

Aus dem Institut für Anatomie
der Medizinischen Fakultät
der Otto-von-Guericke-Universität Magdeburg

**Beeinflussung von Lokomotion und kontextueller Furcht
durch die Unterbrechung des viszeralen Feedback
mittels peripherer β_1 -adrenerger Rezeptorblockade
in C57BL/6J01aHsd-Mäusen**

DISSERTATION

zur Erlangung des Doktorgrades
Dr. med.
(doctor medicinae)

an der Medizinischen Fakultät
der Otto-von-Guericke-Universität Magdeburg

vorgelegt von *Kathrin Janitzky*
(aus Osterwieck)
Magdeburg 2007

Je heller das Licht
der Erkenntnis leuchtet,
desto dunkler wird die Nacht,
die uns umgibt.

Eckstein

Kathrin Janitzky

Beeinflussung von Lokomotion und kontextueller Furcht durch die Unterbrechung des viszeralen Feedback mittels peripherer β_1 -adrenerger Rezeptorblockade in C57BL/6J OlaHsd-Mäusen

2007, 91 Seiten, 6 Abbildungen, 5 Bildanlagen, 3 Tabellen
Otto-von-Guericke-Universität Magdeburg, Dissertation

Die vorliegende Arbeit steht im Kontext der Erforschung viszerosensorischer Informationen sowie deren Funktion als Integrator adaptiven Verhaltens und Regulator physiologischer Reaktionen in stress- und furchtassoziierten Situationen (Myers and Rinaman 2005).

Untersucht wird der Einfluss vegetativer Erregung auf das Lernen emotionaler Stimuli unter der Hypothese einer Aktivierung vegetativ-azendierender Bahnen mit Verbindungen ins limbische System.

Dazu wurde das Verhalten von C57BL/6J-Mäusen unter peripherer β -Blockade mittels Atenolol (5mg/kg KG und 20mg/kg KG; i.p.) in einem Open Field-Modell und dem emotionalen Lernparadigma, der auditorischen und kontextuellen Furchtkonditionierung studiert. Die Ergebnisse belegen eine dosisabhängige Lokomotionsabnahme, bei unbeeinflussten Trait-Angst assoziierten Verhaltensparametern (Mitteaufenthalt und Aufrichtungen) naiver Tiere in neuer Umgebung und verweisen auf eine dosisabhängige Reduktion der hintergründigen kontextuellen Furcht bei unbeeinflusstem Verhalten während der „cue“-Präsentation im Hintergrundkontext. Der selektive Einfluss der pharmakologischen Sympathikusblockade auf die Hintergrundkontextkonditionierung lässt nicht nur eine unterschiedliche neuronale Realisierung von kontextueller und „cue“-Konditionierung, sondern auch einen Unterschied in der Verarbeitung und/oder Speicherung von Kontextreizen vermuten. Dieser ist abhängig davon, ob sich die kontextuellen Stimuli mit geringer Assoziation zum US während gepaarter Konditionierung „im Hintergrund“ befinden oder ob sie in enger Beziehung zum US während ungepaarter Konditionierung „vordergründig“ präsentiert werden.

Schlüsselwörter: Furcht, Trait-Angst, Interozeption, viszerales Feedback, sympathisches Nervensystem, Open Field, Furchtkonditionierung, „cue“- und Kontextkonditionierung, β -Blocker, Soziale Phobie

1 Einleitung

| | | |
|------------|--|-----------|
| 1.1 | Angst-Physiologische und psychologische Aspekte | 8 |
| 1.1.1 | Angstdefinitionen und Angstkonzepte | 8 |
| 1.1.2 | Angstentstehung | 9 |
| 1.1.3 | Klassische Konditionierung | 10 |
| 1.1.4 | Beeinflussung emotionaler Lernvorgänge durch die periphere vegetative Reaktion | 11 |
| 1.2 | Tiermodelle für Angst und Furcht | 11 |
| 1.2.1 | Open Field | 12 |
| 1.2.2 | Furchtkonditionierung | 13 |
| 1.2.3 | Kontextkonditionierung | 14 |
| 1.2.4 | Cue-Konditionierung | 15 |
| 1.3 | Inzuchtstämme als Versuchstiere | 16 |
| 1.3.1 | C57BL/6JOLA ^{Hsd} -Mäuse | 16 |
| 1.4 | Pharmakologie adrenerger Rezeptorantagonisten | 17 |
| 1.4.1 | Adrenerge Rezeptoren und Beta-Blockade | 17 |
| 1.4.2 | Therapeutischer Einsatz von Beta-Blockern | 18 |
| 1.4.3 | Pharmakokinetik von Atenolol | 18 |
| 1.5 | Hypothese | 19 |

2 Material und Methoden

| | | |
|------------|--|-----------|
| 2.1 | Tiere und Medikation | 20 |
| 2.1.1 | Ethische Grundlagen | 20 |
| 2.1.2 | Versuchstiere | 20 |
| 2.1.3 | Tierhaltung | 20 |
| 2.1.4 | Medikation | 20 |
| 2.2 | Verhaltensexperimente | 21 |
| 2.2.1 | Motility-Box | 21 |
| 2.2.2 | Startle-Apparatur | 21 |
| 2.3 | Versuchsdurchführung 1 | 22 |
| 2.3.1 | Motility-Box | 22 |
| 2.3.2 | Furchtkonditionierung in der Startle-Box | 22 |
| 2.4 | Statistik | 24 |

| | | |
|----------------|--|-----------|
| 3 | Ergebnisse | |
| 3.1 | Lokomotion und Trait-Angst-Verhalten in der Motility-Box | 26 |
| 3.1.1 | Beeinflussung der lokomotorischen Aktivität durch Atenolol | 26 |
| 3.1.2 | Ergebnisse | 26 |
| 3.1.3 | Einfluss von Atenolol auf das Verhalten in der Motility-Box | 26 |
| 3.2 | Experiment 2 | 30 |
| 3.2.1 | Kontextexposition und CS-Präsentation im Kontext (1.Retrieval) | 30 |
| 3.2.1.1 | Verhalten während Kontextexposition und CS-Präsentation im Kontext | 30 |
| 3.2.1.1.1 | Freezing während Kontextexposition | 30 |
| 3.2.1.1.2 | Freezing während CS-Präsentation im Kontext | 31 |
| 3.2.1.1.3 | Sniffing während Kontextexposition | 33 |
| 3.2.1.1.4 | Sniffing während CS-Präsentation im Kontext | 33 |
| 3.2.1.1.5 | Grooming während Kontextexposition | 33 |
| 3.2.1.1.6 | Grooming während CS-Präsentation im Kontext | 33 |
| 3.2.2 | Kontextexposition und CS-Präsentation im Kontext (2.Retrieval) | 36 |
| 3.2.2.1 | Verhalten während Kontextexposition und CS-Präsentation im Hintergrundkontext mit nachfolgendem Vergleich des Verhaltens im 1. und 2. Retrieval | 36 |
| 3.2.2.2.1 | Freezing während Kontextexposition | 36 |
| 3.2.2.2.2 | Freezing während CS-Präsentation im Kontext | 37 |
| 3.2.2.2.3 | Sniffing während Kontextexposition | 39 |
| 3.2.2.2.4 | Sniffing während CS-Präsentation im Kontext | 39 |
| 3.2.2.2.5 | Grooming während Kontextexposition | 39 |
| 3.2.2.2.6 | Grooming während CS-Präsentation im Kontext | 39 |
| 3.2.3 | Verhaltensvergleich von Kontext- und CS-Exposition im Hintergrundkontext | 40 |
| 3.2.3.1 | Vergleich des Freezing im Kontext- vs. während CS-Exposition im Kontext | 40 |
| 3.2.3.2 | Vergleich des Sniffing im Kontext- vs. während CS-Exposition im Kontext | 41 |
| 3.2.3.3 | Vergleich des Grooming im Kontext- vs. während CS-Exposition im Kontext | 41 |
| 3.3 | Defäkation | 41 |
| 3.3.1 | Defäkation während der Konditionierung | 41 |
| 3.3.2 | Defäkation im Retrieval | 42 |
| 3.3.3 | Defäkation während der Konditionierung und im Retrieval | 42 |

4 Diskussion

| | | |
|-------|--|----|
| 4.1 | Diskussionseinleitung | 44 |
| 4.2 | Zusammenfassung der Ergebnisse | 45 |
| 4.3 | Diskussion der Methodik | 46 |
| 4.4 | Peripheres und zentrales noradrenerges Nervensystem, Gedächtnisbildung und Furcht | 49 |
| 4.5 | Diskussion der Ergebnisse | 51 |
| 4.5.1 | Verhalten in neuer Umgebung | 51 |
| 4.5.2 | Wirkung von Atenolol auf kontextuelle und „cue“-Konditionierung | 53 |
| 4.5.3 | Unterschiede der gepaarten und ungepaarten Konditionierung | 55 |
| 4.5.4 | Modulation zentraler Prozesse durch autonome Afferenzen | 56 |
| 4.6 | Locus coeruleus (LC) und basales cholinerges Vorderhirn (BCF) | 57 |
| 4.7 | Klinische Bezüge | 58 |

5 Dokumentationsblatt 62

6 Anhang

| | | |
|-----|-------------------------------|----|
| 6.1 | Literaturverzeichnis | 64 |
| 6.2 | Erklärung | 81 |
| 6.3 | Danksagung | 82 |
| 6.4 | Darstellung des Bildungsweges | 84 |
| 6.6 | Tabellen | 86 |
| 6.7 | Bildanlagen | 89 |

Abkürzungsverzeichnis

| | |
|-------------|--|
| BCF | Basales cholinerges Vorderhirn (basal cholinergic forebrain) |
| BNST | Bed nucleus der Stria terminalis |
| BLA | basolaterale Amygdala |
| CR | konditionierte Reaktion |
| CS | konditionierter Stimulus |
| FC | Furchtkonditionierung |
| LA | laterale Amygdala |
| LC | Locus coeruleus |
| NS | Nervensystem |
| NTS | Nucleus tractus solitarius |
| PAG | Periaquäduktales Grau |
| PGi | Nucleus paragigantocellularis |
| UR | unkonditionierte Reaktion |
| US | unkonditionierter Stimulus |
| ZNS | zentrales Nervensystem |

Abbildungs-, Tabellen- und Bildanlagenverzeichnis

| | | |
|---------------------|---|----|
| Abbildung 1 | Verhaltensbeeinflussung durch Atenolol in der Motility-Box | 28 |
| Abbildung 2 | Freezing in % der Zeit im 1. Retrieval | 32 |
| Abbildung 3 | Sniffing in % der Zeit im 1. Retrieval | 34 |
| Abbildung 4 | Grooming in % der Zeit im 1. Retrieval | 35 |
| Abbildung 5 | Freezing-Vergleich zwischen 1. und 2. Retrieval | 38 |
| Abbildung 6 | Defäkation in Kottelanzahl während FC, 1. und 2. Retrieval | 43 |
| Tabelle 1 | Verhaltensparameter in der Motility-Box als MW±SEM | 86 |
| Tabelle 2 | Verhalten während Kontext und CS-Exposition im Kontext nach Furchtkonditionierung | 86 |
| Tabelle 2.1 | Verhaltensparameter als MW±SEM im 1. Retrieval | 86 |
| Tabelle 2.2 | Verhaltensparameter als MW±SEM im 2. Retrieval | 87 |
| Bildanlage 1 | Tierhaltung und Injektion der Tiere | 89 |
| Bildanlage 2 | Motility-Box | 89 |
| Bildanlage 3 | Startle-Apparatur | 90 |
| Bildanlage 4 | Gitterkäfig in Startle-Apparatur | 90 |
| Bildanlage 5 | Konditionierungsschema | 91 |

1 Einleitung

1.1 Angst: Physiologische und psychologische Aspekte

1.1.1 Angstdefinitionen und Angstkonzepte

Angst ist eine entwicklungsgeschichtlich sehr alte, primäre Emotion, deren Ziel die Herstellung der körperlichen Bereitschaft zur Reaktion auf Gefahren ist und war. Physiologisch gesehen sind Angst und Furcht Stresszustände in Reaktion auf eine wahrgenommene äußere Bedrohung. Da in einer Gefahrensituation nicht viel Zeit vergehen darf, bevor die Entscheidung „Kampf oder Flucht“ gefällt ist, war es evolutionsbiologisch entscheidend, dass eine Reaktion möglichst schnell erfolgte. Dies wird durch den autonomen Ablauf unter Umgehung des Kortex realisiert. Wenn eine Situation im limbischen System (Amygdala) als gefährlich bewertet wird, kommt es zur Aktivierung des Sympathikus mit peripherer Freisetzung von Katecholaminen und zum zentralen Arousal. Durch das vegetative Nervensystem werden die körperlichen Symptome der Angst mit Herzklopfen, Schweißausbrüchen und Zittern realisiert. Das kortikale Arousal bedingt eine Fokussierung der Aufmerksamkeit und Handlungsunterbrechung (Spielberger 1980, Cohen and Benjamin 2006). Diese Reaktionen sind nicht willentlich beeinflussbar, sondern laufen unwillkürlich ab. Der Körper wird damit auf eine Kampf- oder Fluchtsituation vorbereitet (Cannon 1975). Angst dient somit dem Schutz vor Gefahren und ist lebenserhaltend.

Die genannten physiologischen Reaktionen sind heute jedoch oftmals unerwünscht. Der Musiker, der auf seine Feinmotorik angewiesen ist, beklagt das sich einstellende Zittern der Hände, wenn kurz vor dem Auftritt das Lampenfieber einsetzt, und auch einem Redner erleichtert es seine Aufgabe nicht, wenn der Mund trocken wird und die Hände feucht werden.

Schon der Begriff Angst, der abgeleitet ist vom lateinischen „angustus“ soviel bedeutend wie „eng“, „beengend“, „die freie Bewegung hindernd“ (Menge und Güthling 1965), vermittelt eine bildliche Assoziation seiner Bedeutung und ist doch gleichzeitig schwer fassbar. Angst erscheint als ein Konstrukt, das sich der Messung seiner selbst entzieht, lediglich ihre Auswirkungen können von Außenstehenden beobachtet werden. Als mehrdimensionale Zustände umfassen Angst/Furcht kognitive, emotionale und körperliche Vorgänge. Eine relativ gut zugängliche Dimension stellt die körperliche Reaktion dar, da sie unabhängig von subjektiven Angaben objektiv erfasst werden kann.

In der Literatur sind unterschiedliche Ansichten zur Differenzierung von Angst und Furcht zu finden. Dabei wird unter Angst im Allgemeinen eine „ungerichtete (diffuse), peripher-physiologische, zentralnervöse und subjektive Überaktivierung bei der Wahrnehmung von Gefahren“ verstanden und Furcht als „spezifische, motorische, physiologische und subjektive Reaktion bei Identifikation der Gefahr“ beschrieben, die zur „Auslösung der entsprechenden Bewältigungsreaktionen“ führt (Barlow 2000, Grillon 2002, Hebb et al. 2003). Das heißt „Furcht hat immer ein Objekt vor sich und Angst sitzt gewissermaßen im Rücken.“ (Goldstein, Bally in Nissen 1995). Diese Unterscheidung besitzt aber mehr lerntheoretische Bedeutung und ist im praktischen Experiment schwierig zu gestalten. Wichtig erscheint jedoch die Untergliederung in State-Angst und Trait-Angst, d.h. in Zustandsangst und Ängstlichkeit als Persönlichkeitsmerkmal. State-Angst bezeichnet nach Spielbergers Konzept „Angst, die zu

einem definierten Zeitpunkt bzw. in einer definierten Situation auftritt und gekennzeichnet ist durch Aktivierung des sympathischen Nervensystems“. Die Erregung des autonomen Nervensystems äußert sich in erhöhtem Blutdruck, steigender Herzfrequenz, gesteigerter Schweißsekretion, Zittern sowie Mundtrockenheit und Hemmung der Magen-Darm-Motorik. State-Angst ist durch kurze Dauer und hohe Intensität geprägt (Spielberger 1972). Im Gegensatz dazu ist Trait-Angst von geringer Intensität und unbestimmter Dauer. Bei Trait-Angst handelt es sich um eine „stabile individuelle Eigenschaft, die Verhaltensweisen umfasst, wie in Gefahrensituationen reagiert wird“. Sie stellt eine Disposition zur Interpretation von Situationen als bedrohlich dar und macht anfälliger für Stress (Spielberger 1972;1983).

1.1.2 Angstentstehung

Es gibt mehrere Theorien zur Entstehung von Angst, u.a. die psychoanalytische Theorie Freuds, kognitionstheoretische Angstmodelle von Schachter & Singer (1962) sowie Lazarus und behavioristische Theorien. An dieser Stelle wird nur auf kognitionstheoretische Modelle und die Emotionstheorie des Behaviorismus eingegangen, da sie sich am besten auf Furchtkonditionierungsmodelle übertragen lassen.

In kognitionstheoretischen Ansätzen geht man der Frage nach, was zuerst vorhanden ist, die Erregung (Arousal) oder die Emotion. Schachter und Singer (1962) vertreten mit ihrer Arousaltheorie die Meinung, dass Emotionen durch die kognitive Deutung emotionaler Reaktionen entstehen, also „Empfindungen körperlicher Veränderungen“ (James, 1884) sind. Nach der Arousaltheorie wird Angst auf die körperliche Komponente beschränkt als „spezifizierte physiologische Erregung“ betrachtet. Das Arousal bildet die Grundlage für Yerkes und Dodsons (1908) Versuche an Mäusen zur Darstellung des Zusammenhangs zwischen Leistung und Aktivierungsniveau. Sie konnten zeigen, dass appliziertes schwache Elektroschocks im Stande waren, den Lernvorgang zu beschleunigen, starke Schocks beeinträchtigten jedoch das Lernvermögen der Tiere. Außerdem fanden sie eine Abhängigkeit des Einflusses des Elektroschocks von der Aufgabenschwierigkeit, wobei der Beeinträchtigungsgrad des Lernens durch den Schock offenbar mit zunehmender Aufgabenschwierigkeit steigt. Die Erregung durch den Schock als Stressor führt zu einer Stimulation zentralnervöser Vorgänge. Das so produzierte kortikale „Arousal“ sorgt dann in Abhängigkeit von seiner Intensität dafür, dass Lernvorgänge stimuliert oder gebremst werden. Nach behavioristischen Vorstellungen ist Furcht ein erlerntes Verhalten, das sich nach Mowrers 2-Phasen-Theorie (1939), wenn es einmal durch klassische Konditionierung erworben wurde, im Weiteren durch instrumentelle Konditionierung selbst aufrecht erhalten kann und daher besonders löschungsresistent ist. Die Furchtreaktion wird durch einsetzendes Vermeidungsverhalten positiv verstärkt, denn dieses führt zur Furchtreduktion in der furchterregenden Situation. Im Behaviorismus wird als Datenquelle nur das objektiv Beobachtbare akzeptiert und somit auch die Emotion als „angeborenes Reaktionsmuster ausgelöst durch einen (Umwelt-)Reiz“ definiert, was Furchtentstehung auf die Erzeugung einer konditionierten Reaktion reduziert.

1.1.3 Klassische Konditionierung

Beim klassischen Konditionieren unterscheidet man zwei Arten von Stimuli: 1. den unkonditionierten Stimulus (US) und 2. den konditionierten Stimulus (CS), sowie zwei Arten von Reaktionen, die unkonditionierte Reaktion (UR) und die konditionierte Reaktion (CR). Als US bezeichnet man jene Reize, die automatisch (ungelernt) und zuverlässig eine UR hervorrufen, z.B. erfolgt durch die unerwartete Applikation eines Elektroschocks ein schreckhaftes Zusammenzucken und ein messbarer Anstieg von Herzfrequenz und Blutdruck. Ein CS entsteht aus einem zunächst neutralen Stimulus (NS), z.B. einem Ton, welcher zu Beginn nicht in der Lage ist eine UR auszulösen. Durch die gemeinsame Darbietung von US und NS, also z.B. das Erklingen des Tones (NS) in zeitlichem Zusammenhang mit der Applikation des Elektroschocks (US), wird der NS zum CS und ist dann auch ohne die Darbietung des US in der Lage, eine Reaktion hervorzurufen. Diese Reaktion bezeichnet man dann als CR (Pavlov 1927). Die CR muss der UR nicht gleichen, z.B. „starteln“ Mäuse nicht wie während der Schockapplikation, sondern reagieren nach abgelaufener (Furcht-) Konditionierung als Reaktion auf den CS mit „Freezing“ (Erstarren). Man bezeichnet das Auftreten dieser CR auf den CS hin auch als Reizsubstitution, denn nunmehr ist nicht nur der US in der Lage die Reaktion auszulösen, sondern auch der zuvor NS (Wehner and Silva 1996, Owen et al. 1997, Logue et al. 1997, Silva et al. 1997).

Dass man Furcht auf ursprünglich neutrale Reize auch beim Menschen auf diese Weise konditionieren kann, ist spätestens seit den Experimenten Watsons (1920) mit dem „Kleinen Albert“ bekannt und damit erscheint das Konzept der Furchtentstehung durch Konditionierung geeignet, um der Emotion Angst/Furcht auch im Tierexperiment nahe zu kommen. Furcht kann demnach erlernt werden und ursprünglich neutrale Reize sind in der Lage zu konditionierten Auslösern von Furcht zu werden.

Man unterscheidet bei der Furchtkonditionierung zwischen zwei unterschiedlichen Lernvorgängen, zum einen „elementares Lernen“, worunter die einfache Assoziation von CS und US verstanden wird und zum anderen „konfigurales Lernen“, d.h. das Erlernen der kontextuellen Stimuli, die während der Furchtkonditionierung gegeben sind (Stimuli der Konditionierungskammer oder das Handling während des Versuchsablaufs). In das Lernen der multimodalen Umweltstimuli sowie deren Beziehungen zueinander und zum US ist neben der Amygdala auch der Hippocampus involviert (Cravens et al. 2006, Otto and Poon 2006, Holt and Maren 1999, Goddyn et al. 2006). Die einfache Assoziation von CS und US wird durch die Amygdala realisiert und ist hippocampusunabhängig (Gerlai 1997, Impey et al. 1998, Ito et al. 2006, Phillips and LeDoux 1992). Bei der Assoziation von CS und US unterscheidet man des Weiteren zwischen ungepaarter und gepaarter Konditionierung, wobei der US bei der gepaarten Konditionierung sofort auf den CS folgt, während bei der explizit ungepaarten Konditionierung keine zeitlich stabile Darbietung von CS und US erfolgt. Daher besteht bei der ungepaarten Konditionierung keine direkte Kontingenz beider Stimuli (CS und US), was eine höhere Aufmerksamkeitsleistung erfordert (Han et al. 2003) und die Konditionierung auf Kontextreize fördert (Triflieff et al. 2006).

Somit ist die Fähigkeit zur Assoziation zweier Stimuli grundlegende Voraussetzung für Konditionierungsprozesse und klassische Konditionierung wird durch die zeitlich und räumlich zusammenhängende Darbietung der Reize, deren Intensität und Frequenz

bestimmt. Die stärkste Assoziation zwischen CS und US ergibt sich durch die zeitlich gepaarte Präsentation mit überlappendem Beginn des CS in einem festen räumlichen Kontext mit hoher Schockintensität.

Entsprechend den Ergebnissen von Yerkes und Dodson (1908) ist, bezogen auf die elementare „cue“-Furchtkonditionierung und die konfigurale kontextuelle Konditionierung, in der Konditionierung auf den Kontext eine komplexere und anspruchsvollere Art des Lernens zu sehen. Demnach könnte eine starke periphere Erregung die kontextuelle Konditionierung in einem stärkeren Ausmaß beeinflussen, als die simple Furchtkonditionierung auf den „cue“. Im Umkehrschluss könnte sich daher eine periphere Erregungsblockade deutlicher auf das Lernvermögen der kontextuellen Stimuli, als auf das Erlernen des expliziten konditionierten Stimulus auswirken.

1.1.4 Beeinflussung emotionaler Lernvorgänge durch die periphere vegetative Reaktion

Emotionale Erlebnisse besitzen eine essentielle Verbindung zu viszeralen-autonomen Veränderungen sowie deren Perzeption (Myers and Rinaman 2005). In Situationen der Furcht/Angst kommt es dabei, bedingt durch eine Adrenalinfreisetzung, vor allem zu kardialen Effekten im Sinne einer zunehmenden Herzfrequenz und eines steigenden Blutdrucks. Neben diesen peripheren Einflüssen sind die in emotional erregenden Situationen freigesetzten adrenergen Stresshormone auch in der Lage, modulierend auf die Gedächtnisbildung einzuwirken (McGaugh et al. 1996, Cahill and McGaugh 1996). Da die endogenen Katecholamine, Adrenalin und Noradrenalin kaum Blut-Hirn-Schranken-gängig sind, entfalten sie ihren Einfluss wahrscheinlich indirekt über die Aktivierung peripherer adrenerger Rezeptoren. Die Blockierung des Katecholamineffektes auf die Gedächtnisbildung durch Sotalol, einen peripheren, nicht zentralgängigen β -Blocker, spricht für die Aktivierung peripherer β -Rezeptoren (McGaugh et al. 1996). Auch durch periphere Vagotomie sowie die Zerstörung des Nucleus tractus solitarius (NTS) konnte der Einfluss peripherer Stresshormone auf die Gedächtnisbildung blockiert werden (Cahill and McGaugh 1996). Propagiert wird demnach die Aktivierung peripherer β -Rezeptoren an vagalen Afferenzen sowie deren Projektion in den NTS, welche zu einer Noradrenalinfreisetzung in der basolateralen Amygdala (BLA) führt. Die Erregung der BLA bewirkt schließlich die Modulation der Gedächtnisbildung für emotionale Inhalte, z.B. durch die Beeinflussung der Neuroplastizität im Hippocampus (McGaugh et al. 1996). Das bedeutet, dass die Erinnerungsstärke an ein Ereignis eng an seine emotionale Signifikanz gekoppelt ist und so wird der NTS zum „Interface zwischen dem peripheren endokrin-autonomen Milieu und den neuronalen Vorgängen in der Regulation der Gedächtniskonsolidierung“ (McGaugh and Roozendaal 2002).

1.2 Tiermodelle für Angst und Furcht

Im Rahmen der Untersuchung von Angst- und Furchtverhalten dienen Tiermodelle der Simulation und Untersuchung von Vorgängen, welche emotionalem Verhalten unterliegen. Den Wert der Tiermodelle zur Untersuchung menschlicher Verhaltensaspekte sieht Bond (1984) in der Möglichkeit der Hypothesenaufstellung. Der Nachweis, ob die aufgestellten Hypothesen korrekt sind, kann jedoch nur durch direkte Untersuchungen am Menschen

erbracht werden. Um Aspekte psychopathologischen Verhaltens des Menschen im Tiermodell untersuchen zu können, versucht man bei Tieren, Zustände zu induzieren, die Ähnlichkeit mit denen beim Menschen besitzen. Im Tierexperiment konnte Furcht auf diese Weise als ein Zustand charakterisiert werden, welcher mit einer starken Zunahme von Adrenalin sowie einer leichten Zunahme von Noradrenalin und Cortisol einhergeht und der zur Steigerung des Blutdrucks und der Herzfrequenz führt. Betont werden muss, dass es immer nur um die Ähnlichkeit, nie um die vollkommene Übereinstimmung zwischen im Tiermodell simulierten und den beim Menschen ausgeprägten Zuständen geht.

Die grobe Unterteilung der Tiermodelle für Angststörungen erfolgt in:

1. Modelle auf der Basis unconditionierter Reaktionen
2. Modelle auf der Basis konditionierter Reaktionen
3. Modelle auf der Basis phylogenetisch angelegter Formen aversiven Verhaltens.

Die dargestellten Tiermodelle sind in variablem Umfang geeignet, Aspekte der Angst/Furcht zu untersuchen, aber leider nur auf einer Ebene, nämlich der der Verhaltens- und vegetativ-somatischen Reaktion. Denn weder die emotionale noch die kognitive Komponente der Angst/Furcht ist im Tiermodell zu erfassen.

1.2.1 Open Field

Im Open Field-Paradigma können Trait-Angst assoziiertes Verhalten, Exploration und Lokomotion untersucht werden (Stead et al. 2006, Archer 1973, Walsh and Cummins 1976, Kinsey et al. 2006, Carroll et al. 2007, Takeda et al. 2007, Byrnes and Bridges 2006). Es ermöglicht die Beobachtung von spontanem unconditioniertem Verhalten der Tiere in neuer Umgebung, welches durch den Motivationskonflikt von Furcht und Neugier beeinflusst wird (Mallo et al. 2006). Daher bietet sich das Open Field für das Studium komplexer Emotionen wie der Trait-Angst an (Lipkind et al. 2004, Griebel et al. 1993, Chapillon et al. 1999, Markel et al. 1989). Verhaltensmuster, welche Trait-Angst anzeigen, sind die Reduktion des Aufenthalts im Zentrum (Hasnie et al. 2007, Vendruscolo et al. 2006, Smith et al. 2006, Roy et al. 2006, Griebel et al. 1996) und eine geringere Anzahl der Aufrichtungen (Malkesman et al. 2007, Kinsey et al. 2006, Carroll et al. 2007). Die Vermeidung des Aufenthalts in der Mitte der Box gilt als angstassoziiert, basierend auf der Annahme, dass Nager das Zentrum als bedrohlicher empfinden (Lipkind et al. 2004, Smith et al. 2006, Vendruscolo et al. 2006). Unterstützt wird diese Annahme durch die Tatsache, dass anxiolytisch wirkende Medikamente den Aufenthalt im Zentrum steigern (Simon et al. 1994, Treit and Fundytus 1988, Stead et al. 2006). Die Anzahl der Aufrichtungen als Angstindikator zeigt sich ebenfalls durch Anxiolytika beeinflussbar (Malkesman et al. 2007).

Die Lokomotion in neuer Umgebung wird beeinflusst durch komplexe Interaktionen von Neugier, Neophobie, Angst, Stress, genereller Aktivität und Explorationstendenzen (Erhardt et al. 2006, Kliethermes and Crabbe 2006, Strekalova et al. 2004). Sie ist abhängig von Genotyp und Alter der Tiere (Kliethermes and Crabbe 2006). Die lokomotorische Aktivität als Emotionalitätsmarker zu sehen, erscheint daher fraglich, da dieser Parameter sowohl Explorations-, als auch Fluchtverhalten anzeigen kann und somit als Summe von Neugier- und Vermeidungstendenzen nicht eindeutig als Angstindikator zu interpretieren ist. Die in

der Motility Box gemessene Lokomotion ist aufgrund der geringeren Größe im Vergleich zum Open Field noch weniger durch emotionale Faktoren beeinflusst. Auch bei der Interpretation der Defäkation sind physiologische Effekte, Nahrungsaufnahme und medikamentöse Beeinflussung der Verdauung bei der Applikation von Pharmaka zu berücksichtigen.

Wir verwenden das Open Field-Modell in Form der Motility-Box zur Beobachtung und Verifizierung der Wirkung von Atenolol in unterschiedlichen Dosierungen auf unkonditionierte C57BL/6J-Mäuse - im Speziellen die Auswirkungen auf die Lokomotion und angstassoziierte Parameter, wie den Aufenthalt in der Mitte der Box sowie die Häufigkeit der Aufrichtungen (Rose et al. 2006, Yilmazer-Hanke et al. 2002;2004).

1.2.2 Furchtkonditionierung

Die Furcht-sensitivierete Schreckreaktion und die Furchtkonditionierung gelten als Modelle, die auf konditionierten Reaktionen basieren und der Untersuchung sogenannter situativer Angst oder Furcht dienen.

Das Modell der klassischen Konditionierung nach Pavlov (Watson and Rayner 1920, Eysenck 1979, Wolpe and Rowan 1988, Pavlov 1927) nutzt die direkte Messbarkeit der Furcht-assoziierten Veränderung von Körperfunktionen und Verhaltensweisen (Archer 1973, Blanchard and Blanchard 1969 a;b, Bolles and Fanselow 1980, Smith et al. 1980). Aversive Konditionierung bietet sich für die Grundlagenforschung der Entstehung und neuronalen Realisierung von Furcht und Angsterkrankungen beim Menschen an, da die aktivierten Hirnstrukturen zwischen den Spezies vergleichbar sind (LeDoux 1995, Grillon 2002). Die Konditionierung auf den „cue“ dient dabei als Modell der Furcht (Ohman and Mineka 2001) und die Kontextkonditionierung dient der Modellierung von Angsterkrankungsaspekten (Grillon 2002). Konditionierung ist bei Weitem kein niederer reflektorischer Reizreaktionsablauf, sondern ein hoch komplexer kognitiver Prozess, der es dem Organismus ermöglicht, das Eintreten aversiver Ereignisse zu antizipieren (Grillon 2002, Mineka and Zinbarg 1996). Im Sinne eines adaptiven Prozesses führt assoziatives Lernen zur Reduktion der Unsicherheit in aversiven Situationen. Durch die Assoziation von CS und US wird die Auswahl furchtauslösender Stimuli der Umgebung reduziert, der CS als Gefahrensignal und das Fehlen des CS als Sicherheit erlernt (Grillon 2002). Aversive Konditionierung begründet sich daher auf assoziativem Lernen sowie der bewussten Wahrnehmung einer Kontingenz zwischen CS und US. Die von Nagern nach gepaarter Präsentation eines neutralen (CS) mit einem aversiven Stimulus (US) konditionierte Furcht äußert sich u.a. in steigender Herzfrequenz und Freezing in Reaktion auf die erneute CS („cue“)- und Kontextexposition (Blanchard and Blanchard 1969 a;b, Bolles and Fanselow 1980, Davis 1992 a;b, LeDoux 2000, Cain et al. 2004). Freezing (Einfrieren, Erstarren, Furchtstarre) ist definiert als defensives Verhalten von Nagern, welches sich durch Fehlen jeglicher Bewegung bis auf Respiration und Herzschlag auszeichnet. Im Sinne einer Verhaltensinhibition ist es durch hohe Vigilanz und starkes autonomes Arousal in Reaktion auf die furchterregenden Stimuli gekennzeichnet (Klemenhagen et al. 2006) und hat sich als ein wesentlicher Parameter zur Erfassung der Furchtreaktion von Mäusen nach erfolgter Furchtkonditionierung in der Verhaltensforschung etabliert (Gerlai 1997, Lifshitz et al. 2007). Wir nutzten den Parameter Freezing als Maßstab der konditionierten Furcht.

Auch wenn das Verhalten nach der Konditionierung in Exposition mit dem „cue“ und dem

Kontext identisch ist (Freezing bei Mäusen), darf nicht davon ausgegangen werden, dass ihm gleiche neuronale Mechanismen zu Grunde liegen (Stiedl et al. 1999). Da die kontextuellen Stimuli, im Unterschied zum „cue“ (expliziter CS als „Hinweisreiz“), multimodalen Charakter besitzen und während der gesamten Konditionierungsphase präsent sind, also keine exakte zeitliche Kontingenz zum US besteht, erscheinen differente Verarbeitungsprozesse der Stimuli sogar erforderlich (LeDoux 1992). Nach abgelaufener Konditionierung erfolgt die Initiierung der konditionierten Reaktion jedoch bei beiden Konditionierungsmodi über den gleichen Weg. Sie wird durch die zentrale Amygdala gesteuert und über ihre zahlreichen Projektionen in Hirnstammarealen realisiert (Davis 2006). Die Verhaltensreaktion in unserem Experiment wird in der Trainingsbox gemessen (in der auch die Konditionierung erfolgte), daher umfasst die Reaktion auf den CS sowohl die Konditionierung auf den „cue“ als auch eine Hintergrundkontextkonditionierung (LeDoux et al. 1988).

1.2.3 Kontextkonditionierung

Die Unterscheidung in kontextuelle und explizite „cue“-Furcht ist nicht nur unter experimentellen Bedingungen sondern auch evolutionsbiologisch von Bedeutung. Zum Arterhalt ist es notwendig, lebensbedrohliche Situationen zu meiden. Dazu müssen Gefahren nicht nur mit ihren unmittelbaren Auslösern, sondern auch mit assoziierten kontextuellen Reizen in Verbindung gebracht werden. Einfache, emotional relevante Stimuli in Assoziation mit dem Kontext in dem sie auftreten, lösen als Triggerfaktoren unbewusst Erinnerungen an Gefahren aus und verursachen durch autonome Sympathikuserregung ein kortikales Arousal. Die momentane Handlung wird unterbrochen und die Aufmerksamkeit auf die Gefahrenlokalisierung konzentriert, um eine rasche Bewertung und Reaktion zu gewährleisten. Diese Vorgänge laufen nach dem Motto: „Handle zuerst und denke danach“ ab, daher disponiert die Furchtreaktion auf kontextuelle, also weniger explizite Stimuli zur Furchtgeneralisierung. Auch in ungefährlichen Situationen wird dann durch Kontextreize Furcht ausgelöst, wenn diese Erinnerungen an die ursprüngliche Gefahrensituation hervorrufen.

Kontextuelles Lernen meint das Erlernen eines oder mehrerer Stimuli, die im Gegensatz zum expliziten „cue“, als statische Hintergrundmerkmale während des gesamten Trainings präsent sind (Balsam and Tomie 1985). Im Gegensatz zum CS, welcher eine zeitlich exakte und voraussehbare Beziehung zum US besitzt, sind kontextuelle Stimuli zeitlich und örtlich diffuser und lassen nur in geringem Maße eine unpräzise Vorhersage des US zu (Otto and Poon 2006).

Die Assoziation dieser diffusen, unpräzisen Umgebungsreize mit dem US ist abhängig von der Amygdala sowie einem funktionstüchtigen Hippocampus (Phillips and LeDoux 1992, Kim et al. 1993, Young et al. 1994, Maren and Fanselow 1997). Seine Bedeutung für die Kontextkonditionierung diskutierten Sanders et al. (2003) und betrachteten die mögliche Involvierung in die sensorische Informationsaufnahme, die Initiierung der motorischen Reaktion und die Funktion als Informationsspeicher. Die Einschaltung des Hippocampus ist möglicherweise erforderlich, damit kortikal verarbeitete multimodale sensorische Informationen formiert als eine umfassende Repräsentation des Kontextes in die Amygdala gelangen, um dort mit dem US verbunden zu werden (LeDoux 1992, Fanselow 2000). Phillips und LeDoux (1994) beschreiben außerdem eine differentielle Beteiligung des

Hippocampus an der kontextuellen Konditionierung von Ratten in Abhängigkeit davon, ob der Kontext vordergründig als einzige Assoziation mit dem US präsentiert wurde, oder im Sinne einer Hintergrundkontextkonditionierung nach CS-US-gepaartem Training. Bei C57BL/6J-Mäusen scheint jedoch sowohl die hintergründige, als auch die vordergründige Kontextkonditionierung von einem intakten dorsalen Hippocampus abzuhängen (Stiedl et al. 2000). Für die Informationsübertragung der multimodalen kontextuellen Stimuli wird eine direkte Verbindung zwischen Hippocampus und lateraler Amygdala über das Subiculum propagiert (Ottersen 1982). Es finden sich jedoch auch zahlreiche Projektionen sekundärer und tertiärer kortikaler Areale in die laterale Amygdala (Stefanacci and Amaral 2000), welche den multimodalen sensibel-sensorischen Input sichern. Studien, in denen die Auswirkungen von Läsionen des dorsalen Hippocampus vor bzw. in einem bestimmten Zeitfenster nach der FC untersucht wurden, zeigten eine selektive Beeinflussung der Kontextkonditionierung ohne Beeinträchtigung der „cue“-Konditionierung (Phillips und LeDoux 1994, Kim et al. 1993, Young et al. 1994, Maren and Fanselow 1997). Als eine entscheidende Funktion des Hippocampus wird die Integration der einzelnen kontextuellen Stimuli zu einem Gesamtbild angesehen, aber es wird auch diskutiert, ob der Hippocampus nur für die Abspeicherung räumlicher Merkmale des Kontexts notwendig sei (Fanselow 2000). Eine stärkere Anfälligkeit der Kontextkonditionierung für äußere Einflüsse wird aufgrund einer längeren Konsolidierungslatenz kontextueller Stimuli angenommen (Stiedl et al. 1999). Da kontextuelle Furcht jedoch geraume Zeit nach erfolgter Konditionierung von einem intakten Hippocampus unabhängig wird, scheint die Speicherung zumindest keine exklusive Funktion dieses Hirnareals zu sein (Sanders et al. 2003).

1.2.4 Cue-Konditionierung

Die Amygdala ist bedeutend für Aquisition und Expression der auditorischen „cue“ und kontextabhängigen Furchtkonditionierung (Berntson et al. 2003;1998, LeDoux 1993;2000, Kim et al. 1993, Maren and Fanselow 1995, Selden et al. 1991). Sie ist wichtiger Bestandteil des limbischen Systems und enthält Kernareale, die essentiell für Konditionierungsprozesse und Furchtausbildung sind. Der laterale Kern der Amygdala sorgt als Haupteingangspforte für die Konvergenz vieler Sinnesmodalitäten aus dem sensorischen Thalamus (Rosen 2004). Außerdem erhält die laterale Amygdala (LA) über eine längere Schleife auch Informationen aus dem sensorischen Kortex, der Insula und dem präfrontalen Kortex (LeDoux 2000, Sotres-Bayon et al. 2006). Akustische Stimuli spielen dabei eine besondere Rolle, da es sowohl direkte Verbindungen aus dem akustischen Thalamus (Corpus geniculatum mediale und posteriorer intralaminarer Kern) (Calandrea et al. 2005, LeDoux et al. 1990a;b, Romanski and LeDoux 1993, Romanski et al. 1993) als auch aus dem auditorischen Kortex in die LA gibt (Pitkänen et al. 1997, McDonald 1998, Doron and LeDoux 1999). Als „sensorische Eingangstür“ werden Neurone der LA nicht nur durch den akustischen oder visuellen Reiz (CS), sondern auch durch den schmerzhaften somatosensorischen Stimulus (US) erregt (LeDoux et al. 1987;1990a). Dies ist demnach der Ort der Integration von CS und US (Romanski et al. 1993, Blair et al. 2005). Der laterale Kern der Amygdala ist Ort der Aquisition, Konsolidierung und Plastizitätsbildung konditionierter Furcht (Blair et al. 2001, Goosens and Maren 2001, Nader et al. 2001). Die Weiterleitung der konvergierten Informationen erfolgt in den zentralen

Kern der Amygdala (Pare et al. 1995, Pitkänen et al. 1997), dieser erhält aber auch direkte Informationen über den Ton-CS aus dem posterioren Thalamus (Linke et al. 2000). In Korrespondenz zum lateralen Kern könnte der zentrale Kern auch als „motorisch-endokrino-vegetative Ausgangstür“ beschrieben werden. Er generiert die furchtinduzierten typischen Verhaltensreaktionen (LeDoux et al. 1990a, Markgraf and Kapp 1991, Cahill and McGaugh 1998) durch umfangreiche Projektionen in zahlreiche Hirnstammareale. Unter anderem gibt es Verbindungen zum periaquäduktalen Grau (PAG), welches Freezing-Verhalten initiiert und es erfolgt die Stimulation des sympathischen Nervensystems über den lateralen Hypothalamus (Davis 2000, LeDoux 1995). Des Weiteren führt die Aktivierung der zentralen Amygdala über die Stria terminalis zu neuroendokrinen Reaktionen und über Vaguskerne kann Einfluss auf den Parasympathikus genommen werden (LeDoux 1995, Davis 1992a+b). Der basomediale und der basolaterale Kern der Amygdala sind an der Ausbildung kontextueller Furcht beteiligt (Davis et al. 1993, Tazumi and Okaichi 2002).

Die Amygdala ist demnach sowohl in die Konditionierung auf den expliziten CS („cue“) als auch auf den Kontext in welchem der US präsentiert wurde involviert (Maren et al. 1996, LeDoux 1995, Helmstetter 1992, Helmstetter and Bellgowan 1994, Selden et al. 1991, Cahill et al. 1999). Der Hippocampus hingegen beeinflusst nur die kontextuelle Konditionierung.

1.3 Inzuchtstämme als Versuchstiere

Durch die Verwendung von Inzuchtstämmen ist die Reproduzierbarkeit von Experimenten gewährleistet, da der Unterschied im Verhalten genetisch identischer Tiere nur durch externe Einflüsse zu erklären ist. Inzuchtstämme bieten sich daher als Versuchsobjekt an. Der Einsatz der Maus, die in einer Vielzahl unterschiedlicher Stämme (Staats 1980) zur Verfügung steht, ist naheliegend. Bevorzugt zur Verhaltenstestung eingesetzt werden Mäuseinzuchtstämme, auch wegen der Einfachheit ihrer Haltung und Vermehrung, kurzer Generationsspannen, der Zugänglichkeit für neurophysiologische Experimente und wegen des reichhaltigen Verhaltensrepertoires. Häufig untersuchte Verhaltensparameter sind die Aktivität, Exploration, Defäkation sowie Stress- und Lernverhalten.

1.3.1 C57BL/6J OlaHsd-Mäuse

Zur Untersuchung der Effekte und pharmakologischen Beeinflussbarkeit peripherer Vegetativparameter auf die Furchtkonditionierung und deren Auswirkung auf das Verhalten nach Konditionierung wählten wir den Mäusestamm C57BL/6J OlaHsd. Dieser Mäuseinzuchtstamm ist ein Substamm des C57BL/6, bei welchem es sich um eine Weiterzüchtung von Miss Lathrop`s Stock handelt, der auf Little (1921) zurückgeht.

C57BL/6J-Mäuse zeichnen sich durch hohe Trait-Angst aus (Kudrayavtseva et al. 2001) und sind somit gut geeignet, den Einfluss eines Stressors in einer furchtauslösenden Situation zu untersuchen. Als typisch für die Furchtreaktion des Stammes gilt die Veränderung kardiovaskulärer Parameter im Experiment. Er ist charakterisiert durch ausgeprägtes stimulispezifisches Angstverhalten, zeigt beständiges Freezingverhalten in Reaktion auf bedrohliche Stimuli und eine signifikante und transitorische stimuliinduzierte Tachykardie (Stiedl et al. 1999, Gold 1996, Crawley et al. 1997), die durch β -Blocker supprimierbar ist.

Die Aktivität des autonomen Nervensystems zeigt in ihrer Homeostase und pharmakologischen

Beeinflussung große Unterschiede zwischen einzelnen Mäusestämmen. Bei C57BL/6J ließ sich durch die Applikation eines adrenergen Pharmakons eine deutliche Steigerung der Herzfrequenz erzielen (Shustermann et al. 2002). Durch β -adrenerge Blockade mit Atenolol in wachen, frei beweglichen C57BL/6J konnten Just et al. (2000) eine Reduktion der Herzfrequenz, jedoch keine Beeinflussung des arteriellen Blutdrucks erreichen. Dies belegt die Prädominanz des Sympathikotonus auf die Herzfrequenzkontrolle bei Tieren dieses Stammes.

Des Weiteren gibt es signifikante Unterschiede in der kontextuellen Furchtkonditionierung und Furchtgeneralisierung zwischen einzelnen Mäusestämmen. C57BL/6J zeigen konfigurales Lernen kontextueller Stimuli auch bei assoziierter CS-US-Präsentation. Das heißt, die Tiere zeigen sowohl nach gepaarter als auch nach ungepaarter Konditionierung starkes Freezing auf den Kontext (Gerlai 1997). Der Stamm zeichnet sich durch eine starke kontextuelle Furcht bei nur geringer Furchtgeneralisierung aus (Radulovic et al. 1998, Milanovic et al. 1998, Ammassari-Teule et al. 2000).

Auch im Explorationsverhalten zeigen sich große Abweichungen zwischen einzelnen Inzuchtstämmen. Exploration basiert auf einem funktionsfähigen Hippocampus und wird durch die Anwesenheit neuer Stimuli zum Informationsgewinn in einer unbekanntem Umgebung ausgelöst. Crusio and Schwegler (1987) zählen zu den Reaktionsoptionen auf neue Stimuli, z.B. durch das Einbringen in eine neue Umgebung (wie die Motility-Box), Exploration, Neophobie, Aggression und Orientierung. Der von uns gewählte Mäusestamm C57BL/6J zeigt in fremder Umgebung eine hohe Rate unterschiedlicher Verhaltensweisen, die mit Exploration assoziiert sind (Crusio and Schwegler 1987). Im Vergleich zu CBA- und BALB-Mäusen sind C57BL/6J-Mäuse durch hohe Bewegungsaktivität bei nur geringem Emotionalitätslevel gekennzeichnet (Dyaglo and Shishkina 2000). Untersuchungen von Crusio and Schwegler (1987) im Open Field charakterisieren C57BL/6 als einen Stamm mit hoher lokomotorischer Aktivität sowie ausgeprägtem Aufrichtungs- und Schnüffelverhalten bei nur gering ausgeprägtem Putzverhalten und geringer Defäkationsrate.

Zusammenfassend zeichnen sich C57BL/6J-Mäuse durch ausgeprägte stimuliinduzierte adrenerge Erregung, ein hohes Trait-Angst-Level und beständige Freezingreaktionen auf bedrohliche Stimuli aus (Kudrayavtseva et al. 2001, Stiedl et al. 1999, Gold 1996, Crawley et al. 1997). Tiere dieses Stammes zeigen ausgeprägtere Furchtreaktionen auf den Kontext, als auf den Ton im Gegensatz zu anderen Stämmen, wie z.B. DBA-Mäusen (Ammassari-Teule et al. 2000).

1.4 Pharmakologie adrenerger Rezeptorantagonisten

1.4.1 Adrenerge Rezeptoren und Beta-Blockade

Alquist stellte bereits 1948 die Hypothese der adrenergen Wirkung über Alpha- und Beta-Rezeptoren auf. Lands et al. (1967) schlossen aus unterschiedlichen Effekten an glatter und Herzmuskulatur, dass es zwei Typen von β -Rezeptoren geben muss. Bei der molekularen Struktur des Rezeptors handelt es sich um einen G-Protein gekoppelten Sieben-Transmembran-Domänen-Rezeptor, der eng mit der Adenylatcyclase gekoppelt ist und Second-Messenger-Kaskaden über cAMP in Gang setzt (Emilien and Maloteaux 1998).

Beta1-Adrenorezeptoren werden durch Adrenalin- und Noradrenalinfreisetzung erregt.

Über die Aktivierung der u.a. kardial lokalisierten Rezeptoren kommt es zum Anstieg der Herzfrequenz und zu gesteigerter myokardialer Kontraktionskraft (Ariens and Simmons 1983). Beta-Blockade bedeutet kompetitive, reversible Bindung eines Antagonisten (β -Blockers) an den β -adrenergen Rezeptor und bewirkt damit in Abhängigkeit von der Affinität des Blockers zum Rezeptor eine mehr oder weniger starke Hemmung der agonistischen Wirkung endogener Katecholamine (Noradrenalin und Adrenalin).

1.4.2 Therapeutischer Einsatz von Beta-Blockern

Bei erhöhter Katecholaminfreisetzung, die etwa in körperlichen Erregungssituationen oder unter mentalem Stress zu verzeichnen ist, sind β -Blocker in der Lage, durch die Verdrängung des endogenen Katecholamins vom Rezeptor die Herzfrequenz und –kontraktilität in Abhängigkeit von der sympathomimetischen Aktivierung zu senken bzw. den Anstieg dieser Parameter bei vorheriger Applikation zu verhindern. Aber nicht nur im kardiologischen Bereich spielen β -Blocker eine wichtige therapeutische Rolle, auch die Neurologie und Psychiatrie haben sich diese Medikamente zu Eigen gemacht. So werden β -adrenerge Rezeptorblocker seit über 30 Jahren erfolgreich in der Therapie von akuten Stresssituationen, generalisierten Angststörungen, essentiellen Tremor und zur Migräneprophylaxe eingesetzt (Emilien and Maloteaux 1998). Da Angst neben der psychischen Komponente auch eine körperliche besitzt, eignen sich β -Blocker, um Einfluss auf die körperliche Reaktion zu nehmen. Vermutlich verhindert die periphere Blockade der mit Angst verbundenen autonomen Reaktionen sowie die fehlende zentrale Information einer peripheren vegetativen Erregung, im Sinne einer Unterbrechung des Feedback-Mechanismus, die Verstärkung der Angstsymptomatik, die sonst durch die Wahrnehmung der körperlichen Symptome erfolgt (Emilien and Maloteaux 1998). Die größten Erfolge konnten β -Blocker in der Therapie der durch periphere Sympathikusaktivierung (Tachykardie, Tremor, Schwitzen) charakterisierten akuten Stresssituation, wie sie beim Lampenfieber und bei der Soziophobie auftreten, erreichen. Ein Vertreter unter den peripheren β_1 -selektiven Blockern, der sich schon sehr lange auf dem Markt befindet und mit dem schon zahlreiche Studien auch in der Angstforschung durchgeführt wurden, ist Atenolol (Emilien and Maloteaux 1998).

Da Furcht und Angst mit einer katecholamininduzierten autonomen körperlichen Reaktion einhergehen, scheint es möglich, das vegetative Arousal mittels adrenerger Rezeptorblockade zu dämpfen. Weiterhin sollte ein peripherer β_1 -Blocker zur Symptomreduktion geeignet sein, da es in angstaustösenden Situationen vor allem zu einem Anstieg der Herzfrequenz kommt und dieses Symptom durch die peripheren, nicht Blut-Hirn-Schranken-gängigen Stresshormone Adrenalin und Noradrenalin an kardialen β_1 -Rezeptoren getriggert wird.

1.4.3 Pharmakokinetik von Atenolol

Das im Experiment eingesetzte Medikament Atenolol ist ein hydrophiler, kardioselektiver β -Blocker mit einem der höchsten Selektivitätsindizes der im Handel befindlichen Präparate von 1.63. Das entsprechende Konzentrationsverhältnis β_2/β_1 beträgt 43:1, d.h. um die gleiche Hemmwirkung von Atenolol an β_2 -Rezeptoren zu erzielen, muss die Konzentration 43fach höher sein als an β_1 -Rezeptoren (Harms and Spoelstra 1978). Das Medikament zeigt weder intrinsische sympathomimetische Aktivität (ISA), noch membranstabilisierende

Effekte (Emilien and Maloteaux 1998). Hydrophile β -Blocker wie Atenolol zeichnen sich durch geringe Metabolisierung, d.h. vorwiegend unveränderte renale Elimination, durch eine lange Halbwertszeit, geringe interindividuelle Blutspiegelschwankungen und erschwerte ZNS-Passage aus. Die Halbwertszeit von Atenolol bei Untersuchungen in der Ratte liegt bei 90 Minuten mit einer Plasmaclearance von ca. 40 ml/min/kg (Lemmer et al. 1985). Dem Medikament ist es aufgrund seiner ausgeprägten Hydrophilie kaum möglich, die Blut-Hirn-Schranke zu überqueren (Hara and Ogawa 1986, Davy et al. 1986). Das Verhältnis von Hirn- zu Plasmakonzentration ist daher 130fach kleiner als bei dem lipophilen β -Blocker Propranolol (Neil-Dwyer et al. 1981). Atenolol gilt als der am wenigsten Blut-Hirn-Schranken-gängige β -Blocker. Des Weiteren wird von Gengo et al. (1989) ein energieabhängiger Transportprozess über die Blut-Hirn-Schranke angenommen, da das Verhältnis von Atenololkonzentration in der Zerebrospinalflüssigkeit zu der im Plasma bei geringeren Wirkstoffkonzentrationen höher ist, als bei hohen peripheren Konzentrationen. Dies ermöglicht es auch, hohe Dosen des Medikaments ohne zentrale Nebenwirkungen zu applizieren.

Da 30 Minuten nach der intraperitonealen Applikation mit konstanten Wirkstoffspiegeln zu rechnen ist, begannen wir die Versuche nach dieser Latenzzeit.

1.5 Hypothese

Die vorliegende Arbeit dient der Untersuchung emotionaler Lernvorgänge bei gedämpfter peripherer viszeraler Erregung. Im Hinblick auf die vorangegangenen Ausführungen untersuchen wir Auswirkungen des peripheren autonomen Arousal auf die Gedächtnisbildung in emotional erregenden Situationen. Die Blockade adrenerger Rezeptoren während des emotionalen Lernvorgangs ermöglicht es, den Einfluss vegetativer Erregung auf diesen zu studieren.

Deshalb formulieren wir folgende Hypothese: „Durch die medikamentöse Hemmung der peripheren viszeralen Erregung während der Furchtkonditionierung, wird der Konditionierungsprozess beeinflusst und resultiert in verändertem postkonditionellen Furchtverhalten.“

Aus der Hypothese ergeben sich folgende Fragestellungen der experimentellen Untersuchung:

1. Lässt sich die Furchtkonditionierung durch medikamentöse Sympathikusblockade beeinflussen?
2. Gibt es unterschiedliche Effekte bei gepaarter oder ungepaarter Konditionierung?
3. Beschränkt sich eine eventuelle Beeinflussbarkeit auf „cue“- oder Kontextkonditionierung?
4. Welche Verhaltensparameter sind zur Erfassung des Atenololeffekts auf die Konditionierung am aussagekräftigsten?

2. Material und Methoden

2.1 Tiere und Medikation

2.1.1 Ethische Grundlagen

Die tierexperimentellen Untersuchungen wurden im Einklang mit dem Deutschen Tierschutzgesetz durchgeführt. Sie wurden genehmigt durch das Regierungspräsidium Dessau (AZ:28.14-42502/2-581 Uni MD) und entsprechen den EU Richtlinien.

2.1.2 Versuchstiere

Zur Verhaltenstestung wurden ausschließlich C57BL/6J-Mäuse männlichen Geschlechts im Alter von 8-12 Wochen (Geschlechtsreife im Alter von 7-10 Wochen) mit einem Gewicht von 25-30g verwendet (Züchter: Harlan/Winkelmann, Gartenstraße 27, 33178 Borken).

2.1.3 Tierhaltung

Die Haltung der Tiere erfolgte in Makrolonkäfigen mit Einstreu zu 2 bzw. 5 Tieren auf einem 6-Etagen Regal (5er Käfige: 43cm (L) x 24cm (B) x 15cm (H); 1/2er Käfige: 26,5cm (L) x 20cm (B) x 14cm (H)). Nach einer Mindestadaptationsdauer von einer Woche wurden die Mäuse für die Versuche eingesetzt. Während der gesamten Zeit herrschte ein 12 Stunden Tag-Nacht-Rhythmus mit automatischer Beleuchtungseinschaltung um 7 Uhr morgens. Standard Pelletdiät und Wasser wurden ad libitum geboten. Die Markierung der Tiere erfolgte durch Ohrlochung, die während der Akklimatisationsphase durchgeführt wurde. Zur gewichtsadaptierten Medikamentenapplikation wurden die Tiere einen Tag vor der Versuchsdurchführung gewogen (Bildanlage 1, Seite 89).

2.1.4 Medikation

Vor der Testung in der Motility-Box bzw. der Furchtkonditionierung in der Startle-Apparatur erfolgte die intraperitoneale (i.p.) Applikation von Atenolol- bzw. 0,9%iger Natriumchlorid-Lösung. Atenolol wurde als Tenormin® von der Astra Zeneca GmbH (22876 Wedel) in Lösungsform bezogen, wobei eine Ampulle mit 10 ml Injektionslösung 5 mg Atenolol enthielt. Als sonstige Bestandteile der Lösung werden Citronensäure, Natriumchlorid, Natriumhydroxid und Wasser auf der Packungsbeilage angegeben. Die Ampullen wurden unter Lichtabschluss kühl gelagert.

Der Atenololeffekt wurde durch die Applikation in drei unterschiedlichen Dosierungen in Bezug auf eine Kontrolle mit Applikation physiologischer Kochsalzlösung untersucht.

1. 0,9%ige NaCl-Löung
2. 5 mg/kg BW Atenolol-Lösung
3. 10 mg/kg BW Atenolol-Lösung
4. 20 mg/kg BW Atenolol-Lösung

Die i.p.-Injektion wurde in den linken unteren Quadranten des Bauches vorgenommen. Danach erfolgte eine 30 minütige Separation in Einzelkäfigen bevor die Versuchsphase einsetzte, da nach dieser Latenz ein stabiler Wirkspiegel zu erwarten ist und die initiale Erregung durch die Injektion abgeklungen sein sollte (Bildanlage 1, Seite 89). Atenolol besitzt eine Halbwertszeit von 90 Minuten in der Ratte (Lemmer et al. 1985), diese sollte in der Maus

aufgrund der höheren Stoffwechselaktivität etwas geringer sein. Daher ist 24 Stunden nach der Injektion mit allenfalls noch geringen Wirkstoffmengen zu rechnen und nach 48 Stunden sollte ein vollständiger Abbau des Medikaments erreicht sein.

2.2 Verhaltensexperimente

2.2.1 Motility-Box

Das Motility-Test-System (TSE, Bad Homburg, Bildanlage 2, Seite 89) dient der Beobachtung der lokomotorischen Aktivität. Die Apparatur besteht aus einer oben offenen Kammer mit einer 45 x 45 cm großen Plattform und 45 cm hohen Wänden aus Plexiglas. Außerhalb der Kammer befinden sich 15 Infrarotsensoren in 2,8 cm Abständen eingebettet in einen Metallstab, welche die Koordinaten der Mäuse während der Bewegung in der Testkammer in drei Dimensionen erfassen. 10 cm oberhalb der Plattform sind Infrarotsensoren zur Detektion der Aufrichtung der Tiere in der z-Dimension angebracht. Die durch die Bewegung der Tiere verursachte Unterbrechung der Infrarotsensorsignale wurde mit einer Rate von 10 Hz erfasst, als x-, y- und z-Koordinaten in einem PC gespeichert und in die motorische Aktivität transformiert (Yilmazer-Hanke et al. 2004;2002, Rose et al. 2006).

Die Testdauer betrug 20 Minuten und erfolgte unter konstanter Beleuchtung von 125 Lux. Nach jedem Testdurchlauf erfolgte die Desinfektion der Kammer, bevor eine neue Testphase startete.

Die vom Motility-Programm erfassten Parameter sind:

1. Laufzeit in Minuten und Prozent der Gesamtzeit
2. Ruhezeit in Minuten und Prozent der Gesamtzeit
3. Aufenthalt in der Mitte in Minuten und Prozent der Gesamtzeit
4. Randaufenthalt in Minuten und Prozent der Gesamtzeit
5. zurückgelegter Gesamtweg in Metern
6. Aufrichtungen in Anzahl

2.2.2 Startle-Apparatur

Die Startle-Apparatur besteht aus einer schalldichten Kammer mit 5W-Neonbeleuchtung (Breite:100 cm, Tiefe: 60 cm, Höhe: 80 cm). Im Innenraum, der mit schwarzem Schaumstoff zur Geräuschkämpfung gepolstert ist, befindet sich ein 8cm x 5cm x 5,5cm großer Metall-Gitter-Käfig, welcher auf einer 19cm x 14cm großen Metallplatte befestigt ist. Den Käfigboden bildet ein 1cm hoher Lattenrost, über den die Mäuse den Fußschock erhalten.

Der akustische Stimulus wurde durch einen digitalen Generator (Waldmann, SigGen-PC) erzeugt und über einen Lautsprecher geliefert, der in der Kammer fest montiert und mit 49cm Entfernung vom Käfig auf diesen ausgerichtet ist (Bildanlage 3, Seite 90). Es wurden Stimuli von 10 kHz und 70 dB mit einer Dauer von 5 Sekunden als konditionierter Stimulus (CS) und ein Hintergrundgeräusch mit 55 dB und einer Bandbreite von 2-40 kHz eingesetzt.

Während der Konditionierungsphase wurden drei Töne in unregelmäßigen zeitlichen Abständen appliziert und entweder gepaart oder ungepaart mit dem Fußschock (unkonditionierter Stimulus, US) gegeben. Im Retrieval, 24 und 48 Stunden nach der Konditionierung, erfolgte die alleinige Präsentation des Tons in bekannter zeitlicher Abfolge, aber ohne Fußschockapplikation.

Der elektrische Stimulus wurde von einem Generator außerhalb der Kammer erzeugt und durch die Stahlgitter mit 0,5cm Abstand zu einander am Boden des Käfigs übertragen. Die Fußschockapplikation erfolgte in einer Stärke von 0,75 mA über eine Dauer von 1 Sekunde. Als Hauptparameter zur Erfassung der Furcht wählten wir Freezing, welches charakteristisch für die natürliche Furchtreaktion von Mäusen ist.

2.3 Versuchsdurchführung 1

2.3.1 Motility-Box

Die Testung in der Motility-Box wird zur Analyse emotionaler Aspekte der Aktivität genutzt (Archer 1973). Wir nutzten die Erfassung der Lokomotion und des Trait-Angst-Verhaltens der Mäuse unter Medikation zur Beschreibung der Wirkungsweise und -stärke von Atenolol auf das Verhalten naiver Tiere. Zur Bestimmung der optimalen Dosis und der Ermittlung einer Dosis-Wirkungskurve wurden 60 männliche C57BL/6J-Mäuse untersucht. Es erfolgte die Zuteilung zu 4 Gruppen (jede Gruppe 15 Tiere umfassend)

1. 0,9%ige Natriumchloridlösung
2. 5 mg/kg BW Atenolollösung
3. 10 mg/kg BW Atenolollösung
4. 20 mg/kg BW Atenolollösung

Der Versuch erfolgte vormittags parallel in zwei Boxen, so dass jeweils zwei Tiere nach 30 Minuten Separation in Einzelkäfigen post injectionem die Testphase begannen. Die Tiere wurden in die Mitte der Box platziert und anschließend startete das Programm. Alle Durchgänge liefen unter gleichen Bedingungen bei gedämpfter Beleuchtung ab und nach jedem 20 Minuten dauernden Durchgang erfolgte die Desinfektion der Boxen. Neben den automatisch vom Motility-Computerprogramm detektierten Daten erfolgte die Erfassung von Defäkation und Miktion als Parameter vegetativer Reaktion.

Da ein Tier der 20 mg-Gruppe unter der Injektionsmaßnahme verstarb, wurde zur Auswertung der Ergebnisse per Zufall je ein Tier-Datenblock aus den anderen drei Gruppen eliminiert.

2.3.2 Furchtkonditionierung in der Startle-Box

78 C57BL/6J-Mäuse wurden randomisiert 7 Gruppen zugeteilt, diese waren im Einzelnen:

1. 0,9%ige NaCl-Lösung als Applikation ohne Elektroschock während Konditionierung (10 Tiere)
2. 0,9%ige NaCl-Lösung als Applikation bei zeitlich gepaarter Ton- und Schockpräsentation während Konditionierung (12 Tiere)
3. 0,9%ige NaCl-Lösung als Applikation bei zeitlich ungepaarter Ton- und Schockpräsentation während Konditionierung (11 Tiere)
4. 5 mg/kg BW Atenolollösung als Applikation bei zeitlich gepaarter Ton- und Schockpräsentation während Konditionierung (11 Tiere)
5. 5 mg/kg BW Atenolollösung als Applikation bei zeitlich ungepaarter Ton- und Schockpräsentation während Konditionierung (11 Tiere)
6. 20 mg/kg BW Atenolollösung als Applikation bei zeitlich gepaarter Ton- und Schockpräsentation während Konditionierung (12 Tiere)

7. 20 mg/kg BW Atenolollösung als Applikation bei zeitlich ungepaarter
Ton- und Schockpräsentation während Konditionierung (11 Tiere)

Um zu prüfen, ob Furchtkonditionierung mit Auswirkung auf das Verhalten von Mäusen auch in einer Startle-Apparatur möglich ist, führten wir eine naive Kontrollgruppe mit. Die Tiere dieser Gruppe erhielten lediglich eine Kochsalzinjektion und Tonapplikation, aber keine Schockapplikation während des Trainings. Mit der naiven Gruppe wurde geprüft, ob in einer Startle-Box Freezing ausgelöst und gemessen werden kann und wie ausgeprägt das Freezing allein durch die wiederholte Exposition mit der Box ohne Konditionierung ist.

Die Gruppen zwei bis sieben dienen der separaten Untersuchung des Atenololeffekts, in zwei unterschiedlichen Dosierungen gegenüber einer Kochsalz-Kontrollgruppe, auf die Furchtkonditionierung im gepaarten bzw. ungepaarten Konditionierungsmodus.

Am Konditionierungstag wurde jeweils eine Maus i.p. injiziert (Atenolol oder 0,9%ige NaCl-Lösung) und anschließend für 30 Minuten in einem Einzelkäfig isoliert, bevor die Furchtkonditionierung begann. Zur Konditionierung wurden die Tiere in den Gitterkäfig der Kammer gesetzt, dieser mit Drahtfäden verschlossen und anschließend fest mittels Stellschrauben auf der piezoelektrischen Plattform befestigt, die Stromverbindung hergestellt und die Kammer geschlossen (Bildanlage 4, Seite 90). Anschließend startete das Programm zur automatischen Ton- und Elektroschockapplikation. Die Tiere wurden mit einem Buchstaben-Zahlen-Code versehen, der keine Gruppenzuordnung während der Beobachtung am nächsten Tag erlaubte. Und die Reihenfolge der Konditionierung der Tiere erfolgte randomisiert, so dass sich eventuelle Auswirkungen von Wochentag oder Tageszeit im Verhalten der Tiere gleichmäßig in den Ergebnissen aller Gruppen niederschlagen. Für die Konditionierung wurden drei unterschiedliche Programme verwendet, die mit „gepaart“, „ungepaart“ und „ohne Fußschockapplikation“ über den Computer angewählt werden konnten (Konditionierungsschemata, Bildanlage 5, Seite 91).

Nach Beendigung der Konditionierung wurde das Programm gestoppt, die Maus wieder aus der Startle-Kammer in den Haltungskäfig zurückgesetzt und der Gitterkäfig vor der nächsten Konditionierung desinfiziert. Zur Ausbildung einer Kontingenz zwischen CS und US unter gepaarter Konditionierung bzw. CS und Kontext während ungepaarter Konditionierung erfolgte die dreimalige Applikation von Ton und Schock.

Vierundzwanzig Stunden nach der Konditionierung erfolgte das erste Retrieval. Dazu wurden die Tiere in der gleichen Startle-Box wie am Vortag untersucht, nun aber ohne Medikation, mit gleichem Aufzeichnungsprogramm für alle Tiere und paralleler Verhaltenserfassung. Der Beobachter saß dazu vor der Startle-Apparatur, begutachtete das Verhalten der Mäuse durch ein Fenster an der Frontseite der Box und betätigte simultan das Aufzeichnungsprogramm. Das Gedächtnisabrufprogramm hatte eine Gesamtdauer von 8 Minuten und 13 Sekunden. Die Zeit vor der ersten CS-Präsentation gemessen in der Konditionierungsbox, wurde als reine kontextuelle Konditionierung interpretiert. Die CS-Präsentationszeit wurde, da die Messung ebenfalls in der Konditionierungsbox erfolgte, als „cue“- mit Hintergrundkontextkonditionierung gewertet. Eine Erleichterung der Verhaltenserfassung bot ein Computerprogramm, welches vier Verhaltensäußerungen berücksichtigt:

1. „Freezing“ (Erstarren, d.h. Fehlen jeglicher Bewegung, abgesehen von der Atemtätigkeit) ;
2. „Sniffing“ (Herumschnüffeln am Boden und den Gitterwänden des Käfigs) ;
3. „Grooming“ (umfasst das gesamte Putzverhalten, wie Gesicht-, Fellecken und Kratzen) und
4. „Other“ (hierunter wurden alle anderen, den ersten vier nicht zuzuordnenden Verhaltensweisen subsummiert, ein häufig gezeigtes Verhalten war das Herumbeißen am Gitterkäfig).

Durch den parallelen Start von Retrieval- und Verhaltens Erfassungsprogramm war es möglich, in der Auswertung eine genaue zeitliche Zuordnung der Verhaltensweisen vorzunehmen und so die Verhaltensparameter differenziert für die Kontextexposition (Zeit vor der ersten CS-Applikation mit einer Dauer von 300s) und die CS-Präsentation im Kontext (Zeit ab der ersten Ton-Applikation mit einer Dauer von 200s) auszuwerten.

Nach Beendigung des 1. bzw. 2. Retrieval wurden die Tiere wieder zurück in die Haltungskäfige gesetzt, die Miktion und Defäkation erfasst und der Gitterkäfig desinfiziert bevor das nächste Tier das Retrieval durchlief.

2.4 Statistik

Um das Verhalten der Tiere in der Moti-Box zu analysieren wurde eine one-way-ANOVA durchgeführt sowie ein Post Hoc-Vergleich mittels Fisher`s LSD-Test vorgenommen. Im zweiten Experiment wurde zum Nachweis der Effektivität der Furchtkonditionierung, welche als Voraussetzung der weiteren statistischen Verhaltensauswertung zu betrachten ist, für das Freezingverhalten eine Varianzanalyse mit anschließendem „protected t-test“ durchgeführt, um im Vergleich der Gruppen untereinander die Signifikanz der Auswirkung der Schockapplikation zu belegen. Für alle gezeigten Verhaltensweisen wurde eine bifaktorielle ANOVA erstellt, die zum einen die Konditionierungsart (gepaarte- vs. ungepaarte-Konditionierung) und zum anderen die Medikation (0.9%ige NaCl-lösung vs. 5 mg/kg BW Atenolol vs. 20 mg/kg BW Atenolol) sowie deren Wechselwirkungen berücksichtigt. Als signifikant wurden die Ergebnisse mit $p > 0.05$ gewertet. Zur Untersuchung der Wechselwirkung der Einzelparameter untereinander folgte anschließend die Betrachtung der Verhaltensunterschiede der einzelnen Tiere zwischen Kontextexposition und CS-Präsentation im Hintergrundkontext sowie deren Beeinflussung durch Medikation, Konditionierungsart und Retrieval in einem allgemeinen linearen Modell. Es erfolgte die Durchführung univariater und multivariater Tests und anschließend wurden paarweise Vergleiche mit Post Hoc-Tests vorgenommen. Zum Ausschluss eines Rekonsolidierungseffektes durch das 1. Retrieval wurde eine Repeated Measures angefertigt. Die nichtparametrischen Tests nach Kruskal-Wallis und Mann-Whitney sowie der Chi-Quadrat-Test kamen bei der Auswertung der Vegetativparameter zur Anwendung.

Die Berechnungen wurden mit GB-STAT für MS Windows Version 5.0 und mit der SPSS Version 9.0 für Windows durchgeführt.



3. Ergebnisse

3.1 Lokomotion und Trait-Angst-Verhalten in der Motility-Box

3.1.1 Beeinflussung der lokomotorischen Aktivität durch Atenolol

Zur Beurteilung der Atenololeffekte auf naive Mäuse wurde das Verhalten der Tiere 30 Minuten nach i.p.-Applikation des Pharmakons bzw. von 0.9 %iger NaCl-Lösung in der Motility-Box untersucht. Da keine deutlichen Unterschiede zwischen den Gruppen mit 5 und 10 mg/kg BW Atenolol bestanden und im anschließenden Experiment Atenolol nur in zwei unterschiedlichen Dosierungen zum Einsatz kommen sollte, erfolgt in der weiteren statistischen Auswertung der Ergebnisse nur die Berücksichtigung der Medikationsgruppen mit 5 und 20 mg/kg BW Atenolol sowie der Kontrollgruppe mit NaCl-Applikation.

3.1.2 Ergebnisse

(Abbildung 1, Seite 28; Datentabelle im Anhang Seite 86)

3.1.3 Einfluss von Atenolol auf das Verhalten in der Motility-Box

Atenolol besitzt einen dosisabhängigen depressiven Effekt auf die lokomotorische Aktivität von C57BL/6J-Mäusen gemessen während einer 20 minütigen Testphase in der Motility-Box (Abb. 1A, Seite 28). Die one-way-ANOVA ergibt eine signifikante Reduktion der Lokomotion ($F=3.37$, $df=2$, $p<0.05$). Im post hoc-Vergleich mittels Fisher`s LSD-Test zeigt sich der signifikante Effekt durch Atenolol in einer Dosierung von 20 mg/kg BW.

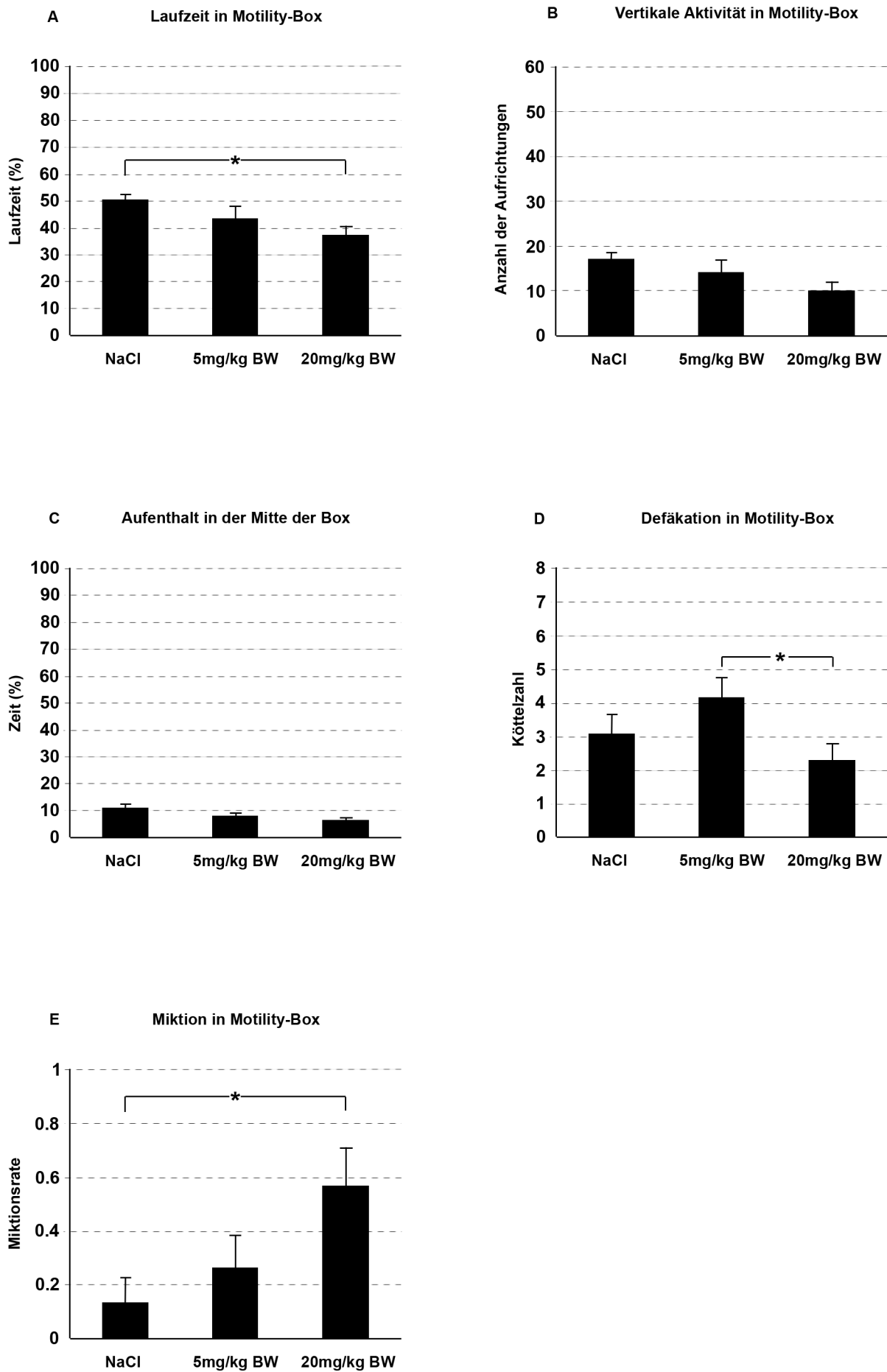
Die Medikation besitzt jedoch keinen signifikanten Einfluss auf die Trait-Angst assoziierten Parameter Aufrichtung und verbrachte Zeit in der Mitte der Box (Abb. 1B und 1C). Anhand Abbildung 1B lässt sich zwar eine tendenzielle Abnahme der vertikalen Aktivität (als Summe der Aufrichtungen und Anlehnungen an die Wand der Box) erkennen, aber es wird kein signifikanter Unterschied durch Atenolol erzielt ($F=2.60$, $df=2$, $p>0.05$). Dies gilt auch bezüglich des Aufenthalts im zentralen Bereich der Motility-Box ($F=2.76$, $df=2$, $p>0.05$) zu sehen in Abbildung 1C.

Die statistische Auswertung der Defäkationsergebnisse (Abb.1D) mittels des nicht-parametrischen Mann-Whitney-Tests ergibt bezüglich der Medikation keine signifikanten Unterschiede zwischen NaCl-Gruppe und 5 bzw. 20mg/kg BW Atenolol-Gruppe ($p>0.05$). Jedoch zeichnet sich zwischen den unterschiedlichen Dosierungsgruppen des Medikaments ($p<0.05$) eine Signifikanz ab, mit deutlicher Reduktion der Defäkation in der höherdosierten Atenolol-Gruppe. Bezüglich der Miktionsfrequenz (Abb.1E) zeigen sich statistisch signifikante Unterschiede im Vergleich von NaCl- und 20mg/kg BW Atenolol-Gruppe ($F=6.15$, $df=1$, $p<0.05$), nicht jedoch zwischen NaCl- und 5mg/kg BW Atenolol- ($F=0.83$, $df=1$, $p>0.05$) bzw. der 5mg/kg BW- und 20mg/kg BW Atenolol-Gruppe ($F=2.77$, $df=1$, $p>0.05$). Man kann demnach von einer dosisabhängigen Steigerung der Miktionsfrequenz und Reduktion der Defäkation durch Atenolol sprechen.

Da die Atenololapplikation eine dosisabhängige Reduktion der lokomotorischen Aktivität bewirkt, lässt sich eine eventuelle Freezingreduktion durch die Atenololapplikation im zweiten Experiment nicht auf eine Steigerung der lokomotorischen Aktivität durch das Medikament zurückführen. Durch die tendenziell eher geringere Ausprägung

angstassoziierter Verhaltensweisen wie Aufrichtung und Aufenthalt in der Mitte der Box unter Atenolol kann ein direkter anxiolytischer Effekt, soweit in der Motility-Box messbar, nicht gezeigt werden. Die Möglichkeit der Gabe selbst unphysiologisch hoher Dosen an naive Tiere erlaubt es mittels Atenolol emotionale Lernvorgänge unter weitreichender Blockade des peripheren viszerale Arousal zu untersuchen. Somit ermöglicht Furchtkonditionierung unter Atenolol das Studieren des Einflusses peripherer vegetativer Erregung sowie möglicher Feedbackwirkungen auf neuronale Verarbeitungsmechanismen in emotionalen Situationen ohne direkte zentrale Beeinflussung.

Abb. 1 Lokomotion und Trait-Angst-Verhalten in der Motility-Box



Legende zu Abbildung 1A-E

Lokomotion und Trait-Angst-Verhalten in der Motility-Box

Abbildung 1A Laufzeit in Motility-Box

Dargestellt ist die Laufzeit in % der Gesamtzeit einer 20 minütigen Testphase von C57BL/6J-Mäusen in der Motility-Box nach NaCl-Gabe bzw. Atenololapplikation in den Dosierungen 5 und 20 mg/kg BW. Die one-way-ANOVA ergibt eine signifikante Reduktion der lokomotorischen Aktivität durch die Medikation ($F=3.37$, $df=2$, $p<0.05$), welche sich im posthoc Vergleich mittels Fisher's LSD-Test durch Atenolol in der Dosierung von 20 mg/kg BW ergibt ($p<0.05$). Atenolol bewirkt demnach eine dosisabhängige Reduktion der Lokomotion. * $p<0.05$, ** $p<0.01$

Abbildung 1B Vertikale Aktivität in Motility-Box

Dargestellt ist die Anzahl der Aufrichtungen innerhalb einer 20 minütigen Testphase von C57BL/6J-Mäusen in der Motility-Box nach NaCl-Gabe bzw. Atenololapplikation in den Dosierungen 5 und 20 mg/kg BW. Die one-way-ANOVA zeigt eine tendenzielle jedoch nicht signifikante Reduktion der vertikalen Aktivität (als Summe der Aufrichtungen und Anlehnungen an die Wand der Box) durch die Medikation ($F=2.60$, $df=2$, $p>0.05$), welche sich anhand der Abbildung erkennen lässt. * $p<0.05$, ** $p<0.01$

Abbildung 1C Aufenthalt in der Mitte der Box

Dargestellt ist die Aufenthaltsdauer im zentralen Drittel der Motility-Box in % der Gesamtzeit einer 20 minütigen Testphase von C57BL/6J-Mäusen nach NaCl-Gabe bzw. Atenololapplikation in den Dosierungen 5 und 20 mg/kg BW. Es lässt sich ebenfalls eine tendenzielle jedoch nicht signifikante Reduktion des Aufenthalts im Zentrum der Box durch die Medikation mittels one-way-ANOVA nachweisen ($F=2.76$, $df=2$, $p>0.05$). * $p<0.05$, ** $p<0.01$

Atenolol zeigt demnach keinen signifikanten Effekt auf die Trait-Angst assoziierten Parameter Aufrichtungshäufigkeit und Aufenthalt in der Mitte der Box.

Abbildung 1D Defäkation in Motility-Box

Dargestellt ist die Defäkationsrate (Anzahl der Köttel) während einer 20 minütigen Testphase von C57BL/6J-Mäusen in der Motility-Box nach NaCl-Gabe bzw. Atenololapplikation in den Dosierungen 5 und 20 mg/kg BW. Die statistische Auswertung der Defäkationsergebnisse mittels des nicht-parametrischen Mann-Whitney-Tests erbringt signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen unterschiedlicher Medikamentendosis ($p<0.05$), mit deutlicher Reduktion der Defäkation unter 20 mg/kg BW Atenolol. Es ergibt sich jedoch kein signifikanter Unterschied zwischen NaCl-Gruppe und 5 bzw. 20mg/kg BW Atenolol- Gruppe ($p>0.05$). * $p<0.05$, ** $p<0.01$

Abbildung 1E Miktion in Motility-Box

Dargestellt ist die Miktionshäufigkeit während einer 20 minütigen Testphase von C57BL/6J-Mäusen in der Motility-Box nach NaCl-Gabe bzw. Atenololapplikation in den Dosierungen 5 und 20 mg/kg BW. Statistisch signifikante Unterschiede ergeben sich zwischen den Gruppen mit NaCl- und 20mg/kg BW Atenolol ($F=6.15$, $df=1$, $p<0.05$), nicht jedoch zwischen der NaCl- und 5mg/kg BW Atenolol- ($F=0.83$, $df=1$, $p>0.05$) bzw. der 5mg/kg BW- und 20mg/kg BW Atenolol-Gruppe ($F=2.77$, $df=1$, $p>0.05$). Atenolol führt demnach dosisabhängig zu einer Steigerung der Miktion. * $p<0.05$, ** $p<0.01$

3.2 Experiment 2

In diesem Experiment untersuchten wir auditorische und kontextuelle Furchtkonditionierung unter peripher-viszeraler Erregungsblockade. Dazu wurde Atenolol in den Dosierungen 5 und 20 mg/kg BW während der Furchtkonditionierung (FC) appliziert und sein Effekt auf das Verhalten der Mäuse beim Gedächtnisabruf studiert. In den Abbildungen 2A/B bis 6A/B sind die Verhaltensänderungen von C57BL/6J-Mäusen 24 Stunden nach FC wiedergegeben. Die Verhaltensfassung erfolgte in der Trainingsbox, in der auch die FC vorgenommen wurde, ohne erneute Medikation. Die detektierten Verhaltensweisen „Freezing“ (Erstarren), „Sniffing“ (Schnüffeln) und „Grooming“ (Putzen) wurden für die Zeit vor der CS-Präsentation und die Zeit mit Beginn der ersten Tonapplikation ausgewertet. Die Ergebnisdarstellung des in der Konditionierungsbox ermittelten Verhaltens erfolgt demnach getrennt für die alleinige Exposition mit dem Kontext, welche die kontextuelle Furcht erfasst, und für die CS-Präsentation in der Konditionierungsbox, welche die Furchtreaktion auf den expliziten „cue“ und den Hintergrundkontext beinhaltet. Da während der Kontextexposition kein Ton gegeben wurde, besteht die einzige Assoziation zur Konditionierung in den kontextuellen Stimuli der Box und dem Handling während des Versuchsablaufes. Nach der Kontextexposition erfolgte die Applikation von insgesamt drei CS in randomisierter Zeitabfolge. Da die konditionierte Reaktion auf den CS in der Trainingsbox gemessen wurde, umfasst sie sowohl eine Hintergrundkontextkonditionierung als auch die „simple cue“-Konditionierung (LeDoux et al. 1988).

3.2.1 Kontextexposition und CS-Präsentation im Kontext (1.Retrieval)

3.2.1.1 Verhalten während Kontextexposition und CS-Präsentation im Kontext

Die Atenololapplikation vor der Furchtkonditionierung (FC) zeigt deutliche Auswirkungen auf das Verhalten der Mäuse 24 Stunden später in Exposition mit dem Konditionierungskontext. Atenolol führt zu einer signifikanten Reduktion des Freezing, sowie zu deutlich gesteigertem Schnüffel- und Putzverhalten. Die Konditionierungsart besitzt keinen signifikanten Effekt auf das Verhalten der Tiere im Konditionierungskontext.

Es konnten keine signifikanten Auswirkungen der Atenololapplikation auf das Verhalten der Tiere bei CS-Exposition im Konditionierungskontext erzielt werden. Jedoch veranschaulichen die Ergebnisse einen signifikanten Einfluss der Konditionierungsart, welcher sich in längerem Freezing und reduziertem Schnüffel- und Putzverhalten der gepaart konditionierten Tiere im Vergleich zu den ungepaart konditionierten Tieren zeigt.

(Übersichtstabellen mit MW \pm SEM im Anhang, Seite 86-88)

3.2.1.1.1 Freezing während Kontextexposition

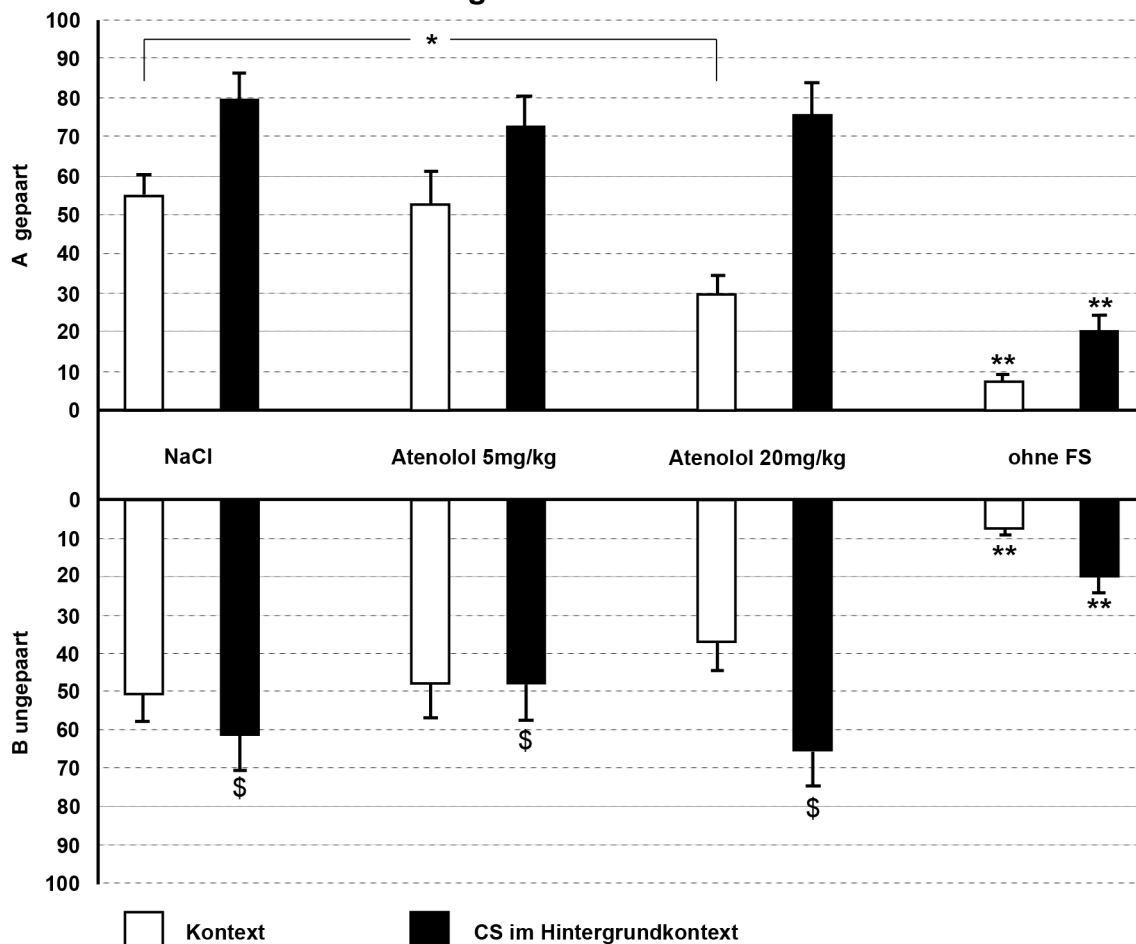
Der Abbildung 2A/B (Seite 32) sind die Auswirkungen der Atenololapplikation vor der FC auf das Freezingverhalten im Kontext während des Gedächtnisabrufs zu entnehmen. Die unifaktorielle ANOVA zum „protected t-test“ ergibt einen signifikanten Effekt der Fußchockapplikation, welche im post hoc-Vergleich zwischen ungepaart/gepaart konditionierten vs. naiven Mäusen besteht ($F(2,32)=22.1484, p<0.0001$). Der deutliche Unterschied des Freezingverhaltens der naiven Kontrollgruppe im Vergleich zu den konditionierten Tieren belegt die Effektivität der Konditionierung.

Zur Beurteilung der Auswirkung der Konditionierungsart (gepaart vs. ungepaart) und der Medikation (NaCl vs. 5 mg/kg BW Atenolol vs. 20 mg/kg BW Atenolol) auf das Freezingverhalten während der Kontextexposition wurde eine bifaktorielle ANOVA angefertigt. Atenolol in der Dosierung von 20 mg/kg BW bewirkt eine signifikante Freezing-Reduktion im Gedächtnisabruf ($F(2.67)=4.460$, $df=2$, $p<0.02$), während sich durch Atenolol in niedriger Dosierung kein signifikanter Unterschied zur NaCl-Gruppe ergibt. Im post hoc-Vergleich zeigt sich ein signifikanter Atenoleffekt durch 20mg/kg BW im gepaarten Konditionierungsmodus. Demnach besitzt Atenolol (appliziert vor der FC) einen dosisabhängigen Effekt auf das Verhalten, welches sich 24 Stunden nach gepaarter Konditionierung, in Exposition mit dem Konditionierungskontext ausprägt, d.h. Atenolol beeinflusst die Hintergrundkontextkonditionierung. Die Konditionierungsart zeigt keinen signifikanten Effekt ($F(1.67)=0.007$, $df=1$, $p>0.9$) und es bestehen auch keine Wechselwirkungen zwischen Konditionierungsart und Medikation ($F(2.67)=0.44$, $df=2$, $p>0.6$).

3.2.1.1.2 Freezing während CS-Präsentation im Kontext

Abbildung 2A/B veranschaulicht auch die Auswirkungen der Atenololapplikation vor der FC auf das Freezing in Exposition mit dem CS im Konditionierungskontext. In der unifaktoriellen ANOVA zum „protected t-test“ und dem post hoc-Vergleich ergibt sich ein deutlicher Effekt der Fußschockapplikation mit hochsignifikantem Unterschied zwischen ungepaart-/gepaart konditionierten vs. naiven Mäusen ($F(2.32)=18.95$, $p<0.0001$). Die bifaktorielle ANOVA zeigt einen signifikanten Effekt der Konditionierungsart ($F(1.67)=6.70$, $df=1$, $p<0.02$), jedoch keine signifikante Auswirkung der Medikation ($F(2.67)=1.01$, $df=2$, $p>0.3$) bzw. Wechselwirkungen zwischen Konditionierungsart und Medikation ($F(2.67)=0.40$, $df=2$, $p>0.6$). Das signifikant längere Freezing der gepaart konditionierten Tiere ist durch die stärkere Assoziation zwischen CS und US durch gepaarte Präsentation während der Konditionierung erklärbar. Im Gegensatz zu den Ergebnissen der Kontextexposition kann durch die Atenololapplikation das Verhalten der Tiere in Exposition mit dem CS nicht signifikant beeinflusst werden.

Abb. 2 Freezing in % der Zeit im 1.Retrieval



Legende zu Abbildung 2A/B

Freezingverhalten während Kontextexposition (1. Retrieval)

Dargestellt ist die Freezingdauer in % der Gesamtzeit als MW+SEM in Form weißer Balken. Die Teilabbildung A repräsentiert das Freezing der Tiere nach gepaarter Konditionierung und B stellt das Freezing der ungepaart konditionierten Tiere dar. Die unkonditionierte Kontrollgruppe ist jeweils zum Vergleich am rechten Rand abgebildet (ohne FS). Deutlich wird ein hochsignifikanter Effekt der stattgehabten Konditionierung, welcher sich in sichtbaren Unterschieden der Freezingdauer zwischen ungepaart/gepaart konditionierten vs. naiven Mäusen ($F(2,32)=22.1484$, $p<0.0001$) zeigt. Desweiteren hat die Medikation eine Auswirkung auf das Freezingverhalten der Tiere ($F(2,67)=4.460$, $df=2$, $p<0.02$). Es ergibt sich im post hoc-Vergleich eine signifikante Reduktion des Freezing durch Atenolol in der Dosierung von 20 mg/kg BW bei den Tieren im gepaarten Konditionierungsmodus. Die Konditionierungsart zeigt keinen signifikanten Einfluss auf das Freezing-Verhalten im Kontext ($F(1,67)=0.007$, $df=1$, $p>0.9$) und es bestehen keine Wechselwirkungen zwischen Konditionierungsart und Medikation ($F(2,67)=0.44$, $df=2$, $p>0.6$). * $p<0.05$, ** $p<0.01$

Freezingverhalten während CS-Präsentation im Hintergrundkontext (1. Retrieval)

Dargestellt ist die Freezingdauer in % der Gesamtzeit als MW+SEM in Form schwarzer Balken. Die univariante ANOVA zum „protected t-test“ ergibt ebenfalls einen hochsignifikanten Effekt der Fußschockapplikation mit deutlichem Unterschied zwischen ungepaart/gepaart konditionierten vs. naiven Mäusen ($F(2,32)=18.95$, $p<0.0001$). Bei Ton-CS-Gabe im Kontext kann keine signifikante Beeinflussung der Freezingdauer mehr durch die Medikation erzielt werden ($F(2,67)=1.01$, $df=2$, $p>0.3$). Die ANOVA zeigt jedoch einen signifikanten Effekt der Konditionierungsart ($F(1,67)=6.70$, $df=1$, $p<0.02$, \$) mit deutlich längerem Freezing der gepaart konditionierten Tiere (schwarze Balken in der Teilabbildung A) als der ungepaart konditionierten Tiere (schwarze Balken in der Teilabbildung B). Es bestehen keine Wechselwirkungen zwischen Konditionierungsart und Medikation ($F(2,67)=0.40$, $df=2$, $p>0.6$). * $p<0.05$, ** $p<0.01$

3.2.1.1.3 Sniffing während Kontextexposition

Die Ergebnisse des Schnüffelverhaltens (Abb. 3.A/B, Seite 34) bestätigen mit einer signifikanten Zunahme des „Sniffings“, durch die Atenololapplikation vor der Konditionierung den Medikationseffekt ($F(2.67)=4.33$, $df=2$, $p<0.02$). Wiederum ergibt sich im post-hoc Vergleich erst ein signifikanter Effekt durch 20mg/kg BW Atenolol der Tiere im gepaarten Konditionierungsmodus und erneut zeigen sich keine signifikanten Auswirkungen durch die Konditionierungsart ($F(1.67)=0.29$, $df=1$, $p>0.6$) oder Wechselwirkungen von Konditionierungsart und Medikation ($F(1.67)=0.29$, $df=2$, $p>0.6$). Das Schnüffelverhalten korreliert als gesteigerte Exploration negativ mit dem Freezingverhalten.

3.2.1.1.4 Sniffing während CS-Präsentation im Kontext

In Übereinstimmung mit den Freezing-Resultaten kann auch im Schnüffelverhalten (Abb. 3A/B) während der CS-Präsentation ein signifikanter Effekt der Konditionierungsart ($F(1.67)=6.28$, $df=1$, $p<0.02$), jedoch keine signifikante Auswirkung der Medikation ($F(2.67)=1.03$, $df=2$, $p>0.3$) bzw. eine Wechselwirkung zwischen Konditionierungsart und Medikation ($F(2.67)=0.11$, $df=2$, $p>0.8$) gefunden werden. Die ungepaart konditionierten Tiere schnüffeln wesentlich ausgiebiger während der Präsentation des Ton-CS in der Konditionierungsbox als die gepaart konditionierten Tiere.

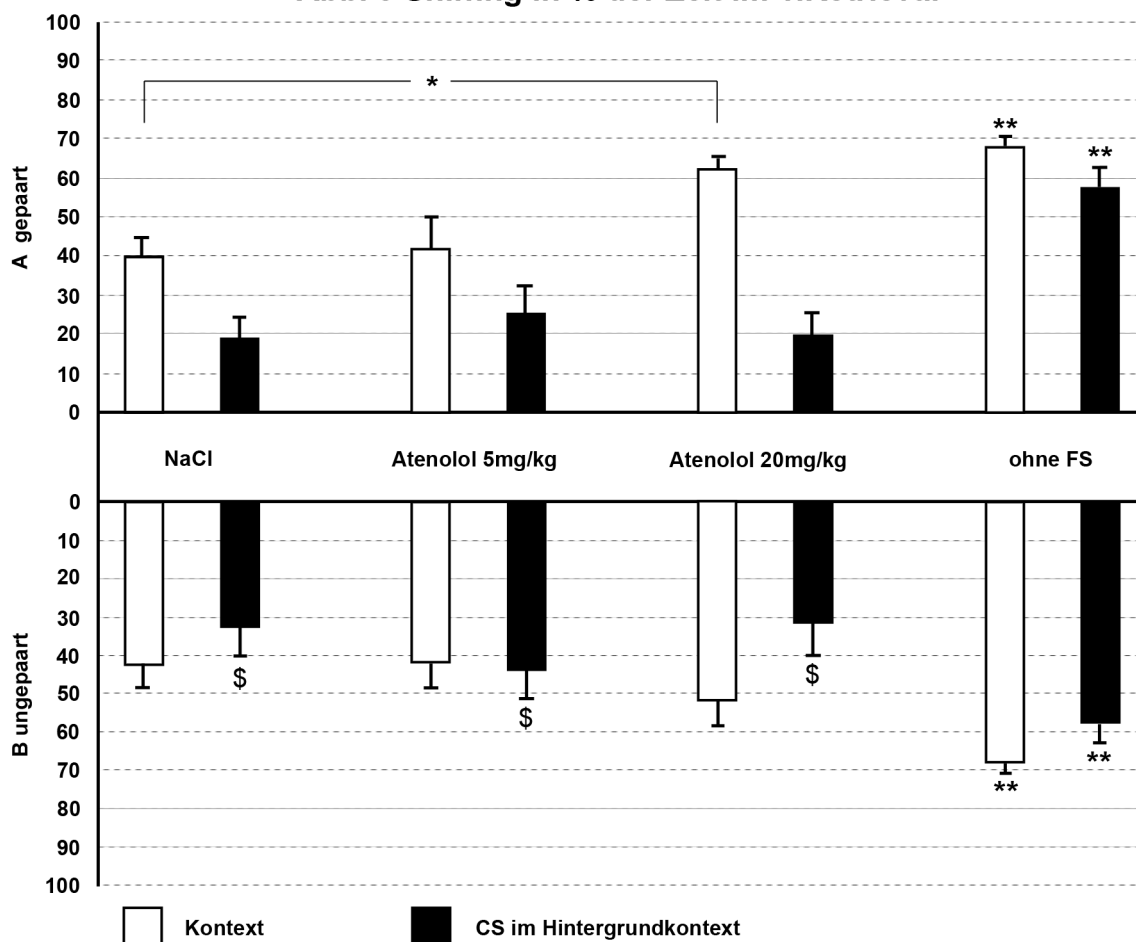
3.2.1.1.5 Grooming während Kontextexposition

Abbildung 4A/B (Seite 35) zeigt die Auswirkungen der Atenololapplikation vor der FC auf das Putzverhalten im Kontext während des Gedächtnisabrufs. Die bifaktorielle ANOVA erbringt eine signifikante Zunahme des Putzverhaltens unter hochdosierter Medikation ($F(2.67)=3.63$, $df=2$, $p<0.05$) mit post hoc-Signifikanz im gepaarten Konditionierungsmodus. Es ergeben sich keine signifikanten Auswirkungen durch die Konditionierungsart ($F(1.67)=0.03$, $df=1$, $p>0.8$) und es bestehen keine Wechselwirkungen zwischen der Medikation und Konditionierungsart ($F(2.67)=0.56$, $df=2$, $p>0.5$). Da die naive Kontrollgruppe ausgeprägtes Putzverhalten zeigt, lässt sich eine Korrelation zwischen gesteigertem Putzen und niedrigerem Furchtlevel vermuten. Durch die pharmakologische β -Blockade in hoher Dosierung kann das Putzverhalten der Tiere in Exposition mit dem Hintergrundkontext signifikant gesteigert werden.

3.2.1.1.6 Grooming während CS-Präsentation im Kontext

Der Abbildung 4A/B sind die Effekte der Atenololapplikation auf das Putzverhalten bei CS-Präsentation im Konditionierungskontext zu entnehmen. In Korrelation mit dem Freezing- und Schnüffel-Verhalten findet sich während der CS-Präsentation im Kontext eine signifikante Auswirkung der Konditionierungsart ($F(1.67)=4.60$, $df=1$, $p<0.05$), welche durch die Medikation beeinflusst wird ($F(2.67)=3.63$, $df=2$, $p<0.05$). Es besteht jedoch keine signifikante Auswirkung der Medikation allein ($F(2.67)=2.51$, $df=2$, $p>0.8$). Die signifikant längere Putzdauer der ungepaart konditionierten Tiere bestätigt die stärkere Konditionierung auf den „cue“ durch gemeinsame Präsentation von CS und US mit deutlicherer Assoziation im gepaarten Konditionierungsmodus. Der signifikante Unterschied zur naiven Kontrollgruppe unterstützt die Aussagefähigkeit dieses Verhaltensparameters bezüglich des Furchtlevels der Tiere und bekräftigt die Beeinflussung des Putzverhaltens durch Atenolol während der Kontextexposition.

Abb. 3 Sniffing in % der Zeit im 1.Retrieval



Legende zu Abbildung 3A/B

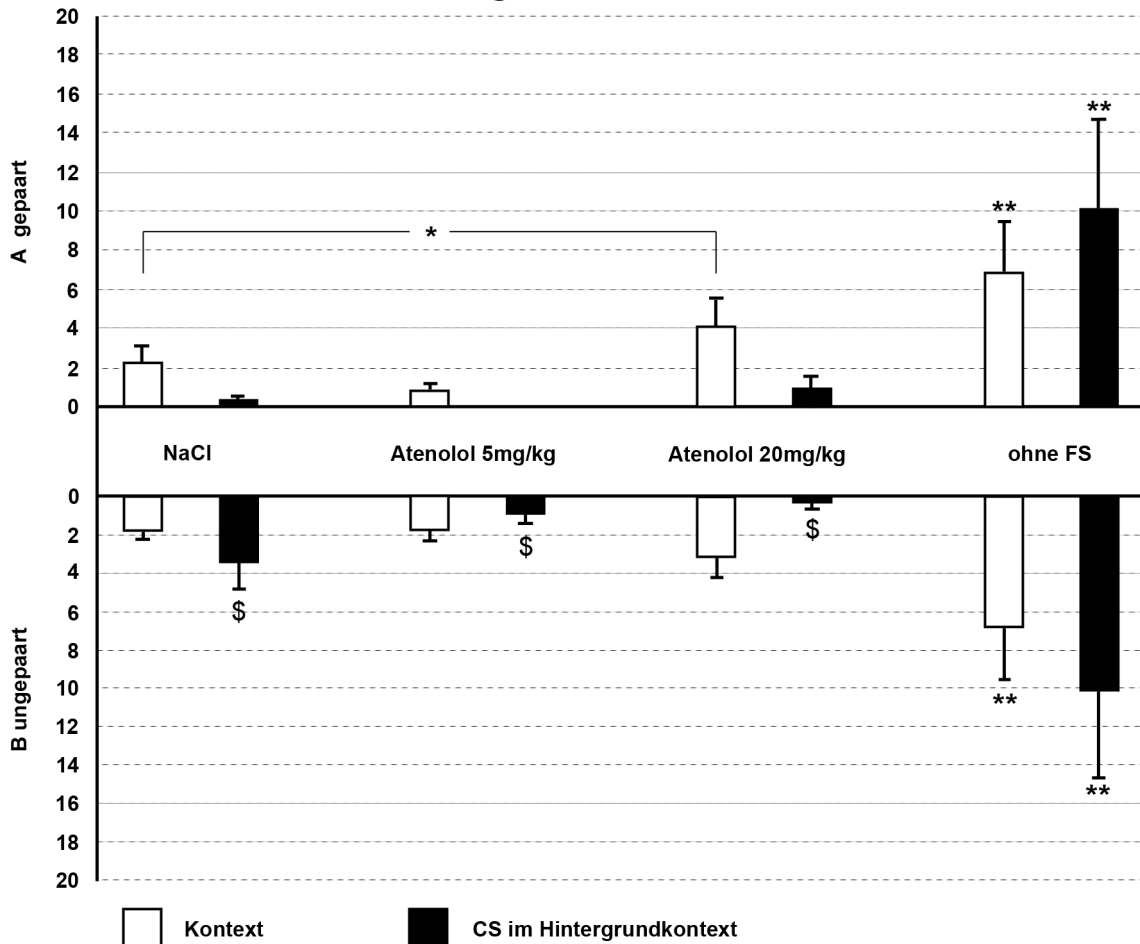
Schnüffelverhalten während Kontextexposition (1. Retrieval)

Dargestellt ist die Schnüffelzeit in % der Gesamtzeit als MW+SEM in Form weißer Balken. Die Teilabbildung A repräsentiert das Schnüffeln („Sniffing“) der Tiere nach gepaarter Konditionierung und B stellt das Schnüffeln der ungepaart konditionierten Tiere dar. Die unkonditionierte Kontrollgruppe ist jeweils zum Vergleich am rechten Rand abgebildet (ohne FS). Ersichtlich wird ein hochsignifikanter Effekt der stattgehabten Konditionierung, welcher sich in einem deutlichen Unterschied der Schnüffelzeit der naiven Kontrollmäuse im Vergleich zu den ungepaart/gepaart konditionierten Tieren zeigt ($p < 0.0001$). Die Atenololgabe führt zu einer signifikanten Zunahme des „Sniffing“ der konditionierten Tiere ($F(2,67)=4.33$, $df=2$, $p < 0.02$). Im post hoc-Vergleich ergibt sich ein signifikanter Effekt durch 20mg/kg BW Atenolol bei den Tieren im gepaarten Konditionierungsmodus. Es zeigen sich keine signifikanten Auswirkungen durch Konditionierungsart ($F(1,67)=0.29$, $df=1$, $p > 0.6$) oder Wechselwirkungen von Konditionierungsart und Medikation ($F(1,67)=0.29$, $df=2$, $p > 0.6$). * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$

Schnüffelverhalten während CS-Präsentation im Hintergrundkontext (1. Retrieval)

Dargestellt ist die Schnüffelzeit in % der Gesamtzeit als MW+SEM in Form schwarzer Balken. Die unifaktorielle ANOVA zum „protected t-test“ ergibt einen hochsignifikanten Effekt der Fußschockapplikation mit deutlichem Unterschied zwischen ungepaart/gepaart konditionierten vs. naiven Mäusen ($p < 0.0001$). Bei Ton-CS-Präsentation in der Konditionierungsbox kann durch die Medikation kein signifikanter Einfluss auf die Schnüfeldauer mehr nachgewiesen werden ($F(2,67)=1.03$, $df=2$, $p > 0.3$). Die ANOVA erbringt jedoch einen signifikanten Effekt der Konditionierungsart ($F(1,67)=6.28$, $df=1$, $p < 0.02$, \$) auf das Schnüffelverhalten der konditionierten Tiere. In negativer Korrelation zu den Freezingresultaten zeigen die gepaart konditionierten Tiere (schwarze Balken in der Teilabbildung A) deutlich weniger „Sniffing“ als die ungepaart konditionierten Tiere (schwarze Balken in der Teilabbildung B). Es bestehen keine Wechselwirkungen zwischen Konditionierungsart und Medikation ($F(2,67)=0.11$, $df=2$, $p > 0.8$). * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$

Abb. 4 Grooming in % der Zeit im 1.Retrieval



Legende zu Abbildung 4A/B

Putzverhalten während Kontextexposition (1. Retrieval)

Dargestellt ist die Putzzeit in % der Gesamtzeit als MW+SEM in Form weißer Balken. Die Teilabbildung A repräsentiert das Putzverhalten der Tiere nach gepaarter Konditionierung und B stellt das Putzverhalten der ungepaart konditionierten Tiere dar. Die unconditionierte Kontrollgruppe ist jeweils zum Vergleich am rechten Rand abgebildet (ohne FS). Sichtbar wird ein hochsignifikanter Effekt der stattgehabten Konditionierung, anhand des deutlichen Unterschieds der Putzzeit der naiven Kontrollmäuse im Vergleich zu den ungepaart/gepaart konditionierten Tieren ($p < 0.0001$). Die Atenololgabe führt zu einer signifikanten Zunahme der Putzdauer der konditionierten Tiere ($F(2.67)=3.63$, $df=2$, $p < 0.05$). Im post hoc-Vergleich ergibt sich ein signifikanter Effekt durch 20mg/kg BW Atenolol bei den Tieren im gepaarten Konditionierungsmodus. Es zeigen sich keine signifikanten Auswirkungen durch die Konditionierungsart ($F(1.67)=0.03$, $df=1$, $p > 0.8$) und es bestehen keine Wechselwirkungen zwischen Konditionierungsart und Medikation ($F(2.67)=0.56$, $df=2$, $p > 0.5$). * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$

Putzverhalten während CS-Präsentation im Hintergrundkontext (1. Retrieval)

Dargestellt ist die Putzzeit in % der Gesamtzeit als MW+SEM in Form schwarzer Balken. Die unifaktorielle ANOVA zum „protected t-test“ ergibt einen hochsignifikanten Effekt der Fußschockapplikation mit deutlichem Unterschied zwischen ungepaart/gepaart konditionierten vs. naiven Mäusen ($p < 0.0001$). Bei Präsentation des Ton-CS in der Konditionierungsbox kann durch die Medikation kein signifikanter Einfluss auf die Putzzeit mehr nachgewiesen werden ($F(2.67)=2.51$, $df=2$, $p > 0.8$). Die ANOVA zeigt jedoch einen signifikanten Effekt der Konditionierungsart ($F(1.67)=4.60$, $df=1$, $p < 0.05$, \$) auf das Putzverhalten der konditionierten Tiere welcher durch die Medikation beeinflusst wird ($F(2.67)=3.63$, $df=2$, $p < 0.05$). In positiver Korrelation zur Schnüffelzeit zeigen die gepaart konditionierten Tiere (schwarze Balken in der Teilabbildung A) deutlich geringer ausgeprägtes Putzverhalten als die ungepaart konditionierten Tiere (schwarze Balken in der Teilabbildung B). * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$

3.2.2 Kontextexposition und CS-Präsentation im Kontext (2.Retrieval)

3.2.2.1 Verhalten während Kontextexposition und CS-Präsentation im Hintergrundkontext mit nachfolgendem Vergleich des Verhaltens im 1. und 2.Retrieval

Die Halbwertszeit von Atenolol bei Untersuchungen in der Ratte wird mit ca. 90 Minuten angegeben (Lemmer et al. 1985). Daher ist ein direkter Medikationseffekt auf das Verhalten der Tiere im ersten Retrieval auch in der hochdosierten Gruppe mit 20 mg/kg BW kaum mehr zu erwarten. Um definitiv auszuschließen, dass die Verhaltensänderungen aus einer direkten Medikamentenwirkung resultieren und um die erhaltenen Ergebnisse zu verifizieren, führten wir 48 Stunden nach Konditionierung ein zweites Retrieval durch. Der Versuchsablauf war identisch mit dem des ersten Retrieval, wiederum wurde die Trainingsbox zur Erfassung der Verhaltensparameter genutzt und die Aufzeichnung der Parameter erfolgte nach dem gleichen Muster. Die Ergebnisse des zweiten Gedächtnisabrufs bestätigen die im ersten Abruf gefundenen Effekte und durch eine Repeated Measure-Analyse konnte ein Rekonsolidierungseffekt ausgeschlossen werden.

(Übersichtstabellen mit MW \pm SEM im Anhang, Seite 87)

3.2.2.2.1 Freezing während Kontextexposition

Die Auswirkungen der Atenololapplikation auf das Freezingverhalten können im 2.Retrieval in Exposition mit dem Kontext bestätigt werden (Abbildung 5A, Seite 38). Die unifaktorielle ANOVA zum „protected t-test“ ergibt einen deutlichen Effekt der Fußschockapplikation. Im post hoc-Vergleich zeigt sich (wie im 1. Retrieval) ein hochsignifikanter Unterschied zwischen ungepaart/gepaart konditionierten vs. naiven Tieren unter NaCl-Injektion ($F(2,32)=16.58$, $df=2$, $p<0.0001$). Das deutlich ausgeprägtere Freezing der konditionierten im Vergleich zu den naiven Mäusen belegt die Effizienz der Furchtkonditionierung und deren Auswirkung auf das Verhalten auch 48 Stunden nach erfolgter Konditionierung. Wiederum ergibt sich kein signifikanter Unterschied durch gepaarten oder ungepaarten Konditionierungsmodus. Die bifaktorielle ANOVA, durchgeführt zur Beurteilung der Auswirkungen der Konditionierungsart (gepaart vs. ungepaart) und der Medikation (NaCl vs. 5 mg/kg BW Atenolol vs. 20 mg/kg BW Atenolol) auf das Freezing während der Exposition mit dem Kontext, bekräftigt den im ersten Retrieval gefundenen Atenololeffekt. Es ergibt sich eine signifikante Beeinflussung durch die Medikation ($F(2,67)=5.07$, $df=2$, $p<0.01$) mit post hoc-Signifikanz der 20 mg/kg BW-Dosis. Jedoch finden sich wiederum keine signifikanten Auswirkungen der Konditionierungsart ($F(1,67)=1.89$, $df=1$, $p>0.2$) bzw. Wechselwirkungen zwischen Konditionierungsart und Medikation ($F(2,67)=1.194$, $df=2$, $p>0.3$).

Das deutlich geringer ausgeprägte Freezing der naiven Kontrollgruppe zeigt, dass die Tiere auch im 2. Gedächtnisabruf mit niedrigerem Furchtlevel auf die Konditionierungsbox reagieren als die konditionierten Tiere.

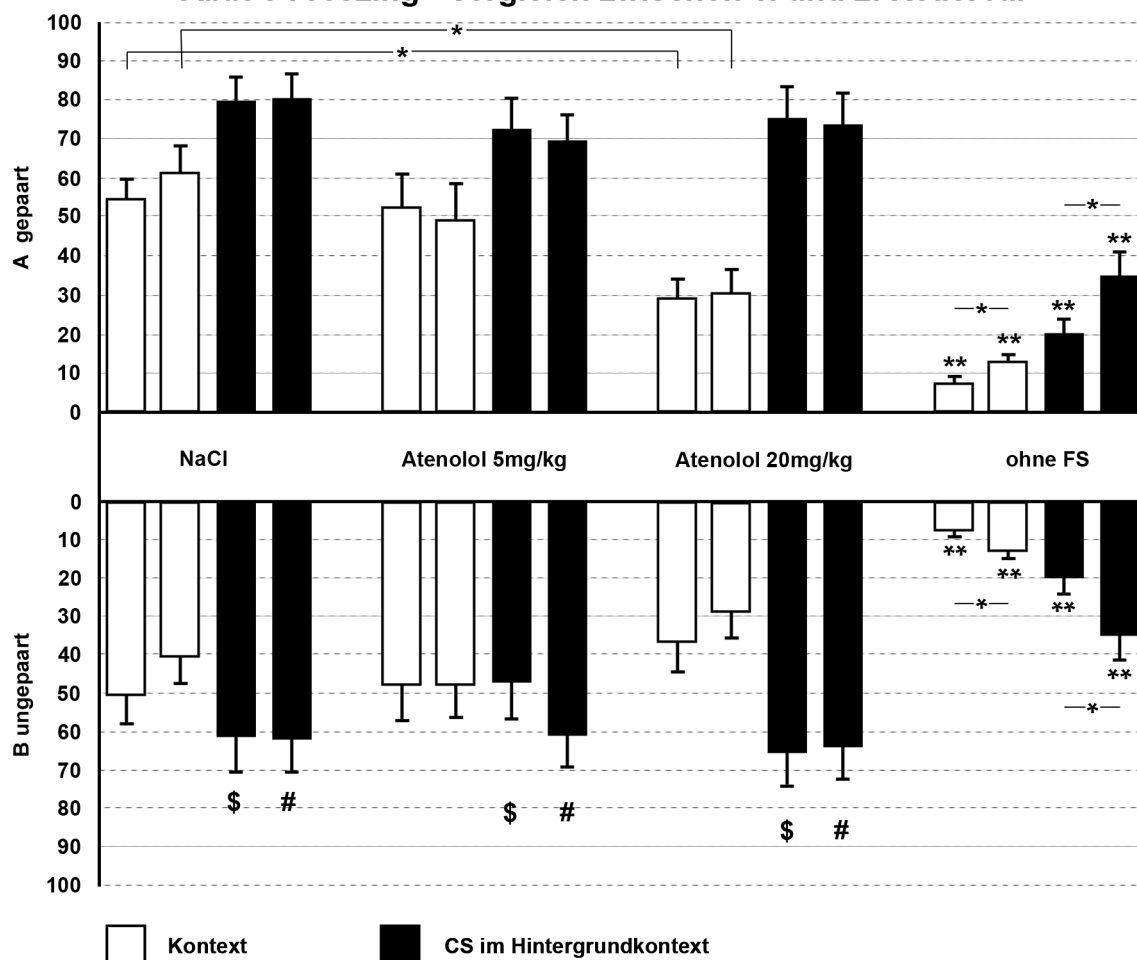
Im Vergleich zum 1. Retrieval kommt es nur bei der naiven Kontrollgruppe ohne Schockapplikation während der Trainingssession, im 2. Retrieval zu signifikant gesteigertem Freezingverhalten, sowohl bei Kontextexposition ($p<0.02$) als auch bei Präsentation des CS- im Kontext ($p<0.02$). Verbrachten die unkonditionierten Kontrolltiere während der

Kontextexposition im 1. Retrieval gerade einmal 7.5% der Untersuchungszeit mit Freezing, verdoppelt sich diese nahezu auf über 13% im 2. Retrieval (Abbildung 5, Seite 38).

3.2.2.2.2 Freezing während CS-Präsentation im Kontext

Es bestätigen sich die im 1. Retrieval gefundenen Ergebnisse mit unbeeinflusstem Verhalten der Tiere durch die Atenololapplikation in Exposition mit dem CS im Kontext 48 Stunden nach der Konditionierung (Abbildung 5B). Die Fußschockapplikation im Training besitzt einen signifikanten Effekt, der im post hoc-Vergleich einen hochsignifikanten Unterschied zwischen ungepaart/gepaart konditionierten vs. naiven Tieren ergibt ($F(2.32)=9.92$, $df=2$, $p<0.001$). Die deutliche Auswirkung der stattgehabten Konditionierung zeigt sich in einer nur halb so langen Freezingdauer der naiven Kontrollgruppe im Vergleich zu den übrigen Tieren. Dies belegt, dass die Furchtkonditionierung effizient war und sich auch im 2. Retrieval durch signifikante Verhaltensänderungen ausprägt. Die bifaktorielle ANOVA ergibt einen signifikanten Effekt der Konditionierungsart ($F(1.67)=4.24$, $df=1$, $p<0.05$), aber keine signifikanten Auswirkungen der Medikation ($F(2.67)=0.33$, $df=2$, $p>0.7$) oder Wechselwirkungen zwischen Konditionierungsart und Medikation ($F(2.67)=0.19$, $df=2$, $p>0.8$). Die CS-US-gepaart konditionierten Tiere reagieren in Exposition mit dem CS auch 48 Stunden nach der Konditionierung mit deutlich stärkerem Freezing als die ungepaart konditionierten Tiere. Es gibt hingegen kaum einen Unterschied zwischen den Gruppen unterschiedlicher Medikation. Im zeitlichen Verlauf ergeben sich keine Veränderung der Freezing-Zeiten, d.h. die Ergebnisse des 1. Gedächtnisabrufes werden mit nur geringen Prozentabweichungen im 2. Abruf reproduziert (Abbildung 5). Es besteht allerdings eine Ausnahme, und zwar lässt sich eine recht deutliche Steigerung des Freezing um 15% ($p<0.02$) in der naiven Kontrollgruppe aufzeigen. Dies bestätigt den schon während der Kontextexposition gefundenen Effekt, dass die wiederholte Exposition mit der Konditionierungsbox und dem Ton allein furchtinduzierend wirkt, auch dann, wenn gar kein Fußschock appliziert wurde. Die noch deutlichere Zunahme des Freezings im Vergleich zur Kontextexposition signalisiert die Summation der anxiogenen Wirkung des Tons.

Abb. 5 Freezing - Vergleich zwischen 1. und 2. Retrieval



Legende zu Abbildung 5A/B

Vergleich der Freezingzeiten im 1. und 2. Retrieval

Dargestellt ist der direkte Vergleich der Freezingdauer in % der Gesamtzeit als MW+SEM in Form weißer Balken für die Kontextpräsentation sowie in Form von schwarzen Balken für die CS-Präsentation im Kontext für das 1. Retrieval (linker Balken) und 2. Retrieval (rechter Balken). Die Teilabbildung A repräsentiert das Freezing der Tiere nach gepaarter Konditionierung und B stellt das Freezing der ungepaart konditionierten Tiere dar. Die Ergebnisse der unkontingierten Kontrollgruppe sind jeweils zum Vergleich am rechten Rand abgebildet (ohne FS). Die unifaktorielle ANOVA zum „protected t-test“ ergibt post hoc einen hochsignifikanten Unterschied zwischen ungepaart/gepaart konditionierten vs. naiven Tieren unter NaCl-Injektion ($F(2.32)=16.58$, $df=2$, $p<0.0001$).

Die bifaktorielle ANOVA zeigt auch im 2. Retrieval eine signifikante Beeinflussung des Freezing im Kontext durch die Medikation ($F(2.67)=5.07$, $df=2$, $p<0.01$) mit post hoc-Signifikanz bei einer Dosis von 20 mg/kg BW. Wiederum gibt es keine signifikanten Auswirkungen der Konditionierungsart ($F(1.67)=1.89$, $df=1$, $p>0.2$) bzw. Wechselwirkungen zwischen Konditionierungsart und Medikation ($F(2.67)=1.194$, $df=2$, $p>0.3$). Wie im 1. Retrieval ergibt sich ein signifikanter Effekt der Konditionierungsart jedoch während CS-Exposition im Hintergrundkontext ($F(1.67)=4.24$, $df=1$, $p<0.05$, #), auf welche die Medikation keine signifikanten Auswirkungen besitzt ($F(2.67)=0.33$, $df=2$, $p>0.7$). Es bestehen keine Wechselwirkungen zwischen Konditionierungsart und Medikation ($F(2.67)=0.19$, $df=2$, $p>0.8$).

Die Abbildung verdeutlicht, dass es kaum einen Unterschied zwischen den Freezingzeiten der konditionierten Tiere im 1. und 2. Retrieval gibt, weder bezogen auf die Kontextexposition, noch auf die Tonpräsentation im Kontext ($p>0.05$). Jedoch zeigt die naive Kontrollgruppe eine signifikante Zunahme der Freezingdauer vom 1. zum 2. Retrieval, welche sowohl während der reinen Kontextexposition ($p<0.02$), als auch während der CS-Präsentation im Kontext ($p<0.02$) zu finden ist. * $p<0.05$, ** $p<0.01$; § signifikante Effekte im 1. Retrieval

3.2.2.2.3 Sniffing während Kontextexposition

In Korrelation mit dem Freezing bestätigt das Schnüffelverhalten (keine Abb.) den signifikanten Effekt der Medikation ($F(2.67)=6.0319$, $df=2$, $p<0.01$) ohne signifikante Auswirkung der Konditionierungsart ($F(1.67)=1.4566$, $df=1$, $p>0.2$) bzw. Wechselwirkungen zwischen Konditionierungsart und Medikation ($F(2.67)=0.9664$, $df=2$, $p>0.3$). Im post hoc-Test ergibt sich eine signifikante Zunahme des Schnüffelverhaltens wiederum erst durch Atenolol in hoher Dosierung.

Es zeigt sich keine signifikante Veränderung im zeitlichen Verlauf, aber eine geringe Zunahme der Schnüffeldauer vom 1. zum 2. Retrieval bei der hochdosierten Atenolol-Gruppe nach ungepaarter Konditionierung ($p=0.119$). Mit einem Anstieg um etwa 10% nähern sich die Schnüffelzeiten der Kontrollgruppe an. Hingegen zeigt sich bei den gepaart konditionierten Tieren unter NaCl-Gabe eher eine Abnahme der Schnüffelzeiten ($p=0.161$). Die Stabilität der Ergebnisse untermauert den nachgewiesenen Atenoleffekt auf das Furchtverhalten gemessen an der Schnüffelzeit in Exposition mit dem Konditionierungskontext.

3.2.2.2.4 Sniffing während CS-Präsentation im Kontext

Bezüglich des „Sniffing“ während der CS-Präsentation im 2. Retrieval (keine Abb.) lässt sich kein signifikanter Effekt der Konditionierungsart mehr nachweisen ($F(1.67)=3.71$, $df=2$, $p=0.0588$). Auch die Medikation ($F(2.67)=0.97$, $df=2$, $p>0.3$) besitzt keine signifikanten Auswirkungen auf das Schnüffelverhalten und es bestehen keine Wechselwirkungen zwischen Konditionierungsart und Medikation ($F(2.67)=0.27$, $df=2$, $p>0.7$). Im Vergleich zum 1. Gedächtnisabruf zeigt sich in Übereinstimmung mit den zunehmenden Freezingzeiten eher eine Reduktion der Schnüffelzeit der naiven Kontrollgruppe um 11% ($p=0.166$). In negativer Korrelation zum Freezing schnüffeln die Tiere während der „cue“-Konfrontation im 2. Abruf insgesamt deutlich weniger als während der Kontextexposition.

3.2.2.2.5 Grooming während Kontextexposition

Auch im 2. Retrieval zeigt die naive Kontrollgruppe das ausgeprägteste Putzverhalten und damit korrelierend das geringste Furchtlevel in Exposition mit dem Kontext (keine Abb.). Die bifaktorielle ANOVA kann den im ersten Gedächtnisabruf gefundenen Atenolol-Effekt im zweiten Abruf hingegen nicht mehr belegen. Auch wenn tendenziell eine geringe Zunahme der Putzzeit durch die hochdosierte Atenololgabe auszumachen ist, zeigen sich jedoch weder signifikante Auswirkungen der Medikation ($F(2.67)=1.08$, $df=2$, $p>0.6$), noch der Konditionierungsart ($F(1.67)=0.27$, $df=1$, $p>0.6$) bzw. Wechselwirkungen zwischen Konditionierungsart und Medikation ($F(2.67)=0.98$, $df=2$, $p>0.3$).

3.2.2.2.6 Grooming während CS-Präsentation im Kontext

Das Putzverhalten bei CS-Präsentation in der Konditionierungsbox im 2. Retrieval wird nicht signifikant beeinflusst. Es zeigt sich lediglich eine geringe Tendenz zur Zunahme der Putzzeit bei den Tieren unter hochdosierter Atenololapplikation (keine Abb.). Die bifaktorielle ANOVA weist weder einen signifikanten Effekt der Konditionierungsart ($F(1.67)=0.27$, $df=1$, $p>0.6$), noch der Medikation ($F(2.67)=1.82$, $df=2$, $p>0.1$) bzw. Wechselwirkungen zwischen Konditionierungsart und Medikation ($F(2.67)=0.43$, $df=2$, $p>0.6$) auf das Putzverhalten in

Exposition mit dem CS im Kontext nach. Die Auswirkung der stattgehabten Konditionierung zeigt sich in einer deutlichen Differenz zwischen den Putzzeiten der naiven Kontrollgruppe, welche ein Vielfaches der Zeit mit Putzen verbringt, im Vergleich zu den konditionierten Tieren ($p < 0.001$). Im zeitlichen Verlauf vom 1. zum 2. Retrieval ergeben sich keine signifikanten Veränderungen der Putzzeit ($p > 0.05$). Die pharmakologische β -Blockade kann das „Grooming“ in Exposition mit dem CS demnach auch im 2. Retrieval nicht signifikant beeinflussen, im Gegensatz zum 1. Gedächtnisabruf gibt es aber auch keine signifikante Auswirkung der Konditionierungsart mehr.

Somit kann abschließend bezüglich des Putzverhaltens zur Beurteilung der Furchtausprägung nach Konditionierung festgehalten werden, dass sich sowohl die Medikation, als auch der Konditionierungsmodus signifikant auf diesen Verhaltensparameter auswirken, aber beide Effekte nicht stabil über die Zeit sind.

3.2.3 Verhaltensvergleich von Kontext- und CS-Exposition im Hintergrundkontext

3.2.3.1 Vergleich des Freezing im Kontext- vs. während CS-Exposition im Kontext

Die multi- und univariaten Tests, zur Ermittlung von Unterschieden zwischen dem Verhalten der Tiere im Kontext- und während CS-Exposition im Kontext, offenbaren einen signifikanten Effekt, wobei durch die CS-Präsentation in der Trainingsbox eine deutliche Zunahme des Freezings bewirkt wird ($F=7.11$, $df=1$, $p < 0.01$) (Abb. 2A/B, Seite 32). Dieser innersubjektive Unterschied zeigt sowohl eine Abhängigkeit von der Medikation ($F=27.19$, $df=2$, $p < 0.001$), als auch von der Konditionierungsart ($F=6.41$, $df=2$, $p < 0.01$), besteht jedoch unabhängig vom Retrieval ($F=1.61$, $df=1$, $p > 0.2$). Im post hoc-Test wird jedoch nur durch die stattgehabte Konditionierung Signifikanz erreicht ($p < 0.001$). Anhand der Abbildungen sind größere Unterschiede im Freezing zwischen reiner Kontextexposition und CS-Präsentation im Kontext nach gepaarter Konditionierung ersichtlich (Abb.2A). Die Ursache hierfür liegt nicht in großen Differenzen im Freezing während der Kontextexposition sondern im stärkeren Freezing der gepaart konditionierten Tiere während CS-Exposition in der Konditionierungsbox. Dies belegt, dass C57BL/6J-Mäuse auch bei assoziierter CS-US-Präsentation im gepaarten Konditionierungsmodus ausgeprägtes konfigurales Lernen kontextueller Stimuli besitzen. Dabei spricht man nach CS-US-gepaarter Konditionierung von Hintergrundkontextkonditionierung und nach CS-US-ungepaarter Konditionierung von vordergründiger Kontextkonditionierung. Die Ergebnisse der naiven Kontrollgruppe verdeutlichen, dass die Tonpräsentation in der Box an sich, auch ohne assoziierte Fußschockapplikation, deutlich anxiogener wirkt als die alleinige Kontextexposition. Die deutlichste Zunahme des Freezing von Kontextexposition zur „cue“-Präsentation ergibt sich in der hochdosierten Atenololgruppe, weil sich die pharmakologischen Effekte nur in der kontextuellen, jedoch nicht in der „simplen cue“-Konditionierung niederschlagen.

Demnach kommt es durch die medikamentöse Blockade autonomer Afferenzen scheinbar zur selektiven Beeinträchtigung des Lernens der komplexen kontextuellen Stimuli während Hintergrundkontextkonditionierung, bei unbeeinträchtigtem Lernvermögen der Assoziation von CS und US.

3.2.3.2 Vergleich des Sniffing im Kontext- vs. während CS-Exposition im Kontext

In den multi- und univariaten Tests ergibt sich ein signifikanter Unterschied im Schnüffelverhalten der Tiere zwischen Kontextexposition und CS-Präsentation im Kontext ($F=663,04$, $df=1$, $p<0.001$), welcher sich abhängig zeigt von der Medikation ($F=33,75$, $df=2$, $p<0.001$) sowie von der Konditionierungsart ($F=5,88$, $df=2$, $p<0.01$). Die Tiere schnüffeln während der Kontextexposition deutlich mehr als während der CS-Präsentation in der Trainingsbox. Die „Sniffing“-Differenz zwischen Kontext- und CS-Exposition ist unter hochdosierter Atenololgabe am größten, wiederum erklärbar durch den alleinigen Effekt der Medikation auf die kontextuelle Furcht. Die Beeinflussung durch den Konditionierungsmodus zeigt sich im deutlich geringeren Schnüffelverhalten der gepaart konditionierten Mäuse (siehe Abb.3A, Seite 34) in Exposition mit dem CS. Des Weiteren wird der Unterschied im Schnüffelverhalten zwischen reiner Kontextexposition und CS-Präsentation im Kontext bezogen auf die Abhängigkeit von der Konditionierungsart auch durch das Retrieval beeinflusst ($F=3,62$, $df=2$, $p<0.05$).

3.2.3.3 Vergleich des Grooming im Kontext- vs. während CS-Exposition im Kontext

Die multi- und univariaten Tests offenbaren im Vergleich von reiner Kontextexposition und CS-Präsentation im Kontext signifikante Unterschiede im Putzverhalten der Tiere (Abb. 4A/B, Seite 35) ($F=24,74$, $df=1$, $p<0.001$). Die Effekte sind unabhängig von der Medikation ($F=0,64$, $df=2$, $p>0,5$), der Konditionierungsart ($F=0,54$, $df=2$, $p>0,5$) und der Art des Retrievals ($F=2,54$, $df=1$, $p>0,1$). Die Tiere zeigen mehr Putzverhalten im Kontext und eine deutliche Abnahme während CS-Exposition.

3.3 Defäkation

Zur Auswertung der Defäkation (Abb.6A/B, Seite 43) wurde eine bifaktorielle ANOVA durchgeführt und anschließend in post hoc-Tests eine signifikante Auswirkung der Medikation erruiert. Es erfolgt die gemeinsame Auswertung von Training, 1. und 2. Retrieval. Der nichtparametrische Friedmann-Test kam zur Anwendung, um die abhängigen Daten der selben Tiere an drei unterschiedlichen Messzeitpunkten (FC, 1. und 2. Retrieval) zu prüfen.

3.3.1 Defäkation während der Konditionierung

Durch die Erfassung der Defäkation während der Konditionierung ergibt sich die Möglichkeit einer direkten Beurteilung der Beeinflussung des Vegetativums durch das Medikament. Im Gegensatz zu den konditionierten Gruppen unter NaCl-Gabe, welche die höchsten Defäkationsraten verzeichnen lassen, führt die Atenololapplikation dosisabhängig zu einer tendenziellen Reduktion der Defäkation ($F=2,65$, $df=2$, $p=0,079$). Die Konditionierungsart hingegen hat keine Auswirkung auf die Defäkationsrate während des Trainings ($F=1,62$, $df=1$, $p>0,2$).

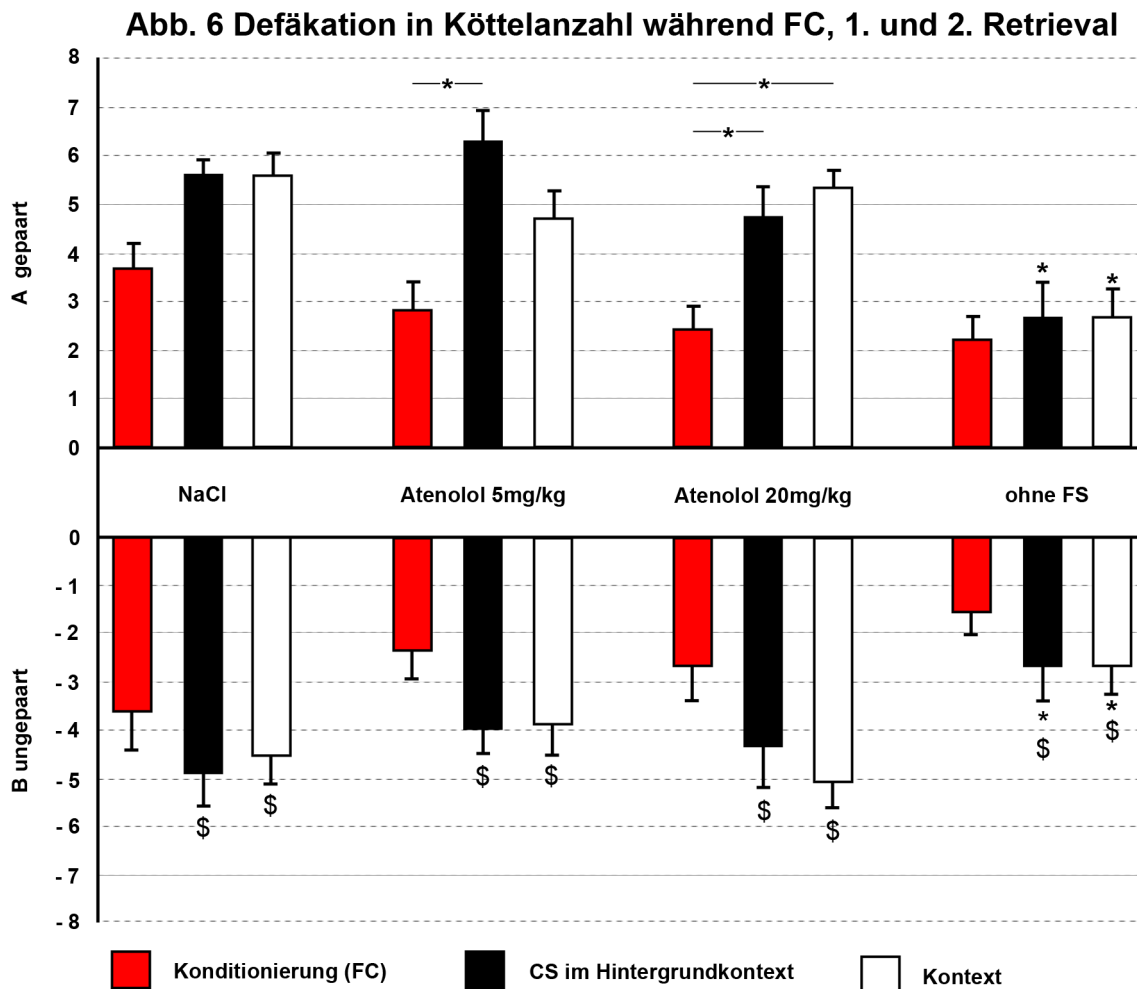
3.3.2 Defäkation im Retrieval

Im 1. Retrieval kann durch die Atenololgabe während der Konditionierung keine tendenzielle Reduktion der Defäkation mehr nachgewiesen werden ($F=0.78$, $df=2$, $p=0.462$). Eine signifikante Auswirkung zeigt sich jedoch durch die stattgehabte Konditionierung und die Konditionierungsart (Abb.6A/B). Die Defäkationsraten der gepaart und ungepaart konditionierten Tiere unterscheiden sich signifikant von den Ergebnissen der naiven, unkonditionierten Kontrolle ($F=8.12$, $df=2$, $p<0.01$). Im Vergleich der Konditionierungsmodi ergeben sich signifikant höhere Defäkationsraten nach gepaarter Konditionierung ($F=5.22$, $df=1$, $p<0.05$). Es zeigen sich bei keiner Gruppe Unterschiede zwischen den Ergebnissen des 1. und 2. Gedächtnisabrufs ($p>0.05$). Da die Reduktion der Defäkation unter hochdosierter Atenololgabe im Retrieval nicht mehr nachweisbar ist, sprechen die Ergebnisse für einen direkten Medikamenteneffekt auf den vegetativ beeinflussten Parameter Defäkation während der Applikation, welcher daher in seiner Wirkungsdauer auf die Konditionierung beschränkt bleibt.

3.3.3 Defäkation während der Konditionierung und im Retrieval

Im Vergleich der Defäkation während der Konditionierung und im Gedächtnisabruf ergibt sich eine Steigerung der Defäkation nach der FC in allen Gruppen, wobei die geringsten Defäkationsraten und Unterschiede im zeitlichen Verlauf in der Kontrollgruppe zu finden sind (Abb.6A/B). Zur genaueren Ermittlung signifikanter Unterschiede wurde der Friedmann-Test durchgeführt. Die selektive Betrachtung der Veränderung der Defäkationsraten der hochdosierten Atenololgruppen zeigt eine signifikante Zunahme der Defäkation nach der Konditionierung. Im Vergleich zu den Raten unter FC, während der durch die medikamentöse Sympathikusblockade eine tendenzielle Reduktion der Defäkation zu verzeichnen war, kommt es nach gepaarter Konditionierung unter 20 mg/kg BW Atenolol im 1. Retrieval und 2. Retrieval zu einer deutlichen Zunahme der Defäkation ($p<0.01$). Dies lässt sich durch die fehlende Dämpfung des Medikaments, also einen nicht mehr vorhandenen direkten Atenololeffekt erklären. Im ungepaarten Konditionierungsmodus wird hingegen kein signifikanter Einfluss deutlich ($p>0.05$) und auch zwischen den beiden Zeitpunkten des Gedächtnisabrufs gibt es keine signifikanten Veränderungen ($p>0.05$).

Die geringen Schwankungen der unkonditionierten Kontrolle im zeitlichen Verlauf sind nicht signifikant ($p>0.05$). Auch die NaCl-Gruppen nach gepaarter und ungepaarter Konditionierung ($p>0.05$) sowie die 5 mg/kg BW Atenolol-Gruppe im ungepaarten Konditionierungsmodus zeigen keine signifikanten Effekte der stattgehabten Konditionierung auf den Defäkationsparameter im Retrieval ($p>0.05$), lediglich die gepaart konditionierten Tiere unter 5 mg/kg BW Atenolol lassen eine signifikante Zunahme von der FC zum 1. Gedächtnisabruf erkennen ($p<0.02$).



Legende zu Abbildung 6A/B

Defäkationsverhalten während FC, 1. und 2. Retrieval

Während des Trainings zeigt sich durch die Atenololapplikation eine dosisabhängig tendenzielle Reduktion der Defäkationsrate der Tiere ($F=2.65$, $df=2$, $p=0.079$). Durch die Konditionierungsart hingegen kann kein Einfluss auf die Defäkation während der Konditionierung gezeigt werden ($F=1.62$, $df=1$, $p>0.2$).

Im 1. Gedächtnisabruf ist kein Effekt der Medikation mehr nachzuweisen ($F=0.78$, $df=2$, $p=0.462$), jedoch manifestiert sich die stattgehabte Konditionierung deutlich in den Ergebnissen. Die naiven Kontrolltiere zeigen signifikant geringere Defäkationsraten als die konditionierten Tiere ($F=8.12$, $df=2$, $p<0.01$). Und auch der Konditionierungsmodus wirkt sich mit deutlich höheren Defäkationsraten nach gepaarter als nach ungepaarter Konditionierung aus ($F=5.22$, $df=1$, $p<0.05$, \$).

Die Ergebnisse des 1. Gedächtnisabrufs werden im 2. Gedächtnisabruf mit nur geringgradigen Schwankungen verifiziert und es ergeben sich keine Unterschiede zwischen den Retrievals ($p>0.05$).

Der Vergleich der Defäkation während der Konditionierung und im Gedächtnisabruf innerhalb der einzelnen Gruppen lässt eine Defäkationzunahme bei allen Tieren finden, welche am geringsten in der naiven, unkonditionierten Kontrolle ausfällt und dort nicht signifikant ist ($p>0.05$).

Signifikante Veränderungen im zeitlichen Verlauf wurden mittels Friedmann-Test ermittelt und ergeben sich in Form einer deutlichen Zunahme der Defäkation nach gepaarter Konditionierung unter 20 mg/kg BW Atenolol ($p<0.01$), im ungepaarten Konditionierungsmodus wird hingegen kein signifikanter Einfluss deutlich ($p>0.05$) und auch zwischen den beiden Zeitpunkten des Gedächtnisabrufs gibt es keine signifikanten Veränderungen ($p>0.05$).

Auch die gepaart konditionierten Tiere unter 5 mg/kg BW Atenolol lassen eine signifikante Zunahme von der FC zum 1. Gedächtnisabruf erkennen ($p<0.02$). Die NaCl-Gruppen nach gepaarter und ungepaarter Konditionierung ($p>0.05$) sowie die 5 mg/kg BW Atenolol-Gruppe im ungepaarten Konditionierungsmodus zeigen hingegen keinen signifikanten Einfluss der stattgehabten Konditionierung auf den Defäkationsparameter im Retrieval ($p>0.05$). * $p<0.05$, ** $p<0.01$

4. Diskussion

4.1 Diskussionseinleitung

Die vorliegende Arbeit dient der experimentellen Untersuchung des Einflusses vegetativer Erregung auf das assoziative Lernen emotionaler Stimuli. Diskutiert werden die Aktivierung vegetativ-aszendierender Bahnen mit Verbindungen ins limbische System. Die Experimente stehen im Kontext der Erforschung viszerosensorischer Informationen sowie deren Funktion als Integrator adaptiven Verhaltens und physiologischer Reaktionen in stress- und furchtassoziierten Situationen (Myers and Rinaman 2005). Untersucht wird Furcht, als Emotion welche eng an körperliche Reaktionen und die Erregung des vegetativen Nervensystems gekoppelt ist. In einer bedrohlichen Situation beginnt das Herz quasi automatisch schneller zu schlagen, die Atemfrequenz steigt und der Schweiß tritt auf die Stirn. Hinter diesen Reaktionen steht eine Aktivierung des sympathoadrenergen Nervensystems mit massiver Katecholaminfreisetzung. Bräutigam, Christian und von Rad (1997) schreiben: „Wenn es eine unmittelbare psychosomatische und somatopsychische Wechselwirkung gibt, so ist es die Verbindung von Herz und Angst.“ Die Angst lässt das Herz bis zum Hals schlagen, durch die begleitende Adrenalinausschüttung beschleunigt sich der Puls, der Herzmuskel kontrahiert kräftiger und die Wahrnehmung dieser körperlichen Reaktionen verstärkt wiederum das Angstgefühl.

Da autonome Afferenzen v.a. von vagalen Endigungen, z.B. am Herz-Kreislauf-System, ihren Ursprung nehmen und dort durch β_1 -Rezeptoren aktivierbar sind (Berntson et al. 2003), ergibt sich durch die pharmakologische Blockade mittels Atenolol die Möglichkeit der Modifikation dieser Vorgänge.

Die Beeinflussung zentralnervöser Prozesse durch periphere Katecholamine ist jedoch nicht über einen direkten Weg zu erklären, da weder Adrenalin noch Noradrenalin bei intakter Blut-Hirn-Schranke in der Lage sind, diese zu penetrieren (Berntson et al. 2003, Weil-Malharbe et al. 1959). Auch die Beeinflussung der konditionierten Furchtreaktion durch die viszerale Reaktion (Berntson et al. 2003) besitzt daher vermutlich eine periphere Initiierung. Das heißt, die adrenalininduzierte periphere viszerale Reaktion muss über bestimmte Bahnen als Information eines körperlichen Arousal an Hirnareale weitergeleitet werden, um zur Wahrnehmung zu gelangen und eine Beeinflussung von Verhaltens- und Gedächtnisbildung zu bewirken (Williams et al. 2000). Die Tatsache, dass der stimulierende Effekt von Emotionen auf die Gedächtnisbildung durch systemische Applikation von peripher wirksamen β -Blockern supprimiert werden kann, verweist ebenfalls auf einen peripheren Angriffspunkt im Sinne modulierender autonomer Afferenzen (Cahill and McGaugh 1998, Berntson et al. 2003). Die vegetativen Informationen werden dazu wahrscheinlich via Rückenmark und Nucleus tractus solitarius (NTS) in den Hirnstamm weitergeleitet, wo sie unter Einschaltung weiterer Hirnstammareale (Locus coeruleus, Nucleus paragigantocellularis) sowie durch deren Projektionen Einfluss auf zentral vermittelte Prozesse gewinnen (Cahill and McGaugh 1998, Berntson et al. 2003). Ein Ziel dieser aszendierenden modulatorischen Einflüsse ist auch die Amygdala, das „Zentrum der Angst“ (McGaugh et al. 1996).

4.2 Zusammenfassung der Ergebnisse

Im ersten Experiment untersuchten wir die Wirkung von Atenolol auf das Verhalten frei beweglicher, unkonditionierter Mäuse. Der psychologische Stress durch die neue Umgebung der Motility-Box geht mit einer Sympathikusaktivierung einher und induziert Veränderungen vegetativer Parameter. Unsere Ergebnisse belegen eine dosisabhängige Wirkung von Atenolol auf den vegetativ beeinflussten Parameter Defäkation. Andere Studien konnten eine Dämpfung der stressvermittelten Tachykardie durch den β -Blocker Atenolol in Abhängigkeit von der Höhe des Sympathikotonus nachweisen (Just et al. 2000, Van den Buuse et al. 2001). Im Gegensatz zu Stone et al. (1995), der jedoch Atenolol an einem anderen Mäusestamm nach subkutaner Applikation untersuchte, erzielten wir eine dosisabhängige Reduktion der lokomotorischen Aktivität durch die periphere β_1 -Blockade. Demnach ist eine Freezingreduktion durch Atenolol im zweiten Experiment nicht durch lokomotionssteigernde Wirkungen des Medikaments zu erklären. Selbst in der von uns verwendeten unphysiologisch hohen Dosis ergab sich kein direkter anxiolytischer Effekt durch Atenolol, gemessen an Aufrichtungen und Aufenthalt im Zentrum, bei naiven Tieren in der Motility-Box. Die durch β -Blockade veränderte vegetative Reaktion bewirkt demnach eine Modulation des lokomotorischen Verhaltens in neuer Umgebung ohne direkt anxiolytische Einflüsse zu besitzen.

Die Ergebnisse des zweiten Experiments belegen eine dosisabhängige Reduktion der kontextuellen Furcht nach Konditionierung unter Atenolol. Im post hoc-Vergleich ergibt sich nur nach gepaarter Konditionierung ein signifikanter Effekt, was auf unterschiedliche Kontextverarbeitung von gepaart und ungepaart konditionierten Tieren verweist, wie von Phillips und LeDoux (1994) bei Ratten berichtet. Die gepaarte Präsentation von CS und US während des Trainings ist mit einer Hintergrundkontextkonditionierung verbunden, während durch die geringere Assoziationsstärke von CS und US bei ungepaarter Konditionierung ein vordergründigeres Kontextlernen erfolgt (Calandreau et al. 2005, Stiedl et al. 2000).

Zur direkten Erfassung der Effekte von Atenolol auf Vegetativparameter bestimmten wir die Defäkationsrate. Die tendenziell geringere Defäkation der Tiere unter Atenolol während der Konditionierung, lässt sich im Sinne einer direkten Beeinflussung des vegetativen Nervensystems deuten. Die deutliche Zunahme der Defäkation in den Atenololgruppen im nachfolgenden Gedächtnisabruf ist dementsprechend durch die fehlende direkte Wirkung des Medikaments auf das Vegetativum während des Retrievals zu erklären. Der Einfluss der Sympathikusblockade während Konditionierung manifestiert sich in einem signifikant geringeren Freezing und gesteigerten Schnüffel- und Putzverhalten 24h bzw. 48h später in Exposition mit der Konditionierungsbox. Wir konnten wie schon Radulovic et al. (1998) nachweisen, dass C57BL/6J-Mäuse trotz gepaarter Präsentation von CS und US während der FC ausgeprägtes konfigurales Lernen kontextueller Stimuli zeigen, da auch die gepaart konditionierten Tiere während der Kontextexposition ausgeprägt „freezen“. Unsere Ergebnisse zeigen, dass die Startle-Box für die Erfassung von Freezing nach FC bei Mäusen geeignet ist, da signifikante Auswirkungen der Fußschockapplikation während des Trainings auf das Freezingverhalten der Tiere im Gedächtnisabruf bestehen. Dies erweitert die Möglichkeiten der Verhaltensbeurteilung in der Startle-Apparatur durch die kombinierte Erfassung von Freezingverhalten und Startlereaktion.

Die Untersuchung der Verhaltensparameter der naiven Kontrolle verdeutlicht, dass die wiederholte Exposition mit dem Ton in der Konditionierungsbox das Furchtlevel erhöht, auch wenn kein Fußschock appliziert wurde. Durch die erneute Exposition mit der Box kommt es nicht zu einer Habituation, sondern das Furchtlevel steigt weiter an. Dabei muss berücksichtigt werden, dass die FC ohne Präadaptation vorgenommen wurde. Insgesamt lassen die Ergebnisse auf starke furchtinduzierende Stimuli der Trainingsbox als Kontext schließen.

Die „cue“- mit Hintergrundkontextkonditionierung konnte durch die pharmakologische β -Blockade nicht signifikant beeinflusst werden. Hierauf wirkt sich jedoch die Konditionierungsart deutlich aus, die keinen signifikanten Effekt auf die Verhaltensreaktionen im reinen Kontext erzielte. Nach gepaarter Konditionierung zeigen die Mäuse ein signifikant höheres Furchtlevel als nach ungepaarter Konditionierung, welches sich in deutlich längerem Freezing und kürzeren Schnüffel- und Putzphasen während der CS-Präsentation in der Trainingsbox äußert.

Da wir durch die medikamentöse Blockade peripher-vegetativer Sympathikusaktivität einen Einfluss auf Prozesse der kontextuellen Konditionierung zeigen konnten, könnten die Verhaltensänderungen Resultat der Modulation aufsteigender autonomer Afferenzen sein. Eine mögliche Erklärung der stärkeren Beeinflussbarkeit des konfiguralen Lernens der kontextuellen Stimuli durch die periphere β -Blockade ergibt sich durch eine höhere Komplexität der Prozessierung und Verarbeitung multimodaler Kontextreize, im Gegensatz zur „cue“-Konditionierung auf den unimodalen Tonstimulus und damit durch die differente neuronale Realisierung. Da ein deutlicherer Einfluss auf die hintergründige Kontextangst in gepaart konditionierten C57BL/6J-Mäusen besteht, gibt es offensichtlich auch Unterschiede in der viszeralen Beeinflussbarkeit vordergründiger und hintergründiger Kontextkonditionierung.

4.3 Diskussion der Methodik

Zur Untersuchung der Bedeutung der peripheren vegetativen Erregung für emotionale Lernvorgänge, nutzten wir deren pharmakologische Beeinflussbarkeit. Ein Effekt auf die Gedächtnisbildung während emotional erregender Ereignisse ließ sich für die Stimulation und Blockade zentraler sowie peripherer β -Rezeptoren zeigen (Introini-Collison et al. 1992). Wir verwendeten den ausschließlich peripher wirksamen β_1 -Blocker Atenolol (Hara and Ogawa 1986, Davy et al. 1986). Das Medikament entfaltet seine Wirkung in Abhängigkeit vom Sympathikotonus, weshalb stammübergreifende, altersunabhängige dosiskorrelierte Wirkungen für Mäuse nicht verfügbar sind. Daher untersuchten wir zunächst die Wirkung von Atenolol auf frei bewegliche, naive C57BL/6J-Mäuse in unterschiedlicher Dosierung. Das Medikament gilt als am wenigsten Blut-Hirn-Schranken-gängig (Davy et al. 1986, Hara and Ogawa 1986) und es wird ein energieabhängiger Transportprozess ins ZNS postuliert, da das Konzentrationsverhältnis von Atenolol in der Zerebrospinalflüssigkeit zu der im Plasma nach i.p.-Applikation bei geringen Dosen höher ist, als nach Applikation hoher Dosen (Gengo et al. 1989). Demnach ist auch bei zunehmender peripherer Dosis ab einer bestimmten Applikationsmenge keine zentrale Konzentrationszunahme (aufgrund voll besetzter Transporter) mehr zu erwarten und der zentral gängige Anteil bleibt damit auch bei hohen peripheren Dosen sehr gering. Dies ermöglicht es uns, hohe Dosen ohne bedeutende zentrale

Wirkungen zu verabreichen, um eine starke Antagonisierung an peripheren β_1 -Rezeptoren zu erreichen. Eingesetzt wurde Atenolol in unphysiologisch hoher Dosis, da eine möglichst umfassende Blockade viszeraler Afferenzen und nicht deren bloße Modulation erreicht werden sollte. Durch die Applikation vor der Furchtkonditionierung lassen die Ergebnisse keine selektiven Aussagen zur Beeinflussung der Encodierung und/oder Konsolidierung der Furcht zu.

Die Auswirkungen der peripheren Sympathikusblockade und die Effekte der Unterbrechung der Viszeroafferenzen, die von peripheren β -Rezeptoren ausgehen, wurden in der Motility-Box, einem Open Field-Modell sowie in einem etablierten Verfahren der Furchtinduktion, der auditorischen und kontextuellen Furchtkonditionierung untersucht.

In der Motility-Box erfolgte die Untersuchung der Atenololwirkung auf das Verhalten naiver Tiere in neuer Umgebung. Dabei wurden der Aufenthalt im Zentrum der Box und die Anzahl der Aufrichtungen als Angstparameter (Smith et al. 2006, Roy et al. 2006) im Gegensatz zur allgemeinen lokomotorischen Aktivität erfasst. Da die Lokomotion in neuer Umgebung sowohl durch Angst und Stress, als auch durch Neugier und Explorationstendenzen beeinflusst wird (Erhardt et al. 2006, Kliethermes and Crabbe 2006, Strekalova et al. 2004), ist eine selektive Deutung der Beeinflussung dieses Parameters nicht möglich.

Die Furchtkonditionierung erfolgte mit gepaarter bzw. ungepaarter Präsentation von CS und US in einer Startle-Box. Die Konditionierung in einer Startle-Apparatur ist eher unüblich. Deshalb und zur besseren Interpretation der Ergebnisse wurde eine Kontrollgruppe mitgeführt. Die Tiere dieser Gruppe erhielten das gleiche Handling und ebenfalls eine Injektion (0,9% NaCl) und Tonapplikation, aber keinen Fußschock während der Konditionierung. Im gepaarten Konditionierungsmodus erfolgte die systematisch gepaarte Präsentation von Ton (CS+) und Fußschock (US), wodurch es zu einer Assoziation beider Stimuli kommt (Davis and Gould 2007, Trifilieff et al. 2006). Während des Trainings im gepaarten Modus erlernen C57BL/6J-Mäuse neben dem Ton jedoch auch den Kontext im Sinne einer Hintergrundkontextkonditionierung, mit der Fußschockpräsentation zu assoziieren (Nijholt et al. 2007, Siegmund and Wotjak 2006, Stiedl et al. 2000, Calandreau et al. 2005). Bei der ungepaarten Konditionierung erfolgte eine pseudorandomisierte unabhängige Präsentation von Ton und Fußschock, daher überwiegt die Assoziation des Fußschocks mit dem Kontext, welches als vordergründige Kontextkonditionierung bezeichnet wird (Trifilieff et al. 2006, Stiedl et al. 2000, Calandreau et al. 2005). Die Kontextkonditionierung als Erlernen der Gesamtheit der kontextuellen Stimuli ist neben der Amygdala auch vom Hippocampus abhängig (Marsch et al. 2007, Saxa et al. 2006, Cravens et al. 2006, Ito et al. 2006, Otto and Poon 2006). Nach der Konditionierung assoziieren die Tiere demnach den Ton (CS) und/oder die kontextuellen Stimuli mit dem Fußschock (US) und nehmen im 24h später stattfindenden Gedächtnisabruf in Exposition mit dem Kontext bzw. Ton eine Erwartungshaltung bezüglich des folgenden Fußschocks ein. Die Erwartung des US in Exposition mit dem CS bzw. Kontext basiert auf assoziativem Lernen und induziert Furcht in Mäusen, welche zu Verhaltensänderungen führt. Klassische Furchtkonditionierung dient demnach der Erforschung emotionaler Lernvorgänge.

Unser Versuchsaufbau fokussierte auf die Untersuchung der Kontextkonditionierung, daher nahmen wir zur Induktion ausgeprägter Kontextfurcht keine Präadaptation mit der Konditionierungsbox vor, führten den Gedächtnisabruf in der Trainingsbox durch und

wählten den Mäusestamm C57BL/6J-OlaHsd, der auch nach gepaarter Konditionierung ausgeprägtes Kontextlernen zeigt (Radulovic et al. 1998, Stiedl et al. 2000, Calandreau et al. 2005). Die Ergebnisse verweisen auf eine starke Anxiogenität der Startle-Apparatur und etablieren sie neben der Erfassung von Schreckreaktionen auch zur Messung von Freezing nach Furchtkonditionierung bei Mäusen. Da wir das Verhalten der Tiere im Retrieval in der Trainingsbox untersuchten, lassen unsere Ergebnisse keine isolierte Betrachtung der Beeinflussung der „cue“-Konditionierung zu, sondern beinhalten stets eine Kontextkomponente. Das experimentelle Design ermöglicht die Untersuchung der viszeralen Beeinflussbarkeit von vordergründiger und hintergründiger Kontextkonditionierung.

Da Atenolol und somit eine gedämpfte peripher-viszerale Aktivierung nur während der Konditionierung, nicht jedoch vor dem Retrieval gegeben wurde, ist eine Beeinflussung des Verhaltens durch einen „state-setting“-Mechanismus möglich. „State-setting“-Effekte auf den Gedächtnisabruf sind jedoch auch für Placebo beschrieben (Mystkowski et al. 2003), daher sollte ein solcher ebenfalls bei NaCl-behandelten Tieren allein durch die Applikation einer Substanz bestehen. Das heißt, allein die Tatsache, dass eine Injektion vor der Konditionierung erfolgte und vor dem Gedächtnisabruf nicht, kann bei allen Tieren, selbst bei der unkonditionierten Kontrolle über einen „state-setting“-Effekt Einfluss auf die Erinnerung nehmen. Der dennoch bestehende Effekt der Medikation auf die Hintergrundkontextkonditionierung lässt sich daher nur durch einen unterschiedlichen körperlichen Erregungszustand während Konditionierung und Gedächtnisabruf der mit Atenolol behandelten Tiere erklären. Durch die Wahrnehmung einer geringen vegetativen Erregung während der Konditionierung sowie deren gemeinsamer Speicherung mit Kontextreizen ließe sich ein schlechterer Gedächtnisabruf der Tiere im Kontext erklären. Da der Gedächtnisabruf im selben Kontext unter veränderten Vegetativparametern beeinträchtigt sein könnte, wenn Kontextreize in Verbindung mit dem peripheren Arousal abgespeichert wurden.

Als wesentlicher Parameter zur Erfassung der Furcht im Retrieval, in Reaktion auf den CS und den Kontext, wurde das Freezing bestimmt (Sigmund and Wotjak 2006, Goddyn et al. 2006, Marsch et al. 2007, Davis and Gould 2007, Trifilieff et al. 2006). In negativer Korrelation dazu steht das Schnüffeln als Explorationsmarker (Kim et al. 2005, Espejo 1997). Gesteigertes Putzverhalten kann einerseits als konflikt- und frustrationsassoziiert gewertet werden, andererseits ergibt sich durch starke Erregung in Exposition mit den anxiogenen Stimuli eine prozentuale Reduktion der Putzzeit bei zunehmender Freezingdauer (Erhardt et al. 2006).

Als Versuchsobjekt diente der Mäuseinzuchtstamm C57BL/6J-OlaHsd, welcher sich durch hohe Trait-Angst, ausgeprägte stimuliinduzierte Tachykardie sowie gutes konfigurales Lernen kontextueller Stimuli nach gepaarter wie ungepaarter Konditionierung auszeichnet (Radulovic et al. 1998, Stiedl et al. 2000, Calandreau et al. 2007). Die Prädominanz des Sympathikotonus auf die Herzfrequenzkontrolle in dem verwendeten Mäusestamm ist ideal, um die Auswirkung von Beta-Blockern auf den Konditionierungsprozess zu untersuchen und durch seine ausgeprägte kontextuelle Furchtreaktion eignete er sich bestens für unsere Versuche.

4.4 Peripheres und zentrales noradrenerges Nervensystem, Gedächtnisbildung und Furcht

Studien konnten zeigen, dass die Assoziation von CS und US durch eine initiale Orientierungsreaktion unterstützt wird (Maltzman 1990), was die Rolle des Aufmerksamkeitsfaktors für die Gestaltung von Konditionierungsprozessen unterstreicht.

Eine essentielle Rolle in der Regulation von Aufmerksamkeitsprozessen während emotionalen Lernens scheint dem Locus coeruleus (LC) und dem zentralen Kern der Amygdala zuzukommen zwischen denen neuronale Verbindungen bestehen (Bouret et al. 2003, Aston-Jones et al. 1991 a;b). Durch die Wahrnehmung einer Beziehung zwischen präsentierten Stimuli mit Neuheitswert erfahren beide Hirnareale eine deutliche Aktivierung und führen über Noradrenalinfreisetzung mit dem Effekt der Aufmerksamkeitssteigerung zur Beeinflussung der Reizverarbeitung (Bouret et al. 2003). Getriggert durch die Aktivierung des Locus coeruleus kommt es neben einer β -adrenergen Aktivitätszunahme in der basolateralen Amygdala auch zu einer Hippocampusaktivierung (Straube et al. 2003, Sara et al. 1994, Fallon et al. 1978). Somit wird über zentral-noradrenerge Stimulation, gespeist aus aufsteigenden Bahnen des Locus coeruleus (LC), eine Fokussierung und Steigerung der Aufmerksamkeit erreicht (Aston-Jones et al. 1999, Usher et al. 1999). Ziel noradrenerger Bahnen sind dabei v.a. limbische Areale, wie Amygdala, Hippocampus, Septum und BNST, aber auch Thalamus, Hypothalamus, PAG und der gesamte Neocortex werden aktiviert.

Viele Studien verweisen auf eine bedeutende Rolle noradrenerger Neurotransmission für die Aquisition und Konsolidierung emotionaler Erinnerungen bei Mensch und Tier (Izquierdo and Medina 1995, Ferry et al. 1999, Cahill et al. 1994;2000, Nielson and Jensen 1994). In der Maus konnte durch die Post-Training-Gabe von Amphetaminen in einem aversiven Lernparadigma eine Verbesserung der Gedächtnisbildung gezeigt werden, welche auf die periphere Freisetzung von Katecholaminen zurückgeführt wurde (Roozendaal et al. 1996). Noradrenalin ist ein bedeutender Transmitter zentral autonomer Regulation (Zhang and Mifflin 2007) und als solcher involviert in die zentrale Vermittlung der Chemo- und Barozeption sowie kardiopulmonaler und anderer viszeraler Aktivierung (Perez et al. 1998, Hayward 2001, Sakai et al. 2005, Kumada et al. 1990, Dampney 1994). Durch Vagusstimulation konnte eine Aktivierung von Hippocampusneuronen mit gesteigerter Gedächtnisbildung bewirkt werden und durch die elektrische Stimulation des Hippocampus ließen sich an wachen Probanden vagale Körpersensationen, wie ein unangenehmes Bauchgefühl auslösen (Castle et al. 2005). Diese Ergebnisse lassen einen Eingang viszeraler afferenter Informationen in den Hippocampus vermuten, welcher laut Castle et al. (2005) über den Nucleus tractus solitarius und Locus coeruleus vermittelt werden könnte.

Die Verbindung zwischen peripherem und zentralem adrenerg-noradrenergen System verkörpert demnach der Nucleus tractus solitarius (NTS), ein noradrenerges Kerngebiet im Hirnstamm. Er empfängt Viszeroafferenzen über den Vagusnerv und ist involviert in die Regulation von Blutdruck, Herzfrequenz und Sympathikotonus (Sakai et al. 2005). Er erhält primäre Informationen aus dem kardiovaskulären, respiratorischen und gastrointestinalen System und projiziert, u.a. via LC, in die Amygdala und den Hippocampus, wo über die Modulation deren noradrenerger Transmission die Stärke der Erinnerung beeinflusst werden kann (Cahill and McGaugh 1996, McGaugh et al. 1988, McGaugh and Roozendaal 2002). Die

Noradrenalinfreisetzung in der Amygdala spielt wahrscheinlich eine bedeutende Rolle bei der Entstehung des zentralen emotionalen Arousal und bewirkt durch Projektionen in den dorsalen Hippocampus eine Stimulation der Gedächtnisbildung (McGaugh et al. 1996, McGaugh and Roozendaal 2002, Liang et al. 1990, Roozendaal et al. 1996). β 1-adrenerge Rezeptoraktivierung im Hippocampus scheint bedeutend für die Festigung des Kontextgedächtnisses zu sein (Zhang et al. 2005, Murchison et al. 2004), wobei die Noradrenalinfreisetzung in der Amygdala zur Gedächtnisstimulation sowohl auf den Kontext, als auch auf den „cue“ führt (McGaugh et al. 1996, Tanaka et al. 2000, Cahill and McGaugh 1996).

Daher wird angenommen, dass während emotional erregender Ereignisse freigesetzte adrenerge Stresshormone die Erinnerung über ein zentrales β -Rezeptor-vermitteltes noradrenerges Arousal in der BLA und deren Projektionen in andere Hirnareale, wie den Hippocampus, Perirhinalen Kortex und die Insel stimulieren (McGaugh et al. 2000, McGaugh 2002, Kim et al. 2001, Frey et al. 2001, Cahill and McGaugh 1996). Die BLA scheint demnach eine Schlüsselfunktion für das Gating von emotional signifikanten Gedächtnisinhalten zu spielen (Korz and Frey 2005, Ferry et al. 1999). Eine Aktivierung peripherer Rezeptoren wird als Ausgangspunkt diskutiert, da weder Adrenalin noch Noradrenalin Blut-Hirn-Schranken-gängig sind, die emotionale Gedächtnisbildung sich aber durch periphere Adrenalinapplikation stimulierbar zeigt und eine Blockade dieses Effektes durch die konkurrierende Gabe eines peripheren β -Blockers auftritt (Introini-Collison et al. 1992, McGaugh et al. 1996). Auch die Glucokortikoid-induzierte Stimulation des emotionalen Gedächtnis wird durch noradrenerge Aktivierung in der BLA vermittelt (Roozendaal et al. 2006). Neben dem Nachweis der Förderung der Erinnerung an emotionale Gedächtnisinhalte durch systemische Adrenalinapplikation im Tierexperiment (Pelletier et al. 2005, McGaugh and Roozendaal 2002), konnte eine Hemmung emotionaler Gedächtnisbildung durch die Gabe von β -Blockern beim Menschen gezeigt werden (Cahill et al. 1999, Van Stegeren et al. 1998). fMRI-Studien verweisen auch beim Menschen auf eine Aktivierung der Amygdala während emotionaler Gedächtnisbildung, welche in direktem Zusammenhang mit der späteren Erinnerung an emotionale Gedächtnisinhalte steht (Cahill et al. 1996). Strange und Dolan (2004) konnten anhand von fMRI-Studien zeigen, dass eine erfolgreiche Speicherung emotionaler Begriffe mit der Aktivierung der linken Amygdala einhergeht und sich durch die gleichzeitige Gabe von Propranolol verhindern lässt. Der spätere Gedächtnisabruf für die gleichen emotionalen Items ging jedoch mit einer Aktivierung des Hippocampus einher und auch dieser konnte durch Propranololapplikation während der Lernphase verhindert werden. Dies verweist auf eine Abhängigkeit der erfolgreichen Bildung emotionaler Gedächtnisinhalte von β -adrenerger Transmission in der Amygdala, wobei die Speicherung nicht in der Amygdala selbst erfolgt, sondern durch ihren modulatorischen Einfluss auf die Gedächtnisbildung in anderen Hirnarealen, wie dem Hippocampus vermittelt wird.

Demnach scheint die periphere Katecholaminfreisetzung während emotional erregender Situationen neurobiologische Mechanismen der Gedächtnisbildung zu beeinflussen um die Formierung langlebiger Erinnerungen zu bewirken (McGaugh 1973+1989+2002, McGaugh et al. 1995, Cahill et al. 1996, Roozendaal et al. 1996).

4.5 Diskussion der Ergebnisse

4.5.1 Verhalten in neuer Umgebung

Die Motility-Box als kleine Variante eines Open Field erlaubt die Erfassung der lokomotorischen Aktivität unter geringerer Beeinflussung durch emotionale Faktoren sowie die Bestimmung von Aufrichtungen und Ortspräferenzen zum Studium angeborener Angst in frei beweglichen Tieren (Rose et al. 2006, Yilmazer-Hanke et al. 2002;2004).

Die unbekannte und neue Umgebung der Motility-Box führt zum Anstieg des Stresspegels der Tiere sowie zu einer Sympathikusaktivierung. Stress bewirkt bei Mäusen im Open Field nicht nur einen Anstieg der Herzfrequenz, sondern auch eine Reduktion der lokomotorischen Aktivität (Stone 1970, Armario et al. 1991, Kennett et al. 1985). Als eine Ursache dieser stressinduzierten Hypoaktivität wurde eine verringerte zentrale Freisetzung von Noradrenalin sowie dessen Einfluss auf die psychomotorische Regulation angesehen (Aston-Jones et al. 1991). Es wird vermutet, dass die stressinduzierte Lokomotionsabnahme durch eine verringerte zentrale β_1 -adrenerge Neurotransmission bedingt ist (Almgren et al. 1978, Stone et al. 1995). In neuer Umgebung zeichnen sich C57BL/6J-Mäuse durch hohe Bewegungsaktivität aus (Dyalogo and Shishkina 2000, Crusio and Schwegler 1987). Durch die pharmakologische Dämpfung der peripheren sympathischen Aktivierung mittels Atenolol konnten wir eine Reduktion der Lokomotion der Tiere erzielen. Daraus lässt sich schließen, dass die lokomotorische Aktivität von C57BL/6J-Mäusen durch die Höhe des Sympathikotonus beeinflusst wird. Untersuchungen mit Amphetamin an C57BL/6J-Mäusen zeigten eine Lokomotionszunahme (West 2006) und Ksiazek und Kleinrok (1974) konnten eine Reduktion der spontanen Lokomotion von Nagern durch Beta-Blocker (Sotalol) nachweisen, jedoch nach intraventrikulärer Applikation. Da wir durch die periphere Gabe eines nicht Blut-Hirn-Schranken-gängigen β -Blockers eine Lokomotionsabnahme erreichen konnten, könnte der Effekt ebenso aus einem indirekten Einfluss der peripheren Vegetativparameter auf zentral reguliertes Verhalten resultieren.

Hinweise für eine periphere Beeinflussbarkeit dieser Prozesse ergeben sich durch die interozeptive Signalvermittlung des kardiovaskulären Systems, welches in die Verhaltensregulation involviert ist. Schon Lancey und Lancey (1974) setzten mit ihrer Barorezeptorhypothese eine innige Interaktion zwischen kardiovaskulären Prozessen und der Gehirnaktivität voraus. Die Existenz von neuroanatomischen Strukturen, die Barorezeptorafferenzen und kortikale Neurone miteinander verbinden, wird zusätzlich von der nachweisbaren Beeinflussbarkeit des Spontan-EEG durch Barorezeptoreinflüsse unterschützt.

Die Reduktion der lokomotorischen Aktivität könnte jedoch auch Konsequenz eines nicht ausreichend gedeckten, in der Stresssituation gesteigerten Energiebedarfs der Muskulatur sein. Da in neuer Umgebung angeregtes Explorationsverhalten ein erhöhtes Herzminutenvolumen zur Deckung des Energiebedarfs fordert, erfolgt parallel zur Aktivierung der kortikalen Informationsverarbeitung eine Aktivierung des sympathischen Nervensystems, welches eine Steigerung von Herzfrequenz und Blutdruck bewirkt (van den Buuse et al. 2001). Die periphere Sympathikusaktivierung wird über viszerale Afferenzen an das zentrale Nervensystem übermittelt und erzeugt eine Verstärkung der körperlichen Reaktion im Sinne eines positiven Feedbackmechanismus (Berntson et al. 2003). Da Atenolol durch die Reduktion von Herzfrequenz und Blutdruck zu einer Senkung des Herzminutenvolumens mit

konsekutiver Minderung der Organdurchblutung führt, könnte somit die Voraussetzung für eine Lokomotionszunahme fehlen. Eine andere Erklärung bietet sich durch die Blockade der Weiterleitung viszeraler Afferenzen, wobei die Unterbrechung des Feedbackmechanismus zum Ausbleiben der zentralen Stimulation infolge peripherer Erregung führt.

Die durch die neue Umgebung provozierte Orientierungs- und Stressreaktion geht mit einer Aktivierung des Locus coeruleus (LC) einher (Aston-Jones and Bloom 1981 a;b, Reiner 1986). Bei Nagern führten Umweltreize, und dabei v.a. solche die momentane Handlungen unterbrechen und eine Reorientierung hervorrufen, zu einer deutlichen Aktivierung des LC (Aston-Jones and Bloom 1981 a;b). Dieses Hirnstammareal kann zum einen als Komponente des „emotionalen Motorsystems“ (Aston-Jones et al. 1996) das Verhalten beeinflussen und zum anderen die Aufmerksamkeit, mit dem Ziel der Stimulation kortikaler Reizverarbeitung, modulieren (Posner 1993). Somit ergibt sich eine enge Beziehung zwischen LC, kortikaler Aktivierung und der Verhaltensantwort auf einen emotional signifikanten Stimulus (Aston-Jones et al. 1999). Das „emotionale Motorsystem“ spielt eine entscheidende Rolle in der Realisierung von autonomen Antworten in Form von Tachykardie, Blutdrucksteigerung und Verhaltensreaktionen (Bandler and Shipley 1994). Die durch den LC über ein emotionales Arousal erzielte Aufmerksamkeitssteigerung regt die kognitive Verarbeitung an und somit bewirkt der LC eine Stimulation der Kognition durch die Emotion. Input erhält der LC u.a. durch den Nucleus paragigantocellularis (PGi). Dabei aktiviert der PGi parallel den LC und den peripheren Sympathikus durch seine direkten Projektionen in die intermediolaterale Säule des Rückenmarks (Ross et al. 1981, Milner et al. 1988). Die koinzidente Aktivierung, in Exposition mit einer neuen Umgebung und mitunter bedrohlichen Stimuli, garantiert eine rasche kortikal generierte Verhaltensantwort. Diese wird durch das Arousal des LC getriggert und kann durch die simultane periphere Sympathikusaktivierung körperlich umgesetzt werden (Aston-Jones et al. 1996).

In unserem Experiment wird durch die Blockade der viszeralen Afferenzen mittels Atenolol eine gedämpfte periphere Stressreaktion und autonome Sympathikusaktivierung an das zentrale Nervensystem vermittelt. Diese veränderte Informationsübermittlung könnte die Informationsverarbeitung in Hirnregionen beeinflussen, welche die lokomotorische Aktivität modulieren. Als komplexe motorische Reaktion wird die Lokomotion durch verschiedene Hirnregionen moduliert, wie die Basalganglien, das Septum, die Fimbria fornicis, die Amygdala, den Hippocampus und das Periaquäduktale Grau (Decker et al. 1995, Treit and Menard 1997, Carlson 1993, Grijalva et al. 1990, Stone et al. 1995, Laxmi et al. 2003, Oliveira et al. 2004). Auch zentrale cholinerg-katecholaminerge Interaktionen sind in die Regulation der lokomotorischen Aktivität involviert. Solche Interaktionen finden sich v.a. im LC, der noradrenerg auf den Hypothalamus, den motorischen Vagus Kern und den NTS projiziert (Brezanoff and Giuliano 1982).

Da in der neuen Umgebung der Box neben angstassoziiertem Fluchtverhalten auch Exploration induziert wird, ist die Lokomotion sowohl durch Explorations- als auch Fluchttendenzen bestimmt und demnach nicht eindeutig als Emotionalitätsmarker zu interpretieren (Archer 1973, Goma and Tobena 1978, Markel et al. 1989, Rodgers et al. 1997). Aufgrund der geringeren Größe der Motility-Box ist die in ihr gemessene Lokomotion noch weniger durch emotionale Faktoren beeinflusst als im Open Field (Rose et al. 2006).

In der neuen Umgebung des Open Field konnte bezüglich der Verhaltensparameter Aufenthalt in der Mitte sowie der Aufrichtungshäufigkeit eine enge Korrelation zu Trait-Angst gezeigt werden (Markel et al. 1989, Hasnie et al. 2007, Vendruscolo et al. 2006, Smith et al. 2006, Roy et al. 2006). Crusio und Schwegler (1987) konnten C57BL/6-Mäuse als einen Stamm mit ausgeprägtem Aufrichtungsverhalten im Open Field charakterisieren. Die mit dem Angstlevel korrelierenden Verhaltensweisen werden im Experiment durch die pharmakologische β -Blockade zwar tendenziell jedoch nicht signifikant beeinflusst. Da das Verhalten der Tiere unter Atenolol sogar eine tendenziell stärkere Angst anzeigt, sprechen unsere Ergebnisse gegen eine direkt anxiolytische Wirkung von Atenolol auf das Verhalten freibeweglicher unkonditionierter Mäuse in neuer Umgebung. Der Trend zu geringerer Aufrichtungshäufigkeit unter Atenolol ist vielleicht auch dadurch zu erklären, dass es sich hierbei nicht nur um einen angstassoziierten Parameter handelt, sondern dass die Aufrichtungen als „vertikale Aktivität“ auch mit der horizontalen lokomotorischen Aktivität korreliert.

Eine weitere Erklärung für den nicht nachweisbaren Effekt von Atenolol auf angstassoziiertes Verhalten bietet sich durch eine zu geringe Stressreaktion und Sympathikusaktivierung der Tiere in neuer Umgebung. Da Atenolol seine Wirkung in Abhängigkeit von der Höhe des Sympathikotonus entfaltet, könnte durch die Dämpfung einer nur geringen sympathischen Aktivierung ein zu registrierender Effekt auf das Trait-Angst-Verhalten ausbleiben.

Verhaltensuntersuchungen an Ratten im Open Field etablierten die Defäkation als einen zuverlässigen Parameter, die Miktion hingegen als einen Marker mit geringer Reliabilität (Goma and Tobena 1978). Die dosisabhängige Reduktion der Defäkation im Sinne eines direkten Medikamenteneffekts auf den vegetativ beeinflussten Parameter, könnte durch eine Wirkung auf das vegetative Nervensystem bedingt sein, jedoch ist auch eine medikamentöse Beeinflussung des Verdauungsprozesses nicht auszuschließen.

4.5.2 Wirkung von Atenolol auf kontextuelle und „cue“-Konditionierung

Freezing als defensives Verhalten von Nagern, definiert durch das Fehlen jeglicher Bewegung bis auf Respiration und Herzschlag (Blanchard and Blanchard 1969 a;b) ist ein wesentlicher Parameter zur Erfassung der Furchtreaktion von Mäusen (Gerlai 1997, Marsch et al. 2007, Davis and Gould 2007, Lifshitz et al. 2007). Es wird durch Projektionen von der Amygdala zum periaquäduktalen Grau initiiert (LeDoux 1995, Bandler and Shipley 1994, Carrive 1993, Fanselow and Kim 1994). Durch die Atenololapplikation während der FC konnten wir eine zeitlich stabile und signifikante Reduktion des Freezing der Tiere während des Gedächtnisabrufs im Konditionierungskontext erzielen. Demgegenüber wirkte sich bezüglich des Verhaltens der Tiere während CS-Exposition im Kontext nur der Konditionierungsmodus signifikant aus. Im Gegensatz zur Kontextkonditionierung wird die „simple cue“ Furchtkonditionierung über einen schnellen und stabilen, wenige Stationen umfassenden Neuronenkreis realisiert. Da in die Akquisition der „cue“-Konditionierung nur sensorische Afferenzen, sensorische Thalamusareale und die Amygdala integriert sind (Berntson et al. 1998), wirken sich die modulatorischen Einflüsse des autonomen Nervensystems auf diese Form des elementaren Lernens wahrscheinlich deutlich geringer aus, als auf das konfigurale Lernen der komplexen kontextuellen Stimuli (Gerlai 1997). Der multimodale sensorische Input während der kontextuellen Konditionierung lässt, schon aufgrund der Beteiligung

zahlreicher neuronaler Strukturen, eine stärkere Beeinflussbarkeit durch die periphere β -Blockade erwarten. Der Hippocampus, als neben der Amygdala bedeutende Struktur für die Kontextkonditionierung (Goddyn et al. 2006), erscheint durch seine multimodalen sensorischen und viszeralen Afferenzen sensibel für die peripheren pharmakologischen Effekte von β -Blockern. Dies könnte die alleinige Auswirkung der peripheren vegetativen Erregungsblockade auf die kontextuelle Konditionierung erklären.

In enger Verbindung zur Furcht steht das adrenerge System durch die Instrumentierung der Kampf- oder Fluchtreaktion (Cannon 1963, Cain et al. 2004). Die während der Konditionierung freigesetzten Katecholamine führen u.a. zu Herzfrequenz- und Blutdruckanstieg, aber erregen auch adrenerge Rezeptoren an afferenten Nervenendigungen, die Informationen über die peripheren Vorgänge an das ZNS vermitteln. Bei dem Rezeptortyp handelt es sich wie beschrieben um β -adrenerge Rezeptoren, wobei das kardiovaskuläre System besonders reich an viszerosensorischer Innervation ist. Es sendet viele autonome Afferenzen parasymphatisch über den Nervus vagus in den Hirnstamm (Nucleus tractus solitarius) und sympathisch über peripheren Nerven anliegende Fasern ins Rückenmark (Schandry and Montoya 1996). Durch Atenololgabe wird demnach auch eine Blockade vagaler Afferenzen erreicht, da diese reich an β -adrenergen Rezeptoren sind und ohne Medikation durch die Katecholaminfreisetzung infolge sympathischer Aktivierung stimuliert werden. Tierexperimentell konnte gezeigt werden, dass die systemische Adrenalininjektion zur Stimulation der emotionalen Gedächtnisbildung bei Ratten führt, und dass diese sowohl durch subdiaphragmale Vagotomie als auch durch die Inaktivierung des Nucleus tractus solitarius (NTS) verhindert wird (Mc Gaugh et al. 1996, Williams and McGaugh 1993). Das spricht für einen Einfluss des peripheren autonomen Nervensystems auf zentralnervöse Prozesse über den genannten Weg und die Möglichkeit der Unterbrechung viszeraler Feedback-Mechanismen nicht nur durch anatomische Läsionen, sondern auch durch hochdosierte periphere β -Blockade.

Die Möglichkeit durch periphere Beeinflussung vegetativer Parameter auf zentralnervös reguliertes Verhalten zurückzuwirken, wird unterstützt durch die Beobachtung, dass jegliche Veränderung von physiologischen Parametern wie Herzfrequenz und Blutdruck die Verhaltensantwort beeinflusst (Shekhar et al. 1993). Alle bisherigen Untersuchungen zur Wirksamkeit von β -Blockern bei Angsterkrankungen betonen den peripheren Wirkansatz der Medikamente z.B. durch Beeinflussung viszeraler Afferenzen, die dann u.a. über den Nervus vagus ins ZNS gelangen (Middlemiss et al. 1981). Durch systemische Applikation von Propranolol gelang es, die emotionale Gedächtnisbildung selektiv zu blockieren, was auf eine Involvierung des β -adrenergen Systems in die intensive Gedächtnisbildung und somit ausgeprägte Erinnerung an emotionale Ereignisse verweist (Cahill et al. 1994). Propranolol ist jedoch im Gegensatz zu Atenolol in der Lage, die Blut-Hirn-Schranke zu überwinden und zentrale Effekte auszulösen. Wenn es jedoch durch periphere β -Rezeptoraktivierung getriggert zu einer emotionalen Erregung mit Einfluss auf die Gedächtnisbildung kommt (McGaugh 2002), sollte auch ein peripherer β -Blocker, wie Atenolol diese Prozesse modulieren können.

Nach den vorherigen Ausführungen ließe sich die dosisabhängige Freezingreduktion durch Atenolol bei Exposition mit dem Konditionierungskontext durch die periphere Blockade viszeraler Afferenzen erklären, wenn diese sekundär Einfluss auf das konfigurale Lernen der

kontextuellen Stimuli nehmen und damit zu einer Verhaltensänderung im Gedächtnisabruf führen.

Der Nucleus tractus solitarius (NTS), die postulierte „Eingangstür“ viszeraler Afferenzen ins ZNS, ist als bedeutende Station des propagierten Mechanismus Vermittler der Modulation furchtassozierten Verhaltens durch die periphere autonome Aktivität. Er wird als „Interface zwischen peripherem endokrin/autonomen Milieu und neuronalen Mechanismen in der Regulation der Gedächtnisbildung und Angstentstehung“ (McGaugh and Roozendaal 2002) angesehen. Um Einfluss auf die Gedächtnisbildung zu nehmen, muss die adrenalininduzierte periphere Erregung über dieses Hirnstammareal geleitet werden (Williams et al. 2000). An die Projektion sind weitere Kerngebiete angeschlossen u.a. der Nucleus paraventricularis (PGv) und der Locus coeruleus (LC) (Castle et al. 2005). Letzterer kann, wie schon beschrieben, die Gedächtnisbildung durch noradrenerges kortikales Arousal stimulieren.

McGaugh et al. (1996) konnten zeigen, dass das durch die periphere Hormonausschüttung getriggerte Arousal mit einer Noradrenalinfreisetzung in der Amygdala einhergeht. Und andere Studien belegten klare Zusammenhänge zwischen dem Phänomen der gesteigerten amygdalären Noradrenalinfreisetzung und Verhaltensänderungen nach Furchtkonditionierung, welche sich durch temporäre Inaktivierung des NTS blockierbar zeigten (Cahill and McGaugh 1996, Tanaka et al. 2000).

Im ersten Experiment führte die medikamentöse β -Blockade zu keiner Veränderung angstassozierten Verhaltens in unkonditionierten Mäusen. Daher könnte die Verhaltensänderung nach Konditionierung unter Atenolol aus der peripheren Modulation des Kodierungs- und/oder Konsolidierungsprozesses der Furcht resultieren und nicht Folge einer direkten Beeinflussung des furchtassozierten Verhaltens bei Reexposition mit dem Kontext sein. Diese Annahme wird durch den Einfluss von Atenolol auf den vegetativ beeinflussten Defäkationsparameter in der Motility-Box und die tendenzielle Reduktion der Defäkation während der Konditionierung unter Medikation unterstützt, sowie dadurch, dass sich keine Unterschiede zwischen den Ergebnissen des 1. und 2. Retrieval ergeben und somit ein im 1. Retrieval eventuell noch vorhandener geringer Atenololspiegel als Ursache einer Freezingreduktion während der Kontextexposition auszuschließen ist.

4.5.3 Unterschiede der gepaarten und ungepaarten Konditionierung

Gerlai (1997) propagiert einen unterschiedlichen Lernstil abhängig davon, ob ein CS in Assoziation mit dem US präsentiert wird oder nicht. Im ersten Falle besteht eine deutliche Verbindung beider Stimuli, daher können sie durch einfache elementare Lernstrategien mit einander verknüpft werden und nur sehr wenige, auffällige Hinweisreize aus dem Kontext werden ebenfalls mit dem US assoziiert (Hintergrundkontextkonditionierung). Ohne assoziierte CS-US-Präsentation stellt der Kontext, in dem der US gegeben wird, hingegen die primäre Assoziationsmöglichkeit dar (Vordergrundkontextkonditionierung). Da einfache elementare Lernstrategien nicht zum Einsatz kommen können, muss konfigurales Lernen vieler komplexer Umgebungsreize erfolgen. C57BL/6J-Mäuse zeigen jedoch konfigurales Lernen kontextueller Stimuli trotz klar assoziierter Präsentation von CS und US, d.h. auch gepaart konditionierte Mäuse zeigen deutliches Furchtverhalten in Exposition mit dem Kontext (Radulovic et al. 1998, Gerlai 1997, Paylor et al. 1994). Unsere Ergebnisse belegen,

dass es nach gepaarter Konditionierung nicht nur zu einer stabilen Furchtreaktion auf den CS, sondern auch auf den Kontext kommt. Da sich die Freezing-Level der gepaart konditionierten Tiere in Exposition mit dem Kontext mit Ausnahme der hochdosierten Atenololgruppe kaum von denen der ungepaart konditionierten unterscheiden, scheinen gepaart konditionierte Tiere das „Fehlen des CS“ im Konditionierungskontext nicht als vollständige Sicherheit vor dem US zu werten, wahrscheinlich deshalb weil sie die kontextuellen Stimuli trotzdem „im Hintergrund“ abgespeichert haben. Demnach scheint eine starke Assoziation von CS und US die kontextuelle Konditionierung in dem von uns verwendeten Mäusestamm nicht negativ zu beeinflussen. Stiedl et al. (2000) konnten außerdem zeigen, dass sowohl vordergründige, als auch hintergründige Kontextkonditionierung bei C57BL/6J-Mäusen von einem intakten dorsalen Hippocampus abhängig sind.

Iwata und LeDoux (1988) verweisen auf Unterschiede in der autonomen Reaktion von Ratten, abhängig davon ob sie gepaart oder ungepaart konditioniert wurden. Sie fanden bei den gepaart konditionierten Tieren eine stimuliinduzierte Tachykardie als Resultat einer Koaktivierung des Sympathikus und Parasympathikus, wobei der Parasympathikus die überschießende Erregung durch Aktivierung des Sympathikus abpuffert. In ungepaart konditionierten Tieren kam es hingegen nur zu einer geringen Aktivierung ausschließlich des Sympathikus. Da Atenolol seine Wirkung in Abhängigkeit vom Sympathikotonus entfaltet und dieser unter gepaarter Konditionierung höher ist, erklärt sich der von uns gefundene deutlichere Effekt bei gepaart konditionierten Tieren. Unsere Ergebnisse sprechen für eine stärkere Auswirkung der pharmakologischen Sympathikusblockade auf die Kontextspeicherung, wenn diese im Hintergrund abläuft und verweisen damit auf Unterschiede zwischen hinter- und vordergründiger Kontextkonditionierung. Wobei sich letztere, ausgebildet während ungepaarter Konditionierung durch deutlichere Beziehung von Kontextstimuli und US, geringer beeinflussbar zeigt. Der direkte Vergleich der gepaart konditionierten Tiere unter NaCl mit der hochdosierten Atenololgruppe im gepaarten Konditionierungsmodus verdeutlicht den Effekt in Form einer Halbierung der Freezingdauer im Konditionierungskontext durch β -Blockade. Dieser Effekt ist möglicherweise durch den maximalen Einfluss der peripheren Sympathikusaktivität bei gepaarter Konditionierungsform bedingt und kann sich deshalb ausprägen, weil der gewählte Inzuchtstamm auch während gepaarter Konditionierung hintergründiges Kontextlernen zeigt.

Rasmussen und Barry (1986) konnten belegen, dass der Konditionierungsmodus auch einen Einfluss auf die Stimulation des Locus coeruleus (LC) besitzt mit stärkerer Aktivierung unter gepaarter Konditionierung. Dieses Hirnstammareal scheint, wie schon erläutert, eine wichtige Station in der Reaktion auf die körperlich-vegetative Erregung in furchtassoziierten Situationen zu sein, bedingt durch seine Position in direkter Verbindung zwischen NTS und dem limbischen System (Castle et al. 2005).

4.5.4 Modulation zentraler Prozesse durch autonome Afferenzen

Durch die Erregung des sympathischen Nervensystems in einer bedrohlichen Situation, kommt es zur Katecholaminfreisetzung und darauf folgend zur Aktivierung von β -Rezeptoren an viszeroafferenten Endigungen des Vagusnervs. Die aufsteigenden Informationen viszerosensorischer und autonomer Signale erreichen über den NTS u.a. den LC, das PAG,

die ventrolaterale Medulla, den Hypothalamus und innervieren limbische Areale, wie den zentralen Kern der Amygdala (Loewy 1990, Housley et al. 1987, Van Giersbergen et al. 1992, Ricardo and Koth 1978, Norgren 1976, Fulwiler and Saper 1984, Ottersen 1981). Der NTS projiziert somit in Hirnareale, die in die sympathische und parasympathische Regulation des kardiovaskulären Systems eingeschaltet sind und involviert über polysynaptische Wege limbische Strukturen, die Einfluss auf die Regulation von Gedächtnisbildung, Neuroendokrinum und Verhalten besitzen. Der LC erhält hierbei exklusive Informationen über die autonome/viszerale Aktivität in der Peripherie und kann die kortikale Verarbeitung durch noradrenerg-aszendierende Bahnen stimulieren. Über ein kortikales Arousal führt er zu einer Unterbrechung momentaner Handlungen, zur Aufmerksamkeitsfokussierung und ermöglicht eine rasche Informationsverarbeitung und Verhaltensgenerierung. Außerdem ergibt sich durch Projektionen des NTS zum Nucleus paragigantocellularis (PGi) die Möglichkeit der Rückwirkung auf sympathische Motoneurone im Rückenmark und so schließt sich der Regulationskreis durch zentrale Modulation der peripheren autonomen Aktivität (Aston-Jones et al. 1991, Cliffer et al. 1991).

4.6 Locus coeruleus (LC) und basales cholinerges Vorderhirn (BCF)

Funktionelle MRI-Studien beim Menschen konnten nachweisen, dass es bei der Erinnerung an emotionale Ereignisse zu einer Aktivierung des LC kommt, welche in linearer Abhängigkeit vom autonomen Arousal während der Encodierung besteht. Der Gedächtnisabruf emotionaler Erinnerungen basiert daher wahrscheinlich nicht nur auf Verbindungen zwischen der Amygdala und dem Hippocampus, sondern involviert auch Verbindungen zwischen der Amygdala und Hirnstammarealen wie dem LC (Sterpenich et al. 2006).

Reiner (1986) bezeichnet den LC auch als „zentrales Analogon von sympathischen Ganglien“ bzw. als zentrales Korrelat des peripheren Sympathikus zur Veranschaulichung seiner deutlichen Aktivierung durch periphere Sympathikusaktivität. Aston-Jones et al. (1996) stellten fest, dass aszendierende Projektionen des LC die Reaktion auf emotional signifikante Stimuli unabhängig von ihrer affektiven Wertigkeit steigern. Demnach bestimmt nicht die Qualität der Emotion die Aktivierung des LC, sondern allein die Tatsache, dass es sich um „Reizverarbeitung“ in einem emotionalen Kontext handelt, sorgt für die Einschaltung der noradrenerg-aszendierenden Kortexstimulation.

Somit kann der Adrenalinfreisetzung während emotional erregender Situationen eine zweidimensionale Funktion zugeschrieben werden. Zum einen sorgt sie für eine akute körperliche Reaktion und zum anderen wird die feste Konsolidierung des emotionalen Erlebnisses ins Gedächtnis garantiert (Cahill and McGaugh 1998). Dies könnte als Erklärung dafür dienen, dass sich Erinnerungen an emotional erregende Ereignisse lebhafter und intensiver ins Gedächtnis einprägen. Wahrscheinlich führt die gesteigerte periphere Adrenalinausschüttung, über die dargestellten Wege, zu einer Beeinflussung der Gedächtnisbildung und/oder –konsolidierung. Das heisst, die sympathische Erregung (als transiente „software“) während der Furchtkonditionierung prägt sich über diesen Mechanismus als neuronale „hardware“ ins Gedächtnis ein.

Worin die betrachtete Aktivierung des LC wahrscheinlich resultiert, damit es zu einer stabileren Konditionierung kommt, lässt sich als „state-setting Mechanismus“ beschreiben

(Berntson et al. 1998). Die Innervation des LC führt zur noradrenergen Stimulation der Prozessierung kontextueller Stimuli in Strukturen wie dem basalen cholinergen Vorderhirn (BCF). Neurone des BCF innervieren alle kortikalen Areale und modulieren die kortikale Informationsverarbeitung. Durch dieses „cholinerge Arousal“ werden bevorzugt aversive und kontextuelle Stimuli verarbeitet und somit eine selektive Beeinflussung der kortikalen Aspekte der Furcht bewirkt, ohne Einfluss auf die „simple“ Furchtkonditionierung zu nehmen (Berntson et al. 1998). Das BCF stellt demnach ein mögliches anatomisches Substrat dar, worüber viszerale Afferenzen Einfluss auf die kortikale Informationsverarbeitung furchtrelevanter Stimuli nehmen könnten.

In der Ratte ließ sich nachweisen, dass es durch sympathische Kardioakzeleration in Reaktion auf akustische Stimuli zu einer gesteigerten Aktivität im BCF kommt (Berntson et al. 1998). Demnach können kardiovaskuläre Veränderungen die neuronale Aktivität des BCF modulieren und somit Auswirkungen auf die Verarbeitung furchtassoziierter Informationen nehmen. Diese ascendierende Modulation des BCF ist, laut der Hypothese von Berntson et al. (1998), dazu in der Lage die Verarbeitung furchtrelevanter, kontextueller Stimuli zu verstärken. Die Hypothese kann durch unsere Ergebnisse gestützt werden, denn wir konnten durch die pharmakologische Blockade der viszeralen Afferenzen mittels Atenolol, nur die kontextuelle Furchtreaktion beeinflussen, in deren Generierung das BCF integriert zu sein scheint, jedoch nicht die „simple“ Furchtkonditionierung auf den „cue“.

Wie Berntson et al. (1998) schreiben, ist „der Einfluss ascendierender viszeraler Afferenzen ein subtiler und verschiedenartiger, aber es besteht kein Zweifel, dass viszeraler Feedback Emotionen beeinflussen kann“.

4.7 Klinische Bezüge

Angst ist eine grundlegende Emotion des Menschen und notwendig für die individuelle psychische Entwicklung. Zur physischen und psychischen Wahrnehmung von Gefahren ist sie evolutionsbiologisch überlebenswichtig und daher hochkonserviert. Demnach definiert sich Angst als Erkrankung immer über die quantitativen Aspekte von Grad und Dauer der auftretenden Angstreaktion (Grillon 2002). Mit einer 1-Jahresprävalenz von bis zu 18.1% und einer Lebenszeitprävalenz von bis zu 28.8% (Garakani et al. 2006, Keck und Thöringer 2005) sind Angststörungen eine der häufigsten Krankheitsbilder weltweit. Frauen sind deutlich häufiger von Angststörungen betroffen als Männer, wobei nach dem 45. Lebensjahr die Inzidenz sinkt. Phobische Störungen stehen mit 13% Lebenszeitprävalenz an erster Stelle und unter diesen tritt die soziale Phobie prozentual hervor. Unter Phobien (F.40) versteht man unbegründet starke Ängste die durch definierte i.d.R. ungefährliche Situationen oder Objekte hervorgerufen werden. Patienten mit sozialer Phobie haben Angst im Zentrum der Aufmerksamkeit zu stehen oder sich peinlich zu verhalten. Solchen Situationen ausgesetzt reagieren sie häufig mit starker körperlich-vegetativer Symptomatik und entwickeln sekundär Vermeidungsverhalten.

Einer öffentlichen Situation ausgesetzt, wird der Körper des Patienten durch die Stimulation des ARAS (Aufsteigendes Retikuläres Aktivierungssystem) in Alarmbereitschaft versetzt und im peripheren vegetativen Nervensystem überwiegt die Aktivierung des Sympathikus mit einhergehender Katecholaminfreisetzung. Physiologische Korrelate des Angsterlebens können

daher auf unterschiedlichen Reaktionsebenen abgeleitet werden. Als zentralnervöse Reaktion mit erhöhter kortikaler Aktivierung im EEG, als Reaktion des peripheren Nervensystems mit einer Zunahme der Herzfrequenz im EKG und als neuroendokrines Korrelat mit Erhöhung der Konzentration von Adrenalin und Noradrenalin im Blut.

Die eng mit Angst verbundene viszerale sensorische Aktivierung sowie deren Wahrnehmung (Interozeption) führt neben somatischen und psychologischen Veränderungen zur Aktivierung bestimmter Kortexareale (Cameron and Minoshima 2002). Es konnte eine positive Korrelation zwischen der Interozeption autonomer Aktivität, Trait-Angst und dem Arousal in emotionalen Situationen nachgewiesen werden (Pollatos et al. 2006). Bei Patienten mit sozialer Phobie führte die Information über die eigene somatoviszzerale Erregung zur Zunahme der Angst (Wells and Papageorgiou 2001). Eine Disposition zur überschießenden Angstreaktion resultiert nach der Aktivierungstheorie von Lader und Wing (1969) aus einer gesteigerten Aktivität und verringerten Habituation des autonomen Nervensystems. Betrachtet man die Angsterkrankung als eine unconditionierte Reaktion auf einen Reiz, so ist die Stärke der Angstreaktion zum einen durch Stärke, Frequenz und Regelmäßigkeit des Reizes bestimmt, aber auch abhängig von Organismusvariablen, wie vorherigen Erfahrungen in ähnlichen Situationen, der momentanen emotionalen Verfassung und v.a. dem autonomen Arousal, welches dem äußeren Stimulus folgt (Mathews et al. 1990). Ein schnelles Over-Arousal und gesteigerte Vigilanz auf interne und externe Stimuli hin zeichnen demnach den Patienten mit hoher Trait-Angst aus und disponieren ihn durch raschere Überschreitung des Adaptationsvermögens zur schnelleren Auslösung einer Angstreaktion. Patienten mit hohem Trait-Angst-Level werden neben Hypervigilanz und raschem Einsetzen von Aktivierungsprozessen auch durch eine Wahrnehmungseinschränkung mit bevorzugter Aufmerksamkeitszentrierung auf den aversiven Stimulus charakterisiert, d.h. die kognitiven Ressourcen und die Informationsaufnahme sind allein auf Aspekte des angstausschließenden Stimulus beschränkt (Mathews et al. 1990).

Auch Gorman (1987) beschreibt eine Disposition zur sozialen Phobie bei Personen, die genetisch bedingt zu einer Hyperaktivität des autonomen Nervensystems neigen. Diese Patienten empfinden soziale Situationen nicht von vornherein als gefährlich oder beängstigend, sondern sie entwickeln durch ihre gesteigerte und abnorme Reaktion auf täglichen sozialen Stress eine sekundäre Vermeidungshaltung. Sie assoziieren die soziale Situation mit ihrer eigenen körperlichen Reaktion, welche sich u.a. als Herzrasen, Handtremor, Schwitzen und Erröten äußern kann und durch eine sympathoadrenerge Überaktivität bedingt ist. Die Vermeidung wird durch den vegetativen Distress in der sozialen Situation im Sinne einer operanten Konditionierung verstärkt und unterhalten (Bruce and Saeed 1999). Wenn man diesen pathophysiologischen Mechanismus unterstellt greifen β -Blocker in der Therapie der sozialen Phobie an der ursächlichen Basis der Erkrankung an. Durch die Behandlung eines Patienten mit sozialer Phobie mittels β -Blocker wird das vegetative Arousal in Exposition mit sozialem Stress gedämpft, d.h. er spürt die physischen Auswirkungen der Stresssituation nicht mehr in dem vorher pathologisch gesteigerten Ausmaß. Durch die wiederholte Erfahrung der normalisierten körperlichen Reaktion in sozialen Situationen kommt es zu einer Dekonditionierung der Erwartungsangst und überschießenden autonomen Reaktion (Aouizerate et al. 2004). Daher kann der β -Blocker theoretisch nach einer geraumen

Therapiedauer ohne erneuten Rückfall abgesetzt werden. Gorman (1987) konnte die Effektivität der Therapie mit Atenolol an Patienten mit Soziophobie nachweisen.

Untersuchungen an Angstpatienten konnten veränderte neuronale Aktivität und Transmitterfreisetzung u.a. im noradrenergen System feststellen (Aouizerate et al. 2004). Dabei gelten das noradrenerge System und insbesondere der Locus coeruleus (LC) als Alarmierungszentrum, welches ein allgemeines Arousal verursacht und auf die Erwartung von Gefahren fokussiert. Zahlreiche Studien postulieren eine veränderte Regulation von noradrenergen Neuronen und β -Rezeptoren bei Angststörungen (Cole and Koob 1988, Yang et al. 1990), weiterhin konnten durch die Stimulation des LC Furchtreaktionen ausgelöst werden. Regulationsstörungen des LC wirken durch Projektionen ins limbische System (Amygdala, Hippocampus, septale Region) als wichtige ätiologische Faktoren von Angsterkrankungen (Nissen 1995).

Die Angstbereitschaft ist demnach ein komplexes Persönlichkeitsmerkmal, welches durch kognitive, perzeptuelle und physiologische Prozesse bestimmt wird. Bedeutend ist, dass die in der Angstsituation ausgelösten körperlichen Reaktionen selbst zu aversiven Reizen werden können und somit in der Lage sind die Angst weiter zu verstärken. Man bezeichnet die eigene körperliche Reaktion dann als „noxischen Stimulus“, was veranschaulicht, dass nicht nur der aversive Stimulus angstausslösend wirkt, sondern auch Angst vor der eigenen körperlichen Reaktion in der Angstsituation entsteht. Vor allem dieser Aspekt ist es, der die Vermeidung der angstausslösenden Situation weiter verstärkt und somit sekundär zur Aufrechterhaltung der Angst führt. Am Beispiel der sozialen Phobie konnte die Intervention der β -Blocker in diesen Prozess gezeigt und somit deren Bedeutung in der Therapie von Angsterkrankungen, welche mit ausgeprägten körperlichen Symptomen einhergehen, belegt werden (Aouizerate et al. 2004). Vor allem das günstige Nebenwirkungsprofil mit fehlender Abhängigkeitsentwicklung und Entzugssymptomatik sowie fehlender Beeinflussung psychomotorischer Funktionen (Greenblatt et al. 1993), welche unter der Therapie mit Benzodiazepinen auftreten können, befürworten den Einsatz von β -Blockern bei Angstpatienten mit ausgeprägter vegetativer Symptomatik.

Unterstützt durch die Medikation gilt es den Circulus vitiosus zu unterbrechen, welcher aus der Vermeidung der angstausslösenden Situation resultiert. Es ist notwendig sich der Situation auszusetzen, denn ansonsten entzieht sich dem Patienten durch seine Vermeidungshaltung die Möglichkeit einer Habituation und Angstüberwindung. Da es durch die Vermeidung der angstausslösenden Situation nicht zum Erleben der Angst kommt, wird das Vermeidungsverhalten sekundär positiv verstärkt (operantes Konditionieren). Während der Konfrontation mit dem aversiven Stimulus soll der Patient stets entspannt sein, um in einer Art Gegenkonditionierung die aversiven Reize nicht länger negativ, sondern positiv zu perzipieren. Zur Entspannung sind autogenes Training und Biofeedback-Methoden geeignet, aber auch die pharmakologische Kontrolle des Vegetativums mittels β -Blocker bietet dem Patienten die Möglichkeit der Unterdrückung der körperlichen Erregung in der angstausslösenden Situation. Durch die Verminderung der Aufmerksamkeitskonzentrierung auf sich und seinen Körper bietet sich die Möglichkeit einer allumfassenderen Auseinandersetzung mit der Situation, um schließlich durch mehrmalige Wiederholung eine Habituation zu erlangen. Daher verspricht eine therapeutische Kombination von Medikation und verhaltens-kognitionstherapeutischen

Ansätzen eine schnellere und robustere Behebung von Angststörungen (Garakani et al. 2006).

Beta-Blocker sind zur Kontrolle der vegetativen Reaktion geeignet, da sie direkt an der Basis der körperlichen Reaktion in der angstausslösenden Situation ansetzen, indem sie die Effekte der freigesetzten Katecholamine an adrenergen Rezeptoren blockieren. Durch die Unterdrückung der stressorinduzierten Tachykardie, Hypertonie, Hyperhidrosis, des Tremors und zahlreicher anderer sympathischer Reaktionsmuster, die das autonome Arousal charakterisieren, erlebt sich der Patient in der Konfrontation mit der angstausslösenden Situation nicht länger passiv ausgeliefert, sondern ist in der Lage über die Kontrolle seiner selbst auch Kontrolle über die Situation zu gewinnen, d.h. der Circulus vitiosus durch Vermeidung der Situation kann unterbrochen werden.

Bibliographische Beschreibung:

Beeinflussung von Lokomotion und kontextueller Furcht durch die Unterbrechung des viszerale Feedback mittels peripherer β 1-adrenerger Rezeptorblockade in C57BL/6J OlaHsd-Mäusen

Janitzky, Kathrin;

2007; 91 Seiten; 6 Abbildungen; 5 Bildanlagen; 3 Tabellen

Zusammenfassung:

Die vorliegende Arbeit steht im Kontext der Erforschung viserosensorischer Informationen sowie deren Funktion als Integrator adaptiven Verhaltens und Regulator physiologischer Reaktionen in stress- und furchtassoziierten Situationen (Myers and Rinaman 2005). Untersucht wird der Einfluss vegetativer Erregung auf das Lernen emotionaler Stimuli unter der Hypothese einer Aktivierung vegetativ-aszendierender Bahnen mit Verbindungen ins limbische System.

Das Verhalten wurde an männlichen C57BL/6J-Mäusen in der Motility-Box, einem Open Field-Modell sowie in dem emotionalen Lernparadigma, der auditorischen und kontextuellen Furchtkonditionierung untersucht. Durch die periphere β -Blockade mittels Atenolol (5mg/kg BW und 20mg/kg BW; i.p.) war es uns möglich, in den emotional erregenden Situationen, die adrenalininduzierte periphere viszerale Aktivierung zu dämpfen.

Im ersten Experiment wurde die Atenololwirkung auf das Verhalten freibeweglicher, unkonditionierter Mäuse in der neuen Umgebung einer Motility-Box studiert. Durch die Atenolol-vermittelte Hemmung der Sympathikusaktivität konnte eine Dämpfung der stressvermittelten Tachykardie gezeigt werden (Just et al. 2000, Van den Buuse et al. 2001) und unsere Ergebnisse belegen eine dosisabhängige Lokomotionsabnahme bei unbeeinflussten Trait-Angst assoziierten Verhaltensparametern wie Mitteaufenthalt und Aufrichtungen.

Im zweiten Experiment wurde der Atenololeffekt auf die kontextuelle und „cue“-Konditionierung in gepaartem und ungepaartem CS-US-Trainingsmodus studiert. Durch das Vornehmen der Konditionierung im Kontext einer Startle-Box ohne Präadaptation, die Durchführung des Gedächtnisabrufs in der Konditionierungsbox und die Wahl des Mäusestammes C57BL/6J-OlaHsd, der auch nach gepaarter Konditionierung ausgeprägtes Kontextlernen zeigt (Radulovic et al. 1998), fokussierten wir die Untersuchung des Medikamenteneinflusses auf konfigurales Lernen kontextueller Stimuli. Die Verhaltensparameter (Freezing, Schnüffeln, Putzen) verweisen auf eine dosisabhängige Reduktion der hintergründigen kontextuellen Furcht nach Konditionierung unter Atenolol, welche aufgrund der Ergebnisse des ersten Experiments nicht durch eine medikamentös bedingte Steigerung der Lokomotion erklärt werden kann. Kein signifikanter Effekt durch die pharmakologische β -Blockade ließ sich bei der „cue“-Konditionierung im Kontext erzielen. Der selektive Einfluss der pharmakologischen Sympathikusblockade auf die Hintergrundkontextkonditionierung lässt nicht nur eine unterschiedliche neuronale Realisierung von kontextueller und „cue“-Konditionierung, sondern auch einen Unterschied in der Verarbeitung und/oder Speicherung von Kontextreizen vermuten. Dieser ist abhängig davon, ob sich die kontextuellen Stimuli mit geringer Assoziation zum US während gepaarter Konditionierung „im Hintergrund“ befinden oder ob sie in enger Beziehung zum US während ungepaarter Konditionierung „vordergründig“ präsentiert werden.

Unsere Ergebnisse verweisen auf die Beeinflussbarkeit kontextueller Lernvorgänge in emotionalen Situationen durch die Blockierung peripher-vegetativer Sympathikusaktivität. Die Weiterleitung modulierter Informationen über den körperlichen Aktivierungszustand nach zentral könnte Ursache einer veränderten Wahrnehmung oder Gedächtnisbildung für die Beziehung hintergründig präsentierter Kontextreize mit dem US sein und als Erklärung für das veränderte Verhalten der gepaart konditionierten Tiere während des Gedächtnisabrufs im Kontext dienen (Williams et al. 2000).

Anhand unserer Ergebnisse diskutierten wir die Beeinflussung zentraler Prozesse durch autonome Afferenzen und betrachteten die Unterbrechung des positiven Feedback-Mechanismus mittels Atenolol als mögliche Ursache veränderten zentralregulierten Verhaltens, wie der lokomotorischen Aktivität und der kontextuellen Furcht.

Literaturverzeichnis

Almgren O, Engel J, Jonason J (1978). Central effects of antagonists. In Catecholamines: Barchas J, Basic and Clinical Frontiers. Usdin E, Kopin IJ (eds), New York, Pergamon Press pp:589-591

Alquist RP (1948). A study of the adrenotropic receptors. *Am J Physiol* 153:586-600

Ammassari-Teule M, Passino E, Restivo L, de Marsanich B (2000). Fear conditioning in C57/BL/6 and DBA/2 mice: variability in nucleus accumbens function according to the strain predisposition to show contextual- or cue-based responding. *Eur J Neurosci* 12:4467-74.

Aouizerate B, Martin-Guehl C, Tignol J (2004). [Neurobiology and pharmacotherapy of social phobia] *Encephale* 30:301-13

Archer J (1973). Tests for emotionality in rats and mice : A review . *Animal Behav* 21:205-235

Ariens EJ, Simmons AM (1983) Physiological and pharmacological aspects of adrenergic receptor classification. *Biochem Pharmacol* 32:1539-1545

Armario A, Gil M, Marti J, Pol O, Balasch J (1991). Influence of various acute stressors on the activity of adult male rats in a holeboard and in the forced swim test. *Pharmacol Biochem Behav* 39:373-377

Aston-Jones G und Bloom FE (1981 a). Activity of norepinephrine-containing locus coeruleus neurons in behaving rats anticipates fluctuations in the sleep-waking cycle. *J Neurosci* 1: 876-886

Aston-Jones G und Bloom FE (1981 b). Norepinephrine-containing locus coeruleus neurons in behaving rats exhibit pronounced responses to non-noxious environmental stimuli. *J Neurosci* 1:887-900

Aston-Jones G, Shipley MT, Chouvet G, Ennis M, Van Bockstaele E, Pieribone V, Shiekhatar R, Akaoka H, Drolet G, Astier B, Charlety P, Valentino RJ, Williams JT (1991 a). Afferent regulation of locus coeruleus neurons: Anatomy, physiology and pharmacology. *Prog Brain Res* 88:47-75

Aston-Jones G, Chiang C, Alexinsky T (1991 b). Discharge of noradrenergic locus coeruleus neurons in behaving rats and monkeys suggests a role in vigilance. *Prog Brain Res* 88:501-520

Aston-Jones G, Rajkowski J, Kubiak P, Valentino RJ, Shipley MT (1996). Role of the locus coeruleus in emotional activation. *Prog Brain Res* 107:379-402

Aston-Jones G, Rajkowski J, Cohen J (1999). Role of locus coeruleus in attention and behavioral flexibility. *Biol Psychiatry* 46:1309-20

Balsam PD, Tomie A (1985). In: Context and learning Hillsdale, NJ:Erlbaum

Bandler R, Shipley MT (1994). Columnar organization in the midbrain periaqueductal gray: Modules for emotional expression? *Trends in Neurosci* 17:379-389

-
- Barlow DH (2000). Unraveling the mysteries of anxiety and its disorders from the perspective of emotion theory. *Am Psychol* 55:1247-1263
- Berntson G G, Sarter M, Cacioppo J T (1998). Anxiety and cardiovascular reactivity: the basal forebrain cholinergic link. *Behav Brain Res* 94:225-248
- Berntson G G, Sarter M, Cacioppo J T (2003). Ascending visceral regulation of cortical affective information processing. *Eur J Neurosci* 18:2103-2109
- Blair HT, Schafe GE, Bauer EP, Rodrigues SM, LeDoux JE (2001). Synaptic plasticity in the lateral amygdala: a cellular hypothesis of fear conditioning. *Learn Mem* 8:229-42
- Blair HT, Sotres-Bayon F, Moita MA, Ledoux JE (2005). The lateral amygdala processes the value of conditioned and unconditioned aversive stimuli. *Neurosci* 133:561-9
- Blanchard RJ, Blanchard C (1969 a). Crouching as an index of fear. *J Comp Physiol Psychol* 67:370-375
- Blanchard RJ, Blanchard C (1969 b). Passive and active reactions to fear-eliciting stimuli. *J Comp Physiol Psychol* 68:129-135
- Bolles RC, Fanselow MS (1980). A perceptual-defensive-recuperative model of fear and pain. *Behav Brain Sci* 3:291-323
- Bond NW (1984). Animal models in psychopathology. An introduction. In NW Bond (Ed.), *Animal models in psychopathology*. Academic Press, Sydney: 1-21
- Bouret S, Duvel A, Onat S, Sara SJ (2003). Phasic activation of locus ceruleus neurons by the central nucleus of the amygdala. *J Neurosci* 23:34917
- Bräutigam W, Christian P, von Rad M (1997). *Psychosomatische Medizin*, Thieme, Stuttgart 1997, ISBN 313498306
- Brezenoff HE, Giuliano R (1982). Cardiovascular control by cholinergic mechanisms in the central nervous system. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 22:341-81 Review.
- Bruce TJ, Saeed SA (1999). Social anxiety disorder: a common, underrecognized mental disorder. *Am Fam Physician* 60:2311-20, 2322
- Byrnes EM, Bridges RS (2006). Reproductive experience alters anxiety-like behavior in the female rat. *Horm Behav* 50:70-6
- Cahill L, Prins B, Weber M, McGaugh J L (1994). β -adrenergic activation and memory for emotional events. *Nature* 371: 702-704
- Cahill L, McGaugh JL (1996). The neurobiology of memory for emotional events: adrenergic activation and the amygdala. *Proc West Pharmacol Soc* 39:81-4
- Cahill L, Haier RJ, Fallon J, Alkire M, Tang C, Keator D, Wu J, McGaugh JL (1996). Amygdala activity at encoding correlated with long-term, free recall of emotional information. *Proc Natl Acad Sci* 93:8016 –8021

Cahill L, McGaugh J L (1998). Mechanisms of emotional arousal and lasting declarative memory. *TINS* 21:294-298

Cahill L, Weinberger NM, Roozendaal B, McGaugh JL (1999). Is the amygdala a locus of "conditioned fear" ? Some questions and caveates. *Neuron* 23: 227-228

Cahill L, Pham CA, Setlow B (2000). Impaired memory consolidation in rats produced with β -adrenergic blockade. *Neurobiol Learn Mem* 74:259 -266

Cain CK, Blouin AM, Barad M (2004). Adrenergic transmission facilitates extinction of conditional fear in mice. *Learn Mem* 11:179-87

Calandreau L, Desmedt A, Decorte L, Jaffard R (2005). A different recruitment of the lateral and basolateral amygdala promotes contextual or elemental conditioned association in Pavlovian fear conditioning. *Learn Mem* 12: 383-388

Cameron OG, Minoshima S (2002). Regional brain activation due to pharmacologically induced adrenergic interoceptive stimulation in humans. *Psychosom Med* 64:851-61

Cannon WB (1963). Bodily changes in pain, hunger, fear and rage, 2nd ed. Harper & Row, New York.

Cannon W B (1975). Wut, Angst und Schmerz - Eine Physiologie der Emotionen. München: Urban & Schwarzenberg

Carlson A (1993). On the neuronal circuitries and neurotransmitters involved in the control of locomotor activity. *J Neural Transm Suppl* 40:1-12

Carrive P (1993). The periaqueductal gray and defensive behavior: functional representation and neuronal organization . *Behav Brain Res* 58:27-47

Carroll JC, Boyce-Rustay JM, Millstein R, Yang R, Wiedholz LM, Murphy DL, Holmes A (2007). Effects of Mild Early Life Stress on Abnormal Emotion-related Behaviors in 5-HTT Knockout Mice. *Behav Genet* 37:214-22

Castle M, Comoli E, Loewy AD (2005). Autonomic brainstem nuclei are linked to the hippocampus. *Neurosci* 134:657-69

Chapillon P, Manneche C, Belzung C, Caston J (1999). Rearing environmental enrichment in two inbred strains of mice: 1. Effects on emotional reactivity. *Behav Genet* 29:41-6

Cliffer KD, Burstein R, Giesler Jr GJ (1991). Distribution of spinothalamic and spinotelencephalic fibers revealed by anterograde transport of PHA-L in rats. *J Neurosci* 11:852-868

Cohen H, Benjamin J (2006). Power spectrum analysis and cardiovascular morbidity in anxiety disorders. *Auton Neurosci* 128:1-8

Cole BJ, Koob GF (1988). Propranolol antagonized the enhanced conditioned fear produced by corticotropin releasing factor. *J Pharmacol Exp Ther* 247:902-910

-
- Cravens CJ, Vargas-Pinto N, Christian KM, Nakazawa K (2006). CA3 NMDA receptors are crucial for rapid and automatic representation of context memory. *Eur J Neurosci* 24:1771-80
- Crawley JN, Belknap JK, Collins A, Crabbe JC, Frankel W, Henderson N, Hitzemann RJ, Maxson SC, Miner LL, Silva AJ, Wehner JM, Wynshaw-Boris A, Paylor R (1997). Behavioral phenotypes of inbred mouse strains: implications and recommendations for molecular studies. *Psychopharmacology (Berl)* 132:107-24
- Crusio WE, Schwegler H (1987). Hippocampal mossy fiber distribution covaries with open-field habituation in the mouse. *Behav Brain Res* 26:153-8
- Dampney RA (1994). Functional organization of central pathways regulating the cardiovascular system. *Physiol Rev* 74: 323-364
- Davis M (1992 a). Neurobiological aspects of emotion, memory and mental dysfunction. The amygdala, pp:255-306
- Davis M (1992 b). The role of the amygdala in fear and anxiety. *Annu Rev Neurosci* 15:353-375
- Davis M, Falls WA, Campeau S, Kim M (1993). Fear-potentiated startle: a neural and pharmacological analysis. *Behav Brain Res* 58:175-198
- Davis M (2000). The role of the amygdala in conditioned and unconditioned fear and anxiety. In: *The Amygdala*, edited by Aggleton JP. Oxford, UK: Oxford Univ Press pp: 213-288
- Davis M (2006). Neural systems involved in fear and anxiety measured with fear-potentiated startle. *Am Psychol* 61:741-56
- Davis JA, Gould TJ (2007). Beta2 subunit-containing nicotinic receptors mediate the enhancing effect of nicotine on trace cued fear conditioning in C57BL/6 mice. *Psychopharmacol (Berl)* 190:343-52
- Davy M, Midol-Monnet M, Heimburger M, Wepierre J, Cohen Y (1986). Central action of beta adrenoceptor antagonists on blood pressure after acute administration in rats. *J Pharmacol* 17:28-36
- Decker M W, Curzon P, Brioni J D (1995). Influence of separate and combined septal and amygdala lesions on memory, acoustic startle, anxiety, and locomotor activity in rats. *Neurobiol Learn Mem* 64:156-168
- Doron NN, LeDoux JE (1999). Organization of projections to the lateral amygdala from auditory and visual areas of the thalamus in the rat. *J Comp Neurol* 412: 383-409
- Dyaglo N N, Shishkina G T (2000). Genetic differences in the synthesis and reception of noradrenaline in the mouse brain and behavior in a novel environment. *Neurosci Behav Physiol* 30:327-30
- Emilien G, Maloteaux JM (1998). Current therapeutic uses and potential of β -adrenoceptor agonists and antagonists. *Eur J Clin Pharmacol* 53:389-404

Erhardt E, Zibetti LC, Godinho JM, Bacchieri B, Barros HM (2006). Behavioral changes induced by cocaine in mice are modified by a hyperlipidic diet or recombinant leptin. *Braz J Med Biol Res* 39:1625-35

Espejo EF (1997). Effects of weekly or daily exposure to the elevated plus-maze in male mice. *Behav Brain Res* 87:233-8

Eysenck HJ (1979). The conditioning model of neurosis. *Behav Brain Sci* 2:155-199

Fallon J, Koziell D, Moore RY (1978). Catecholamine innervation of the basal forebrain. II. Amygdala, suprarhinal cortex and autorhinal cortex. *J Comp Neurol* 180:509-532

Fanselow MS, Kim JJ (1994). Acquisition of contextual Pavlovian fear conditioning is blocked by application of an NMDA receptor antagonist D,L-2-amino-5-phosphonovaleric acid to the basolateral amygdala. *Behav Neurosci* 108:210-212

Fanselow MS (2000). Contextual fear, gestalt memories, and the hippocampus. *Behav Brain Res* 110:73-81 Review.

Ferry B, Roozendaal B, McGaugh JL (1999). Basolateral amygdala noradrenergic influences on memory storage are mediated by an interaction between beta- and alpha1-adrenoceptors. *J Neurosci* 19:5119-23

Frey S, Bergado-Rosado J, Seidenbecher T, Paper HC, Frey JU (2001). Reinforcement of early long-term potentiation (early-LTP) in dentate gyrus by stimulation of the basolateral amygdala: Heterosynaptic induction mechanisms of late-LTP. *J Neurosci* 21:3697-3703

Fulwiler CE, Saper CB (1984). Subnuclear organization of the efferent connections of the parabrachial nucleus in the rat. *Brain Res* 319:229-259

Garakani A, Mathew SJ, Charney DS (2006). Neurobiology of anxiety disorders and implications for treatment. *Mt Sinai J Med* 73:941-9

Gengo FM, Fagan SC, Hopkins LN, Wagner D, Schuster DP (1989). Nonlinear distribution of atenolol between plasma and cerebrospinal fluid. *Pharm Res* 6:248-51

Gerlai R (1997). Contextual learning and cue association in fear conditioning in mice: a strain comparison and a lesion study. *Behav Brain Res* 95:191-203

Goddyn H, Leo S, Meert T, D'Hooge R (2006). Differences in behavioural test battery performance between mice with hippocampal and cerebellar lesions. *Behav Brain Res* 173:138-47

Gold LH (1996). Integration of molecular biological techniques and behavioural pharmacology. *Behav Pharmacol* 7:589-615

Goma M, Tobena A (1978). Reliability of various measures obtained in open-field test. *Psychol Rep* 43:1123-1128

Goosens KA, Maren S (2001). Contextual and auditory fear conditioning are mediated by the lateral, basal, and central amygdaloid nuclei in rats. *Learn Mem* 8:148-155

Gorman JM, Gorman LK (1987) Drug treatment of social phobia. *J Affect Disord*, 13:183-192

-
- Greenblatt DJ, Scavone JM, Harmatz JS, Engelhardt N, Shader RI (1993). Cognitive effects of beta-adrenergic antagonists after single doses: pharmacokinetics and pharmacodynamics of propranolol, atenolol, lorazepam, and placebo. *Clin Pharmacol Ther* 53:577-84
- Griebel G, Belzung C, Misslin R, Vogel E (1993). The free-exploratory paradigm: an effective method for measuring neophobic behaviour in mice and testing potential neophobia-reducing drugs. *Behav Pharmacol* 4:637-644
- Griebel G, Sanger DJ, Perrault G (1996). Further evidence for differences between non-selective and BZ-1 (omega 1) selective, benzodiazepine receptor ligands in murine models of „state“ and „trait“ anxiety. *Neuropharmacol* 35:1081-91
- Grijalva C V, Levin E D, Morgan M, Roland B, Roland M, Martin F (1990). Contrasting effects of centromedial and basolateral amygdaloid lesions on stress-related responses in the rat. *Physiol Behav* 48:495-500
- Grillon C (2002). Startle reactivity and anxiety disorders: aversive conditioning, context, and neurobiology. *Biol Psychiatry* 52:958-75 Review.
- Han C J, O’Tuathaigh C M, Trigt L, Quinn J J, Fanselow M S, Mongeau R, Koch C, Anderson D J (2003). Trace but not delay conditioning requires attention and the anterior cingulate cortex. *PNAS* 100:13087-13092
- Hara C, Ogawa N (1986). Potentiation of haloperidol-induced catalepsy by beta-adrenoceptor antagonists in mice. *Jpn J Pharmacol* 42:79-85
- Harms H H, Spoelstra A J G (1978). Cardiac and bronchial β -adrenoceptor blocking potencies of atenolol, metoprolol, acebutolol, practolol, propranolol and pindolol in the anaesthetized dog. *Cardioselective beta-adrenoceptor blocking agents*. pp:83-90
- Hasnie FS, Breuer J, Parker S, Wallace V, Blackbeard J, Lever I, Kinchington PR, Dickenson AH, Pheby T, Rice AS (2007). Further characterization of a rat model of varicella zoster virus-associated pain: Relationship between mechanical hypersensitivity and anxiety-related behavior, and the influence of analgesic drugs. *Neurosci* 144:1495-508
- Hayward LF (2001). Evidence for alpha-2 adrenoceptor modulation of arterial chemoreflexes in the caudal solitary nucleus of the rat. *Am J Physiol* 281: 1464–1273
- Hebb AL, Zacharko RM, Gauthier M, Drolet G (2003). Exposure of mice to a predator odor increases acoustic startle but does not disrupt the rewarding properties of VTA intracranial self-stimulation. *Brain Res* 982:195-210
- Helmstetter FJ (1992). Contribution of the amygdala to learning and performance of conditioned fear. *Physiol Behav* 51:1271-1276
- Helmstetter FJ, Bellgowan PS (1994). Effects of muscimol applied to the basolateral amygdala on acquisition and expression of contextual fear conditioning in rats. *Behav Neurosci* 108:1005-1009
- Holt W, Maren S (1999). Muscimol inactivation of the dorsal hippocampus impairs contextual retrieval of fear memory. *J Neurosci* 19:9054-62

Housley GD, Martin-Body RL, Dawson NJ, Sinclair JD (1987). Brainstem projections of the glossopharyngeal nerve and its carotid sinus branch in the rat. *Neurosci* 22:237-250

Impey S, Smith DM, Obrietan K, Donahue R, Wade C, Storm DR (1998). Stimulation of cAMP response element (CRE)-mediated transcription during contextual learning. *Nat* 1:595-601

Introini-Collison I, Saghafi D, Novack GD, McGaugh JL (1992). Memory-enhancing effects of post-training dipivefrin and epinephrine: involvement of peripheral and central adrenergic receptors. *Brain Res* 572:81-6

Ito R, Robbins TW, McNaughton BL, Everitt BJ (2006). Selective excitotoxic lesions of the hippocampus and basolateral amygdala have dissociable effects on appetitive cue and place conditioning based on path integration in a novel Y-maze procedure. *Eur J Neurosci* 23:3071-80

Iwata J, LeDoux JE (1988). Dissociation of associative and nonassociative concomitants of classical fear conditioning in the freely behaving rat. *Behav Neurosci* 102:66-76

Izquierdo I, Medina JH (1995). Correlation between the pharmacology of long-term potentiation and the pharmacology of memory. *Neurobiol Learn Mem* 63:19-32

James W (1884). What is an emotion? *Mind* 9 185-205

Just A, Faulhaber J, Ehmke H (2000). Autonomic cardiovascular control in conscious mice. *Am J Physiol* 279:2214-2221

Keck ME, Thöringer CK (2005). Angsterkrankungen: Tiermodelle und Humangenetik, *psychoneuro* 31:139-144

Kennett GA, Dickinson SL, Curzon G (1985). Enhancement of some 5-HT-dependent behavioural responses following repeated immobilization in rats. *Brain Res* 330:253-263

Kim M, Campeau S, Falls WA, Davis M (1993). Infusion of the non-NMDA receptor antagonist CNQX into the amygdala blocks the expression of fear-potentiated startle. *Behav Neural Biol* 59:5-8

Kim JJ, Lee HJ, Han JS, Packard MG (2001). Amygdala is critical for stress-induced modulation of hippocampal long-term potentiation and learning. *J Neurosci* 21:5222-5228

Kim D, Chae S, Lee J, Yang H, Shin HS (2005). Variations in the behaviors to novel objects among five inbred strains of mice. *Genes Brain Behav* 4:302-6

Kinsey SG, Bailey MT, Sheridan JF, Padgett DA, Avitsur R (2006). Repeated social defeat causes increased anxiety-like behavior and alters splenocyte function in C57BL/6 and CD-1 mice. *Brain Behav Immun* 21:458-66

Klemenhagen KC, Gordon JA, David DJ, Hen R, Gross CT (2006). Increased fear response to contextual cues in mice lacking the 5-HT_{1A} receptor. *Neuropsychopharmacol* 31:101-11
Kliethermes CL, Crabbe JC (2006). Genetic independence of mouse measures of some aspects of novelty seeking. *Proc Natl Acad Sci U S A* 103:5018-23

-
- Korz V, Frey JU (2005). Bidirectional modulation of hippocampal long-term potentiation under stress and no-stress conditions in basolateral amygdala-lesioned and intact rats. *J Neurosci* 25:7393-400
- Ksiazek A, Kleinrok Z (1974). Central action of drugs affecting beta-adrenergic receptor. II. The central action of intraventricularly applied propranolol in rats. *Pol J Pharmacol Pharm* 26:297-304
- Kudrayavtseva NN, Bondar NP, Avgustinovich DF (2001). Association between experience of aggression and anxiety in male mice. *Behav Brain Res* 133:83-93
- Kumada M, Terui N, and Kuwaki T (1990). Arterial baroreceptor reflex: its central and peripheral neural mechanisms. *Prog Neurobiol* 35: 331–361, 1990.
- Lader MH, Wing L (1969). Physiological measures in agitated and retarded depressend patients. *J Psychiatri Res* 7:89-100
- Lancey BC, Lancey JI (1974). Studies of heart rate and other bodily processes in sensorimotor behavior. In Obrist PA, Black AH, Brener J, DiCara LV (Eds.) *Cardiovascular Psychophysiology* pp:538-564
- Lands AM, Arnold A, Auliff JP, Ludvena FP, Brown TG (1967). Differentiation of receptor systems activated by sympathomimetic amines. *Nature* 214: 597-598
- Laxmi T R, Stork O, Pape H C (2003). Generalisation of conditioned fear and its behavioural expression in mice. *Behav Brain Res* 145:89-98
- LeDoux JE, Ruggiero DA, Forest R, Stornetta R, Reis DJ (1987). Topographic organization of convergent projections to the thalamus from the inferior colliculus and spinal cord in the rat. *J Comp Neurol* 264: 123–146
- LeDoux JE, Iwata J, Cicchetti P, Reis D J (1988). Different projections of the central amygdaloid nucleus mediate autonomic and behavioral correlates of conditioned fear. *J Neurosci* 8:2517-2529
- LeDoux JE, Cicchetti P, Xaroraris A, Romanski LM (1990 a). The lateral amygdaloid nucleus: sensorx interface of the amygdala in fear conditioning. *J Neurosci* 10:1062-1069
- LeDoux JE, Farb C, Ruggiero DA (1990 b). Topographic organization of neurons in the acoustic thalamus that project to the amygdala. *J Neurosci* 10:1043-1054
- LeDoux JE (1992). Emotion and the Amygdala. See Aggleton pp:339-51
- LeDoux JE (1993). Emotional memory systems in the brain. *Behav Brain Res* 58:69-79
- LeDoux JE (1995). Emotion: Clues from the brain. *Annu Rev Psychol* 46:209-231
- LeDoux JE (2000). Emotion circuits in the brain. *Annu Rev Neurosci* 23:155-184
- Lemmer B, Winkler H, Ohm T, Fink M (1985). Chronopharmacokinetics of beta-receptor-blocking drugs of different lipophilicity (propranolol, metoprolol, sotalol, atenolol) in plasma and tissues after single and multiple dosing in the rat. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol* 330:42-49

- Liang KC, McGaugh JL, Yao HY (1990). Involvement of amygdala pathways in the influence of post-training intra-amygdala norepinephrine and peripheral epinephrine on memory storage. *Brain Res* 508:225-33
- Lifshitz J, Witgen BM, Grady MS (2007). Acute cognitive impairment after lateral fluid percussion brain injury recovers by 1 month: Evaluation by conditioned fear response. *Behav Brain Res* 177:347-57
- Linke R, Braune G, and Schwegler H (2000). Differential projection of the posterior paralamina thalamic nuclei to the amygdaloid complex in the rat. *Exp Brain Res* 134: 520–532, 2000.
- Lipkind D, Sakov A, Kafkafi N, Elmer GI, Benjamini Y, Golani I (2004). New replicable anxiety-related measures of wall vs center behavior of mice in the open field. *J Appl Physiol* 97:347-59.
- Loewy AD (1990). Central autonomic pathways. In: Loewy AD, Spyer KM (Eds.) *Central Regulation of Autonomic Functions*. Oxford University Press, Oxford pp:88-103
- Logue SF, Paylor R, Wehner JM (1997). Hippocampal lesions cause learning deficits in inbred mice in the Morris water maze and conditioned-fear task. *Behav Neurosci* 111:104-113
- Malkesman O, Braw Y, Weller A (2007). Assessment of antidepressant and anxiolytic properties of NK1 antagonists and Substance P in Wistar Kyoto rats. *Physiol Behav* 90:619-25
- Mallo T, Alttoa A, Koiv K, Tonissaar M, Eller M, Harro J(2006). Rats with persistently low or high exploratory activity: Behaviour in tests of anxiety and depression, and extracellular levels of dopamine. *Behav Brain Res* 177:269-81
- Maltzman I (1990). Locus of semantic generalization of the galvanic skin response and possible inhibitory influence of conditional stimuli upon unconditional response following conditioning with innocuous and noxious unconditional stimuli. *Pavlov J Biol Sci* 25:63-76
- Maren S, Fanselow MS (1995). Synaptic plasticity in the basolateral amygdala induced by hippocampal formation stimulation in vivo. *J Neurosci* 15:7548-7564
- Maren S, Aharonov G, Fanselow MS (1996). N-methyl-D-aspartate receptors in the basolateral amygdala are required for both acquisition and expression of conditional fear in rats. *Behav Neurosci* 110:1365-1374
- Maren S, Fanselow MS (1997). Electrolytic lesions of the fimbria/fornix, dorsal hippocampus, or entorhinal cortex produce anterograde deficits in contextual fear conditioning in rats. *Neurobiol Learn Mem* 67:142-149
- Markel AL, Galaktionov Y, Galaktionov K, Efimov VM (1989). Factor analysis of rat behavior in an open field test. *Neurosci Behav Physiol* 19:279-286
- Markgraf CG, Kapp BS (1991). Lesions of the amygdaloid central nucleus block conditioned cardiac arrhythmias in the rabbit receiving digitalis. *J Auton Nerv Syst* 34:37-45

-
- Marsch R, Foeller E, Rammes G, Bunck M, Kossel M, Holsboer F, Zieglgansberger W, Landgraf R, Lutz B, Wotjak CT (2007). Reduced anxiety, conditioned fear, and hippocampal long-term potentiation in transient receptor potential vanilloid type 1 receptor-deficient mice. *J Neurosci* 27:832-9
- Mathews A, May J, Mogg K, Eysnck M (1990). Attentional bias in anxiety: selective search or defective filtering? *J Abnorm Psychol* 99: 166-73
- McDonald AJ (1998). Cortical pathways to the mammalian amygdala. *Prog Neurobiol* 55:257-332
- McGaugh JL (1973). *Ann Rev* 13:229-241
- McGaugh JL, Introini-Collison IB, Nagahara AH (1988). Memory-enhancing effects of posttraining naloxone: involvement of beta-noradrenergic influences in the amygdaloid complex. *Brain* 111:37-49
- McGaugh JL (1989). *Ann Rev Neurosci* 12:255-287
- McGaugh JL, Cahill L, Parent MB, Mesches MH, Coleman-Mesches K and Salinas J (1995). Plasticity in the central nervous system, (eds) McGaugh JL, Bermudez-Rattoni F, Prado-Alcala RA, Lawrence Erlbaum Associates, New Jersey
- McGaugh JL, Cahill L, Roozendaal B (1996). Involvement of the amygdala in memory storage: interaction with other brain systems. *Proc Natl Acad Sci U S A* 93:13508-14
- McGaugh JL, Roozendaal B, Cahill L (2000). Modulation of memory storage by stress hormones and the amygdaloid complex. In Gazzaniga MS (ed), *The New Cognitive Neurosciences*. MIT Press, Cambridge, MA
- McGaugh J, Roozendaal B (2002). Role of adrenal stress hormones in forming lasting memories in the brain. *Curr Opin Neurobiol* 12:205-210
- McGaugh JL (2002). Memory consolidation and the amygdala: a systems perspective. *Trends Neurosci* 25:456
- Menge H, Güthling O (1965). *Enzyklopädisches Wörterbuch der lateinischen und deutschen Sprache*. 1. Teil, Lateinisch-Deutsch. Berlin-Langenscheidt
- Middlemiss DN, Buxton DA, Greenwood DT (1981). Beta-adrenoceptor antagonists in the psychiatry and neurology. *Pharmac Ther* 12: 419-437
- Milanovic S, Radulovic J, Laban O, Stiedl O, Henn F, Spiess J (1998). Production of the Fos protein after contextual fear conditioning of C57BL/6N mice. *Brain Res* 784:37-47
- Milner TA, Morrison SF, Abate C, Reis DJ (1988). Phenyetholamine N-methyltransferase-containing terminals synapse directly on sympathetic preganglionic neurons in the rat. *Brain Res* 448:205-222
- Mineka S, Zinbarg R (1996). Conditioning and ethological models of anxiety disorders: stress-in-dynamic-context anxiety models. *Nebr Symp Motiv* 43:135-210.

Murchison CF, Zhang XY, Zhang WP, Ouyang M, Lee A, Thomas SA (2004). A distinct role for norepinephrine in memory retrieval. *Cell* 117:131-143

Myers EA, Rinaman L (2005). Trimethylthiazoline supports conditioned flavor avoidance and activates viscerosensory, hypothalamic, and limbic circuits in rats. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 288:1716-26

Mystkowski JL, Mineka S, Vernon LL, Zinbarg RE (2003). Changes in caffeine states enhance return of fear in spider phobia. *J Consult Clin Psychol* 71:243-250

Nader KP, Majidishad, Amorapanth P, LeDoux JE (2001). Damage to the lateral and central, but not other, amygdaloid nuclei prevents the acquisition of auditory fear conditioning. *Learn Mem* 8:156-163

Neil-Dwyer G, Bartlett J, McAinich J, Cruickshank JM (1981). β -Adrenoceptor blockers and the blood-brain barrier. *Brit J Clin Pharmacol* 11:549-553

Nielson KA, Jensen RA (1994). β -Adrenergic receptor antagonist antihypertensive medications impair arousal-induced modulation of working memory in elderly humans. *Behav Neural Biol* 62:190-200

Nijholt IM, Ostroveanu A, de Bruyn M, Luiten PG, Eisel UL, Van der Zee EA (2007). Both exposure to a novel context and associative learning induce an upregulation of AKAP150 protein in mouse hippocampus. *Neurobiol Learn Mem* 87:693-6

Nissen G (1995). *Angsterkrankungen: Prävention und Therapie / [Psychotherapeutisches Kolleg Würzburg (PTK)].* Gerhardt Nissen, Hrsg. - 1. Aufl. - Bern [u.a.] : Huber, 1995. - 166 S : Ill., (Würzburger therapeutische Gespräche)

Norgren R (1976). Taste pathways to hypothalamus and amygdala. *J Comp Neurol* 116:17-30

Ohman A, Mineka S (2001). Fears, phobias, and preparedness: toward an evolved module of fear and fear learning. *Psychol Rev* 108:483-522 Review.

Oliveira LC, Nobre M J, Brandao M L, Landeira-Fernandez J (2004). Role of the amygdala in conditioned and unconditioned fear generated in the periaqueductal gray. *Neuroreport* 15:2281-2285

Ottersen OP (1981). Afferent connections to the amygdaloid complex of the rat with some observations in the cat. III Afferents from the lower brain stem. *J Comp Neurol* 202:335-356

Ottersen OP (1982). Connections of the amygdala of the rat. IV: Corticoamygdaloid and intraamygdaloid connections as studied with axonal transport of horseradish peroxidase. *J Comp Neurol* 205:30-48

Otto T, Poon P (2006). Dorsal hippocampal contributions to unimodal contextual conditioning. *J Neurosci* 26:6603-9

-
- Owen EH, Logue SF, Rasmussen DL, Wehner JM (1997). Assessment of learning by the Morris water task and fear conditioning in inbred mouse strains and F1 hybrids: Implications of genetic background for single gene mutations and quantitative trait loci analyses. *Neurosci* 80:1087-1099
- Pare D, Smith Y, Pare JF (1995). Intra-amygdaloid projections of the basolateral and basomedial nuclei in the cat: Phaseolus vulgaris-leucoagglutinin anterograde tracing at the light and electron microscopic level. *Neurosci* 69:567-583
- Pavlov IP (1927). *Conditioned reflexes*. London:Oxford University Press pp:246
- Paylor R, Tracy R, Wehner J, Rudy JW (1994). DBA/2 and C57BL/6 mice differ in contextual fear but not auditory fear conditioning. *Behav Neurosci* 108:810-7
- Pelletier JG, Likhtik E, Filali M, Paré D (2005). Lasting increases in basolateral amygdala activity after emotional arousal: Implications for facilitated consolidation of emotional memories. *Learn Mem* 12:96-102
- Perez H, Ruiz S, Laurido C, Hernandez A (1998). Locus coeruleus-mediated inhibition of chemosensory responses in the rat nucleus tractus solitarius is mediated by alpha2-adrenoreceptors. *Neurosci Lett* 249: 37-40
- Phillips RG, LeDoux JE (1992). Differential contribution of amygdala and hippocampus to the cued and contextual fear conditioning. *Behav Neurosci* 106:274-285
- Phillips RG, LeDoux JE (1994). Lesions of the dorsal hippocampal formation interfere with background but not foreground contextual fear conditioning. *Learn Mem* 1:34-44
- Pitkänen A, Savander V, LeDoux JE (1997). Organization of intra-amygdaloid circuitries in the rat: An emerging framework for understanding functions of the amygdala. *Trends Neurosci* 20:517-523
- Pollatos O, Traut-Mattausch E, Schroeder H, Schandry R (2006). Interoceptive awareness mediates the relationship between anxiety and the intensity of unpleasant feelings. *J Anxiety Disord* [Epub ahead of print].
- Posner MI (1993). Interaction of arousal and selection in the posterior attention network. In: Baddeley A, Weiskrantz L (Eds.), *Attention: Selection, Awareness and Control*. Tribute to Donald Broadbent, Oxford University Press, New York pp:390-405
- Radulovic J, Kammermeier J, Spiess J (1998). Generalization of fear responses in C57BL/6N mice subjected to one-trial foreground contextual fear conditioning. *Behav Brain Res* 95:176-189
- Rasmussen K, Barry LJ (1986). Single unit activity of locus coeruleus neurons in the freely moving cat. II. Conditioning and pharmacologic studies. *Brain Res* 371:335-44
- Reiner PB (1986). Correlational analysis of central noradrenergic neuronal activity and sympathetic tone in behaving cats. *Brain Res* 378:86-96
- Ricardo JA, Koth ET (1978). Anatomical evidence of direct projections from the nucleus of the solitary tract to the hypothalamus, amygdala and other forebrain structures in the rat. *Brain Res* 153:1-26

- Rodgers RJ, Cao BJ, Dalvi A, Holmes A (1997). Animal models of anxiety: an ethological perspective. *Braz J Med Biol Res* 30:289-304
- Romanski LM, LeDoux JE (1993). Information cascade from primary auditory cortex to the amygdala :corticocortical and corticoamygdaloid projections of temporal cortex in the rat. *Cereb Cortex* 3:515-32
- Romanski LM, Clugnet MC, Bordi F, LeDoux JE (1993). Somatosensory and auditory convergence in the lateral nucleus of the amygdala. *Behav Neurosci* 107:444-50
- Roozendaal B, Carmi O, McGaugh JL (1996). Adrenocortical suppression blocks the memory-enhancing effects of amphetamine and epinephrine. *Proc Natl Acad Sci U S A* 93:1429-33
- Roozendaal B, Okuda S, Van der Zee EA, McGaugh JL (2006). Glucocorticoid enhancement of memory requires arousal-induced noradrenergic activation in the basolateral amygdala. *Proc Natl Acad Sci U S A* 103:6741-6.
- Rose C, Rohl FW, Schwegler H, Hanke J, Yilmazer-Hanke DM (2006). Maternal and genetic effects on anxiety-related behavior of C6H/HeN, DBA/2J and NMRI mice in a motility-box following blastocyst transfer. *Behav Genet* [Epub ahead of print]
- Rosen JB (2004). The neurobiology of conditioned and unconditioned fear: a neurobehavioral system analysis of the amygdala. *Behav Cogn Neurosci Rev* 3:23-41
- Ross CA, Armstrong DA, Ruggiero DA, Pickel VM, Joh TH, Reis DJ (1981). Adrenalin neurons in the rostral ventrolateral medulla innervate thoracic spinal cord : a combined immunocytochemical and retrograde transport demonstration. *Neurosci Lett* 25:257-262
- Roy M, David NK, Danao JV, Baribault H, Tian H, Giorgetti M (2006). Genetic inactivation of melanin-concentrating hormone receptor subtype 1 (MCHR1) in mice exerts anxiolytic-like behavioral effects. *Neuropsychopharmacol* 31:112-20
- Sakai K, Hirooka Y, Shigematsu H, Kishi T, Ito K, Shimokawa H, Takeshita A, Sunagawa K (2005). Overexpression of eNOS in brain stem reduces enhanced sympathetic drive in mice with myocardial infarction. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 289:2159-66
- Sanders MJ, Wiltgen BJ, Fanselow MS (2003). The place of the hippocampus in the fear conditioning. *Eur J Pharmacol* 463:217-223
- Sara SJ, Vankov A, Herve A (1994). Locus coeruleus-evoked responses in behaving rats: A clue to the role of noradrenaline in memory. *Brain Res Bull* 35:457-465
- Saxe MD, Battaglia F, Wang JW, Malleret G, David DJ, Monckton JE, Garcia AD, Sofroniew MV, Kandel ER, Santarelli L, Hen R, Drew MR (2006). Ablation of hippocampal neurogenesis impairs contextual fear conditioning and synaptic plasticity in the dentate gyrus. *Proc Natl Acad Sci U S A* 103:17501-6
- Schachter S, Singer J (1962). Cognitive, social and physiological determinants of emotional state. *Psychol Rev* 69:379-407
- Schandry R, Montoya P (1996). Event-related brain potentials and the processing of cardiac activity. *Biol Psychol* 42:75-85

-
- Selden NR, Everitt BJ, Jarrard LE and Robbins TW (1991). Complementary roles for the amygdala and hippocampus in aversive conditioning to explicit and contextual cues. *Neurosci* 42:335-350
- Shekhar A, Sims LS, Bowers RR (1993). GABA receptors in the region of the dorsomedial hypothalamus of the rats regulate anxiety in the elevated plus-maze test. II. Physiological measures. *Brain Res* 627:17-24
- Shustermann V, Usiene I, Harrigal C, Lee J, Kubota T, Feldman A M, London B (2002). Strain-specific patterns of autonomic nervous system activity and heart failure susceptibility in mice. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 282:2076-2083
- Siegmund A, Wotjak CT (2006). A mouse model of posttraumatic stress disorder that distinguishes between conditioned and sensitised fear. *J Psychiatr Res* 2006 Oct 4;
- Silva AJ, Smith AM, Giese KP (1997). Gene targeting and the biology of learning and memory. *Annu Rev Genet* 31:527-546
- Simon P, Dupuis R, Costentin J (1994). Thigmotaxis as an index of anxiety in mice. Influence of dopaminergic transmissions. *Behav Brain Res* 61:59-64
- Smith OA, Astley CA, DeVito JL, Stein JM, Walsh RE (1980). Functional analysis of hypothalamic control of the cardiovascular responses accompanying emotional behavior. *Fed Proc* 29:2487-2494
- Smith LN, McDonald CG, Bergstrom HC, Brielmaier JM, Eppolito AK, Wheeler TL, Falco AM, Smith RF (2006). Long-term changes in fear conditioning and anxiety-like behavior following nicotine exposure in adult versus adolescent rats. *Pharmacol Biochem Behav* 85:91-7
- Sotres-Bayon F, Cain CK, LeDoux JE (2006). Brain mechanisms of fear extinction: historical perspectives on the contribution of prefrontal cortex. *Biol Psychiatry* 60:329-36
- Spielberger CD (1972). *Anxiety: Current trends in theory and research*. I. New York, N.Y.: Academic Press:23-49
- Spielberger CD (1980). *Test Anxiety Inventory*. Preliminary professional manual. Palo Alto, CA: Consulting Psychologists Press.
- Spielberger CD (1983). *Manual for the State-Trait Anxiety Inventory (STAI)*. Palo Alto, CA: Consulting Psychologists Press.
- Staats J (1980). Standardized nomenclature for inbred strains of mice: seventh listing for the International Committee on Standardized Genetic Nomenclature for mice. *Cancer Res* 40:2083-128
- Stead JD, Clinton S, Neal C, Schneider J, Jama A, Miller S, Vazquez DM, Watson SJ, Akil H (2006). Selective breeding for divergence in novelty-seeking traits: heritability and enrichment in spontaneous anxiety-related behaviors. *Behav Genet* 36:697-712
- Stefanacci L, Amaral DG (2000). Topographic organization of cortical inputs to the lateral nucleus of the macaque monkey amygdala: a retrograde tracing study. *J Comp Neurol* 421:52-79

- Sterpenich V, D'Argembeau A, Desseilles M, Balteau E, Albouy G, Vandewalle G, Degueldre C, Luxen A, Collette F, Maquet P (2006). The locus ceruleus is involved in the successful retrieval of emotional memories in humans. *J Neurosci* 26:7416-23
- Stiedl O, Palve M, Radulovic J, Birkenfeld K, Spiess J (1999). Differential impairment of auditory and contextual fear conditioning by protein synthesis inhibition in C57BL/6N mice. *Behav Neurosci* 113:496-506
- Stiedl O, Birkenfeld K, Palve M, Spiess J (2000). Impairment of conditioned contextual fear of C57BL/6J mice by intracerebral injections of the NMDA receptor antagonist APV. *Behav Brain Res* 116:157-68
- Stone EA (1970). Swim-stress-induced inactivity :Relation to body temperature and brain norepinephrine, and effects of d-amphetamine. *Psychosom Med* 32:51-59
- Stone EA, Manavalan SJ, Zhang Y, Quartermain D (1995). Beta adrenoceptor blockade mimics effects of streß on motor activity in mice. *Neuropsychopharmacol* 12:65-71
- Strange BA, Dolan RJ (2004). Beta-adrenergic modulation of emotional memory-evoked human amygdala and hippocampal responses. *Proc Natl Acad Sci U S A* 101:11454-8
- Straube T, Korz V, Balschun D, Frey JU (2003). Requirement of beta-adrenergic receptor activation and protein synthesis for LTP-reinforcement by novelty in rat dentate gyrus. *J Physiol* 552:953-60
- Strekalova T, Spanagel R, Bartsch D, Henn FA, Gass P (2004). Stress-induced anhedonia in mice is associated with deficits in forced swimming and exploration. *Neuropsychopharmacol* 29:2007-17
- Takeda A, Tamano H, Kan F, Itoh H, Oku N (2007). Anxiety-like behavior of young rats after 2-week zinc deprivation. *Behav Brain Res* 177:1-6
- Tanaka M, Yoshida M, Emoto H, Ishii H (2000). Noradrenaline systems in the hypothalamus, amygdala and locus coeruleus are involved in the provocation of anxiety: Basic studies. *Eur J Pharmacol* 405:397-406
- Tazumi T, Okaichi H (2002). Effect of lesions in the lateral nucleus of the amygdala on fear conditioning using auditory and visual conditioned stimuli in rats. *Neurosci Res* 43:163-170
- Treit D, Fundytus M (1988). Thigmotaxis as a test for anxiolytic activity in rats. *Pharmacol Biochem Behav* 31:959-62
- Treit D, Menard J (1997). Dissociations among the anxiolytic effects of septal, hippocampal and amygdaloid lesions. *Behav Neurosci* 111:653-658
- Trifilieff P, Herry C, Vanhoutte P, Caboche J, Desmedt A, Riedel G, Mons N, Micheau J (2006). Foreground contextual fear memory consolidation requires two independent phases of hippocampal ERK/CREB activation. *Learn Mem* 13:349-58
- Usher M, Cohen JD, Servan-Schreiber D, Rajkowski J, Aston-Jones G (1999). The role of locus coeruleus in the regulation of cognitive performance. *Science* 283:549-54

-
- Van den Buuse M, van Acker SA, Fluttert M, De Kloet ER (2001). Blood pressure, heart rate and behavioral responses to psychological „novelty“ stress in freely moving rats. *Psychophysiol* 38:490-499
- Van Giersbergen PL, Palkovits M, De Jong W (1992). Involvement of neurotransmitters in the nucleus tractus solitarius in cardiovascular regulation. *Physiol Rev* 72:789-824
- Van Stegeren AH, Everaerd W, Cahill L, McGaugh JL, Gooren LJ (1998). Memory for emotional events: differential effects of centrally versus peripherally acting beta-blocking agents. *Psychopharmacol (Berl)* 138:305-10
- Vendruscolo LF, Terenina-Rigaldie E, Raba F, Ramos A, Takahashi RN, Mormede P (2006). Evidence for a female-specific effect of a chromosome 4 locus on anxiety-related behaviors and ethanol drinking in rats. *Genes Brain Behav* 5:441-50
- Walsh RN, Cummins RA (1976). The open-field test: a critical review. *Psychol Bull* 83: 482-504
- Watson JB, Rayner R (1920). „Conditioned emotional reactions“. *J of Exp Psychol* 3:1-14
- Wehner JM, Silva A (1996). Importance of strain differences in evaluation of learning and memory processes in null mutants. *Ment Retard Dev Disabil Res* 2:243-248 Review.
- Weil-Malharbe H, Axelrod H, Tomchick R (1959). Blood-brain barrier for adrenaline. *Science* 129:1226-1228
- Wells A, Papageorgiou C (2001). Social phobic interoception: effects of bodily information on anxiety, beliefs and self-processing. *Behav Res Ther* 39:1-11
- West BD, Shughrue PJ, Vanko AE, Ransom RW, Kinney GG (2006). Amphetamine-induced locomotor activity is reduced in mice following MPTP treatment but not following selegiline/MPTP treatment. *Pharmacol Biochem Behav* 84:158-61
- Williams CL, McGaugh JL (1993). Reversible Lesions of the Nucleus of the solitary tract attenuate the memory-modulating effects of posttraining epinephrine. *Behav Neurosci* 107:955-962
- Williams CL, Men D, Clayton EC (2000). The effects of noradrenergic activation of the nucleus tractus solitarius on memory and in potentiating norepinephrine release in the amygdala. *Behav Neurosci* 114:1131-1144
- Wolpe J, Rowan VC (1988). Panic disorder: A product of classical conditioning. *Behav Res Ther* 26:441-450
- Yang XM, Gorman AL, Dunn AJ (1990). The involvement of central NE systems and corticotropin releasing factor in defensive-withdrawal behavior in rats. *J Pharmacol Exp Ther* 225:1064-1070
- Yerkes RM, Dodson JD (1908). The relation of strength of stimulus to rapidity of habit-formation. *J of Comp Neurol and Psychol* 18:459-482

Yilmazer-Hanke DM, Faber-Zuschratter H, Linke R, Schwegler H (2002). Contribution of amygdala neurons containing peptides and calcium-binding proteins to fear-potentiated startle and exploration-related anxiety in inbred Roman high- and low-avoidance rats. *Eur J Neurosci* 15:1206-18

Yilmazer-Hanke DM, Hantsch M, Hanke J, Schulz C, Faber-Zuschratter H, Schwegler H (2004). Neonatal thyroxine treatment: changes in the number of corticotropin-releasing-factor (CRF) and neuropeptide Y (NPY) containing neurons and density of tyrosine hydroxylase positive fibers (TH) in the amygdala correlate with anxiety-related behavior of wistar rats. *Neurosci* 124:283-97

Young SL, Bohenek DL, Fanselow MS (1994). NMDA processes mediate anterograde amnesia for contextual fear conditioning induced by hippocampal damage: immunization against amnesia by context preexposure. *Behav Neurosci* 108:19-29

Zhang WP, Guzowski JF, Thomas SA (2005). Mapping neuronal activation and the influence of adrenergic signaling during contextual memory retrieval. *Learn Mem* 12:239-47

Zhang W, Mifflin SW (2007). Modulation of synaptic transmission to second-order peripheral chemoreceptor neurons in caudal nucleus tractus solitarius by alpha1-adrenoreceptors. *J Pharmacol Exp Ther* 320:670-7

Erklärung

Ich erkläre, dass ich die in der Medizinischen Fakultät der Otto-von-Guericke-Universität zur Promotion eingereichte Dissertation mit dem Titel

Beeinflussung von Lokomotion und kontextueller Furcht durch die Unterbrechung des viszerale Feedback mittels peripherer β 1-adrenerger Rezeptorblockade in C57BL/6J OlaHsd-Mäusen

am Institut für Anatomie an der Medizinischen Fakultät der Otto-von-Guericke-Universität Magdeburg unter der Betreuung von Herrn Prof. Dr. rer. nat. H. Schwegler und Frau PD Dr. med. D. M. Yilmazer-Hanke sowie mit Unterstützung von Herrn PD Dr. rer. nat. O. Stork vom Institut für Physiologie und Frau Prof. Dr. med. G. Grecksch vom Institut für Pharmakologie und Toxikologie ohne sonstige Hilfe durchgeführt und bei der Abfassung der Dissertation keine anderen als die dort aufgeführten Hilfsmittel benutzt habe.

Bei der Dissertation sind die Rechte Dritter nicht verletzt worden.

Ich habe die Dissertation an keiner in- oder ausländischen Hochschule zur Promotion eingereicht und übertrage hiermit der Medizinischen Fakultät das Recht, weitere Kopien meiner Dissertation herzustellen und zu vertreiben.

Magdeburg, den

Kathrin Janitzky

Danksagung

Besonderer Dank gilt meinem Doktorvater Herrn **Prof. Dr. rer. nat. Herbert Schwegler**, der es mir ermöglichte eine eigene wissenschaftliche Fragestellung in eine experimentelle Versuchsanordnung umzusetzen und dabei stets mit fachlichem Rat und Interesse zur Seite stand. Bedanken möchte ich mich für informative Diskussionen und seine Förderung zur Eigeninitiative sowie die Bereitstellung der notwendigen Versuchstiere und Arbeitsmöglichkeiten. Insbesondere bedanke ich mich für seinen fachlichen Rat bei der Niederschrift der vorliegenden Arbeit.

Ein großer Dank gilt Frau **PD Dr. med. D.M. Yilmazer-Hanke** für ihre konstruktive Unterstützung und Hilfestellung bei der Erarbeitung der exakten Versuchsanordnung und der Arbeit an der Veröffentlichung in einem wissenschaftlichen Journal.

Besonders möchte ich mich bedanken bei **PD Dr. rer. nat. Oliver Stork**, ohne dessen Denkanstöße und Impulse diese Doktorarbeit nicht zustande gekommen wäre. Er bot mir insbesondere bei der anfänglichen Themenerarbeitung immer ein offenes Ohr und stand mir bei methodischen Problemen stets mit seiner Erfahrung zur Seite. Diesbezüglich hoffe ich auch zukünftig auf weiterhin gute und produktive Zusammenarbeit.

Mein Dank gilt des Weiteren Frau **Prof. Dr. med. G. Grecksch** aus dem Institut für Pharmakologie und Toxikologie für die Unterstützung bei der Wahl des Medikaments sowie der Recherche bezüglich der pharmakologischen Wirkungen, Eigenschaften und bereits veröffentlichter Arbeiten mit Beta-Blockern.

Ferner möchte ich mich bei Herrn **Prof. Dr. rer. nat. R. Linke** für die aktive Hilfe bei den ersten Tierexperimenten bedanken sowie den Informationsaustausch insbesondere über neuronale Leitungsbahnen und die Einflüsse des autonomen Nervensystems.

Für die freundliche Unterstützung bei der statistischen Auswertung der Ergebnisse mit GB-STAT für MS Windows Version 5.0 und mit der SPSS Version 9.0 für Windows bedanke ich mich bei **Herrn Grüning und Frau Lux** aus dem Institut für Biometrie und medizinische Informatik der Medizinischen Fakultät.

Ferner gilt mein Dank **Dr. rer. nat. Claudia Rose** für das Überlassen der Abbildungen der Motility-Box sowie den Austausch über die Unterschiede von Mäuseinzuchtstämmen.



Persönliche Daten:

Kathrin Janitzky
Geburtsdatum: 01.03.1982
Geburtsort: Halberstadt (Sachsen-Anhalt)
Familienstand: ledig, keine Kinder

Darstellung des Bildungsweges:

Schulbildung

1988-1992 Grundsschule
1992-2000 Besuch des Fallstein-Gymnasiums in Osterwieck
2000 Erlangen der Hochschulreife (Abitur-Durchschnittsnote 1,4)

Studium

Seit 10/2000 Medizinstudium an der Otto-von-Guericke-
Universität Magdeburg
08/2002 Ärztliche Vorprüfung mit der Note -gut-
abgelegt
08/2003 1.Abschnitt der Ärztlichen Prüfung mit der Note -sehr gut-
abgelegt
10/2003 Famulatur in der Neurochirurgischen Abteilung der
Universitätsklinik Magdeburg
08/2004 Famulatur in der Neurologischen Abteilung der
Universitätsklinik Magdeburg
08/2005 2.Abschnitt der Ärztlichen Prüfung mit der Note -sehr gut-
abgelegt
10/05-09/06 Praktisches Jahr
1.Tertial: Innere Medizin im Städtischen Krankenhaus
Dresden Neustadt in den Abteilungen für
Hämatologie/Onkologie und Kardiologie
2.Tertial: Neurologie im Städtischen Krankenhaus
Dresden Neustadt
3.Tertial: Chirurgie im Johanniter Krankenhaus
Genthin-Stendal in den Abteilungen Allgemein-
und Unfallchirurgie

Famulaturen : in den Gebieten Neurologie, Neurochirurgie,
Allgemeinmedizin und Urologie

14.11.2006 3. Abschnitt der Ärztlichen Prüfung mit der Note -sehr gut-
abgelegt
Unter Berücksichtigung der Prüfungsnoten für den Ersten und
Zweiten Abschnitt der Ärztlichen Prüfung wurde die Ärztliche
Prüfung mit der Gesamtnote sehr gut (1,16) bestanden

27.11.2006 Approbation als Ärztin
Seit 01.12.06 Wissenschaftliche Mitarbeiterin am Institut für Anatomie,
Abteilung Neuroanatomie der Otto-von-Guericke Universität

Studienbegleitende Tätigkeit

Mitbetreuung des Histologie-Mikroskopierkurses der Anatomie
der Universität Magdeburg als Studentische Hilfskraft

Wissenschaftliche Vorleistungen

seit 2003 wissenschaftlich Tätigkeit als Doktorandin
am Institut für Anatomie an der Medizinischen
Fakultät der Otto-von-Guericke-Universität Magdeburg
unter der Betreuung von Herrn Prof. Dr. rer. nat. H. Schwegler und
Frau PD Dr. med. D. M. Yilmazer-Hanke

Poster: Präsentation der Ergebnisse der Doktorarbeit in Form eines
Posters mit dem Titel:
“Systemic application of the peripheral β -adrenergic receptor
antagonist atenolol reduces locomotor activity and acquisition
of contextual fear but not of delay and trace conditioned fear
in C57BL/6JOLA_{Hsd} mice”
im Rahmen des 101st Annual Meeting of the Anatomische
Gesellschaft, Symposium of the Deutsche Akademie der
Naturforscher Leopoldina am 8. April 2006 in der
Albert-Ludwigs-Universität Freiburg

Publikation: Veröffentlichung der Ergebnisse unter dem Titel
“Disrupted visceral feedback reduces locomotor activity and influences
background contextual fear conditioning in C57BL/6JOLA_{Hsd} mice”
erfolgt in Behavioural Brain Research

Tabellen

Tabelle 1 Verhaltensparameter in der Motility-Box als MW±SEM

| Applikation | Laufzeit (% der Zeit) | Gesamtweg (m) | Aufrichtung (Anzahl) | Mitte- Aufenthalt (% der Zeit) | Defäkation (Anzahl) | Miktion (Anzahl) |
|---------------|--------------------------|------------------|-------------------------|--------------------------------------|------------------------|---------------------|
| NaCl | 50.4 ± 1.84 | 6.4 ± 0.32 | 16.9 ± 1.61 | 10.7 ± 1.65 | 3.1 ± 0.60 | 0.1 ± 0.09 |
| 5mg/ kgBW | 43.2 ± 4.91 | 6.1 ± 1.31 | 14.1 ± 2.79 | 7.5 ± 1.42 | 4.13 ± 0.62 | 0.27 ± 0.12 |
| 20mg/ kgBW | 37.2 ± 3.31 | 4.3 ± 0.44 | 9.9 ± 1.93 | 6.1 ± 1.09 | 2.29 ± 0.51 | 0.57 ± 0.14 |

Tabelle 2 Verhalten während Kontext und CS-Exposition im Kontext nach Furchtkonditionierung

Tabelle 2.1 Verhaltensparameter als MW±SEM im 1. Retrieval

gepaart

| Freezing in % der Zeit ± SEM | NaCl | Atenolol 5mg/kg | Atenolol 20mg/kg | ohne Fußschock |
|---------------------------------|--------------|-----------------|------------------|----------------|
| Kontext | 54.72 ± 5.37 | 52.73 ± 8.24 | 29.69 ± 4.67 | 7.57 ± 1.61 |
| CS im Kontext | 79.58 ± 6.34 | 72.59 ± 7.82 | 75.46 ± 8.08 | 20.1 ± 3.89 |

ungepaart

| Freezing in % der Zeit ± SEM | NaCl | Atenolol 5mg/kg | Atenolol 20mg/kg | ohne Fußschock |
|---------------------------------|--------------|-----------------|------------------|----------------|
| Kontext | 50.73 ± 7.19 | 48.03 ± 9.06 | 36.91 ± 7.67 | 7.57 ± 1.61 |
| CS im Kontext | 61.36 ± 9.07 | 47.91 ± 9.64 | 65.64 ± 8.82 | 20.1 ± 3.89 |

gepaart

| Sniffing in % der Zeit ± SEM | NaCl | Atenolol 5mg/kg | Atenolol 20mg/kg | ohne Fußschock |
|---------------------------------|--------------|-----------------|------------------|----------------|
| Kontext | 39.89 ± 5.11 | 42.30 ± 7.78 | 62.17 ± 3.60 | 68.1 ± 2.74 |
| CS im Kontext | 18.88 ± 5.80 | 25.45 ± 7.26 | 19.96 ± 5.94 | 57.6 ± 5.39 |

ungepaart

| Sniffing in % der Zeit ± SEM | NaCl | Atenolol 5mg/kg | Atenolol 20mg/kg | ohne Fußschock |
|---------------------------------|--------------|-----------------|------------------|----------------|
| Kontext | 42.64 ± 5.86 | 41.94 ± 6.61 | 51.85 ± 6.74 | 68.1 ± 2.74 |
| CS im Kontext | 32.64 ± 7.55 | 43.77 ± 7.57 | 31.59 ± 8.59 | 57.6 ± 5.39 |

gepaart

| Grooming in % der Zeit ± SEM | NaCl | Atenolol 5mg/kg | Atenolol 20mg/kg | ohne Fußschock |
|---------------------------------|-------------|-----------------|------------------|----------------|
| Kontext | 2.25 ± 0.82 | 0.82 ± 0.31 | 4.11 ± 1.47 | 6.87 ± 2.61 |
| CS im Kontext | 0.29 ± 0.20 | 0 ± 0 | 0.88 ± 0.70 | 10.15 ± 4.56 |

ungepaart

| Grooming in % der Zeit ± SEM | NaCl | Atenolol 5mg/kg | Atenolol 20mg/kg | ohne Fußschock |
|---------------------------------|-------------|-----------------|------------------|----------------|
| Kontext | 1.82 ± 0.49 | 1.76 ± 0.56 | 3.21 ± 1.06 | 6.87 ± 2.61 |
| CS im Kontext | 3.45 ± 1.42 | 0.95 ± 0.50 | 0.36 ± 0.32 | 10.15 ± 4.56 |

gepaart

| Defäkation (Köttelzahl) | NaCl | Atenolol 5mg/kg | Atenolol 20mg/kg | ohne Fußschock |
|----------------------------|-------------|-----------------|------------------|----------------|
| 1. Retrieval | 5.58 ± 0.31 | 6.27 ± 0.63 | 4.75 ± 0.58 | 2.70 ± 0.70 |

ungepaart

| Defäkation (Köttelzahl) | NaCl | Atenolol 5mg/kg | Atenolol 20mg/kg | ohne Fußschock |
|----------------------------|-------------|-----------------|------------------|----------------|
| 1. Retrieval | 4.91 ± 0.67 | 4.00 ± 0.49 | 4.36 ± 0.81 | 2.70 ± 0.70 |

gepaart

| Miktion (ja/nein) | NaCl | Atenolol 5mg/kg | Atenolol 20mg/kg | ohne Fußschock |
|----------------------|--------------|-----------------|------------------|----------------|
| 1. Retrieval | 0.50 ± 0.151 | 0.54 ± 0.16 | 0.58 ± 0.15 | 0.1 ± 0.1 |

ungepaart

| Miktion (ja/nein) | NaCl | Atenolol 5mg/kg | Atenolol 20mg/kg | ohne Fußschock |
|----------------------|-------------|-----------------|------------------|----------------|
| 1. Retrieval | 0.45 ± 0.16 | 0.54 ± 0.16 | 0.36 ± 0.15 | 0.1 ± 0.1 |

Tabelle 2.2 Verhaltensparameter als MW±SEM im 2. Retrieval

gepaart

| Freezing in % der Zeit ± SEM | NaCl | Atenolol 5mg/kg | Atenolol 20mg/kg | ohne Fußschock |
|---------------------------------|--------------|-----------------|------------------|----------------|
| Kontext | 61.67 ± 6.65 | 49.39 ± 9.13 | 30.83 ± 5.92 | 13.13 ± 1.74 |
| CS im Kontext | 80.50 ± 6.54 | 69.82 ± 6.73 | 73.92 ± 7.78 | 34.95 ± 6.58 |

ungepaart

| Freezing in % der Zeit ± SEM | NaCl | Atenolol 5mg/kg | Atenolol 20mg/kg | ohne Fußschock |
|---------------------------------|--------------|-----------------|------------------|----------------|
| Kontext | 40.42 ± 7.08 | 48.03 ± 8.25 | 28.82 ± 6.64 | 13.13 ± 1.74 |
| CS im Kontext | 62.23 ± 8.33 | 60.82 ± 8.65 | 64.09 ± 8.39 | 34.95 ± 6.58 |

gepaart

| Sniffing in % der Zeit ± SEM | NaCl | Atenolol 5mg/kg | Atenolol 20mg/kg | ohne Fußschock |
|---------------------------------|--------------|-----------------|------------------|----------------|
| Kontext | 32.83 ± 5.89 | 43.91 ± 8.14 | 58.17 ± 4.58 | 64.50 ± 2.60 |
| CS im Kontext | 17.63 ± 5.80 | 28.50 ± 6.53 | 18.71 ± 4.80 | 46.35 ± 5.55 |

ungepaart

| Sniffing in % der Zeit \pm SEM | NaCl | Atenolol 5mg/kg | Atenolol 20mg/kg | ohne Fußschock |
|---|------------------|------------------|------------------|------------------|
| Kontext | 48.24 \pm 5.20 | 42.55 \pm 6.47 | 62.30 \pm 6.27 | 64.50 \pm 2.60 |
| CS im Kontext | 31.86 \pm 5.87 | 33.82 \pm 6.95 | 27.73 \pm 6.38 | 46.35 \pm 5.55 |

gepaart

| Grooming in % der Zeit \pm SEM | NaCl | Atenolol 5mg/kg | Atenolol 20mg/kg | ohne Fußschock |
|---|-----------------|-----------------|------------------|------------------|
| Kontext | 2.22 \pm 0.75 | 2.45 \pm 0.72 | 3.47 \pm 1.12 | 12.50 \pm 2.95 |
| CS im Kontext | 0.54 \pm 0.54 | 0.73 \pm 0.50 | 2.00 \pm 1.57 | 10.85 \pm 4.22 |

ungepaart

| Grooming in % der Zeit \pm SEM | NaCl | Atenolol 5mg/kg | Atenolol 20mg/kg | ohne Fußschock |
|---|-----------------|-----------------|------------------|------------------|
| Kontext | 3.91 \pm 0.88 | 1.97 \pm 0.65 | 3.33 \pm 0.72 | 12.50 \pm 2.95 |
| CS im Kontext | 1.73 \pm 1.08 | 0.00 \pm 0.00 | 3.00 \pm 0.72 | 10.85 \pm 4.22 |

gepaart

| Defäkation (Köttelzahl) | NaCl | Atenolol 5mg/kg | Atenolol 20mg/kg | ohne Fußschock |
|--------------------------------|-----------------|-----------------|------------------|-----------------|
| 2. Retrieval | 5.58 \pm 0.47 | 4.73 \pm 0.54 | 5.33 \pm 0.38 | 2.70 \pm 0.56 |

ungepaart

| Defäkation (Köttelzahl) | NaCl | Atenolol 5mg/kg | Atenolol 20mg/kg | ohne Fußschock |
|--------------------------------|-----------------|-----------------|------------------|-----------------|
| 2. Retrieval | 4.55 \pm 0.60 | 3.91 \pm 0.62 | 5.09 \pm 0.51 | 2.70 \pm 0.56 |

gepaart

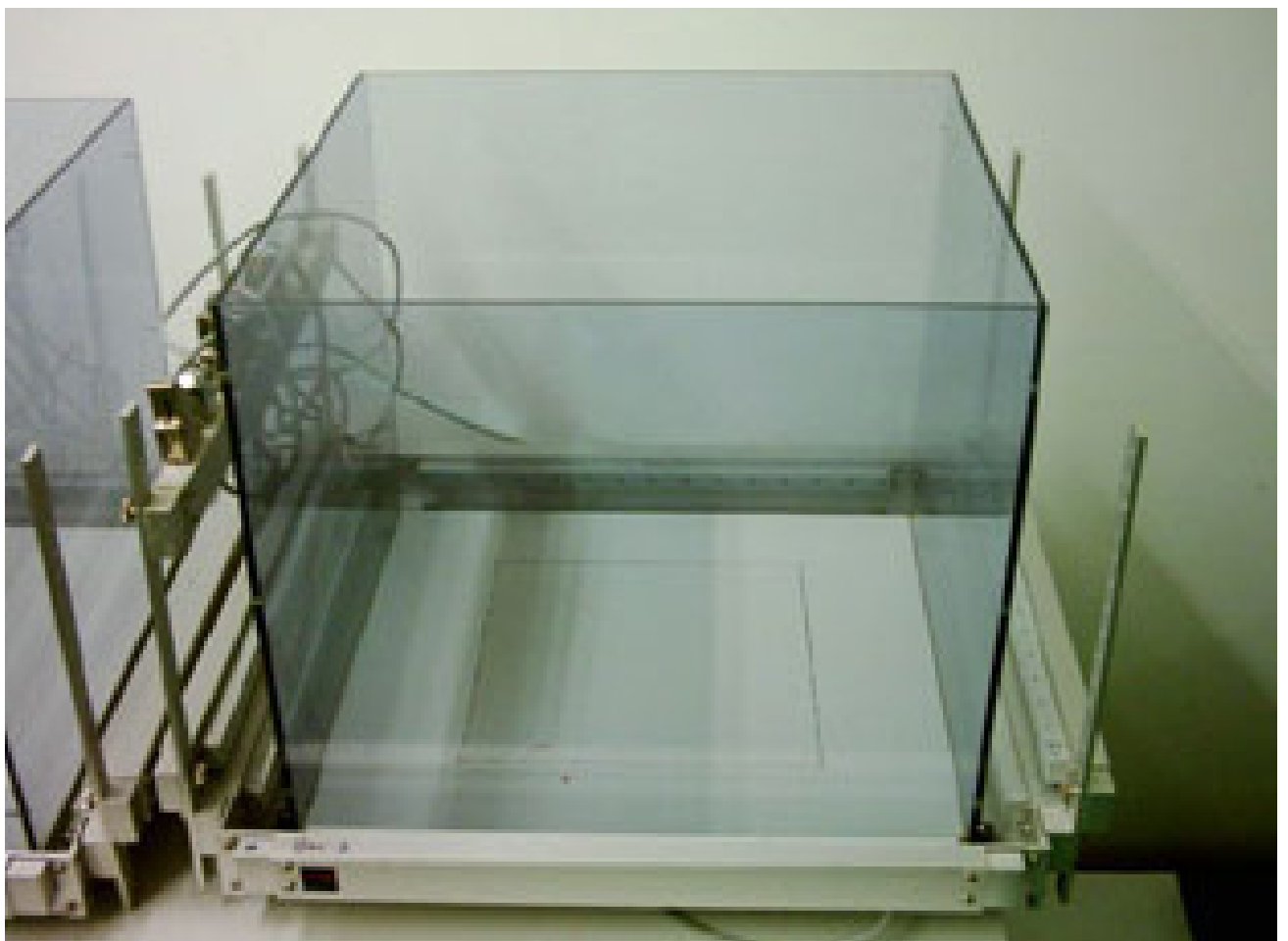
| Miktion (ja/nein) | NaCl | Atenolol 5mg/kg | Atenolol 20mg/kg | ohne Fußschock |
|--------------------------|-----------------|-----------------|------------------|----------------|
| 2. Retrieval | 0.33 \pm 0.14 | 0.36 \pm 0.15 | 0.75 \pm 0.13 | 0.1 \pm 0.1 |

ungepaart

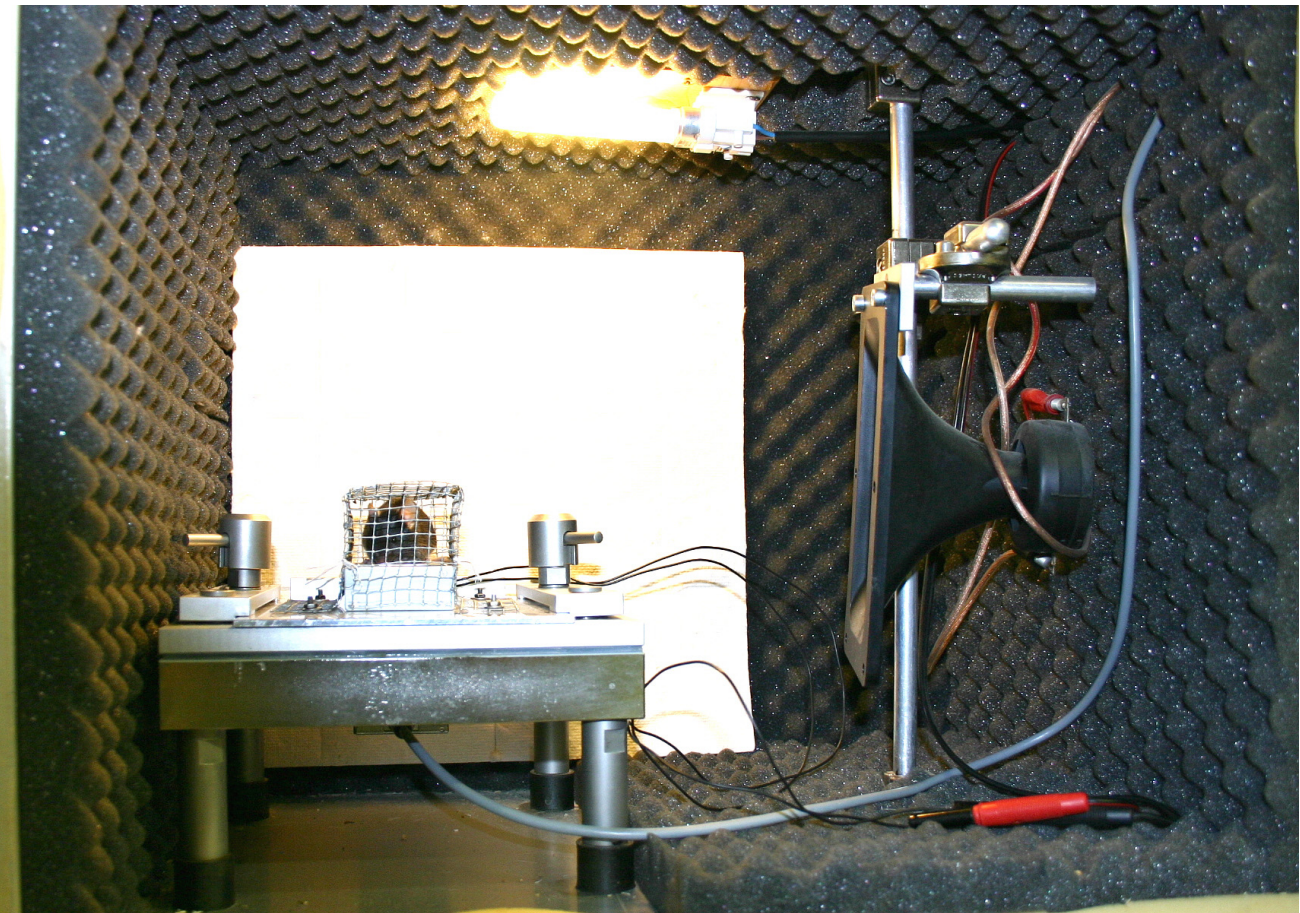
| Miktion (ja/nein) | NaCl | Atenolol 5mg/kg | Atenolol 20mg/kg | ohne Fußschock |
|--------------------------|-----------------|-----------------|------------------|----------------|
| 2. Retrieval | 0.45 \pm 0.16 | 0.54 \pm 0.16 | 0.27 \pm 0.14 | 0.1 \pm 0.1 |



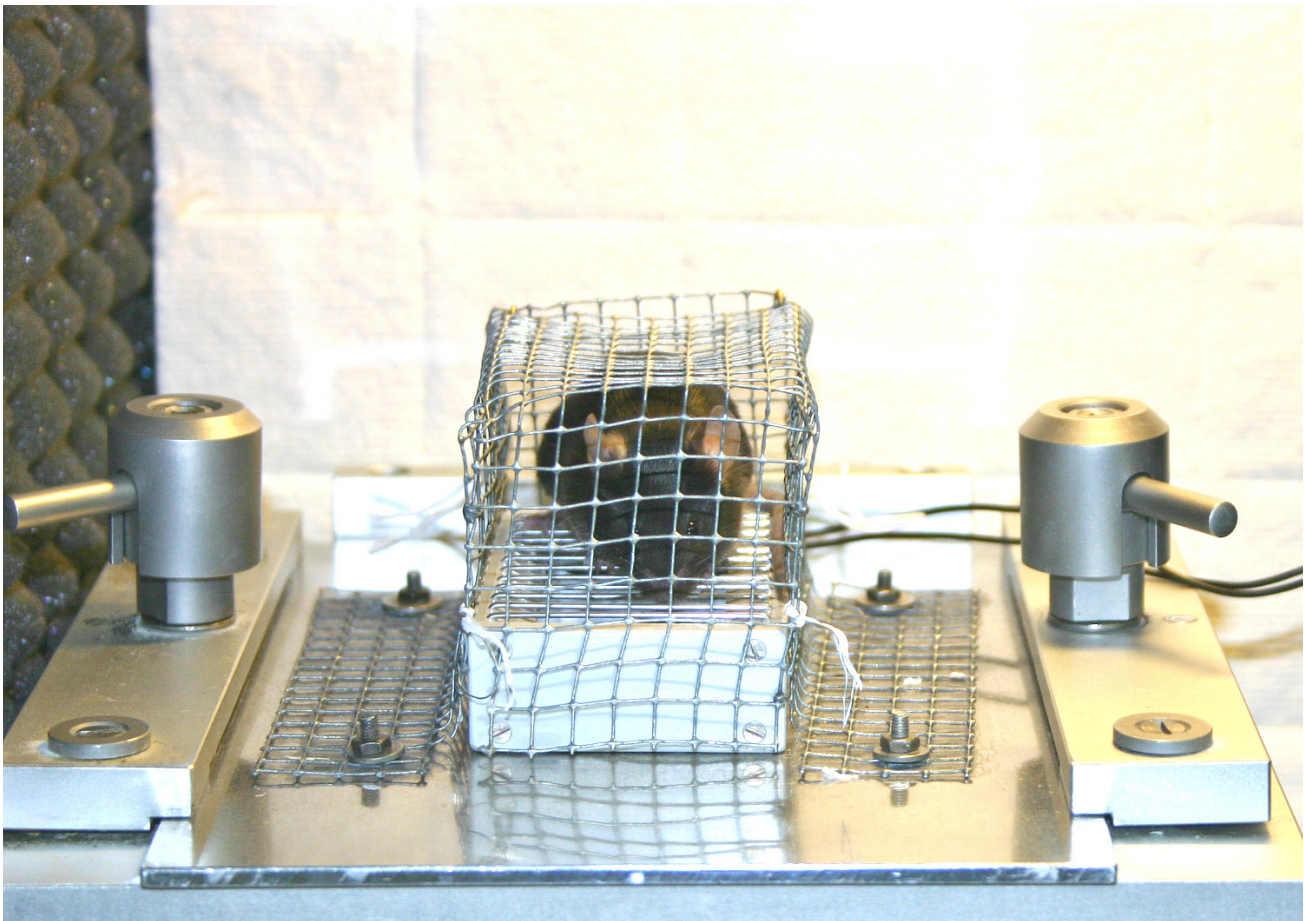
Bildanlage 1 Tierhaltung und Injektion der Tiere



Bildanlage 2 Motility-Box



Bildanlage 3 Startle-Apparatur

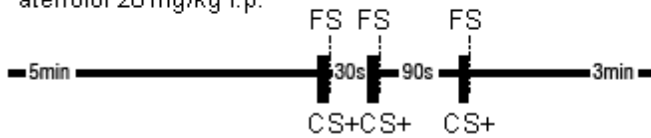


Bildanlage 4 Gitterkäfig in Startle-Apparatur

Training Schedule

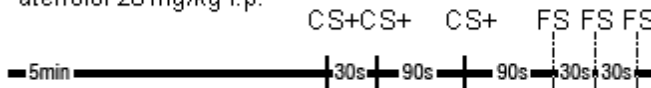
gepaart

0.9% NaCl i.p.
atenolol 5 mg/kg i.p.
atenolol 20 mg/kg i.p.



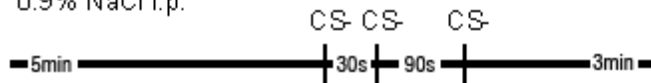
ungepaart

0.9% NaCl i.p.
atenolol 5 mg/kg i.p.
atenolol 20 mg/kg i.p.



ohne FS

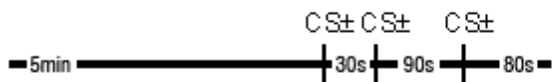
0.9% NaCl i.p.



Retrieval Schedule

Kontext

Ton im Kontext



Bildanlage 5 Konditionierungsschema