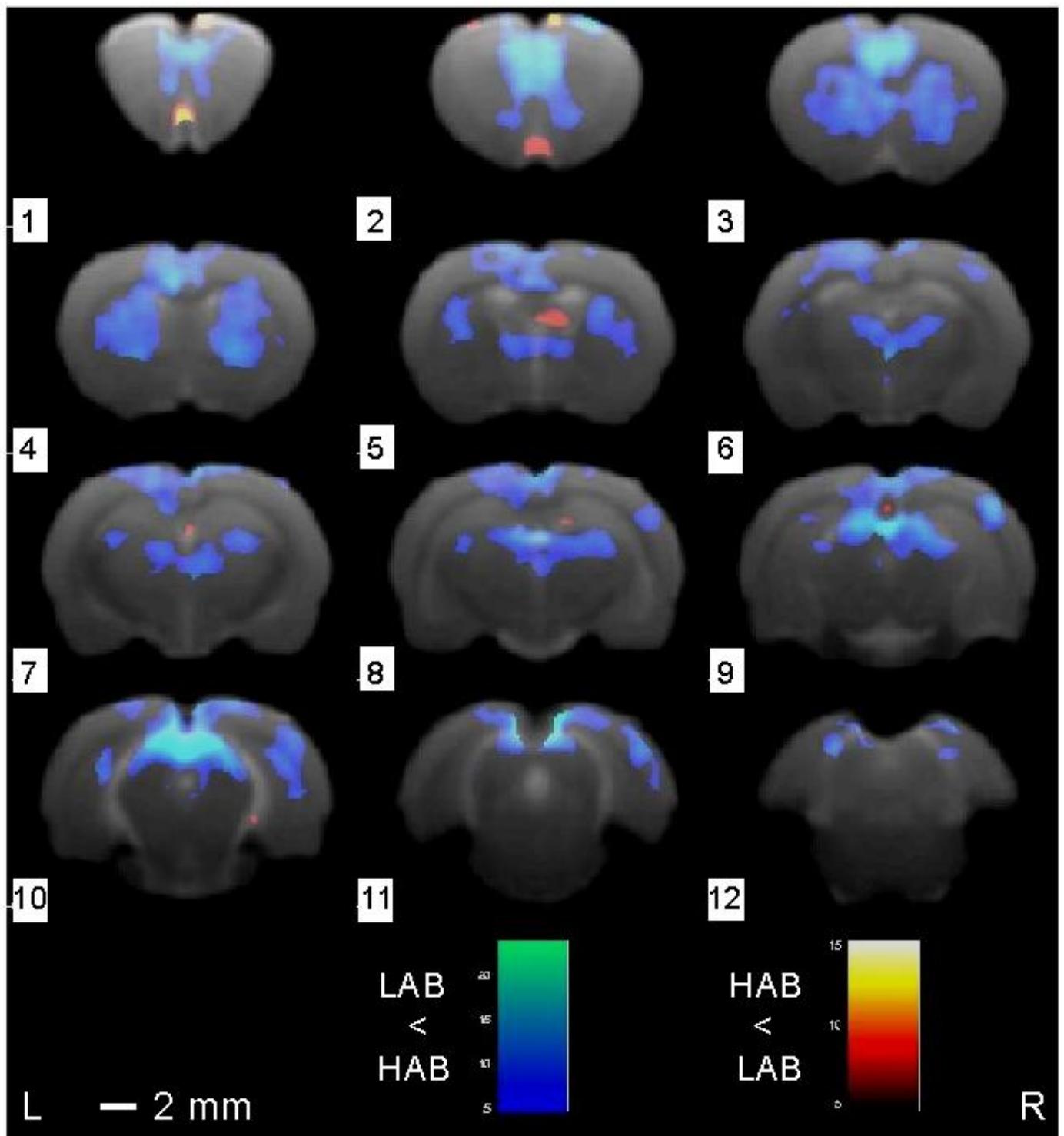
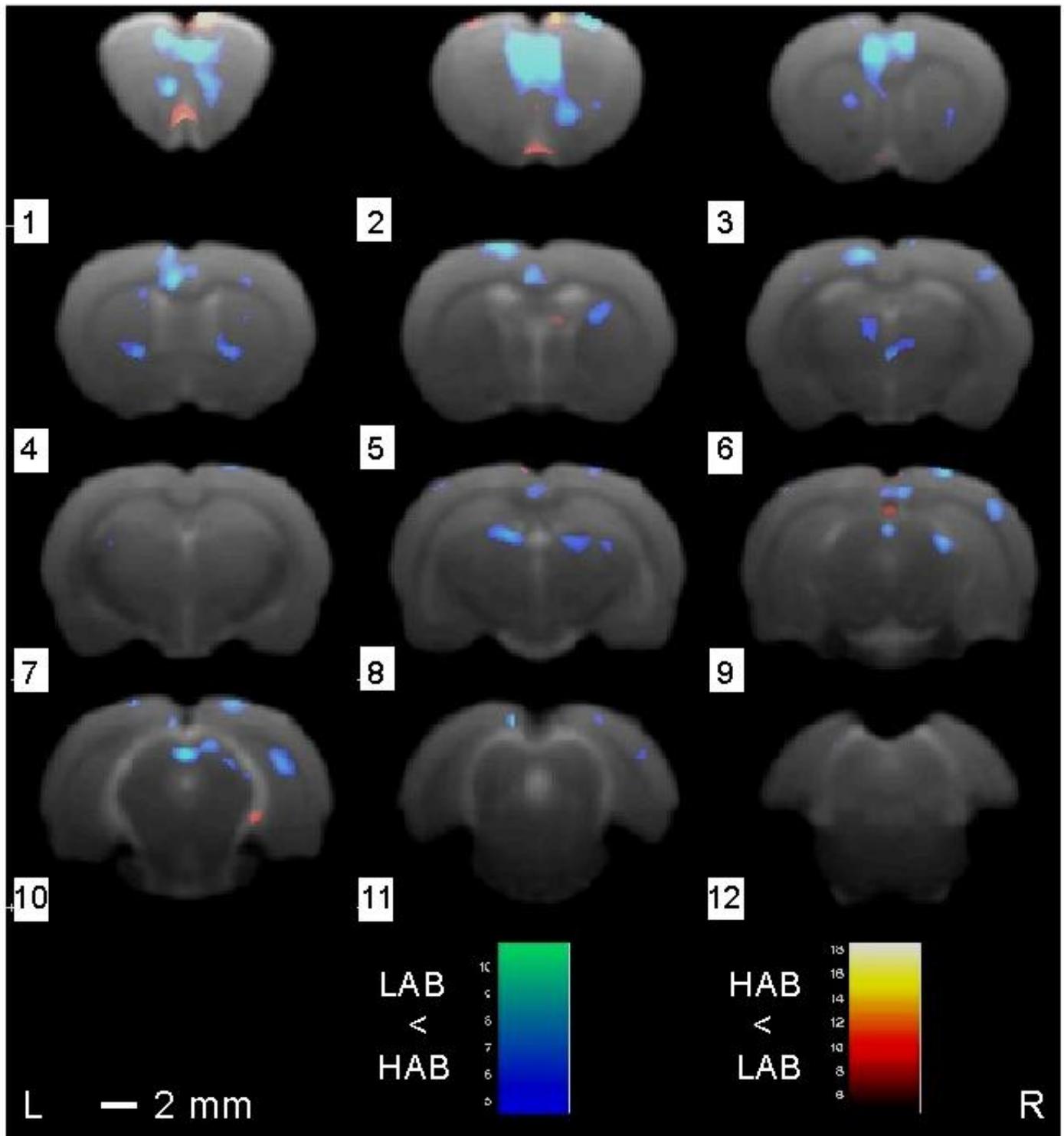
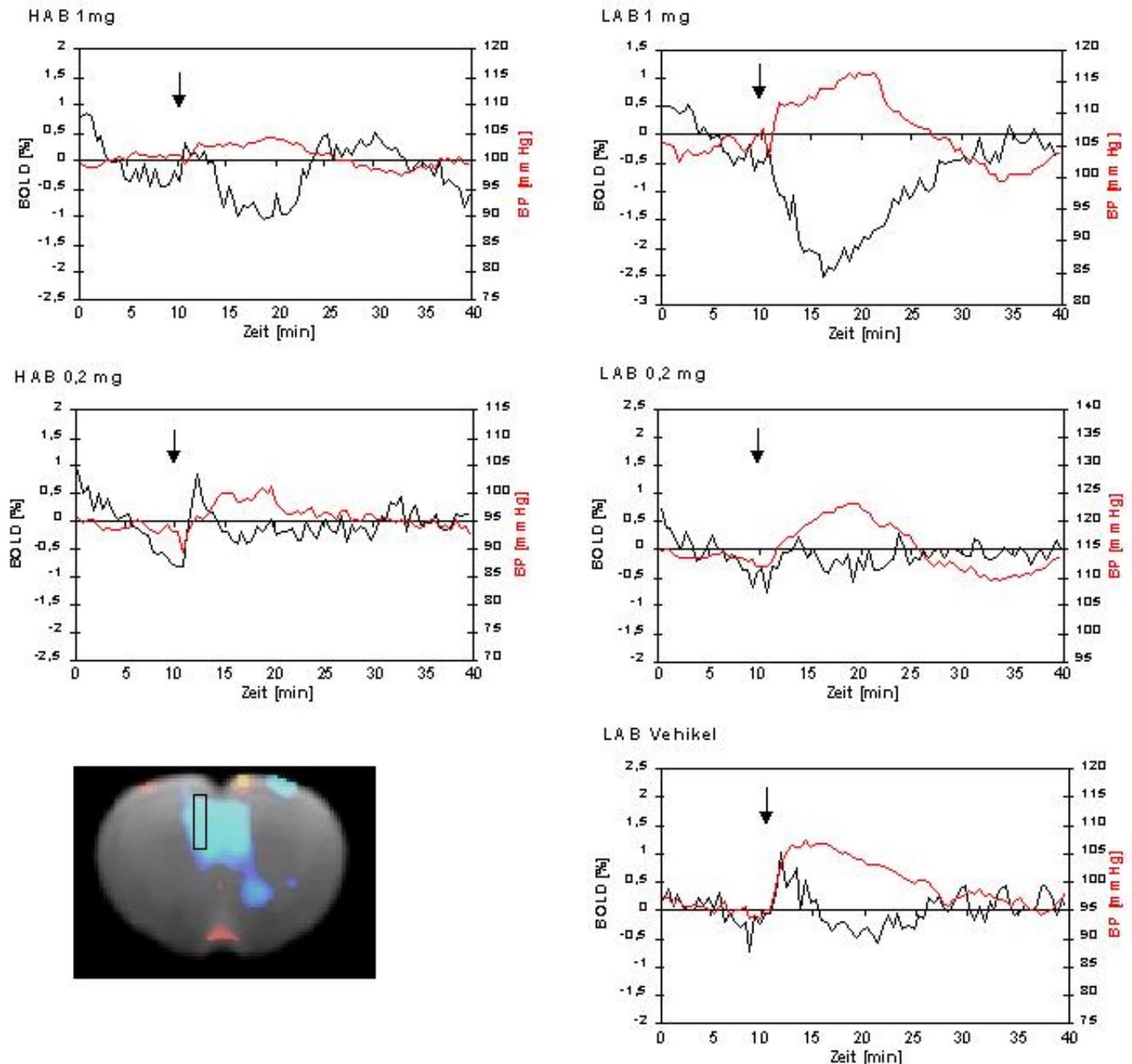


Abb. 23 Vergleich des Diazepam-Effekt in **HAB-** vs. **LAB**-Ratten bei **1 mg/kg**.  $p < 0.05$  korrigiert. Für Definition blauer und roter Voxel s. Abb. 22 und Text.



**Abb. 24** Vergleich des Diazepam-Effektes in **HAB-** vs. **LAB**-Ratten. Durch die Subtraktion der niederen von der hohen Dosis (**HAB(1 mg minus 0,2 mg) vs. LAB(1 mg minus 0,2 mg)**) schließt dieser Vergleich Vehikeleffekte sicher aus. Für Definition blauer und roter Voxel s. Abb. 22 und Text.

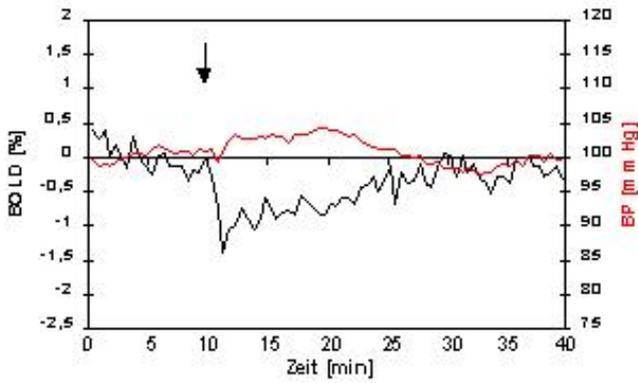
## mPFC



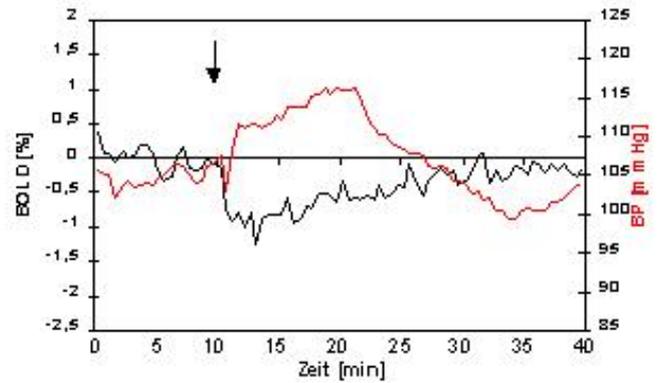
**Abb. 25** Zielregion linker medialer PFC: Mittlere BOLD-Signalverläufe (schwarz) und Blutdruck-Verläufe (BP, rot) in den fünf experimentellen Gruppen. Diazepam oder Vehikel wurden nach 10 min i.v. gespritzt (↓). Das Insert zeigt die Lokalisierung der Zielregion in Schicht 2 aus Abb.24. LAB-Ratten zeigen in Übereinstimmung mit der SPM-Auswertung bei 1 mg/kg sowohl in Amplitude als auch Dauer eine stärkere Diazepam-Antwort. Der (nicht signifikante) BP-Anstieg ist offensichtlich durch das Vehikel bedingt. Der Trend zu einer stärkeren BP-Antwort bei LAB-Ratten hielt statistischer Testung nicht stand ( $p=0.09$ , t-Test), könnte jedoch im Zusammenhang mit der autonomen Regulationsfunktion des mPFC von Interesse sein. Der initiale Anstieg in HAB-Ratten bei 1 mg läßt sich nicht vom Vehikeleffekt unterscheiden.

# Primärmotorischer Kortex

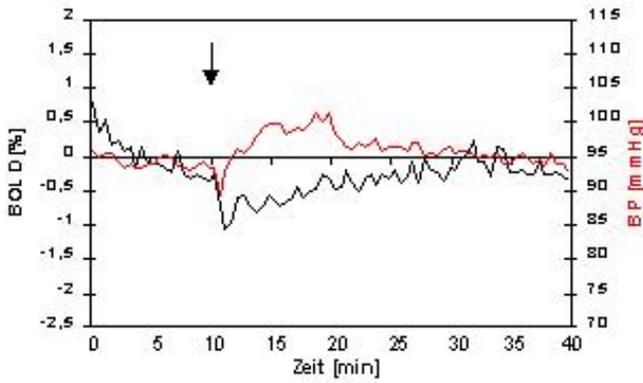
HAB 1 mg



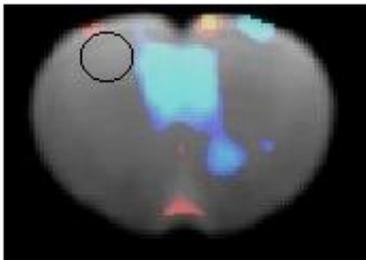
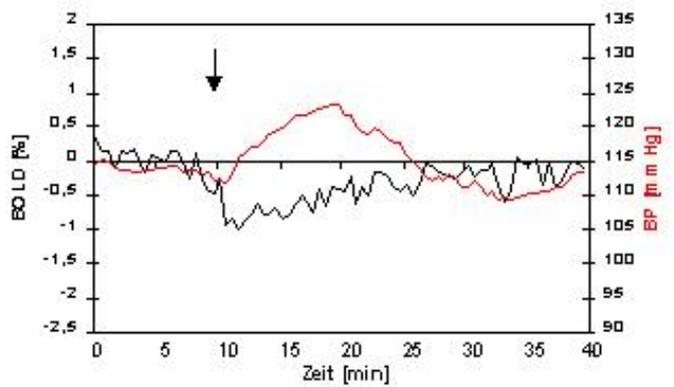
LAB 1 mg



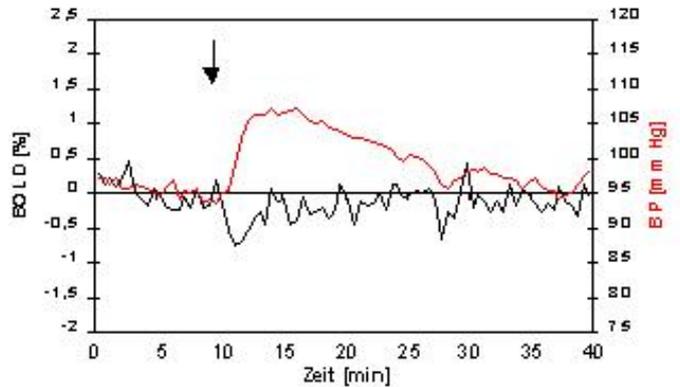
HAB 0,2 mg



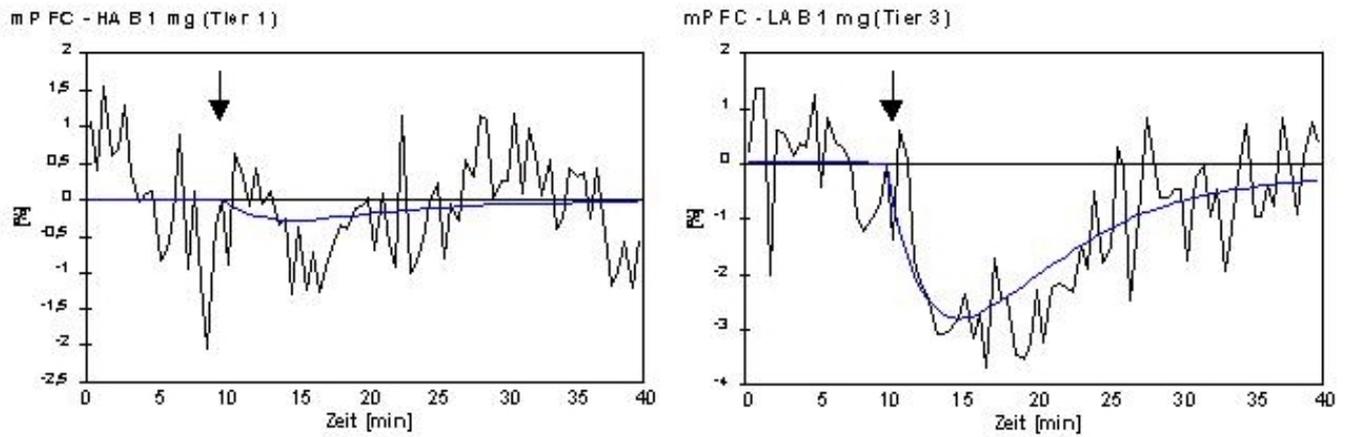
LAB 0,2 mg



LAB Vehikel



**Abb. 26** Kontrollregion linker primärmotorischer Kortex. Weder die SPM-Auswertung noch der Kurvenvergleich ergeben offensichtliche Unterschiede zwischen HAB- und LAB-Ratten.



**Abb. 27** BOLD-Zeitkurven und Fits (blau) aus dem Voxel mit dem höchsten t-Wert (höchsten Unterschied zwischen HAB- und LAB-Ratten) im mPFC/ACC in Abb. 24. Aufgrund des initialen BOLD-Anstiegs bei HAB-Ratten, ist der Fit in HAB-Ratten schlechter. ↓: Diazepam.

### 3.2.4 Diskussion

Wesentliches Ergebnis des phMRI-Screens auf Kandidatenregionen, die in die unterschiedliche Regulation des Angstverhaltens bei hyperängstlichen HAB- und hypoängstlichen LAB-Ratten involviert sein könnten, war die Identifikation einer zusammenhängenden Region im medianen frontalen Kortex (mPFC/ACC). Angesichts von Amplitude und räumlicher Ausdehnung des Effekts erscheinen alle anderen Kandidatenregionen als zweitrangig.

Da die Unterschiede trotz Anästhesie und einer maximalen Aktivierung der HPA-Achse, die eine Nivellierung bestehender emotionaler Differenzen vermuten lassen, gefunden wurden, dürfen sie zudem als sehr robust betrachtet werden. Sie sollten sicher nicht als „Abbildung“ emotionaler Unterschiede, sondern eher als Ausdruck zugrunde liegender biologischer Differenzen (etwa im Rezeptorbesatz) zwischen den beiden Linien verstanden werden.

#### 3.2.4.1 Biologisches Korrelat der BOLD-Antwort

##### a) Mögliche nicht-neuronale Korrelate

Angesichts des indirekten Zusammenhangs zwischen Hirnaktivität und BOLD (s. Teil I) muß begründet werden, daß die beobachtete Signalabschwächung nach Diazepam nicht artifiziell zustande gekommen ist, sondern tatsächlich das Korrelat einer neuronalen Deaktivierung ist. Ein Blutdruckartefakt konnte ausgeschlossen werden. Wiederholt wurde in der Literatur ein direkter zerebrovasokonstriktorischer Effekt von Diazepam vermutet (Baldy-Moulinier et al. 1977; Carlsson et al. 1976; Nugent et al. 1982; Renou et al. 1977, s. jedoch auch Lasbennes und Seylaz 1986; Roald et al. 1986; Vernhiet et al. 1978). Dies könnte ebenfalls eine Signalabschwächung hervorrufen. Andererseits konnte in der Literatur kein Beleg für GABA-Rezeptoren auf Hirngefäßen gefunden werden. Zudem waren die gefundenen Unterschiede zwischen HAB- und LAB-Ratten nicht global, sondern auf einzelne Regionen beschränkt. Es ist jedoch nicht völlig auszuschließen, daß sich ein potentieller vasokonstriktorischer Effekt regional heterogen auswirkt, wenn tonische regionale Perfusionsunterschiede (und damit Unterschiede in der Anflutung der Substanz) bestehen.

Solche pharmakokinetischen Effekte könnten neben potentiell vasokonstriktorisch (über Gefäßrezeptoren) vermittelten Unterschieden auch neuronal (über Rezeptoren auf Neuronen)

vermittelte Unterschiede hervorrufen. Da Perfusionsunterschiede wahrscheinlich Ausdruck unterschiedlicher regionaler Hirnaktivität sind (s. 2.1.1), werden diese Möglichkeit und ihre Implikationen erst im folgenden Abschnitt weiter diskutiert. Es sei hier erwähnt, daß derzeit in einem Folgeprojekt die Möglichkeit von Perfusionsunterschieden im mPFC/ACC überprüft wird.

Unterschiedliche Parenchymvolumina würden sich ebenfalls auf die Stärke der BOLD-Antwort auswirken. Beispielsweise könnte die schwächere Diazepam-Antwort im mPFC/ACC der HAB-Ratten mit einer geringeren Kortexdicke erklärt werden. Abb. 25 zeigt jedoch, daß die Antwort-Amplitude in HAB-Ratten (1 mg) etwa 2,5 mal kleiner ist als in LAB-Ratten. Die Bestimmung einer Fläche unter der Kurve würde wahrscheinlich einen noch größeren Faktor liefern. Angesichts der Abwesenheit offensichtlicher morphologischer Unterschiede zwischen HAB- und LAB-Tieren (Abb. 16) kann mit an Sicherheit grenzender Wahrscheinlichkeit ausgeschlossen werden, daß ein wesentlicher Anteil der Antwortunterschiede morphologisch bedingt ist. Angesichts des unlängst berichteten Zusammenhangs zwischen Angst und HC-Volumen bei Depressiven (Rusch et al. 2001) wird sich dennoch ein Folgeprojekt mit Morphometrie bei HAB- und LAB-Ratten befassen.

#### b) Mögliche neuronale Korrelate

Durch welchen neuronalen Mechanismus lassen sich Unterschiede in der Antwort auf Diazepam erklären? Die naheliegendste Hypothese ist ein Unterschied in Vorkommen oder Funktion des neuronalen BZP-Rezeptors. So könnte der Rezeptor in den betroffenen Regionen unterschiedlich dicht verteilt sein oder unterschiedliche Affinität zu Diazepam haben. Die bisher bekannten Daten zum Diazepam-Rezeptor in HAB- und LAB-Ratten – keine Unterschiede in Konzentration und Bindungseigenschaften im Kortexhomogenisat (Hermann et al. 2000) – lassen keine Entscheidung über diese Hypothese zu. Hingegen wurde in einer anderen Rattenlinie mit erhöhter Emotionalität (Maudsley reactive) eine (globale) Reduktion der BZP-Bindung gefunden (Robertson et al. 1978), ein Ergebnis, das mit der schwächeren Diazepam-Antwort von HAB-Ratten im mPFC/ACC gut übereinstimmen würde. Tiere, die durch postnatalen Streß als Erwachsene hyperängstlich sind, haben ebenfalls reduzierte BZP-Rezeptorbindung (im frontalen Kortex, Caldji et al. 2000). Weiter zeigen Mäuse mit verringerter synaptischer GABA<sub>A</sub>-Rezeptorzahl in Kortex und HC verstärkte Angst (Crestani et al. 1999). Schließlich konnten Tiuhonen et al. (1997) eine temporopolare Verringerung der BZP-Bindung in GAD-Patienten und Malizia et al. (1998) eine globale, v.a.

aber orbitofrontale und insuläre, Verringerung der BZP-Bindung in Panikpatienten demonstrieren. Eine niedrigere BZP-Bindung im mPFC/ACC von HAB-Ratten (zumindest unter den experimentellen Bedingungen starken Stresses, damit wahrscheinlich aber auch im Ruhezustand) erscheint also als eine attraktive Hypothese und wird z.Zt. autoradiographisch überprüft.

An dieser Stelle sei angemerkt, daß etwaige Unterschiede in der Diazepam-Bindung für das Verhalten im naiven Zustand zunächst bedeutungslos sind. Beispielsweise könnten ein Austausch BZP-sensitiver gegen BZP-insensitive  $\alpha$ -Untereinheiten oder auf den BZP-Rezeptor beschränkte Mutationen oder post-translationelle oder allosterische Modifikationen die Diazepam-Bindung verringern, die normale GABAerge Transmission aber mehr oder weniger unberührt lassen. Um Unterschiede in der Diazepam-Bindung, wie sie die Autoradiographie identifizieren könnte, als verhaltensphysiologisch bedeutsam interpretieren zu können, müssen darüber hinaus die Bindung endogener Liganden des GABA/BZP-Rezeptorkomplexes (inklusive GABA selbst, dies geschieht z. Zt. ebenfalls autoradiographisch) und (mit zellphysiologischen Methoden) die molekulare Antwort des Rezeptors auf dieselben untersucht werden.

Endogene BZP-Liganden selbst könnten die Affinität des Rezeptors und damit die Diazepam-Antwort beeinflussen. Dabei wäre zu berücksichtigen, ob der Ligand agonistisch, antagonistisch oder invers agonistisch wirkt. Die Verdrängung eines Agonisten ähnlicher Stärke oder eines Antagonisten durch Diazepam sollte die GABAerge Transmission nicht wesentlich verändern, die Verdrängung eines inversen Agonisten hingegen sollte einen doppelt positiven (die inhibitorische Transmission doppelt verstärkenden) Effekt haben. In den letzten Jahren wurden das DBI (*diazepam binding inhibitor*) und das Tribulin als endogene inverse Agonisten am BZP-Rezeptor vorgeschlagen (Costa und Guidotti 1991; Elsworth et al. 1986). Es wäre interessant festzustellen, ob LAB-Ratten (unter Streßbedingungen) im mPFC/ACC eine höhere Konzentration dieser putativen inversen Agonisten aufweisen. Dies würde bedeuten, daß der Tonus der inhibitorischen Transmission im mPFC/ACC bei hypoängstlichen Ratten (unter den experimentellen Bedingungen) schwächer ist.

Die bisher erörterten möglichen Korrelate gehen von einer unterschiedlichen Verstärkung der inhibitorischen Neurotransmission aus. Diese findet ohne wesentlichen zusätzlichen Energieverbrauch, d.h. ohne vermehrte Freisetzung und Recycling von GABA, statt. Die dem negativen BOLD-Effekt zugrunde liegende Abnahme des neuronalen Energieverbrauchs kommt durch die sekundäre Reduktion der exzitatorischen Transmission

zustande. Exzitatorische, glutamaterge Zellen sind für 80 – 90% des kortikalen Glukoseverbrauchs verantwortlich und ca. 85% der von ihnen verbrauchten Glukose werden für das Recycling des freigesetzten Transmitters über benachbarte Astrozyten zurück in die Präsynapse benötigt (Sibson et al. 1998). Es kann vermutet werden, daß das Ausgangsniveau der exzitatorischen Transmission einen Einfluß auf das Ausmaß der durch Diazepam ausgelösten BOLD-Signalabschwächung hat: Bei einem sehr hohen Ausgangsniveau könnte der Effekt stärker sein als bei einem sehr niedrigen. Nach dieser Logik würde die deutliche Diazepam-Antwort des mPFC/ACC der LAB-Ratten auf eine besonders starke Aktivität dieser Region in den hypoängstlichen Tieren unter den speziellen Streßbedingungen des Experiments hindeuten.

Tonische Aktivitätsunterschiede können sich auf die Perfusion einer Region und damit auch auf die Anflutung einer Substanz auswirken (s. Abschnitt a). Eine mögliche tonisch stärkere Aktivität des mPFC/ACC in LAB-Ratten könnte dann auf diesem Weg indirekt ebenfalls die stärkere Diazepam-Antwort verschulden bzw. verstärken. Wie erwähnt wird diese Hypothese derzeit durch lokale Perfusionsmessungen überprüft; vorläufige Ergebnisse liefern keinen Hinweis auf lokale Perfusionsunterschiede (Daten nicht gezeigt).

Aus den obigen Überlegungen wird ersichtlich, daß die schwächere pHMRI-Antwort des mPFC/ACC der HAB-Ratten je nach zugrunde gelegtem neuronalen Mechanismus entweder als Hinweis auf eine stärkere oder schwächere (streßbedingte) Aktivität verstanden werden kann. Insbesondere könnte eine geringere BZP-Rezeptordichte – die zunächst als augenscheinliches Argument für eine erniedrigte inhibitorische Transmission gedeutet werden mag - auch die kompensatorische Konsequenz längerfristig erhöhter GABA-Konzentrationen sein. Eine solche Herunterregulierung wird durch Experimente in Zellkultur nahegelegt (Maloteaux et al. 1987). Dementsprechend fand eine spektroskopische Studie (Grachev und Apkarian 2000) Hinweise auf eine erhöhte GABA-Konzentration im orbitofrontalen Kortex ängstlicher Menschen. Zudem muß eine hohe inhibitorische Transmission nicht mit Funktionseinschränkung einer Region gleichbedeutend sein. Alternativ könnte das SNR bei der Verarbeitung relevanter Informationen durch verstärkte Unterdrückung irrelevanter Informationen verbessert werden, was wiederum eine verbesserte Funktionalität zur Folge hätte.

Aus dieser kurzen Darlegung geht hervor, daß pHMRI allein nicht in der Lage ist, Aufschluß über die genauen Rezeptorverhältnisse oder über die verhaltensrelevanten Aktivitätsverhältnisse zu geben. pHMRI wie hier angewandt erlaubte lediglich, Regionen zu

identifizieren, die – in welcher Form auch immer - mit großer Wahrscheinlichkeit an der unterschiedlichen Regulation des Angstverhaltens beteiligt sind.

#### 3.2.4.2 Schaltkreise übersteigter Ängstlichkeit – mediopräfrontale Hypoaktivitätshypothese

Das Muster der im pHMRI identifizierten Kandidatenregionen wird hier mit bestehendem Wissen über die verhaltensbiologischen Wirkungen des Diazepam, die Schaltkreise der Angst und die neurobiologischen Korrelate von Persönlichkeitsunterschieden zu einer Hypothese der Hypoaktivität des mPFC/ACC als Streß- oder Angst-hemmender Region in HAB-Ratten unter Streßbedingungen vereint.

Ausgangspunkt der Hypothese ist die Überlegung, daß die wesentlich stärkere, im Verhaltensexperiment sichtbare anxiolytische Wirkung des Diazepam bei HAB-Ratten ursächlich mit der schwächeren, im pHMRI beobachteten Deaktivierung des mPFC/ACC durch Diazepam zusammenhängen muß. Dies scheint zunächst kontraintuitiv, ließe sich jedoch verstehen, wenn der mPFC/ACC Angst-hemmende Funktion hat. Die starke anxiolytische Diazepam-Wirkung in HAB-Ratten wäre dann die Konsequenz einer Deaktivierung vornehmlich Angst-fördernder Zentren (hier möglicherweise aufgrund des schlechten basalen SNR nicht dargestellt), wohingegen in LAB-Ratten neben Angst-fördernden Zentren auch besonders der Angst-hemmende mPFC/ACC deaktiviert wird, so daß in hypoängstlichen Tieren summarisch eine geringere Anxiolyse resultiert.

Anders ausgedrückt erklärt die Hypothese die differentielle Diazepam-Wirkung dadurch, daß LAB-Ratten ihren mPFC/ACC in einer anxiogenen oder Streßsituation wesentlich stärker „benutzen“ als HAB-Ratten - was ihre geringe Ängstlichkeit bedingt; bei einer solchermaßen erhöhten exzitatorischen Transmission wird Diazepam wesentlich stärker deaktivierend wirken (s. 3.1.4.1), also eine Angst-hemmende Region besonders hemmen - und somit letztlich weniger anxiolytisch wirken als in HAB-Ratten. Diese Erklärung der differentiellen Diazepam-Wirkung schließt, wie oben diskutiert, nicht die Möglichkeit einer höheren BZP-Rezeptordichte/-affinität im mPFC/ACC von LAB-Ratten als weiteren Erklärungsansatz aus. Es wäre im Gegenteil sogar intuitiv verständlich, daß eine stärker benutzte Region auch über stärkere, sichernde Mechanismen der inhibitorischen Kontrolle – im Sinne eines höheren GABA/BZP-Rezeptorbesatzes – verfügt.

Die Entscheidung für die Hypothese der *Hypoaktivität* des mPFC/ACC in HAB-Ratten und zuungunsten einer auf der Basis der pHMRI-Daten ebenfalls denkbaren *Hyperaktivitätshypothese* (3.2.4.1) beruht weiterhin auf einer Vielzahl verhaltensbiologischer

Studien an Nagern. In diesen wurde nach Läsion des medialen PFC konsistent eine Zunahme unconditionierter Angst beobachtet (Holson 1986; Holson und Walker 1986; Jinks und McGregor 1997; Markowska und Lukaszewska 1980; Nonneman et al. 1974). Stimulation dieser Region hemmte Verteidigungsreaktionen, die durch Reizung in Amygdala oder Hypothalamus ausgelöst werden (al Maskati und Zbrozyna 1989). Demnach könnte der mPFC/ACC eine übergeordnete, hemmende Rolle im Angstsystem spielen. (Wie bereits unter 3.2.4.2e erwähnt scheint diese Region auch Furcht zu hemmen. Es erhebt sich daher die Frage, inwieweit die Gray-McNaughtonsche Unterscheidung zwischen orbitomedialem PFC, der dem Angstsystem übergeordnet sei, und vorderem Zingulum, das dem Furchtsystem übergeordnet sei, aufrecht zu erhalten ist.) Ferner konnte in cFos-Studien gezeigt werden, daß einige Anxiolytika (der partielle Glyzin/NMDA-Rezeptoragonist R(+)-HA-966, der  $\alpha_2$ -Agonist Guanfacine) die streßinduzierte Aktivität des PrL noch verstärken (Morrow et al. 2000).

Auch in Humanstudien wurden mPFC und ACC mit Angst (sowohl als mit Furcht) in Zusammenhang gebracht, ohne die Entscheidung zugunsten einer eher Angst-fördernden oder Angst-hemmenden Funktion treffen zu können (s. beispielsweise Brody et al. 2001; Chua et al. 1999; Osuch et al. 2000; Phelps et al. 2001; Ploghaus et al. 1999; Tashiro et al. 2001; Gottschalk et al. 1992; eine Übersicht verschiedener PET-Studien zur Furchtprovokation gibt Malizia 1999). Besonders interessant erscheint in diesem Zusammenhang der Befund von Wu et al. (1991) einer relativen Zunahme des mPFC-Ruhemetabolismus nach Pharmakotherapie bei GAD-Patienten. Es ist demnach attraktiv zu spekulieren, daß auch Angstpatienten ihren mPFC/ACC nicht hinreichend „gebrauchen“. Der zu den Tierstudien scheinbar widersprüchliche anxiolytische Effekt der Zingulotomie (Long et al. 1978) sollte unter Berücksichtigung der extremen, therapieresistenten Ausgangspathologie und der starken anatomischen und funktionellen Ausdifferenzierung des humanen Frontalkortex gesehen werden.

Schließlich paßt sich die Hypoaktivitätshypothese gut in Davidsons (2000) Persönlichkeitsmodell ein, wonach das Ausmaß der tonischen Amygdalaaktivität und ihrer mediopräfrontalen Hemmung über die Disposition zu negativem Affekt entscheidet (3.1.4.4). Hinweise auf inhibitorische Efferenzen des oPFC und mPFC zur Amygdala wurden von Amaral et al. (1992) und Rosenkranz und Grace (2001) gefunden. (Interessanterweise inhibiert die Amygdala ihrerseits den mPFC während einer konditionierten Furchtantwort (Garcia et al. 1999).)

Eine Hypoaktivität des mPFC/ACC unter anxiogenen oder Streßbedingungen könnte darüber hinaus helfen, die streßbedingte Überaktivierung der HPA-Achse bei HAB-Ratten zu verstehen (3.1.5.3). Der mPFC besitzt eine hohe Dichte an Glukokortikoidrezeptoren (GR, McEwen et al. 1986) und ist wahrscheinlich an der negativen Rückkopplung des HPA-Systems durch CORT beteiligt (Diorio et al. 1993, s. jedoch Sullivan und Gratton 1999), eine Funktion, die folglich in HAB-Ratten beeinträchtigt sein könnte. Tatsächlich ist die frontale GR-Bindung in Tieren reduziert, die postnatal Streß ausgesetzt wurden und als Erwachsene hyperemotional und mit erhöhter HPA-Achsen-Aktivität auf Streß reagieren (Meaney et al. 1996). Umgekehrt kann nicht ausgeschlossen werden, daß sich über einen langen Zeitraum streßbedingt überhöhte CORT-Konzentrationen (ähnlich wie im Falle des HC vielfach diskutiert, s. neuere Übersichtsarbeiten z.B. von Fuchs et al. 2001; Kim und Yoon 1998) nachteilig auf die Funktionalität des mPFC auswirken und damit ursächlich zu seiner Hypoaktivität beitragen.

Während die eindeutige Identifizierung von sowohl medioorbitalem und medialem PFC als auch ACC als wichtigster und zusammenhängender Kandidatenregion für die unterschiedliche Regulation des Angstverhaltens in HAB- und LAB-Ratten die Gray-McNaughtonsche Unterteilung in Angst- und Furchtsystem (mit orbitomedialem PFC einerseits und ACC andererseits als übergeordneten Regionen) eher nicht unterstützt, so steht doch eine Reihe der weiteren gefundenen Region in Übereinstimmung mit anderen Aspekten dieser Theorie. So wurde eingangs erwähnt (3.1.4.2b), daß das Septohippokampale System (SHS) seine Funktion als *Behavioral Inhibition System* (BIS) über multisynaptische Ausgangsrouten ausübt, die vom Subikulum zunächst den NAc und weiterhin Projektionsbahnen ins CPu, über Pallidum und MD aber auch PFC und ACC erreichen. Die mögliche Rolle des PCC im Angstsystem wurde ebenfalls angesprochen (3.1.4.2e). Es wäre allerdings nach der hier vertretenen Interpretation der phMRI-Effekte nicht unmittelbar verständlich, warum diese Regionen bei hypoängstlichen Ratten von Diazepam stärker deaktiviert werden sollten.

Alternativ könnte die Beteiligung von Basalganglien und MD im Sinne einer unterschiedlichen Funktion präfrontal-subkortikal-präfrontaler Schleifen verstanden werden, über die der PFC - in diesem Falle der mPFC/ACC - die Ausführung von Verhaltensprogrammen beeinflusst (3.1.4.2e). Hierzu paßt der Befund einer stammganglionären Verringerung des Ruhemetabolismus bei GAD-Patienten (Wu et al. 1991). Der Nucleus centromedialis des Thalamus (CM), ein unspezifischer Thalamuskern, erhält Afferenzen aus Kleinhirn, *Formatio reticularis* und Pallidum und projiziert zum CPu

(Carpenter 1989; Kahle et al. 1991), mag also ebenfalls an der möglicherweise unterschiedlichen Funktionsweise der Basalganglien in den beiden Linien beteiligt sein.

Die Habenula sendet GABAerge Efferenzen zum PAG und zu den dorsalen medianen Raphé-Kernen (Murphy et al. 1996). Läsion dieser Efferenzen verstärkt Angstverhalten im EPM und OF (Murphy et al. 1996). Auch die beschriebene Aktivierung der Habenula nach i.c.v. CRH-Applikation (Imaki et al. 1993) macht diese Struktur zu einer plausiblen weiteren Kandidatenregion.

Andererseits ist die Habenula Teil des olfaktorischen Systems mit Verbindungen zu den Oberen Hügeln (Kahle et al. 1991). Diese Beobachtung scheint in Analogie mit der Identifikation von Teilen des visuellen (Obere Hügel, rechten lateraler Kniehöcker, visuelle Kortex) und des somatosensorischen Systems (primärer somatosensorischer Kortex) zu stehen. Zudem zeigte auch der primäre motorische Kortex in LAB-Ratten eine stärkere Diazepam-Antwort. Dies mag assoziiert sein mit den eher subtilen Unterschieden zwischen HAB- und LAB-Ratten in anderen als den Angstsystemen (z.B. Motorik, Gedächtnis, s. 3.1.5.2). Außer bis auf den Vergleich des olfaktorischen Gedächtnisses, das in HAB-Ratten besser funktioniert (Landgraf und Wigger 2002), wurden die perzeptiven Systeme allerdings bisher nicht in die Charakterisierung der Linien aufgenommen. Auch wurde in letzterem Fall nicht zwischen perzeptiven oder kognitiven Grundlagen der Gedächtnisunterschiede gefragt. Ebenso wurde die Wirkung von Benzodiazepinen auf diese Systeme in HAB- und LAB-Ratten bisher nicht untersucht. Die im pHMRI eher gering ausgeprägten Unterschiede in diesen Regionen sprechen jedoch ähnlich wie die bisherigen Verhaltensstudien eher gegen eine wesentliche Rolle dieser Systeme bei dem unterschiedlichen emotionalen Verhalten der beiden Linien. Auch sollte hier noch einmal an die unter 3.2.3.2 a) geäußerten Vorbehalte gegen die Glaubwürdigkeit und die anatomische Zuordnung kleinerer Kandidatenregionen erinnert werden.

#### 3.2.4.3 Weiterführende Arbeiten

Die vorgeschlagene Hypothese der Hypoaktivität des mPFC/ACC in hyperängstlichen Individuen kann durch Läsion sowie elektrophysiologisch getestet werden. Die Analyse des Ruhezustandes würde zudem Aufschluß geben, ob das postulierte Aktivitätsmuster streßspezifisch ist oder auch basal auftritt. Hierzu könnten auch die autoradiographische Messungen von CBF (mit Iodoantipyridin) oder Glukoseverbrauch (mit 2-Deoxyglukose) oder die Bestimmung der *immediate early gene*-Immunreaktivität (cFos...) eingesetzt werden.

Um den zugrundeliegenden neurobiologischen Mechanismus der postulierten Hypoaktivität aufzuklären, müßte eine detaillierte strukturelle, neurochemische und elektrophysiologische Untersuchung des Areal und verbundener Areale (beispielsweise mit Quantifizierung von Zelldichte, Volumen und Konnektivität, mit Rezeptorautoradiographie, Mikrodialyse, Spektroskopie oder Ableitung am wachen Tier) vorgenommen werden. Spannend erscheint zudem die Frage, inwieweit eine Hypoaktivität mit Unterschieden in der Genexpression korreliert ist. Zu diesem Zweck wird gegenwärtig eine DNA-Microarray-Analyse der Region vorgenommen.

Die hier vorgestellte Studie öffnet auch den Weg zu einer gezielten Untersuchung von Angstpatienten. Angesichts der Ähnlichkeiten des humanen und des HAB-Phänotyps läßt sich eine Hypoaktivitätshypothese beispielweise auch für die GAD formulieren. Im Falle einer Bestätigung der Hypothese könnten HAB-Ratten weit über die phänotypische Ähnlichkeit hinaus als hochwertiges Modell der Angsterkrankungen betrachtet werden. In einem weiteren Schritt ließe sich – mit Hilfe bildgebender Verfahren und in Ausweitung der wegweisenden Arbeiten von Wu et al. (1991) - fragen, ob Therapieeffekte an dieser Region ansetzen und ob die Effektivität einer Therapie mit ihrem Einfluß auf die Aktivität des mPFC/ACC korreliert. Die Therapieforschung könnte dann auf Tier- wie auf Humanebene von einem neuen Surrogatmarker profitieren.

### 3.3 Schlußbemerkung

Zusammenfassend sei noch einmal ausdrücklich darauf hingewiesen, daß die im phMRI eindeutigsten und am stärksten ausgeprägten Unterschiede zwischen hyper- und hypoängstlichen Ratten nicht in den (technisch sichtbaren) Anteilen des Septohippokampalen Systems oder anderer „primärer“ Angstregionen, sondern in Arealen gefunden wurden, für die eine übergeordnet-modulierende Rolle im Angstverhalten bereits beschrieben wurde. Unter Berücksichtigung der beschränkten Aussagekraft des phMRI darf daher die Vermutung geäußert werden, daß individuelle Unterschiede im Angstverhalten weniger durch die unmittelbare, instinktive Antwort auf anxiogene Situationen als vielmehr durch die Regulation derselben bestimmt sind. Übertragen auf die menschliche Situation würde dies bedeuten, daß Patienten mit übersteigerter generalisierter Angst vor allem unter einer Fehlfunktion oder Fehlbenutzung ihrer Angst-hemmenden Kontrollregionen leiden. Diese wären dann die natürlichen Zielregionen einer Pharmako- oder Psychotherapie. Eine besonders interessante, sich aus der vorgestellten Studie ergebende Richtung für weitere Arbeiten wäre daher die Erforschung der „Machtposition“ des mPFC/ACC im Konzert der vielen Mitspieler im Angstsystem während Krankheit und Heilungsprozess. Methoden des Biofeedback, an dessen Implementierung auf der Grundlage von Echtzeit-fMRI-Aktivierung z. Zt. gearbeitet wird, mögen in der Zukunft einen weiteren therapeutischen Hebel zur „Wiedereinsetzung“ des mPFC/ACC in seine angestammte, „königliche“ Rolle bieten.

#### 4 ALLGEMEINE DISKUSSION

In Teil I der vorliegenden Arbeit wurde gezeigt, daß abrupte Blutdruckveränderungen einen Einfluß auf die Höhe der BOLD-Antwort eines Pharmakons haben können, ein Artefakt, das mit gewisser Wahrscheinlichkeit ein Spezifikum des BOLD-phMRI bei hohen magnetischen Feldstärken darstellt. Es wurden weiterhin Wege zur Eliminierung dieses Artefakts skizziert.

Die Vorarbeiten erlaubten in Teil II der Arbeit die Durchführung einer phMRI-Studie an einem Rattenmodell der angeborenen Angst. Es wurden dabei trotz der erforderlichen Narkotisierung der Versuchstiere deutliche BOLD-Signalreduktionen nach Diazepam beobachtet. In einer Studie am wachen Menschen bei einer Feldstärke von 2 Tesla konnten Kleinschmidt et al. (1999) keine signifikanten Signalveränderungen durch Diazepam nachweisen. Dies unterstreicht den immensen Nutzen hoher Feldstärken für die pharmakologische Bildgebung.

Bei der vorgelegten Studie wurden zum ersten Mal die Effekte eines Pharmakons auf zwei Tierlinien quantitativ miteinander verglichen wurden. Zur Durchführung des quantitativen Vergleichs wurde – zum ersten Mal am Rattenhirn – die Methode des *statistical parametric mapping* (SPM) eingesetzt. Zudem wurde für ein weiteres Spezifikum hoher Feldstärken – die Problematik zunehmender Suszeptibilitätsartefakte – mit der erfolgreichen Verwendung einer RARE-Sequenz eine attraktive Lösung angeboten. Zusammenfassend läßt sich also sagen, daß in der vorliegenden Arbeit BOLD-phMRI als Methode der Kartierung pharmakologisch induzierter Hirnaktivierungsveränderungen bei hohen magnetischen Feldstärken erfolgreich etabliert und validiert werden konnte.

Die mit Hilfe der Methode erzielten Ergebnisse eröffneten neue Einsichten in die neurobiologischen Mechanismen individueller Unterschiede im emotionalen Verhalten und zeigten insbesondere auf, daß der mediane präfrontale Kortex und das vordere Zingulum mit großer Wahrscheinlichkeit eine entscheidende Rolle bei der Disposition eines Individuums zu negativem Affektverhalten spielen.

## 5 LITERATURVERZEICHNIS

- Abelson, J.L., Glitz, D., Cameron, O.G., Lee, M.A., Bronzo, M. und Curtis, G.C. **1991** Blunted growth hormone response to clonidine in patients with generalized anxiety disorder. *Archives of General Psychiatry* 48(2):157-62.
- Abercrombie, H.C., Schaefer, S.M., Larson, C.L., Oakes, T.R., Lindgren, K.A., Holden, J.E., Perlman, S.B., Turski, P.A., Krahn, D.D., Benca, R.M. und Davidson, R.J. **1998** Metabolic rate in the right amygdala predicts negative affect in depressed patients. *Neuroreport* 9(14):3301-7.
- al Maskati, H.A. und Zbrozyna, A.W. **1989** Stimulation in prefrontal cortex area inhibits cardiovascular and motor components of the defence reaction in rats. *Journal of the Autonomic Nervous System* 28(2):117-25.
- Alexander, G.E., DeLong, M.R. und Strick, P.L. **1986** Parallel organization of functionally segregated circuits linking basal ganglia and cortex. *Annual Review of Neuroscience* 9:357-81.
- Amaral, D., Price, J.L., Pitkanen, A. und Carmichael, S.T. **1992** Anatomical organization of the primate amygdaloid complex. In *The amygdala: neurobiological aspects of emotion, memory and mental dysfunction* (J.P. Aggleton (Ed.) Eds.). pp.1-66. Wiley-Liss, New York.
- American Psychiatric Association. **1994** Diagnostic and statistic manual of mental disorders. 4. Aufl., American Psychiatric Association, Washington, DC.
- Auer, L.M., Ishiyama, N. und Pucher, R. **1987a** Cerebrovascular response to intracranial hypertension. *Acta Neurochirurgica* 84(3-4):124-8.
- Auer, L.M., Pucher, R., Leber, K. und Ishiyama, N. **1987b** Autoregulatory response of pial vessels in the cat. *Neurological Research* 9(4):245-8.
- Avery, D.H., Osgood, T.B., Ishiki, D.M., Wilson, L.G., Kenny, M. und Dunner, D.L. **1985** The DST in psychiatric outpatients with generalized anxiety disorder, panic disorder, or primary affective disorder. *American Journal of Psychiatry* 142(7):844-8.
- Bagdy, G., Calogero, A.E., Murphy, D.L. und Szemerédi, K. **1989** Serotonin agonists cause parallel activation of the sympathoadrenomedullary system and the hypothalamo-pituitary-adrenocortical axis in conscious rats. *Endocrinology* 125(5):2664-9.
- Baldy-Moulinier, M., Roquefeuil, B., Escuret, E. und Frerebeau, P. **1977** [Effects of drugs used in anaesthesia and in neurosurgical intensive care on the blood flow and metabolism of the brain (author's transl)]. *Revue d'Electroencephalographie et de Neurophysiologie Clinique* 7(1):82-92.
- Ballenger, J.C. **2001** Overview of different pharmacotherapies for attaining remission in generalized anxiety disorder. *Journal of Clinical Psychiatry* 62(Suppl 19):11-9.
- Barnard, E.A., Skolnick, P., Olsen, R.W., Mohler, H., Sieghart, W., Biggio, G., Braestrup, C., Bateson, A.N. und Langer, S.Z. **1998** International Union of Pharmacology. XV. Subtypes of gamma-aminobutyric acidA receptors: classification on the basis of subunit structure and receptor function. *Pharmacological Reviews* 50(2):291-313.
- Barzo, P., Bari, F., Doczi, T., Jancso, G. und Bodosi, M. **1993** Significance of the rate of systemic change in blood pressure on the short-term autoregulatory response in normotensive and spontaneously hypertensive rats. *Neurosurgery* 32(4):611-8.
- Berne, R.M. und Levy, M.N. **1992** Physiology. 3. Aufl., Mosby, St. Louis.
- Birbaumer, N., Grodd, W., Diedrich, O., Klose, U., Erb, M., Lotze, M., Schneider, F., Weiss, U. und Flor, H. **1998** fMRI reveals amygdala activation to human faces in social phobics. *Neuroreport* 9(6):1223-6.
- Blanchard, D.C., Hori, K., Rodgers, R.J., Hendrie, C.A. und Blanchard, R.J. **1989** Attenuation of defensive threat and attack in wild rats (*Rattus rattus*) by benzodiazepines. *Psychopharmacology* 97(3):392-401.
- Blanchard, D.C., Blanchard, R.J., Tom, P. und Rodgers, R.J. **1990** Diazepam changes risk assessment in an anxiety/defense test battery. *Psychopharmacology* 101(4):511-8.

- Blanchard, R.J., Yudko, E.B., Rodgers, R.J. und Blanchard, D.C. **1993** Defense system psychopharmacology: an ethological approach to the pharmacology of fear and anxiety. *Behavioural Brain Research* 58(1-2):155-65.
- Bloom, A.S., Hoffmann, R.G., Fuller, S.A., Pankiewicz, J., Harsch, H.H. und Stein, E.A. **1999** Determination of drug-induced changes in functional MRI signal using a pharmacokinetic model. *Human Brain Mapping* 8(4):235-44.
- Boxerman, J.L., Hamberg, L.M., Rosen, B.R. und Weisskoff, R.M. **1995** MR contrast due to intravascular magnetic susceptibility perturbations. *Magnetic Resonance in Medicine* 34(4):555-66.
- Brawman-Mintzer, O., Lydiard, R.B., Emmanuel, N., Payeur, R., Johnson, M., Roberts, J., Jarrell, M.P. und Ballenger, J.C. **1993** Psychiatric comorbidity in patients with generalized anxiety disorder. *American Journal of Psychiatry* 150(8):1216-8.
- Brawman-Mintzer, O., Lydiard, R.B., Bradwejn, J., Villarreal, G., Knapp, R., Emmanuel, N., Ware, M.R., He, Q. und Ballenger, J.C. **1997** Effects of the cholecystokinin agonist pentagastrin in patients with generalized anxiety disorder. *American Journal of Psychiatry* 154(5):700-2.
- Breiter, H.C., Gollub, R.L., Weisskoff, R.M., Kennedy, D.N., Makris, N., Berke, J.D., Goodman, J.M., Kantor, H.L., Gastfriend, D.R., Riorden, J.P., Mathew, R.T., Rosen, B.R. und Hyman, S.E. **1997** Acute effects of cocaine on human brain activity and emotion. *Neuron* 19(3):591-611.
- Briley, M., Chopin, P. und Veigner, M. **1986** The "plus maze test of anxiety", validation in different rat strains and effect of a wide variety of antidepressants. *British Journal of Pharmacology* 87:217-25.
- Broadhurst, P.L. **1962** A note on further progress in a psychogenetic selection experiment. *Psychological Reports* 10:65-66.
- Broadhurst, P.L. und Levine, S. **1963** Behavioural consistency in strains of rats selectively bred for emotional elimination. *British Journal of Psychology* 54:121-25.
- Brody, A.L., Saxena, S., Mandelkern, M.A., Fairbanks, L.A., Ho, M.L. und Baxter Jr., L.R. **2001** Brain Metabolic Changes Associated with Symptom Factor Improvement in Major Depressive Disorder. *Biological Psychiatry* 50:171-178.
- Cahill, L. und McGaugh, J.L. **1998** Mechanisms of emotional arousal and lasting declarative memory. *Trends in Neurosciences* 21(7):294-9.
- Caldji, C., Francis, D., Sharma, S., Plotsky, P.M. und Meaney, M.J. **2000** The effects of early rearing environment on the development of GABAA and central benzodiazepine receptor levels and novelty-induced fearfulness in the rat. *Neuropsychopharmacology* 22(3):219-29.
- Calogero, A.E., Bernardini, R., Margioris, A.N., Bagdy, G., Gallucci, W.T., Munson, P.J., Tamarkin, L., Tomai, T.P., Brady, L. und Gold, P.W. **1989** Effects of serotonergic agonists and antagonists on corticotropin-releasing hormone secretion by explanted rat hypothalami. *Peptides* 10(1):189-200.
- Cameron, O.G., Smith, C.B., Lee, M.A., Hollingsworth, P.J., Hill, E.M. und Curtis, G.C. **1990** Adrenergic status in anxiety disorders: platelet alpha 2-adrenergic receptor binding, blood pressure, pulse, and plasma catecholamines in panic and generalized anxiety disorder patients and in normal subjects. *Biological Psychiatry* 28(1):3-20.
- Carlsson, C., Hgerdal, M., Kaasik, A.E. und Siesjo, B.K. **1976** The effects of diazepam on cerebral blood flow and oxygen consumption in rats and its synergistic interaction with nitrous oxide. *Anesthesiology* 45(3):319-25.
- Carpenter, M.B. **1989** Connectivity patterns of thalamic nuclei implicated in dyskinesia. *Stereotactic & Functional Neurosurgery* 52(2-4):79-119.
- Charney, D.S., Woods, S.W. und Heninger, G.R. **1989** Noradrenergic function in generalized anxiety disorder: effects of yohimbine in healthy subjects and patients with generalized anxiety disorder. *Psychiatry Research* 27(2):173-82.
- Chen, Q., Andersen, A.H., Zhang, Z., Ovadia, A., Gash, D.M. und Avison, M.J. **1995a** Nigrostriatal R2\* changes in Hemiparkinsonian Rhesus monkeys in response to L-DOPA. Proc *SMR, 3rd Annual Meeting*.
- Chen, R.Y., Fan, F.C., Schuessler, G.B., Simchon, S., Kim, S. und Chien, S. **1984** Regional cerebral blood flow and oxygen consumption of the canine brain during hemorrhagic hypotension. *Stroke* 15(2):343-50.

- Chen, Y.C., Galpern, W.R., Brownell, A.L., Matthews, R.T., Bogdanov, M., Isacson, O., Keltner, J.R., Beal, M.F., Rosen, B.R. und Jenkins, B.G. **1997** Detection of dopaminergic neurotransmitter activity using pharmacologic MRI: correlation with PET, microdialysis, and behavioral data. *Magnetic Resonance in Medicine* 38(3):389-98.
- Chen, Y.I., Jenkins, B.G., Matthews, T.R., Kwong, K.K., Keltner, J.R., Fink, S.J. und Rosen, B.R. **1995b** Evaluation of neuronal loss and striatal activation in a rat model of Parkinson's disease using MRS and fMRI. *Proc SMR, 3rd Annual Meeting*.
- Chua, P., Krams, M., Toni, I., Passingham, R. und Dolan, R. **1999** A functional anatomy of anticipatory anxiety. *Neuroimage* 9(6 Pt 1):563-71.
- Commissaris, R.L., Harrington, G.M., Ortiz, A.M. und Altman, H.J. **1986** Maudsley reactive and non-reactive rat strains: differential performance in a conflict task. *Physiology & Behavior* 38(2):291-4.
- Costa, E. und Guidotti, A. **1991** Diazepam binding inhibitor (DBI): a peptide with multiple biological actions. *Life Sciences* 49(5):325-44.
- Cremillieux, Y., Ding, S. und Dunn, J.F. **1998** High-resolution in vivo measurements of transverse relaxation times in rats at 7 Tesla. *Magnetic Resonance in Medicine* 39(2):285-90.
- Crestani, F., Lorez, M., Baer, K., Essrich, C., Benke, D., Laurent, J.P., Belzung, C., Fritschy, J.M., Luscher, B. und Mohler, H. **1999** Decreased GABAA-receptor clustering results in enhanced anxiety and a bias for threat cues. *Nature Neuroscience* 2(9):833-9.
- Cuenod, C.A., Chang, M.C.J., Arai, T., Pannier, L., Posse, S., Despres, D., Frank, J.A., Rappoport, S. und LeBihan, D. **1993** Local brain response to cholinergic receptor stimulation detected by MRI. *Proc SMRM, 12th Annual Meeting*.
- Damasio, A.R. **1999** The feeling of what happens: Body and emotion in the making of consciousness. Harcourt Brace, New York.
- Davidson, R.J. und Fox, N.A. **1989** Frontal brain asymmetry predicts infants' response to maternal separation. *Journal of Abnormal Psychology* 98(2):127-31.
- Davidson, R.J. und Tomarken, A.J. **1989** Laterality and emotion: an electrophysiological approach. In *Handbook of Neuropsychology* (F. Boller und J. Grafman, Eds.). pp.419-41. Elsevier, Amsterdam.
- Davidson, R.J. **1995** Cerebral asymmetry, emotion and affective style. In *Brain Asymmetry* (R.J. Davidson und K. Hugdahl, Eds.). pp.361-87. MIT Press, Cambridge, MA.
- Davidson, R.J. **2000** The functional neuroanatomy of affective style. In *Cognitive Neuroscience of Emotion* (R.D. Lane und L. Nadel, Eds.). pp.371-88. Oxford University Press, New York.
- Davis, M. **1998** Are different parts of the extended amygdala involved in fear versus anxiety? *Biological Psychiatry* 44(12):1239-47.
- de Wit, H., Metz, J., Wagner, N. und Cooper, M. **1991** Effects of diazepam on cerebral metabolism and mood in normal volunteers. *Neuropsychopharmacology* 5(1):33-41.
- Diorio, D., Viau, V. und Meaney, M.J. **1993** The role of the medial prefrontal cortex (cingulate gyrus) in the regulation of hypothalamic-pituitary-adrenal responses to stress. *Journal of Neuroscience* 13(9):3839-47.
- Eintrei, C., Sokoloff, L. und Smith, C.B. **1999** Effects of diazepam and ketamine administered individually or in combination on regional rates of glucose utilization in rat brain. *British Journal of Anaesthesia* 82(4):596-602.
- Elbel, G.-K., Kalisch, R., Czisch, M., Hipp, R. und Auer, D.P. **2000** Design and importance of a continuous physiologic monitoring for fMRI in rats at 7T and first results with the novel anesthetic sevoflurane. *Proc ISMRM 8th Scientific Meeting*. 928.
- Elsworth, J.D., Dewar, D., Glover, V., Goodwin, B.L., Clow, A. und Sandler, M. **1986** Purification and characterization of tribulin, and endogenous inhibitor of monoamine oxidase and of benzodiazepine receptor binding. *Journal of Neural Transmission* 67(1-2):45-56.
- Ferrarese, C., Appollonio, I., Frigo, M., Perego, M., Piolti, R., Trabucchi, M. und Frattola, L. **1990** Decreased density of benzodiazepine receptors in lymphocytes of anxious patients: reversal after chronic diazepam treatment. *Acta Psychiatrica Scandinavica* 82(2):169-73.
- Flecknell, P. **1996** Laboratory animal anaesthesia. 2. Aufl., Academic Press, San Diego.
- Fowler, H.W. und Fowler, F.G. **1964** The concise Oxford dictionary of current English. 5. Aufl., Oxford University Press, Oxford.

- Frackowiak, R.S.J., Friston, K.J., Frith, C.D., Dolan, R.J. und Mazziotta, J.C. (Hrsg.) **1997** Human Brain Function. Academic Press, San Diego USA,
- Fredrikson, M., Wik, G., Annas, P., Ericson, K. und Stone-Elander, S. **1995** Functional neuroanatomy of visually elicited simple phobic fear: additional data and theoretical analysis. *Psychophysiology* 32(1):43-8.
- Fryszak, R.J. und Neafsey, E.J. **1991** The effect of medial frontal cortex lesions on respiration, "freezing," and ultrasonic vocalizations during conditioned emotional responses in rats. *Cerebral Cortex* 1(5):418-25.
- Fuchs, E., Flugge, G., Ohl, F., Lucassen, P., Vollmann-Honsdorf, G.K. und Michaelis, T. **2001** Psychosocial stress, glucocorticoids, and structural alterations in the tree shrew hippocampus. *Physiology & Behavior* 73(3):285-91.
- Fuster, J.M. **2001** The prefrontal cortex--an update: time is of the essence. *Neuron* 30(2):319-33.
- Fuxe, K., Agnati, L.F., Bolme, P., Hokfelt, T., Lidbrink, P., Ljungdahl, A., Perez de la Mora, M. und Ogren, S. **1975** The possible involvement of GABA mechanisms in the action of benzodiazepines on central catecholamine neurons. *Advances in Biochemical Psychopharmacology*(14):45-61.
- Gao, J.H., Miller, I., Lai, S., Xiong, J. und Fox, P.T. **1996** Quantitative assessment of blood inflow effects in functional MRI signals. *Magnetic Resonance in Medicine* 36(2):314-9.
- Garcia, R., Vouimba, R.M., Baudry, M. und Thompson, R.F. **1999** The amygdala modulates prefrontal cortex activity relative to conditioned fear. *Nature* 402(6759):294-6.
- Garvey, M.J., Noyes, R., Jr., Woodman, C. und Laukes, C. **1993** A biological difference between panic disorder and generalized anxiety disorder. *Biological Psychiatry* 34(8):572-5.
- Garvey, M.J., Noyes, R., Woodman, C. und Laukes, C. **1995** Relationship of generalized anxiety symptoms to urinary 5-hydroxyindoleacetic acid and vanillylmandelic acid. *Psychiatry Research* 57(1):1-5.
- Germine, M., Goddard, A.W., Woods, S.W., Charney, D.S. und Heninger, G.R. **1992** Anger and anxiety responses to m-chlorophenylpiperazine in generalized anxiety disorder. *Biological Psychiatry* 32(5):457-61.
- Gewirtz, J.C., Falls, W.A. und Davis, M. **1997** Normal conditioned inhibition and extinction of freezing and fear-potentiated startle following electrolytic lesions of medial prefrontal cortex in rats. *Behavioral Neuroscience* 111(4):712-26.
- Gibbs, D.M. **1986** Vasopressin and oxytocin: hypothalamic modulators of the stress response: a review. *Psychoneuroendocrinology* 11(2):131-9.
- Giuffre, K.A., Udelsman, R., Listwak, S. und Chrousos, G.P. **1988** Effects of immune neutralization of corticotropin-releasing hormone, adrenocorticotropin, and beta-endorphin in the surgically stressed rat. *Endocrinology* 122(1):306-10.
- Gössl, C., Fahrmeier, L. und Auer, D.P. **2001** Bayesian modeling of the hemodynamic response function in BOLD fMRI. *Neuroimage* 14(1):140-148.
- Gottschalk, L.A., Buchsbaum, M.S., Gillin, J.C., Wu, J., Reynolds, C.A. und Herrera, D.B. **1992** The effect of anxiety and hostility in silent mentation on localized cerebral glucose metabolism. *Comprehensive Psychiatry* 33(1):52-9.
- Grachev, I.D. und Apkarian, A.V. **2000** Chemical mapping of anxiety in the brain of healthy humans: an in vivo 1H-MRS study on the effects of sex, age, and brain region. *Human Brain Mapping* 11(4):261-72.
- Graeff, F.G. **1994** Neuroanatomy and neurotransmitter regulation of defensive behaviors and related emotions in mammals. *Brazilian Journal of Medical & Biological Research* 27(4):811-29.
- Graeff, F.G., Viana, M.B. und Mora, P.O. **1997** Dual role of 5-HT in defense and anxiety. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews* 21(6):791-9.
- Gray, J.A. und McNaughton, N. **2000** The neuropsychology of anxiety. 2. Aufl., Oxford University Press, Oxford.
- Groenewegen, H.J. und Uylings, H.B. **2000** The prefrontal cortex and the integration of sensory, limbic and autonomic information. *Progress in Brain Research* 126:3-28.
- Hagino, H., Tabuchi, E., Kurachi, M., Saitoh, O., Sun, Y., Kondoh, T., Ono, T. und Torii, K. **1998** Effects of D2 dopamine receptor agonist and antagonist on brain activity in the rat assessed by functional magnetic resonance imaging. *Brain Research* 813(2):367-73.

- Handley, S.L. und McBlane, J.W. **1993** An assessment of the elevated X-maze for studying anxiety and anxiety-modulating drugs. *Journal of Pharmacological & Toxicological Methods* 29(3):129-38.
- Harper, R.M., Bandler, R., Spriggs, D. und Alger, J.R. **2000** Lateralized and widespread brain activation during transient blood pressure elevation revealed by magnetic resonance imaging. *Journal of Comparative Neurology* 417(2):195-204.
- Harrington, G.M. und Hanlon, J.R. **1966** Heart rate, defecation and genetic differences in rats. *Psychonomic Sciences* 6:425-26.
- Henniger, M.S., Ohl, F., Holter, S.M., Weissenbacher, P., Toschi, N., Lorsch, P., Wigger, A., Spanagel, R. und Landgraf, R. **2000** Unconditioned anxiety and social behaviour in two rat lines selectively bred for high and low anxiety-related behaviour. *Behavioural Brain Research* 111(1-2):153-63.
- Hermann, B., Landgraf, R., Keck, M.E., Wigger, A., Morrow, A.L., Ströhle, A., Holsboer, F. und Rupprecht, R. **2000** Pharmacological Characterisation of Cortical gamma-Aminobutyric Acid Type A (GABA A) Receptors in Two Wistar Rat Lines Selectively Bred for High and Low Anxiety-Related Behaviour. *World J Biol Psychiatry* (2000)(1):137 - 143.
- Hoehn-Saric, R., McLeod, D.R. und Zimmerli, W.D. **1989** Somatic manifestations in women with generalized anxiety disorder. Psychophysiological responses to psychological stress. *Archives of General Psychiatry* 46(12):1113-9.
- Hoffman, W.E., Edelman, G., Kochs, E., Werner, C., Segil, L. und Albrecht, R.F. **1991** Cerebral autoregulation in awake versus isoflurane-anesthetized rats. *Anesthesia & Analgesia* 73(6):753-7.
- Holsboer-Trachsler, E., Stohler, R. und Hatzinger, M. **1991** Repeated administration of the combined dexamethasone-human corticotropin releasing hormone stimulation test during treatment of depression. *Psychiatry Research* 38(2):163-71.
- Holson, R.R. **1986** Mesial prefrontal cortical lesions and timidity in rats. I. Reactivity to aversive stimuli. *Physiology & Behavior* 37(2):221-30.
- Holson, R.R. und Walker, C. **1986** Mesial prefrontal cortical lesions and timidity in rats. II. Reactivity to novel stimuli. *Physiology & Behavior* 37(2):231-8.
- Hudetz, A.G., Wood, J.D., Biswal, B.B., Krolo, I. und Kampine, J.P. **1999** Effect of hemodilution on RBC velocity, supply rate, and hematocrit in the cerebral capillary network. *Journal of Applied Physiology* 87(2):505-9.
- Imaki, T., Shibasaki, T., Hotta, M. und Demura, H. **1993** Intracerebroventricular administration of corticotropin-releasing factor induces c-fos mRNA expression in brain regions related to stress responses: comparison with pattern of c-fos mRNA induction after stress. *Brain Research* 616(1-2):114-25.
- Iny, L.J., Pecknold, J., Suranyi-Cadotte, B.E., Bernier, B., Luthe, L., Nair, N.P. und Meaney, M.J. **1994** Studies of a neurochemical link between depression, anxiety, and stress from [3H]imipramine and [3H]paroxetine binding on human platelets. *Biological Psychiatry* 36(5):281-91.
- Irwin, W., Mock, B.J., Sutton, S.K., Orendi, J.L., Sorenson, J.A., Turski, P.A., Kalin, N.H. und Davidson, R.J. **1997** Positive and negative affective responses: neural circuitry revealed using functional magnetic resonance imaging. *Proc Soc. Neuroscience Meeting*.
- Jinks, A.L. und McGregor, I.S. **1997** Modulation of anxiety-related behaviours following lesions of the prelimbic or infralimbic cortex in the rat. *Brain Research* 772(1-2):181-90.
- Johnston, A.L. und File, S.E. **1988** Profiles of the antipanic compounds, triazolobenzodiazepines and phenelzine, in two animal tests of anxiety. *Psychiatry Research* 25(1):81-90.
- Kahle, W., Leonhardt, H. und Platzer, W. **1991** Taschenatlas der Anatomie: Bd.3 Nervensystem und Sinnesorgane. 6. Aufl., Thieme, Stuttgart.
- Kalisch, R., Elbel, G.K., Schieferstein, O., Czisch, M. und Auer, D.P. **2000** Separation of systemic physiologic and specific cerebral drug effects in pharmacologic magnetic resonance imaging (phMRI). *Proc ECNP 13th Congress. European Neuropsychopharmacology* **10**: S348.
- Keck, M.E., Welt, T., Wigger, A., Renner, U., Engelmann, M., Holsboer, F. und Landgraf, R. **2001** The anxiolytic effect of the CRH(1) receptor antagonist R121919 depends on innate emotionality in rats. *European Journal of Neuroscience* 13(2):373-80.

- Keck, M.E., Wigger, A., Welt, T., Müller, M.B., Gesing, A., Reul, J.M.H.M., Holsboer, F., Landgraf, R. und Neumann, I.D. **2002** Vasopressin mediates the response of the combined dexamethasone/CRH test in hyper-anxious rats: Implications for pathogenesis of affective disorders. *Neuropsychopharmacology* 26(1):94-105.
- Kelly, P.A., Ford, I. und McCulloch, J. **1986** The effect of diazepam upon local cerebral glucose use in the conscious rat. *Neuroscience* 19(1):257-65.
- Kennan, R.P., Zhong, J. und Gore, J.C. **1994** Intravascular susceptibility contrast mechanisms in tissues. *Magnetic Resonance in Medicine* 31(1):9-21.
- Kim, J.J. und Yoon, K.S. **1998** Stress: metaplastic effects in the hippocampus. *Trends in Neurosciences* 21(12):505-9.
- Kirkeby, O.J., Rise, I.R. und Risoe, C. **1997** Local variations in the cerebral microcirculatory response to hypercapnia and haemorrhage. *Acta Neurochirurgica* 139(10):981-6.
- Kleinschmidt, A., Bruhn, H., Kruger, G., Merboldt, K.D., Stoppe, G. und Frahm, J. **1999** Effects of sedation, stimulation, and placebo on cerebral blood oxygenation: a magnetic resonance neuroimaging study of psychotropic drug action. *NMR in Biomedicine* 12(5):286-92.
- Kontos, H.A., Wei, E.P., Navari, R.M., Levasseur, J.E., Rosenblum, W.I. und Patterson, J.L., Jr. **1978** Responses of cerebral arteries and arterioles to acute hypotension and hypertension. *American Journal of Physiology* 234(4):H371-83.
- Koob, G.F. **1999** Corticotropin-releasing factor, norepinephrine, and stress. *Biological Psychiatry* 46:1167-1180.
- Korte, S.M. **2001** Corticosteroids in relation to fear, anxiety and psychopathology. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews* 25.
- Kuschinsky, W. **1999** Regulation of Cerebral Blood Flow. In *Functional MRI* (C. Moonen und P.A. Bandettini, Eds.). pp.15-24. Springer Verlag, Berlin, Heidelberg, New York.
- Landgraf, R. und Wigger, L. **2002** *Behavior Genetics* in press.
- Lasbennes, F. und Seylaz, J. **1986** Local cerebral blood flow in gently restrained rats: effects of propranolol and diazepam. *Experimental Brain Research* 63(1):169-72.
- Laurie, D.J. und Pratt, J.A. **1989** Local cerebral glucose utilization following subacute and chronic diazepam pretreatment: differential tolerance. *Brain Research* 504(1):101-11.
- LeDoux, J.E. **1994** Emotion, memory and the brain. *Scientific American* 270(6):50-7.
- LeDoux, J.E., Ed. (1996). *The emotional brain*. New York: Touchstone.
- Lee, J.G., Hudetz, A.G., Smith, J.J., Hillard, C.J., Bosnjak, Z.J. und Kampine, J.P. **1994** The effects of halothane and isoflurane on cerebrocortical microcirculation and autoregulation as assessed by laser-Doppler flowmetry. *Anesthesia & Analgesia* 79(1):58-65.
- Liebsch, G., Linthorst, A.C., Neumann, I.D., Reul, J.M., Holsboer, F. und Landgraf, R. **1998a** Behavioral, physiological, and neuroendocrine stress responses and differential sensitivity to diazepam in two Wistar rat lines selectively bred for high- and low-anxiety-related behavior. *Neuropsychopharmacology* 19(5):381-96.
- Liebsch, G., Montkowski, A., Holsboer, F. und Landgraf, R. **1998b** Behavioural profiles of two Wistar rat lines selectively bred for high or low anxiety-related behaviour. *Behavioural Brain Research* 94(2):301-10.
- Long, C.J., Pueschel, K. und Hunter, S.E. **1978** Assessment of the effects of cingulate gyrus lesions by neuropsychological techniques. *Journal of Neurosurgery* 49(2):264-71.
- Low, K., Crestani, F., Keist, R., Benke, D., Brunig, I., Benson, J.A., Fritschy, J.M., Rulicke, T., Bluethmann, H., Mohler, H. und Rudolph, U. **2000** Molecular and neuronal substrate for the selective attenuation of anxiety. *Science* 290(5489):131-4.
- Malizia, A.L., Cunningham, V.J., Bell, C.J., Liddle, P.F., Jones, T. und Nutt, D.J. **1998** Decreased brain GABA(A)-benzodiazepine receptor binding in panic disorder: preliminary results from a quantitative PET study. *Archives of General Psychiatry* 55(8):715-20.
- Malizia, A.L. **1999** What do brain imaging studies tell us about anxiety disorders? *Journal of Psychopharmacology* 13(4):372-8.
- Maloteaux, J.M., Octave, J.N., Gossuin, A., Laterre, C. und Trouet, A. **1987** GABA induces down-regulation of the benzodiazepine-GABA receptor complex in the rat cultured neurons. *European Journal of Pharmacology* 144(2):173-83.

- Mandeville, J.B., Marota, J.J., Kosofsky, B.E., Keltner, J.R., Weissleder, R., Rosen, B.R. und Weisskoff, R.M. **1998** Dynamic functional imaging of relative cerebral blood volume during rat forepaw stimulation. *Magnetic Resonance in Medicine* 39(4):615-24.
- Markowska, A. und Lukaszewska, I. **1980** Emotional reactivity after frontomedial cortical, neostriatal or hippocampal lesions in rats. *Acta Neurobiologiae Experimentalis* 40(5):881-93.
- Marota, J.J., Mandeville, J.B., Weisskoff, R.M., Moskowitz, M.A., Rosen, B.R. und Kosofsky, B.E. **2000** Cocaine activation discriminates dopaminergic projections by temporal response: an fMRI study in Rat. *Neuroimage* 11(1):13-23.
- Mathew, R.J., Wilson, W.H. und Daniel, D.G. **1985** The effect of nonsedating doses of diazepam on regional cerebral blood flow. *Biological Psychiatry* 20(10):1109-16.
- Mathew, R.J. und Wilson, W.H. **1991** Evaluation of the effects of diazepam and an experimental anti-anxiety drug on regional cerebral blood flow. *Psychiatry Research* 40(2):125-34.
- McEwen, B.S., De Kloet, E.R. und Rostene, W. **1986** Adrenal steroid receptors and actions in the nervous system. *Physiological Reviews* 66(4):1121-88.
- McGaugh, J.L., Cahill, L. und Roozendaal, B. **1996** Involvement of the amygdala in memory storage: interaction with other brain systems. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 93(24):13508-14.
- McNaughton, N., Richardson, J. und Gore, C. **1986** Reticular elicitation of hippocampal slow waves: common effects of some anxiolytic drugs. *Neuroscience* 19(3):899-903.
- Meaney, M.J., Diorio, J., Francis, D., Widdowson, J., LaPlante, P., Caldji, C., Sharma, S., Seckl, J.R. und Plotsky, P.M. **1996** Early environmental regulation of forebrain glucocorticoid receptor gene expression: implications for adrenocortical responses to stress. *Developmental Neuroscience* 18(1-2):49-72.
- Meyer, M.E., Yu, O., Eclancher, B., Grucker, D. und Chambron, J. **1995** NMR relaxation rates and blood oxygenation level. *Magnetic Resonance in Medicine* 34(2):234-41.
- Mittmann, U., Schmidt, H.D., Schmier, J. und Wirth, R.H. **1976** Hemorrhagic shock with fixed hypotension and with spontaneous recovery of blood pressure. A comparison of two shock models. *Basic Research in Cardiology* 71(1):47-59.
- Montgomery, K.C. **1955** The relation between fear induced by novelty stimulation and exploratory behaviour. *Journal of Comparative and Physiological Psychology* 48:254-60.
- Moonen, C. und Bandettini, P.A. (Hrsg.) **1999** Functional MRI. Springer Verlag, Berlin, Heidelberg, New York.
- Morgan, M.A., Romanski, L.M. und LeDoux, J.E. **1993** Extinction of emotional learning: contribution of medial prefrontal cortex. *Neuroscience Letters* 163(1):109-13.
- Morgan, M.A. und LeDoux, J.E. **1995** Differential contribution of dorsal and ventral medial prefrontal cortex to the acquisition and extinction of conditioned fear in rats. *Behavioral Neuroscience* 109(4):681-8.
- Morita, H., Nemoto, E.M., Bleyaert, A.L. und Stezoski, S.W. **1977** Brain blood flow autoregulation and metabolism during halothane anesthesia in monkeys. *American Journal of Physiology* 233(6):H670-6.
- Morrow, B.A., Elsworth, J.D., Lee, E.J. und Roth, R.H. **2000** Divergent effects of putative anxiolytics on stress-induced fos expression in the mesoprefrontal system of the rat. *Synapse* 36(2):143-54.
- Mügglér, T., Baumann, D., Rausch, M. und Rudin, M. **2001** Bicuculline-induced brain activation in mice detected by functional magnetic resonance imaging. *Magnetic Resonance in Medicine* 46(2):292-8.
- Murphy, C.A., DiCamillo, A.M., Haun, F. und Murray, M. **1996** Lesion of the habenular efferent pathway produces anxiety and locomotor hyperactivity in rats: a comparison of the effects of neonatal and adult lesions. *Behavioural Brain Research* 81(1-2):43-52.
- Nehlig, A., Daval, J.L., Pereira de Vasconcelos, A. und Boyet, S. **1987** Caffeine-diazepam interaction and local cerebral glucose utilization in the conscious rat. *Brain Research* 419(1-2):272-8.
- Nguyen, T.V., Brownell, A.L., Iris Chen, Y.C., Livni, E., Coyle, J.T., Rosen, B.R., Cavagna, F. und Jenkins, B.G. **2000** Detection of the effects of dopamine receptor supersensitivity using pharmacological MRI and correlations with PET. *Synapse* 36(1):57-65.

- Nonneman, A.J., Voigt, J. und Kolb, B.E. **1974** Comparison of behavioral effects of hippocampal and prefrontal cortex lesions in the rat. *Journal of Comparative and Physiological Psychology* 87:249-260.
- Nugent, M., Artru, A.A. und Michenfelder, J.D. **1982** Cerebral metabolic, vascular and protective effects of midazolam maleate: comparison to diazepam. *Anesthesiology* 56(3):172-6.
- Ogawa, S., Lee, T.M. und Barrere, B. **1993a** The sensitivity of magnetic resonance image signals of a rat brain to changes in the cerebral venous blood oxygenation. *Magnetic Resonance in Medicine* 29(2):205-10.
- Ogawa, S., Menon, R.S., Tank, D.W., Kim, S.G., Merkle, H., Ellermann, J.M. und Ugurbil, K. **1993b** Functional brain mapping by blood oxygenation level-dependent contrast magnetic resonance imaging. A comparison of signal characteristics with a biophysical model. *Biophysical Journal* 64(3):803-12.
- Ohl, F., Toschi, N., Wigger, A., Henniger, M.S. und Landgraf, R. **2001** Dimensions of emotionality in a rat model of innate anxiety. *Behavioral Neuroscience* 115(2):429-36.
- Osuch, E.A., Ketter, T.A., Kimbrell, T.A., George, M.S., Benson, B.E., Willis, M.W., Herscovitch, P. und Post, R.M. **2000** Regional cerebral metabolism associated with anxiety symptoms in affective disorder patients. *Biological Psychiatry* 48(10):1020-3.
- Overstreet, D.H., Rezvani, A.H. und Janowsky, D.S. **1992** Maudsley reactive and nonreactive rats differ only in some tasks reflecting emotionality. *Physiology & Behavior* 52(1):149-52.
- Papez, J.W. **1937** A proposed mechanism of emotion. *Archives of Neurological Psychiatry* 38:725-43.
- Parent, M.B., Quirarte, G.L., Cahill, L. und McGaugh, J.L. **1995** Spared retention of inhibitory avoidance learning after posttraining amygdala lesions. *Behavioral Neuroscience* 109(4):803-7.
- Paterson, A., Whiting, P.J., Gray, J.A., Flint, J. und Dawson, G.R. **2001** Lack of consistent behavioural effects of Maudsley reactive and non-reactive rats in a number of animal tests of anxiety and activity. *Psychopharmacologia* 154(4):336-42.
- Paxinos, G. und Watson, C. **1998** The rat brain in stereotaxic coordinates. 4. Aufl., Academic Press, San Diego.
- Phelps, E.A., O'Connor, K.J., Gatenby, J.C., Gore, J.C., Grillon, C. und Davis, M. **2001** Activation of the left amygdala to a cognitive representation of fear. *Nature Neuroscience* 4(4):437-41.
- Pich, E.M., Heinrichs, S.C., Rivier, C., Miczek, K.A., Fisher, D.A. und Koob, G.F. **1993** Blockade of pituitary-adrenal axis activation induced by peripheral immunoneutralization of corticotropin-releasing factor does not affect the behavioral response to social defeat stress in rats. *Psychoneuroendocrinology* 18(7):495-507.
- Ploghaus, A., Tracey, I., Gati, J.S., Clare, S., Menon, R.S., Matthews, P.M. und Rawlins, J.N. **1999** Dissociating pain from its anticipation in the human brain. *Science* 284(5422):1979-81.
- Plotsky, P.M., Bruhn, T.O. und Vale, W. **1985a** Hypophysiotropic regulation of adrenocorticotropin secretion in response to insulin-induced hypoglycemia. *Endocrinology* 117(1):323-9.
- Plotsky, P.M., Bruhn, T.O. und Vale, W. **1985b** Evidence for multifactor regulation of the adrenocorticotropin secretory response to hemodynamic stimuli. *Endocrinology* 116(2):633-9.
- Quirk, G.J., Russo, G.K., Barron, J.L. und Lebron, K. **2000** The role of ventromedial prefrontal cortex in the recovery of extinguished fear. *Journal of Neuroscience* 20(16):6225-31.
- Reese, T., Bjelke, B., Porszasz, R., Baumann, D., Bochelen, D., Sauter, A. und Rudin, M. **2000** Regional brain activation by bicuculline visualized by functional magnetic resonance imaging. Time-resolved assessment of bicuculline-induced changes in local cerebral blood volume using an intravascular contrast agent. *NMR in Biomedicine* 13(1):43-9.
- Renou, A.M., Vernhiet, J., Orgogozo, J.M., Gross, C. und Caille, J.M. **1977** [Cerebral blood flow and metabolism under "diazanalgesia" (author's transl)]. *Revue d'Electroencephalographie et de Neurophysiologie Clinique* 7(1):105-11.
- Riekkinen, P., Kuitunen, J. und Riekkinen, M. **1995** Effects of scopolamine infusions into the anterior and posterior cingulate on passive avoidance and water maze navigation. *Brain Research* 685(1-2):46-54.
- Roald, O.K., Steen, P.A., Milde, J.H. und Michenfelder, J.D. **1986** Reversal of the cerebral effects of diazepam in the dog by the benzodiazepine antagonist Ro15-1788. *Acta Anaesthesiologica Scandinavica* 30(4):341-5.

- Robertson, H.A., Martin, I.L. und Candy, J.M. **1978** Differences in benzodiazepine receptor binding in Maudsley reactive and Maudsley non-reactive rats. *European Journal of Pharmacology* 50(4):455-7.
- Rocca, P., Ferrero, P., Gualerzi, A., Zanalda, E., Maina, G., Bergamasco, B. und Ravizza, L. **1991** Peripheral-type benzodiazepine receptors in anxiety disorders. *Acta Psychiatrica Scandinavica* 84(6):537-44.
- Rocca, P., Fonzo, V., Scotta, M., Zanalda, E. und Ravizza, L. **1997** Paroxetine efficacy in the treatment of generalized anxiety disorder. *Acta Psychiatrica Scandinavica* 95(5):444-50.
- Rodgers, R.J. und Dalvi, A. **1997** Anxiety, defence and the elevated plus-maze. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews* 21(6):801-10.
- Rosen, J.B. und Schulkin, J. **1998** From normal fear to pathological anxiety. *Psychological Review* 105(2):325-50.
- Rosenbaum, A.H., Schatzberg, A.F., Jost, F.A., 3rd, Cross, P.D., Wells, L.A., Jiang, N.S. und Maruta, T. **1983** Urinary free cortisol levels in anxiety. *Psychosomatics* 24(9):835-7.
- Rosenkranz, J.A. und Grace, A.A. **2001** Dopamine attenuates prefrontal cortical suppression of sensory inputs to the basolateral amygdala of rats. *Journal of Neuroscience* 21(11):4090-103.
- Rudolph, U., Crestani, F., Benke, D., Brunig, I., Benson, J.A., Fritschy, J.M., Martin, J.R., Bluethmann, H. und Mohler, H. **1999** Benzodiazepine actions mediated by specific gamma-aminobutyric acid(A) receptor subtypes. *Nature* 401(6755):796-800.
- Rusch, B.D., Abercrombie, H.C., Oakes, T.R., Schaefer, S.M. und Davidson, R.J. **2001** Hippocampal morphometry in depressed patients and control subjects: relations to anxiety symptoms. *Biological Psychiatry* 50(12):960-64
- Schmoker, J.D., Zhuang, J. und Shackford, S.R. **1992** Hemorrhagic hypotension after brain injury causes an early and sustained reduction in cerebral oxygen delivery despite normalization of systemic oxygen delivery. *Journal of Trauma-Injury Infection & Critical Care* 32(6):714-20; discussion 721-2.
- Schulkin, J., Gold, P.W. und McEwen, B.S. **1998** Induction of corticotropin-releasing hormone gene expression by glucocorticoids: implication for understanding the states of fear and anxiety and allostatic load. *Psychoneuroendocrinology* 23(3):219-43.
- Sevy, S., Papadimitriou, G.N., Surmont, D.W., Goldman, S. und Mendlewicz, J. **1989** Noradrenergic function in generalized anxiety disorder, major depressive disorder, and healthy subjects. *Biological Psychiatry* 25(2):141-52.
- Sibson, N.R., Dhankhar, A., Mason, G.F., Rothman, D.L., Behar, K.L. und Shulman, R.G. **1998** Stoichiometric coupling of brain glucose metabolism and glutamatergic neuronal activity. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 95(1):316-21.
- Silva, A.C., Zhang, W., Williams, D.S. und Koretsky, A.P. **1995** Multi-slice MRI of rat brain perfusion during amphetamine stimulation using arterial spin labeling. *Magnetic Resonance in Medicine* 33(2):209-14.
- Stein, E.A., Pankiewicz, J., Harsch, H.H., Cho, J.K., Fuller, S.A., Hoffmann, R.G., Hawkins, M., Rao, S.M., Bandettini, P.A. und Bloom, A.S. **1998** Nicotine-induced limbic cortical activation in the human brain: a functional MRI study. *American Journal of Psychiatry* 155(8):1009-15.
- Sullivan, R.M. und Gratton, A. **1999** Lateralized effects of medial prefrontal cortex lesions on neuroendocrine and autonomic stress responses in rats. *Journal of Neuroscience* 19(7):2834-40.
- Takahashi, H., Takada, Y., Nagai, N., Urano, T. und Takada, A. **2000** Serotonergic neurons projecting to hippocampus activate locomotion. *Brain Research* 869(1-2):194-202.
- Tashiro, M., Itoh, M., Kubota, K., Kumano, H., Masud, M.M., Moser, E., Arai, H. und Sasaki, H. **2001** Relationship between trait anxiety, brain activity and natural killer cell activity in cancer patients: a preliminary PET study. *Psycho-Oncology* 10:541-46.
- Thulborn, K.R., Waterton, J.C., Matthews, P.M. und Radda, G.K. **1982** Oxygenation dependence of the transverse relaxation time of water protons in whole blood at high field. *Biochimica et Biophysica Acta* 714(2):265-70.
- Tiihonen, J., Kuikka, J., Rasanen, P., Lepola, U., Koponen, H., Liuska, A., Lehmusvaara, A., Vainio, P., Kononen, M., Bergstrom, K., Yu, M., Kinnunen, I., Akerman, K. und Karhu, J. **1997** Cerebral benzodiazepine receptor binding and distribution in generalized anxiety disorder: a fractal analysis. *Molecular Psychiatry* 2(6):463-71.

- Tiller, J.W., Biddle, N., Maguire, K.P. und Davies, B.M. **1988** The dexamethasone suppression test and plasma dexamethasone in generalized anxiety disorder. *Biological Psychiatry* 23(3):261-70.
- Tomarken, A.J., Davidson, R.J., Wheeler, R.E. und Doss, R.C. **1992** Individual differences in anterior brain asymmetry and fundamental dimensions of emotion. *Journal of Personality & Social Psychology* 62(4):676-87.
- Tornatzky, W. und Miczek, K.A. **1994** Behavioral and autonomic responses to intermittent social stress: differential protection by clonidine and metoprolol. *Psychopharmacology* 116(3):346-56.
- Treit, D., Menard, J. und Royan, C. **1993** Anxiogenic stimuli in the elevated plus-maze. *Pharmacology, Biochemistry & Behavior* 44(2):463-9.
- Turner, R. **1997** Signal sources in BOLD contrast fMRI. In *Optical imaging of brain function and metabolism II* (A. Villringer und U. Dirnagl, Eds.). pp.19-25. Plenum Press, New York.
- Umriukhin, A., Wigger, A., Singewald, N. und Landgraf, R. **in Begutachtung**.
- van Zijl, P.C., Eleff, S.M., Ulatowski, J.A., Oja, J.M., Ulug, A.M., Traystman, R.J. und Kauppinen, R.A. **1998** Quantitative assessment of blood flow, blood volume and blood oxygenation effects in functional magnetic resonance imaging [see comments]. *Nature Medicine* 4(2):159-67.
- Vernhiet, J., Renou, A.M., Orgogozo, J.M., Constant, P. und Caille, J.M. **1978** Effects of a diazepam-fentanyl mixture on cerebral blood flow and oxygen consumption in man. *British Journal of Anaesthesia* 50(2):165-9.
- Villringer, A. **1999** Physiological Changes During Brain Activation. In *Functional MRI* (C. Moonen und P.A. Bandettini, Eds.). pp.3-13. Springer Verlag, Berlin, Heidelberg, New York.
- Wahrig, G. **1968** Deutsches Wörterbuch. Bertelsmann, Gütersloh.
- Weiss, S.M., Wadsworth, G., Fletcher, A. und Dourish, C.T. **1998** Utility of ethological analysis to overcome locomotor confounds in elevated maze models of anxiety. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews* 23(2):265-71.
- Weisskoff, R.M. **1999** Basic Theoretical Models of BOLD Signal Change. In *Functional MRI* (C. Moonen und P.A. Bandettini, Eds.). pp.115-123, Berlin, Heidelberg, New York.
- Weizman, R., Tanne, Z., Granek, M., Karp, L., Golomb, M., Tyano, S. und Gavish, M. **1987** Peripheral benzodiazepine binding sites on platelet membranes are increased during diazepam treatment of anxious patients. *European Journal of Pharmacology* 138(2): 289-92
- Werner, C., Hoffman, W.E., Kochs, E., Schulte am Esch, J. und Albrecht, R.F. **1993** The effects of propofol on cerebral and spinal cord blood flow in rats. *Anesthesia & Analgesia* 76(5):971-5.
- Westenberg, H.G. und Den Boer, J.A. **1993** New findings in the treatment of panic disorder. *Pharmacopsychiatry* 26(Suppl 1):30-3.
- Wigger, A., Loerscher, P., Weissenbacher, P., Holsboer, F. und Landgraf, R. **2001** Cross-fostering and cross-breeding of HAB and LAB rats: A genetic rat model of anxiety. *Behavior Genetics* 31(4):371-82.
- Wu, J.C., Buchsbaum, M.S., Hershey, T.G., Hazlett, E., Sicotte, N. und Johnson, J.C. **1991** PET in generalized anxiety disorder. *Biological Psychiatry* 29(12):1181-99.
- Wyss, J.M. und Van Groen, T. **1992** Connections between the retrosplenial cortex and the hippocampal formation in the rat: a review. *Hippocampus* 2(1):1-11.
- Xu, H., Li, S.J., Bodurka, J., Zhao, X., Xi, Z.X. und Stein, E.A. **2000** Heroin-induced neuronal activation in rat brain assessed by functional MRI. *Neuroreport* 11(5):1085-92.
- Zaharchuk, G., Mandeville, J.B., Bogdanov, A.A., Jr., Weissleder, R., Rosen, B.R. und Marota, J.J. **1999** Cerebrovascular dynamics of autoregulation and hypoperfusion. An MRI study of CBF and changes in total and microvascular cerebral blood volume during hemorrhagic hypotension. *Stroke* 30(10):2197-204; discussion 2204-5.
- Zhang, Z., Andersen, A.H., Avison, M.J., Gerhardt, G.A. und Gash, D.M. **2000** Functional MRI of apomorphine activation of the basal ganglia in awake rhesus monkeys. *Brain Research* 852(2):290-6.
- Zobel, A.W., Nickel, T., Künzel, H.E., Ackl, N., Sonntag, A., Ising, M. und Holsboer, F. **2000** Effects of the high-affinity corticotropin-releasing hormone receptor 1 antagonist R121919 in major depression: the first 20 patients. *Journal of Psychiatric Research* 34(3):171-81

## **6 ANHANG**

Abkürzungsverzeichnis

Kurze Einführung in die Physik der Magnetresonanztomographie

Lebenslauf

## Abkürzungverzeichnis

5-HT	5-Hydroxytryptamin, Serotonin
Acb	Nucleus accumbens*
ACC	<i>Anterior Cingulate Cortex</i> , vorderes Zingulum
ACTH	Adrenokortikotropes Hormon
AID	Insula anterior dorsalis*
AIV	Insula anterior ventralis*
ANOVA	<i>Analysis of variance</i> , Varianzanalyse
AVP	Arginin-Vasopressin
AVP-V1	AVP-Rezeptor 1
BIS	<i>Behavioral Inhibition System</i>
BLA	Nucleus basolateralis amygdalae*
BNST	<i>Bed nucleus</i> der Stria terminalis*
BOLD	<i>Blood oxygenation level dependent</i> , Blutoxygenierungsabhängig
BP	<i>Blood pressure</i> , Blutdruck
BZP	Benzodiazepin
CA1	Hippokampale Subdivision*
CBF	<i>Cerebral blood flow</i> , zerebraler Blutfluß
CBV	<i>Cerebral blood volume</i> , zerebrales Blutvolumen
CCK	Cholezystokinin
CEA	Nucleus centralis amygdalae*
CFT	2 $\beta$ -carbomethoxy-3 $\beta$ -(4-fluoropheny)tropan
Cg1	Zingulum 1*
Cg2	Zingulum 2*
CM	Nucleus centromedialis thalami*
CMRO <sub>2</sub>	<i>Cerebral metabolic rate of oxygen</i> , zerebraler Sauerstoffverbrauch
CORT	Kortikosteron oder Kortisol
CPu	Caudatoputamen*
CRH	<i>Corticotropin releasing hormone</i>
CRHR1	CRH-Rezeptor 1
DHb	deoxy-Hämoglobin
DLG	<i>Dorsal lateral geniculate nucleus</i> , dorsaler lateraler Kniehöcker
DLO	Dorsolateraler Orbitofrontaler Kortex*
EPM	<i>Elevated Plus Maze</i>
EtCO <sub>2</sub>	<i>End-tidal CO<sub>2</sub></i> , endexpiratorisches CO <sub>2</sub>
EtO <sub>2</sub>	<i>End-tidal O<sub>2</sub></i> , endexpiratorisches O <sub>2</sub>
FLASH	<i>Fast low-angle shot</i> , eine Gradienten-Echo-Sequenz
fMRI	<i>Functional magnetic resonance imaging</i> , funktionelle Magnetresonanztomographie
FOV	<i>Field of view</i> , Bildausschnitt
GABA	<i><math>\gamma</math>-amino butyric acid</i> , $\gamma$ -Aminobuttersäure
GAD	<i>Generalized anxiety disorder</i> , Generalisierte Angststörung (DSM IV)
GR	Glukortikoidrezeptor
HAB	<i>High anxiety-related behavior</i> , starkes Angstverhalten
Hb	Hämoglobin
Hb (anatomisch)	Habenula*
HC	Hippokampus
HF	Herzfrequenz
HPA	<i>Hypothalamus-pituitary-adrenal gland</i> , Hypothalamus-Hypophyse-Nebenniere
IL	Infralimbischer Kortex*
KK	Kreuzkorrelation(skoeffizient)
LA	Nucleus lateralis amygdalae*
LAB	<i>Low anxiety-related behavior</i> , schwaches Angstverhalten

LC	Locus coeruleus
LD	Nucleus laterodorsalis thalami*
LGP	Lateraler Globus pallidus*
LO	Lateraler Orbitofrontaler Kortex*
LP	Nucleus lateroposterior thalami*
IPFC	Lateraler präfrontaler Kortex
M1	Primärmotorischer Kortex*
M2	Sekundärmotorischer Kortex*
MAC	<i>Minimum alveolar concentration</i> , minimale alveoläre Konzentration
MAOI	Monoaminoxidase-Inhibitor
MD	Nucleus mediodorsalis thalami*
MHT	Medialer Hypothalamus
MO	Medialer Orbitofrontaler Kortex*
mPFC	Medialer präfrontaler Kortex
MR	Magnetresonanz(tomographie)
NA	Noradrenalin
NAc	Nucleus accumbens*
OF	<i>Open Field</i>
oPFC	Cortex praefrontalis orbitalis
PAG	<i>Periaqueductal grey</i> , Zentrales Höhlengrau
P <sub>aw</sub>	<i>Airway pressure</i> , Beatmungsdruck
PCC	<i>Posterior Cingulate Cortex</i> , Hinteres Zingulum (auch RS, Retrosplenialer Kortex)
PET	Positronen-Emissions-Tomographie
PFC	Präfrontaler Kortex
phMRI	pharmakologisches fMRI
PrL	Prälimbischer Kortex*
PVN	Nucleus paraventricularis hypothalami*
RARE	<i>Rapid acquisition relaxation enhancement</i> , eine Spin-Echo-Sequenz
RS	Retrosplenialer Kortex (auch PCC, Hinteres Zingulum)
S	Subikulum
S1	Primärer somatosensorischer Kortex*
SE-EPI	<i>Spin echo echoplanar imaging</i>
SHS	Septohippokampales System
SN	Substantia nigra
SNR	<i>Signal-to-noise ratio</i> , Signal-zu-Rausch-Verhältnis
SNRI	<i>Serotonin and norepinephrin reuptake inhibitor</i> , Serotonin- und Noradrenalin-Wiederaufnahme-Hemmer
SPM	<i>Statistical parametric mapping</i>
SpO <sub>2</sub>	Sauerstoffsättigung
SSRI	<i>Selective serotonin reuptake inhibitor</i> , Selektiver Serotonin-Wiederaufnahme-Hemmer
SuG	<i>Superficial gray layer of the superior colliculus</i> , Obere Zellschicht des Oberen Hügels*
t <sub>0</sub>	Anfangszeitpunkt
T2, T2*	Querrelaxationskonstanten
TCA	Trizyklisches Antidepressivum
TE	<i>Echo time</i> , Echozeit
t <sub>max</sub>	Zeitpunkt maximalen Effekts
TR	<i>Repetition time</i> , Repetitionszeit
TE <sub>eff</sub>	Effektives TE
V1	Primärer visueller Kortex*
V2	Sekundärer visueller Kortex*
VO	Ventraler Orbitofrontaler Kortex*

\* Definition nach Paxinos und Watson 1998

## Kleine Einführung in die Physik der Magnetresonanztomographie

Atomkerne mit „**Kernspin**“ haben die Eigenschaft, sich in einem Magnetfeld wie ein kleiner Stabmagnet zu verhalten, d.h. sich an dem äußeren Magnetfeld auszurichten. In der Summe werden sich stets ein wenig mehr dieser kleinen Magneten parallel als antiparallel zur Achse eines Magnetfeldes ausrichten, wodurch eine Nettomagnetisierung resultiert, die als Vektor parallel zur Hauptmagnetfeldachse beschrieben werden kann. Häufigster im Gewebe vorkommender Kern mit „Spin“ ist der Wasserstoffkern (Proton).

In der Magnetresonanztomographie werden die Spins durch kurze Einstrahlung von selektiven Radiofrequenzpulsen auf ein höheres Energieniveau gehoben; dies entspricht einer Auslenkung des Magnetisierungsvektors transversal zur Hauptmagnetfeldachse. Er fängt daraufhin an, um die Hauptmagnetfeldachse zu präzedieren, wobei er in einer Empfängerspule eine Spannung induziert, die proportional zur Höhe der anfänglichen Nettomagnetisierung ist. Je mehr Protonen das Gewebe enthält, desto höher ist die Nettomagnetisierung und damit die induzierte Spannung. In der einfachsten Form der Bildgebung wird dieser sog. **Protonendichte-Kontrast** zur Unterscheidung verschiedener Gewebetypen benutzt. Auch steigt die Nettomagnetisierung mit der Stärke des äußeren Magnetfeldes, da zunehmend mehr parallel als antiparallel ausgerichtete Kerne anzutreffen sind. Dies ist der Hintergrund für den zunehmenden Einsatz von **Hochfeld**-Geräten in der biomedizinischen Forschung.

Die Dynamik der Wiederherstellung der Nettomagnetisierung längs der Hauptachse wird durch die **Longitudinalrelaxations-Konstante T1** beschrieben. Je kürzer nach einer Auslenkung der Magnetisierungsvektor erneut ausgelenkt wird, desto weniger hat sich die longitudinale Magnetisierungskomponente erholt und steht für eine erneute Auslenkung zur Verfügung. Entsprechend geringer wird die induzierte Spannung im nächsten Präzessionsprozeß sein. Da die Relaxationseigenschaften (d.h. T1) eines Gewebes von den magnetischen Eigenschaften ihrer Umgebung abhängen, können durch geeignete Wahl der Zeitabstände zwischen den Auslenkungen (**Repetitionszeit TR**) unterschiedliche Gewebetypen differenziert werden. Der sog. **T1-Kontrast** dient folglich wie der Protonendichte-Kontrast in erster Linie zur anatomischen Bildgebung.

Unmittelbar nach der Auslenkung sind zunächst alle Spins in Phase. Durch Wechselwirkung untereinander büßen sie an Phasenkohärenz ein, wodurch es zu einer Verringerung der Nettomagnetisierung kommt. Der dadurch hervorgerufene Signalzerfall wird durch die **Transversalrelaxations-Konstante T2** beschrieben. Andere Quellen des Phasenkohärenzverlustes sind lokale Magnetfeldinhomogenitäten wie die Gradienten des

äußeren Magnetfeldes oder paramagnetische Effekte an Gewebegrenzen (die sog. **Suszeptibilitätseffekte**). Diese lokalen Inhomogenitätsquellen sind zeitlich konstante Größen und können daher durch den Einsatz einer sog. **Spin-Echo(SE)-Sequenz** anstelle einer konventionellen **Gradienten-Echo(GE)-Sequenz** herausgemittelt werden. In SE-Experimenten ist der Signalzerfall also verlangsamt ( $T_2$  ist länger). Die Zeitkonstante des schnelleren Zerfalls in GE-Experimenten bezeichnet man zur Unterscheidung auch als  $T_2^*$ .

In der **funktionellen Bildgebung** macht man sich eine weitere Inhomogenitätsquelle – das paramagnetische Deoxy-Hämoglobin (dHb) in den Blutgefäßen - zu nutze. Seine Konzentration ist dort erniedrigt, wo neuronale Aktivierung stattfindet (s. 2.1.1), so daß  $T_2^*$  (in geringerem Maße  $T_2$ ) in aktivierten Hirnregionen länger ist. Durch geeignete Wahl des Aufnahmezeitpunktes nach der Auslenkung (**Echozeit TE**) können dadurch nicht aktivierte Regionen, in denen das Signal schon stark abgeklungen ist, von aktivierten, „helleren“ Regionen unterschieden werden.

Zur weiterführenden Lektüre insbesondere bezüglich der Grundlagen der funktionellen Magnetresonanztomographie sei der Band *Functional MRI* (Moonen und Bandettini 1999) empfohlen.

## Lebenslauf

Name: Raffael Kalisch  
Geburtsort: Offenburg  
Geburtsdatum: 1.8.1972  
Nationalität: deutsch

1979-1983	Besuch der Grundschule Heilbronn-Horkheim
1983-1992	Besuch des Justinus-Kerner-Gymnasium Heilbronn
1992	Schulabschluß Abitur
1992-1993	Zivildienst am Städtischen Krankenhaus Heilbronn
1993-1996	Studium der Humanbiologie an der Universität Marburg (6 Semester)
1995	Vordiplom
1996-1997	Gaststudent im Studiengang "Maitrise de Biologie cellulaire et Physiologie, option Physiologie" an der Universität Paris VII (2 Semester)
1997-1998	Abschluß des Studiums der Humanbiologie an der Universität Marburg (2 Semester) Externe Diplomarbeit bei Herrn Dr. Antoine Triller, INSERM U497, Ecole Normale Supérieure, Paris
1998	Diplomprüfungen in Physiologie (Hauptfach), Zellbiologie und Molekularbiologie
22. 9. 1998	Erlangung des Diploms der Humanbiologie
seit 1.11.98	Doktorand am Max-Planck-Institut für Psychiatrie, München unter Anleitung von Frau Dr. Dorothee Auer und Herrn Prof. Dr. Landgraf (Doktorvater)
SS 1999-WS2001/02	Promotionsstudent an der Ludwig-Maximilians-Universität München